

FERNANDA PRATA BORGES MARTINS THULER

**IMUNO-EXPRESSÃO DA CICLO-OXIGENASE-2 NA MUCOSA
GÁSTRICA ECTÓPICA DO ESÔFAGO CERVICAL**

Tese apresentada à Universidade Federal
de São Paulo – Escola Paulista de
Medicina para obtenção do Título de
Doutor em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Angelo Paulo Ferrari Junior

São Paulo

2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Thuler, Fernanda Prata Borges Martins

Imuno-expressão da ciclo-oxigenase-2 na mucosa gástrica ectópica do esôfago cervical / Fernanda Prata Borges Martins

Thuler.-- São Paulo, 2006.

xvii, 95f.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Ciências.

Título em inglês: Cyclooxygenase-2 immunexpression in esophageal heterotopic gastric mucosa.

1. Endoscopia digestiva alta. 2. Mucosa gástrica ectópica. 3. Ciclo-oxigenase 2.

Ao Fabio, pelo amor, paciência e incentivo constantes e indispensáveis.

À minha mãe, pelo amor e apoio incondicionais.

Agradecimentos

À toda minha família pelo amor, carinho e compreensão durante mais uma jornada.

À minha avó Zizinha, pelo exemplo de determinação, força de vontade e carinho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Angelo Paulo Ferrari, um exemplo de competência, caráter e disponibilidade, pelo incentivo e pelo grande conhecimento científico compartilhado na execução deste estudo.

À Profa. Dra. Nora Manoukian Forones, chefe da Disciplina de Gastroenterologia, pelo estímulo à realização desta pesquisa.

À Profa. Dra. Maria Lucia Gomes Ferraz, coordenadora da pós-graduação da Disciplina de Gastroenterologia, pelo exemplo profissional.

Aos Profs. Dr. Durval Rosa Borges e Dr. Antonio Eduardo Benedito Silva, pela atenção dispensada na revisão deste trabalho.

Aos Profs. Dr. Sender Jankiel Miszputen, Dr. Antonio Eduardo Benedito Silva, Dr. Mario Kondo e Dr. Orlando Ambroghini, pela importante participação na minha formação profissional.

À Profa. Dra. Celina Oshima e ao Dr. Ricardo Artigiani Neto, pela dedicação e atenção, fundamentais durante a execução e revisão das lâminas deste estudo.

Ao Dr. Ermelindo Della Libera Jr. e à Dra. Maria Rachel da Silveira Rohr, pela importante participação e estímulo à minha formação profissional.

À Ana Cristina Amaral, Veruska Di Sena e Erika Macedo, pela amizade e pelo grande apoio e incentivo em todos os momentos.

Aos colegas Gustavo de Paulo, Patrícia Piauilino Costa, Frank Nakao, Marcelo Cury, Mônica Novis, Rodrigo Rodrigues, Marcus Melo Martins e Luciano Lenz, pelo companheirismo e colaboração no desenvolvimento deste estudo.

À equipe de enfermagem do CEDIR, em especial Rita Fontes de Cássia, Renata Okubo, Viviane Brandão, Nair Lima, Maria Raimunda dos Reis, Marivalda Almeida, Maria José Cruz, Patrícia Andrade, Priscila Trindade, Telma Caires, Kelly Caires, Moises Roseno e Rogério Marcelino, pela paciência, carinho e dedicação.

Aos secretários Magali Angélica Romano e Valdir Sophia, pela consideração e presteza.

Aos todos os funcionários do Departamento de Patologia, pela colaboração fundamental durante a realização deste trabalho.

Aos pacientes, sem os quais não seria possível a realização desta pesquisa.

Trabalho realizado em cooperação com o Departamento de Patologia da
Universidade Federal de São Paulo.

Patologista responsável: Dr. Ricardo Artigiani Neto

Mestre em Patologia pela Universidade Federal de São Paulo.

Sumário

Dedicatória.....	iii
Agradecimentos.....	iv
Lista de Figuras.....	ix
Lista de Gráficos	xi
Lista de Tabelas.....	xii
Lista de Abreviaturas	xiii
Nota.....	xv
Resumo.....	xvi
1 INTRODUÇÃO.....	01
2 REVISÃO DA LITERATURA	05
2.1 Mucosa gástrica ectópica.....	06
2.2 A enzima ciclo-oxigenase e o metabolismo do ácido araquidônico.....	18
2.3 A enzima ciclo-oxigenase e o trato gastro-intestinal.....	21
3 OBJETIVOS	28
4 CASUÍSTICA E MÉTODO	30
4.1 Casuística.....	31
4.2 Método.....	32
4.2.1 Avaliação endoscópica.....	32
4.2.2 Diagnóstico da infecção pelo HP com o teste ultra-rápido da urease.....	32
4.2.3 Análise histológica dos fragmentos de biópsias de mucosa gástrica ectópica.....	33
4.2.4 Avaliação imuno-histoquímica.....	34
4.2.5 Interpretação das reações imuno-histoquímicas.....	34
4.3 Análise estatística.....	35
5 RESULTADOS.....	36
5.1 Características gerais da amostra estudada.....	37

5.2 Achados endoscópicos nos pacientes com mucosa gástrica ectópica avaliados no estudo.....	39
5.3 Avaliação histológica dos fragmentos de biópsia da mucosa gástrica ectópica...	42
5.4 Avaliação Imuno-histoquímica.....	48
6 DISCUSSÃO.....	57
7 CONCLUSÕES.....	68
8 ANEXOS.....	70
9 REFERÊNCIAS.....	79
Abstract.....	93

Lista de figuras

- Figura 1.** Visão endoscópica da mucosa gástrica ectópica..... 07
- Figura 2.** Desenho esquemático do embrião durante a quarta (A) e quinta (B) semanas de gestação, demonstrando a formação do tubo digestivo e as demais estruturas derivadas do mesmo endoderma. Adaptado de Sadler *et al.*..... 09
- Figura 3.** Metabolismo do ácido araquidônico. Adaptado de Kumar *et al.*... 19
- Figura 4.** Cortes histológicos de fragmentos de mucosa gástrica ectópica. **A:** HE (100x) mostrando a transição do epitélio escamoso para o epitélio colunar. **B:** HE (400x) mostrando detalhe da transição do epitélio escamoso para o epitélio colunar. **C:** Imuno-histoquímica (200x) documentando presença de metaplasia intestinal com borda em escova (seta). **D:** (400x) detalhe do mesmo corte com presença de células caliciformes (seta)..... 44
- Figura 5.** **A e B:** Cortes histológicos de fragmentos de mucosa gástrica ectópica, em casos distintos, com coloração de Giemsa modificado (1.000x), mostrando a presença do *Helicobacter pylori* (seta)..... 46
- Figura 6.** Cortes histológicos de fragmentos de mucosa gástrica ectópica submetidos à reação imuno-histoquímica com anticorpo anti-COX-2. **A:** (200x) acentuada imunopositividade em células epiteliais. **B:** (400x) detalhe da imunopositividade citoplasmática. **C:** (200x) e **D:** (400x) evidenciando imuno-expressão da COX-2 nas células epiteliais..... 50
- Figura 7.** Corte histológico de fragmento de mucosa gástrica normal submetido à reação imuno-histoquímica com anticorpo anti-COX-2, com aumento de 200x, mostrando ausência de imuno-expressão da COX-2..... 51

Figura 8. Cortes histológicos de fragmentos de esôfago de Barrett submetidos à reação imuno-histoquímica com anticorpo anti-COX-2. **A:** (100x) expressão da COX-2 no epitélio metaplásico. **B e C:** (200x) diferença da expressão da COX-2 no epitélio metaplásico e colunar. **D:** (400x) realce da diferença da expressão de COX-2 em ambos epitélios analisados..... 52

Lista de Gráficos

Gráfico 1. Gráfico <i>Box-Plot</i> da distribuição da média do escore de positividade da expressão da COX-2 na mucosa normal de esôfago, antro e corpo gástricos, mucosa gástrica ectópica e esôfago de Barrett.....	53
---	----

Lista de tabelas

Tabela 1.	Características gerais de pacientes com mucosa gástrica ectópica, mucosa normal de esôfago, antro e corpo gástricos e esôfago de Barrett.....	38
Tabela 2.	Achados endoscópicos observados na amostra de 1327 pacientes submetidos à endoscopia digestiva alta no período de agosto de 2001 a maio de 2002.....	39
Tabela 3.	Achados endoscópicos observados nos 14 pacientes com mucosa gástrica ectópica.....	41
Tabela 4.	Achados histológicos observados nos 12 fragmentos de mucosa gástrica ectópica analisados.....	43
Tabela 5.	Características dos 12 fragmentos de mucosa gástrica ectópica analisados quanto à colonização pelo <i>Helicobacter pylori</i>	47
Tabela 6.	Resultados da avaliação imuno-histoquímica encontrados nos fragmentos de mucosa gástrica ectópica, mucosa de esôfago, antro gástrico e corpo gástrico normais e esôfago de Barrett.....	49
Tabela 7.	Comparação dos indivíduos com mucosa gástrica ectópica com imuno-expressão positiva e negativa da proteína COX-2.....	56
Tabela 8.	Resumo dos principais estudos publicados estudando a mucosa gástrica ectópica.....	61

Lista de abreviaturas

µm	Micrômetros
AA	Ácido araquidônico
AINE	Anti-inflamatório não esteroide
AMPC	Adenosina monofosfato cíclico
BSA	Albumina sérica bovina
COX	Ciclo-oxigenase
COX-1	Ciclo-oxigenase 1
COX-2	Ciclo-oxigenase 2
DRGE	Doença do refluxo gastro-esofágico
EDA	Endoscopia digestiva alta
HE	Hematoxilina-eosina
HP	<i>Helicobacter pylori</i>
HPETE	Ácido hidroperoxieicosatetraenóico
LSAB	<i>Link</i> de StreptoAvidina Biotina
MGE	Mucosa gástrica ectópica
mL	Mililitros
MUC	<i>Mucin core protein</i>
PBS	Solução tampão fosfato
PCR	Reação de polimerase em cadeia
PG	Prostaglandina
PGD ₂	Prostaglandina D ₂
PGE ₁	Prostaglandina E ₁
PGE ₂	Prostaglandina E ₂

PGF _{2α}	Prostaglandina F _{2α}
PGG ₂	Prostaglandina G ₂
PGH ₂	Endoperóxido de prostaglandina H ₂
PGI ₂	Prostaciclina
RNAm	Ácido ribonucléico mensageiro
TGI	Trato Gastro-intestinal
TXA ₂	Tromboxane A ₂
UNIFESP	Universidade Federal de São Paulo

Nota: As referências bibliográficas desta tese foram formatadas segundo as normas do sistema de Vancouver.

Resumo

Introdução: A mucosa gástrica ectópica (MGE) é considerada uma anomalia congênita e na maioria das vezes é um achado incidental do exame endoscópico. Até hoje, não se atribuiu nenhum significado clínico a esta entidade e são raros os casos de adenocarcinoma descritos na literatura. Até o presente momento, não existem dados suficientes que sustentem a indicação de biópsia seriada destas lesões, tampouco a inclusão destes pacientes em um programa de vigilância endoscópica. A ciclo-oxigenase-2 (COX-2) é uma proteína envolvida no desenvolvimento de neoplasias do trato gastro-intestinal, basicamente por inibição da apoptose e estímulo da angiogênese.

Objetivos: O objetivo principal deste estudo foi avaliar a imuno-expressão da COX-2 na MGE e compará-la com aquela observada em biópsias de tecidos esofágico e gástrico normais e, ainda, no esôfago de Barrett. Este estudo teve como objetivos secundários determinar a prevalência da MGE, identificar suas características macro e microscópicas e, avaliar sua colonização pelo *Helicobacter pylori*.

Pacientes e Método: Foram avaliados prospectivamente 1327 pacientes durante o período de agosto de 2001 a maio de 2002. Quando a MGE esteve presente, foram realizadas biópsias da ilhota de mucosa ectópica e também do antro gástrico para diagnóstico da infecção pelo *Helicobacter pylori*. Espécimes de biópsias do esôfago distal, antro e corpo gástrico normais e, também do esôfago de Barrett foram recuperados do banco de dados do Departamento de Patologia. Os

fragmentos de MGE foram submetidos a avaliação histológica para determinar o tipo de epitélio gástrico, presença de *Helicobacter pylori* e processo inflamatório. O estudo imuno-histoquímico da expressão da COX-2 foi executado pelo método da estreptavidina-biotina-peroxidase. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição.

Resultados: A MGE foi encontrada em 14 pacientes (1,1%). O tamanho da ilhota variou de 2 a 20 mm, as lesões eram isoladas em 10 pacientes, duas lesões em três e três em um paciente. A avaliação histológica revelou epitélio do tipo fúndico em 58,3% e antral/fúndico em 41,7%. A infecção pelo *Helicobacter pylori* esteve presente na metade dos casos e a inflamação crônica em 66,7%. A expressão da COX-2 foi negativa nos 10 espécimes de esôfago distal normal, 10 do antro e 10 do corpo gástrico normal. Por outro lado, a expressão da COX-2 foi positiva em 41,7% da MGE e 90% dos casos de esôfago de Barrett. A comparação entre a expressão da COX-2 nos tecidos normais e MGE atingiu diferença significativa ($p = 0,04$), bem como entre a MGE e o esôfago de Barrett ($p = 0,03$).

Conclusões: Os resultados do estudo demonstram o aumento da imuno-expressão da COX-2 na MGE sugerindo um possível potencial de malignização desta mucosa. Não houve correlação com nenhum achado endoscópico ou histológico específico.

1 INTRODUÇÃO

A mucosa gástrica ectópica (MGE) é uma heterotopia de mucosa gástrica, localizada no esôfago cervical. É quase sempre considerada um achado incidental, podendo estar presente em 0,1% a 10% dos exames endoscópicos. ⁽¹⁻¹⁰⁾

Acredita-se tratar de uma anomalia congênita, na qual uma falha no processo de formação de esôfago, resulta no aparecimento de uma ilhota de mucosa colunar remanescente na extremidade proximal do órgão. ^(1, 3, 5)

A avaliação histológica pode revelar mucosa colunar do tipo fúndica ou ainda padrões mistos de mucosa. ^(1-5, 9, 11-13) A presença de metaplasia intestinal foi identificada em até 10,7% dos casos de MGE. ^(1-5, 9, 12, 13) A colonização desta mucosa pelo *Helicobacter pylori* (HP) também pode ocorrer, estando descrita em 25 a 56,5% dos casos. ^(2, 4, 14)

Embora a maioria dos pacientes seja assintomática, alguns autores atribuem à presença da MGE sintomas clínicos, tais como: desconforto na orofaringe, rouquidão, odinofagia, disfagia e sensação de queimação no terço superior do esôfago. ^(1, 3, 5-8)

Até o momento, a constatação de que a maioria dos pacientes seja realmente assintomática, com poucas complicações descritas e raros casos de neoplasia a ela associados, não motivaram grandes estudos para identificação de possíveis fatores de risco para o desenvolvimento de complicações nesta mucosa, em especial o aparecimento do adenocarcinoma.

A correlação da MGE com o esôfago de Barrett não foi estabelecida, não havendo comprovação em nenhum estudo de que estas duas entidades compartilhem a mesma patogênese. ^(11, 12, 15) Apenas Avidan *et al.* encontraram associação significativa entre a presença da MGE e o esôfago de Barrett, hérnia

hiatal e úlcera gástrica, levando ao questionamento sobre um possível compartilhamento da mesma etiologia embriogênica. ⁽¹⁶⁾

Ao contrário do esôfago de Barrett, não há comprovação de risco aumentado de desenvolvimento do adenocarcinoma neste epitélio colunar ectópico do terço superior do esôfago. Nenhuma evidência, até o momento, é capaz de determinar que tal epitélio heterotópico deva ser biopsiado durante o exame endoscópico, assim como, também não há substrato suficiente para estabelecer acompanhamento periódico da MGE.

A ciclo-oxigenase (COX) é uma enzima fundamental na produção das prostaglandinas (PGs), pela da conversão do ácido araquidônico (AA) em PGs, tromboxane A₂ (TXA₂) e prostaciclina (PGI₂). ⁽¹⁷⁾ As PGs são capazes de modular a proliferação celular, apoptose e angiogênese, sendo consideradas importantes fatores na carcinogênese. ⁽¹⁸⁻²¹⁾

Ao menos duas isoformas da COX foram identificadas nos seres humanos: COX-1 e COX-2. ⁽²²⁾ A primeira delas é uma enzima constitutiva, responsável pela integridade celular do trato gastro-intestinal (TGI). ^(23, 24) Por outro lado, a expressão da COX-2 é baixa ou indetectável em condições basais, sendo estimulada por mediadores inflamatórios (interleucina-1), fatores de crescimento, promotores tumorais (fator de necrose tumoral α e interferon-gama) e oncogenes. ⁽²³⁻²⁵⁾ Os efeitos protetores dos anti-inflamatórios não esteroidais, inibindo as ciclo-oxigenases e promovendo a redução da incidência do câncer do trato gastro-intestinal já foram demonstrados. ^(18, 23, 26)

A expressão da COX-2 no epitélio colunar gástrico normal é baixa ou abaixo dos níveis de detecção. Entretanto, níveis elevados de RNAm de COX-2 e da expressão desta enzima têm sido detectados no adenocarcinoma gástrico. ⁽²⁵⁻³²⁾

A expressão da COX-2 também mostrou-se elevada no esôfago de Barrett e no adenocarcinoma do esôfago em comparação a controles de mucosa gástrica normal. ⁽³³⁻³⁷⁾

A importância da COX-2 na carcinogênese de tecidos gastro-intestinais está bem estabelecida, porém os mecanismos de ação ainda não estão completamente elucidados. ^(18, 23, 36, 38-40) Dentre estes, pode-se citar a inibição da apoptose e o estímulo do crescimento celular, a promoção da angiogênese, além do aumento do potencial invasivo e metastático. ^(18-21, 25, 30, 34, 41-43)

Uma vez que a imuno-expressão da COX-2 está elevada no esôfago de Barrett e, é sabidamente associada a risco elevado de desenvolvimento do adenocarcinoma nos tecidos gastro-intestinais, o objetivo deste estudo foi estudar sua expressão na MGE e compará-la a imuno-expressão em biópsias de esôfago e estômago normais, além do esôfago de Barrett propriamente dito.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Mucosa gástrica ectópica.

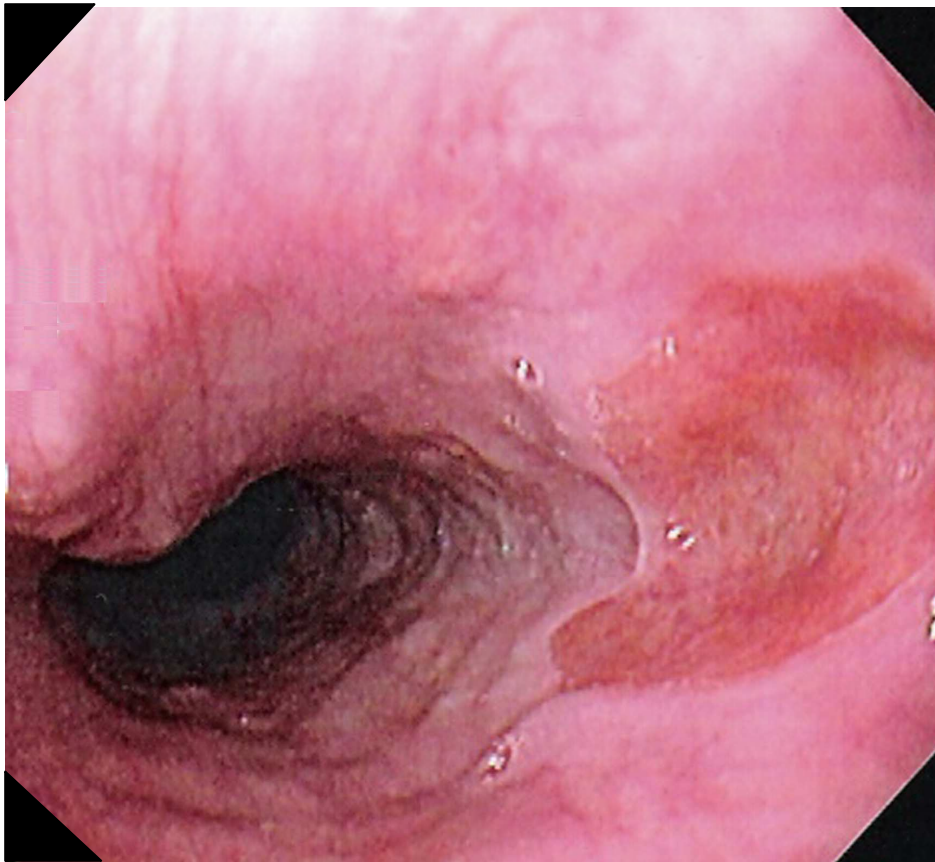
Segundo Jabbari *et al.*, a mucosa gástrica ectópica foi descrita pela primeira vez em 1805 por Schmidt, como um achado em exames de necropsias.⁽³⁾ Posteriormente, em 1941, Rector e Connerley relataram prevalência de 4,5% de mucosa gástrica aberrante no terço superior do esôfago em necropsias realizadas em mil crianças.⁽⁴⁴⁾

A MGE é descrita como ilhota circular ou ovalada de mucosa de tonalidade avermelhada ou salmão, contrastando claramente com a mucosa esofágica rósea pálida (Figura 1), localizada no terço superior do esôfago, logo abaixo do cricofaríngeo, geralmente nas paredes lateral e posterior.^(1-5, 8, 12, 45) A superfície lisa, aveludada e regular pode, algumas vezes, apresentar-se levemente deprimida ou elevada. O tamanho varia de 2 a 50 mm, apesar de na maioria das vezes ser inferior a 10 mm.^(1-4, 8-10, 12, 13, 45) Seu maior eixo é quase sempre o longitudinal, porém pode estender-se transversalmente chegando a ocupar a luz do esôfago circunferencialmente.^(1-3, 9)

A prevalência da MGE no exame endoscópico varia bastante na literatura, sendo relatada de 0,1% a 4,9% dos casos, chegando a 10% em um estudo prospectivo.⁽¹⁻¹⁰⁾ Sugere-se que a variação observada na prevalência seja, provavelmente, decorrente da avaliação mais detalhada e cautelosa do esôfago cervical nos estudos prospectivos.^(2, 3, 8, 12)

A prevalência da MGE em estudos de necropsias atinge valores bem mais elevados, chegando a 21% em uma das séries.^(46, 47)

Figura 1: Visão endoscópica da mucosa gástrica ectópica.



Geralmente estas ilhotas de mucosa são únicas (42 a 85%), mas podem ocorrer aos pares, geralmente em paredes opostas (9,1 a 50%) ou ainda mais raramente, em multiplicidade (5,5 a 14%).^(1-5, 10-13, 45)

A teoria da patogênese da MGE no esôfago cervical mais aceita, hoje, é a da má formação congênita.^(1, 3, 4, 8, 11, 12, 45, 48) As hipóteses de que ela seja uma alteração adquirida, como o esôfago de Barrett⁽⁴⁹⁾ ou ainda, envolva patogenia mista são menos aceitas.⁽⁴⁶⁾

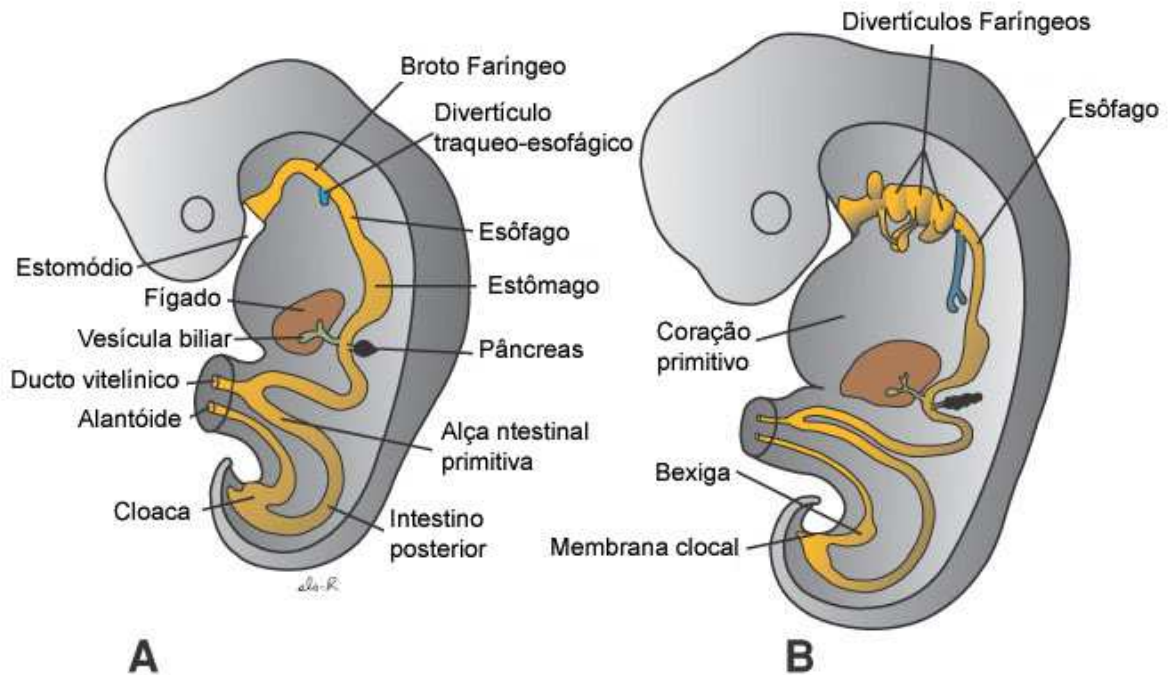
De La Pava *et al.* defenderam inicialmente uma teoria mista, na qual a agressão ao epitélio escamoso decorrente de trauma, regurgitação ou infecção, com perda de solução de continuidade da mucosa, seria seguida da cicatrização e substituição pelo epitélio gástrico ectópico presente como uma anomalia congênita na lâmina própria do esôfago cervical.⁽⁴⁶⁾

A teoria mais aceita é da MGE ser uma anomalia congênita. Durante o desenvolvimento embrionário, por volta da 4ª semana de gestação, o divertículo laringotraqueal surge na parede ventral do intestino anterior, caudalmente à faringe primitiva. O divertículo separa-se de modo gradual da porção dorsal do intestino anterior pelo aparecimento do septo traqueo-esofágico. Desta forma, ocorre a divisão do intestino anterior em uma porção ventral, primórdio da árvore respiratória, e uma porção dorsal, o esôfago (Figura 2). Inicialmente o esôfago é muito curto, mas alonga-se rapidamente, devido ao crescimento e descida do coração e pulmão, alcançando seu comprimento relativo final por volta da 7ª semana. O epitélio esofágico e as glândulas submucosas são derivados do endoderma.^(50, 51) Aproximadamente na 10ª semana de gestação uma camada única de células colunares reveste o esôfago. No 5º mês de gestação, inicia-se a substituição do epitélio colunar pelo epitélio escamoso pseudo estratificado na porção média do órgão, progredindo bidirecionalmente para suas extremidades.⁽⁵²⁾

Segundo a teoria da má formação, nesta etapa, ocorre falha no processo, resultando em uma ilhota de mucosa colunar remanescente em uma das extremidades do órgão.^(1, 3, 5) Existe, inclusive, questionamento se em alguns casos a epitelização colunar do esôfago distal não seria também decorrente deste processo.⁽¹⁾

Figura 2: Desenho esquemático do embrião durante a quarta (A) e quinta (B) semanas de gestação, demonstrando a formação do tubo digestivo e as demais estruturas derivadas do mesmo endoderma. Adaptado de Sadler *et al.*

(51)



Shah *et al.* avaliaram o perfil hormonal da MGE através de reação imuno-histoquímica em 20 fragmentos de biópsia, descrevendo a presença de células imunoreativas para peptídeo vaso-ativo intestinal (VIP), somatostatina, gastrina e bombesina. ⁽¹²⁾ Puderam observar também que a gastrina e a bombesina foram encontradas mais comumente nos pacientes com MGE sintomáticos, enquanto a somatostatina, inibidora da secreção ácida, foi mais freqüente nos pacientes assintomáticos. ⁽¹²⁾ Posteriormente, em estudo semelhante Feurle *et al.* confirmaram

a presença destes mesmos polipeptídios, encontrando ainda células imunoreativas para glucagon e polipeptídio pancreático. ⁽¹¹⁾

Os achados destes dois trabalhos dão suporte à hipótese da teoria da anomalia congênita, uma vez que os polipeptídios gastrintestinais são positivos nas células da MGE, em especial o glucagon, que não é encontrado no estômago do adulto e está presente apenas no estômago humano durante sua fase embrionária. ^(11, 12) Feurle *et al.* sugeriram, inclusive, que a nomenclatura mais apropriada seria heterotopia gástrica embriogênica. ⁽¹¹⁾

Os achados histopatológicos da MGE são semelhantes nos diversos trabalhos publicados. Na maioria dos casos, a mucosa da ilhota é do tipo fúndica, contendo células parietais, secretoras de ácido, porém, podem apresentar também padrão de mucosa cárdica ou ainda padrões mistos de mucosa. ^(1-5, 9, 11-13) O processo inflamatório é freqüentemente descrito na avaliação histológica da MGE, com predominância do infiltrado inflamatório crônico, porém com relatos de infiltrado inflamatório agudo em até 13,1% dos casos. ^(1-5, 9, 12) A presença de metaplasia intestinal é pouco comum na MGE, variando de 0 a 10,7% ^(1-5, 9, 12, 13)

A avaliação histológica do tecido circundante, justaposto ao epitélio colunar da MGE, revelou epitélio escamoso normal em uma série de 16 casos ⁽³⁾ contra achados de esofagite crônica em 92,7% de 64 casos observados em outro estudo. ⁽¹⁾

A conhecida afinidade do HP pelo tecido gástrico despertou em vários autores o interesse de estudar sua prevalência na MGE e os fatores preditivos da infecção neste tecido. Os primeiros estudos demonstraram taxas de positividade do HP na MGE inferiores a 20%. ^(5, 53, 54) Estudos um pouco mais recentes revelaram uma prevalência mais elevada de infecção, variando de 25 a 56,5%, chegando a

acometer 40 a 87,5% dos pacientes que apresentavam a bactéria no antro gástrico. (2, 4, 14)

O mecanismo de colonização da MGE pelo HP ainda não está completamente esclarecido. Suspeita-se que ela possa ocorrer durante a ingestão de alimentos contaminados. ^(14, 53) A participação do refluxo gastro-esofágico não está estabelecida, ^(14, 53), porém a co-infecção gástrica sugere que algum grau de refluxo deva ter importância. ⁽¹⁴⁾

Gutierrez *et al.* analisaram os possíveis fatores preditores da infecção pelo HP na MGE e após análise multivariada, identificaram que apenas a densidade do HP no estômago correlacionava-se com a infecção da MGE. Outros fatores tais como: idade, presença de hérnia hiatal, tipo de mucosa gástrica encontrada na MGE e doença do refluxo gastro-esofágico não estavam relacionados com a presença da bactéria. ⁽¹⁴⁾

A associação entre a colonização da MGE pelo HP e a presença e intensidade do processo inflamatório na mucosa também foi objeto de estudo, com resultados conflitantes. Borhan-Manesh *et al.* não identificaram correlação entre as variáveis acima. ⁽⁵³⁾ Por outro lado Gutierrez *et al.* demonstraram, em análise multivariada, que a infecção pelo HP e o tipo de mucosa antral ou mista foram fatores preditivos do processo inflamatório agudo da mucosa, aumentando entre duas a três vezes suas chances de aparecimento, contudo sem diferença significativa em relação ao processo inflamatório crônico. ⁽¹⁴⁾

A maioria dos estudos prospectivos mostrou que somente 6,2 a 20% dos pacientes com MGE apresentam sintomas tais como: desconforto na orofaringe, rouquidão, odinofagia, disfagia e sensação de queimação no terço superior do esôfago. ^(1, 3, 5-8) Ollyo *et al.* detectaram, em análise retrospectiva de 25 anos, que

apenas 5,8% dos 211 pacientes com MGE queixavam-se de disfagia cervical. ⁽⁵⁵⁾

Por outro lado, dois estudos também prospectivos, demonstraram taxa mais elevada de sintomas associados à MGE. Nestes estudos, 20 a 45% dos pacientes eram sintomáticos, porém sem diferença em relação aos pacientes sem MGE. ^(4, 12)

Akbayir *et al.* identificaram maior prevalência da MGE em pacientes com laringite posterior associada ao refluxo proximal, comprovado por pHmetria, em comparação ao grupo controle (11,4% *versus* 1,6%). Os autores sugeriram que a MGE possa desempenhar papel na patogênese do refluxo proximal em pacientes com laringite posterior. ⁽⁵⁶⁾

Para alguns autores, o tamanho da ilhota de MGE está relacionado ao desenvolvimento de sintomas. ^(1, 3) Entretanto, para outros, não há relação entre estas duas variáveis. ⁽¹²⁾

Alguns autores demonstraram a capacidade de produção de secreção ácida pela MGE. ^(3, 6, 57, 58) Em estudo com quatro pacientes, Hamilton *et al.* avaliaram tal capacidade através da aplicação de solução de vermelho congo a 1% na região da MGE após estímulo com pentagastrina. Observaram, depois de 3 a 5 minutos, o aparecimento de pontilhado enegrecido, que gradualmente tornou-se confluyente, cobrindo toda a extensão da mucosa gástrica, confirmando a queda do pH abaixo de 4,5 nesta região. ⁽⁵⁷⁾

Jabbari *et al.* demonstraram a redução do pH em relação ao valor aferido no esôfago distal no mesmo paciente em duas de cinco lesões (40%) avaliadas por pHmetria após estímulo com pentagastrina. Contudo, esta constatação ocorreu de forma não controlada, pois os autores selecionaram as duas maiores lesões observadas na casuística para realizar a pHmetria, nas quais a secreção ácida foi comprovada. ⁽³⁾

Nakajima *et al.* aferiram o pH esofágico a cada 5 cm, a partir da transição esôfago-gástrica incluindo a MGE, sob visão endoscópica direta, através de eletrodo de pH acoplado à ponta do fibroscópio convencional. Realizaram ainda aplicação de vermelho congo a 2% na região da MGE. Encontraram redução do pH na região da mucosa ectópica em três de cinco pacientes (60%), não relacionada ao tamanho da ilhota. O teste do vermelho congo foi positivo em 80% dos casos. ⁽⁶⁾

Galan *et al.* confirmaram secreção ácida pela MGE por pHmetria ambulatorial prolongada em um paciente com MGE e sintomas de disfagia intermitente, tosse e rouquidão. Após supressão ácida com lansoprazol foi constatado o alívio dos sintomas e normalização da pHmetria prolongada. ⁽⁵⁸⁾

Acredita-se que a produção de ácido pela MGE seja responsável pelo espasmo do cricofaríngeo e conseqüente disfagia cervical referida por alguns doentes. ^(57, 59) Rattner *et al.* descreveram um caso de disfagia cervical em paciente com MGE, no qual a manometria do esfíncter esofágico superior mostrou hipertonia assimétrica e déficit de relaxamento à deglutição, com melhora sintomática após tratamento com bloqueador H₂, sugerindo acalasia do esfíncter secundária a secreção ácida produzida pela MGE. ⁽⁵⁹⁾

Geralmente, pouca importância é dada ao diagnóstico de MGE, considerada na grande maioria das vezes um achado endoscópico de baixa relevância. ^(5, 48) A significância clínica está relacionada à sua capacidade de produção ácida, que pode causar desde sintomas até complicações que serão discutidas a seguir.

A disfagia secundária à formação de anel, ^(9, 12, 45, 60-62) ou estenoses benignas ⁽⁶³⁻⁶⁶⁾ é uma destas complicações. Acredita-se que a produção ácida provoque inflamação e lesão da mucosa adjacente, e durante o processo de cicatrização ocorra o desenvolvimento da estenose. ^(9, 45, 65, 66) Segundo alguns autores as

maiores lesões seriam capazes de produzir maior quantidade de ácido, levando a maior incidência de sintomas e complicações. ^(12, 65, 66)

Ulceração da MGE já foi descrita, ⁽⁶⁷⁾ complicada ou não por hemorragia, ⁽⁶⁸⁾ fístula esôfago-traqueal ⁽⁶⁹⁾ e perfuração ⁽⁷⁰⁾. A presença de lesões polipóides hiperplásicas ⁽⁷¹⁻⁷³⁾ ou adenomatosas também foram descritas. ⁽⁷⁴⁾

O adenocarcinoma corresponde de 1 a 2,7% das neoplasias do esôfago cervical. ⁽⁷⁵⁾ O adenocarcinoma de esôfago está associado a MGE quando há presença de glândulas gástricas ao redor do tumor e ausência de epitélio escamoso circundando o mesmo. Desde a primeira descrição feita por Carrie, em 1950, conseguimos encontrar 23 casos relatados na literatura, ⁽⁷⁵⁻⁹⁴⁾, entretanto o risco de desenvolvimento do adenocarcinoma na MGE ainda permanece indeterminado.

A maioria dos pacientes descritos com adenocarcinoma do esôfago cervical associado a MGE é do sexo masculino (90%), com média de idade de 61,2 (37 a 79) anos. A principal queixa foi a disfagia (11/13 casos, 84,6%). O aspecto macroscópico da lesão foi ulcerado em 50%, protruso em 35% e polipóide em 15%. O tamanho do tumor variou de 19 a 70 mm, com média de 38,7 mm. A disseminação submucosa não é a forma mais comum. Em geral, ocorre penetração transversal através da parede esofágica. ⁽⁷⁹⁾ A invasão esteve limitada à mucosa em apenas 10% dos pacientes, acometeu a submucosa em 25%, a muscular própria também em 25% e a adventícia em 40%. O tratamento foi cirúrgico em 15 casos (69,5%), endoscópico em dois (8,6%) e a radioterapia foi realizada em 3 casos 13%. Não há documentação dos possíveis fatores de risco para o desenvolvimento tumoral, porém tabagismo e etilismo estiveram presentes na maioria dos casos relatados. ⁽⁷⁵⁻

Ao contrário do esôfago de Barrett, a transformação maligna da MGE é rara, e os fatores de risco para sua ocorrência, ainda não estão bem estabelecidos. Faz-se necessário, portanto, estudar os fatores possivelmente associados a tal evolução.

A prevalência de esofagite erosiva, hérnia hiatal e esôfago de Barrett nos pacientes com MGE não foi maior do que na população geral na maioria dos estudos, corroborando para a teoria da patogênese congênita a despeito da hipótese de metaplasia de mucosa adquirida. ^(1-4, 8, 45, 55) Apesar disto, Jacobs e Dehou demonstraram maior prevalência de esofagite erosiva neste grupo com diferença significativa (27,3% *versus* 11,4%). ⁽⁵⁾ Feller e Weaver demonstraram maior prevalência de hérnia hiatal e doença ulcerosa nos pacientes com MGE, porém sem diferença em ambos os casos. ⁽⁷⁾

Outros estudos sugeriram que a incidência de lesões pépticas gastroduodenais seja mais elevada nos portadores de MGE. ^(2, 5, 7) Maconi *et al.* observaram 27,8% de lesões gastroduodenais neste grupo de pacientes, porém, não houve comparação com grupo controle. ⁽²⁾ Jacob *et al.* também encontraram elevado número de lesões gastroduodenais nos pacientes com MGE (15,2% *versus* 6,1%), porém sem alcançar diferença significativa. ⁽⁵⁾

A correlação entre a MGE e o esôfago de Barrett tem sido pesquisada há algum tempo. Diferentes aspectos foram estudados, entretanto, os resultados são contraditórios. Bogomoletz *et al.* compararam o padrão de imuno-expressão das mucinas na MGE, no esôfago de Barrett e no divertículo de Meckel. Identificaram a expressão de mucinas ácidas pela MGE no esôfago cervical com padrão semelhante ao Barrett e distinto do divertículo de Meckel (apenas mucinas neutras). Os autores sugeriram correlação fisiopatológica com o esôfago de Barrett. Sem

descartar a teoria da anomalia congênita, reforçaram a idéia de uma teoria mista, com sobreposição do componente adquirido em uma alteração congênita. ⁽¹⁵⁾

Em estudo comparativo do perfil hormonal destas duas entidades, Shah *et al.* encontraram diferenças no padrão hormonal imunoreativo de suas células. Enquanto na MGE foi descrita a presença de células imunoreativas para VIP, somatostatina, gastrina e bombesina, no esôfago de Barrett não houve expressão de nenhuma delas. ⁽¹²⁾

Feurle *et al.* demonstraram que apenas a mucosa do esôfago de Barrett apresentou células com imunoreatividade para neurotensina. Por outro lado, somente a MGE expressou positividade para gastrina, concluindo não haver relação embrionária entre as duas mucosas. ⁽¹¹⁾

Mais recentemente, Avidan *et al.* conduziram estudo prospectivo de caso-controle com objetivo de identificar fatores clínicos e epidemiológicos correlacionados com a MGE. ⁽¹⁶⁾ A prevalência da MGE foi de 1,1%. Após análise de regressão logística multivariada, encontraram associação significativa com o esôfago de Barrett, hérnia hiatal e úlcera gástrica. Os autores interrogam se a MGE e o Barrett não compartilhariam a mesma etiologia embriogênica. ⁽¹⁶⁾

Lauwers *et al.* identificaram na MGE um padrão de imuno-expressão das citoqueratinas CK-7 e CK-20 e da *mucin core protein* (MUC) semelhante ao do esôfago de Barrett. Os autores discutiram a possibilidade das duas entidades compartilharem a mesma patogenia no indivíduo adulto, sugerindo que a MGE seja uma condição adquirida. Seu aparecimento ocorreria em resposta a estímulos externos agressores, durante a cicatrização, a partir das glândulas submucosas, como no esôfago de Barrett. Neste caso, o epitélio da MGE seria na verdade, um epitélio metaplásico. ⁽⁹⁵⁾

A imuno-expressão das citoqueratinas CK-7 e CK-20 havia sido pesquisada anteriormente por Chatelain *et al.*, que já haviam demonstrado o mesmo padrão de expressão no esôfago de Barrett, na metaplasia da MGE e no adenocarcinoma a ela associada.⁽⁹³⁾

O tratamento clínico com inibidores da secreção ácida pode ser indicado para os pacientes cujos sintomas sejam pertinentes com o diagnóstico de MGE, ou na presença de complicações tais como a ulceração local. Existem relatos de sucesso no alívio sintomático e cicatrização de lesões associadas à MGE, com o uso de bloqueadores dos receptores H₂,^(3, 5, 6, 12, 57, 65, 69, 96) inibidores de bomba de prótons,^(48, 58, 60, 61, 67, 68, 97) antiácidos⁽⁹⁶⁾ e sucralfato⁽⁶⁶⁾.

O tratamento endoscópico está restrito ao manejo das complicações associadas a MGE, como por exemplo, na presença de lesões polipóides^(71, 72), dilatação de anéis^(12, 60, 61) ou estenoses^(64-66, 87).

McBride *et al.* descreveram um caso de MGE circunferencial com 3 cm de extensão complicada por estenose. Após falha da dilatação endoscópica combinada com bloqueador H₂ e inibidor de bomba de prótons o paciente foi submetido a eletro-coagulação da lesão com *Heater Probe* associada ao uso 60 mg/dia de omeprazol. Após 6 sessões, realizadas em intervalos de 2 semanas, houve substituição completa do epitélio gástrico por epitélio escamoso, confirmada por estudo histológico. O paciente permaneceu assintomático por 15 meses.⁽⁶⁴⁾

Hirayama *et al.* relataram um caso de adenocarcinoma na MGE tratado por mucosectomia endoscópica.⁽⁸⁰⁾ O tratamento cirúrgico fica reservado para os casos das estenoses refratárias ao tratamento endoscópico,⁽⁶³⁾ perfurações⁽⁷⁰⁾ e na presença do adenocarcinoma associado a mucosa ectópica.^(75-78, 81-83, 88)

2.2 A enzima ciclo-oxigenase e o metabolismo do ácido araquidônico.

A ciclo-oxigenase é uma enzima fundamental na produção das prostaglandinas, que são sintetizadas a partir de um substrato comum, o ácido araquidônico (AA).⁽¹⁷⁾

A síntese das prostaglandinas ocorre em 3 etapas: mobilização do AA, sua conversão em prostaglandina G₂ (PGG₂), que por sua vez é transformada em endoperóxido de prostaglandina (PGH₂) e por último, a redução do PGH₂ naquelas que são consideradas as prostaglandinas ativas (PGD₂, PGE₂, PGF_{2α}) e na prostaciclina (PGI₂).⁽¹⁷⁾

O AA é um ácido graxo poliinsaturado, composto por 20 átomos de carbono (ácido 5,8,11,14-eicosatetraenóico), proveniente de fontes alimentares ou da conversão do ácido linoléico, um ácido graxo essencial.^(23, 98) O “pool” de AA encontra-se esterificado nas cadeias de carbono dos fosfolipídios de membrana, na posição do carbono 2, particularmente do fosfatidilinositol e da fosfatidilcolina.^(17, 99) O AA deve ser liberado dos fosfolipídios para sua utilização intracelular na produção dos lipídeos conhecidos como eicosanóides (prostaglandinas, tromboxanes e leucotrienos). Em resposta a um estímulo fisiológico, físico ou farmacológico, as fosfolipases celulares (Fosfolipase A₂ ou Fosfolipase C) degradam o fosfatidilinositol e a fosfatidilcolina até o ácido araquidônico.

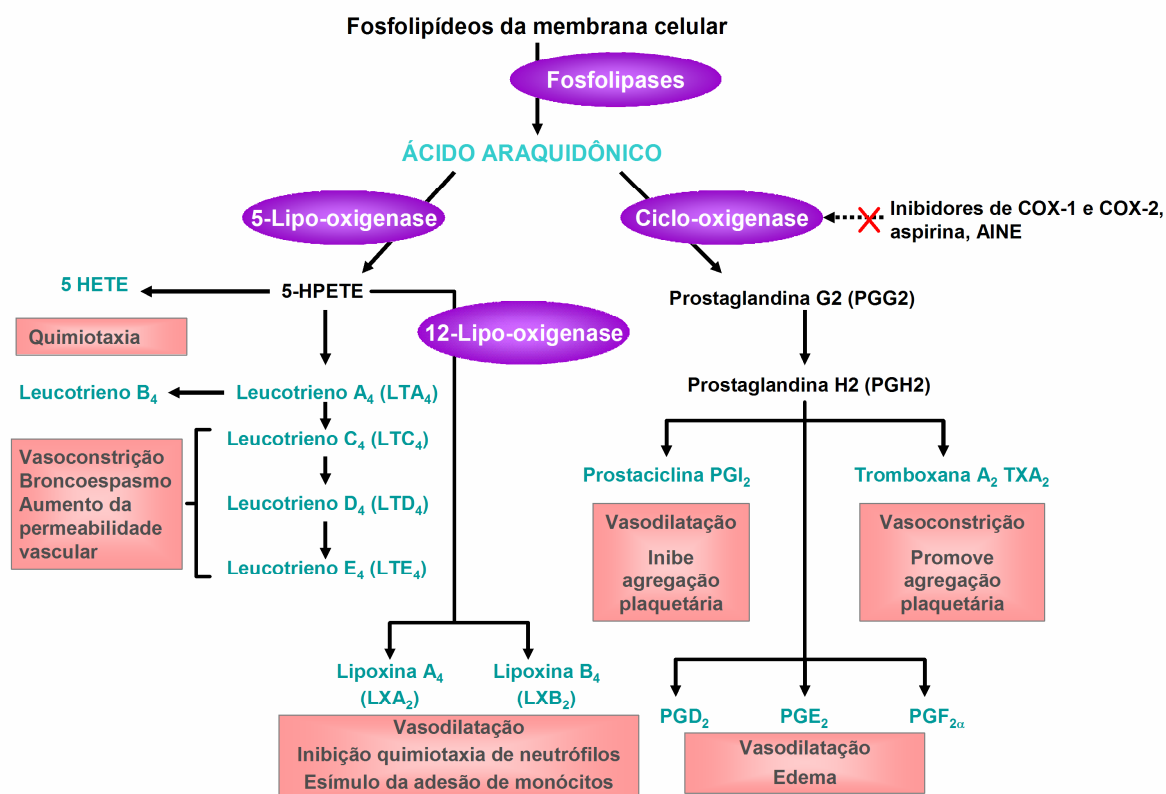
O AA é então convertido aos eicosanóides por duas vias principais: a da ciclo-oxigenase e da lipoxigenase. As prostaglandinas (PGD₂, PGE₂, PGF_{2α}) e PGI₂ e tromboxanes são formadas na primeira e os leucotrienos na última (Figura 3).^{(17, 98,}

99)

A via da lipoxigenase envolve a conversão do AA em derivados hidroperóxidos (HPETE) que serão utilizados na formação dos leucotrienos e lipoxinas, sabidamente imuno-moduladores da hipersensibilidade e inflamação (Figura 3).⁽¹⁰⁰⁾

As PGs são sintetizadas virtualmente em todos os tecidos humanos e podem atuar de forma parácrina ou autócrina.^(17, 23, 98) A PGH₂ é o substrato para produção da prostaciclina, tromboxanas (TXA) e das prostaglandinas mais estáveis (PGD₂, PGE₂, PGF_{2α}), através de reações enzimáticas próprias de cada célula (Figura 3).
(17)

Figura 3: Metabolismo do ácido araquidônico. Adaptado de Kumar *et al.*⁽¹⁰¹⁾



As respostas teciduais das PGs são mediadas por receptores de membrana acoplados a proteínas reguladoras dependentes do nucleotídeo guanina, promovendo alterações na concentração intracelular de adenosina monofosfato cíclico (AMPc) e cálcio. Apesar da similaridade do mecanismo de ação, cada PG tem um efeito biológico distinto. Teoricamente, a resposta de uma PG pode ser diferente em tecidos diferentes dependendo do tipo de receptor expressado. ^(17, 23, 24)

O papel das PGs na modulação da inflamação engloba a dilatação arterial e o extravasamento de proteínas plasmáticas e de leucócitos. A resposta vascular inicial após estímulo pró-inflamatório ocorre com vasodilatação e formação de edema decorrentes da liberação local de vários mediadores moleculares, que incluem além das PGs a histamina, a serotonina e a bradicinina, os quais apresentam efeito sinérgico. Ainda, referente ao processo inflamatório, há evidências de que as PGs sensibilizam receptores de dor via neurônios central e periférico. ⁽²⁴⁾

As ações biológicas das PGs no TGI são diversas. Elas podem modular o fluxo sanguíneo, algumas com propriedades vasoconstritoras e outras vasodiladoras, anteriormente descritas. São importantes moduladoras da secreção gástrica de bicarbonato e a PGE₂ é sabidamente inibidora da secreção ácida mediada pela histamina. As PGs também desempenham papel na resposta imunológica, incluindo a proliferação celular do TGI e a regulação da síntese de potentes mediadores pró-inflamatórios, como por exemplo, a interleucina-1. ⁽⁹⁸⁾

Os receptores de PGE₁ e PGE₂ estão bem caracterizados no TGI, com sua capacidade de inibir tanto a secreção ácida quanto a de pepsina bem documentada, ambas induzidas por secretagogos como a pentagastrina e histamina. ^(23, 98)

As PGE₂ e PGI₂ têm capacidade citoprotetora na mucosa gástrica. Vários mecanismos de citoproteção são sugeridos, mas nenhum deles ainda é aceito como inequívoco e resultados contraditórios são descritos por alguns autores. Dentre eles, pode-se citar o aumento do fluxo sanguíneo, elevação da secreção de muco e bicarbonato, manutenção da integridade endotelial, redução da contratilidade gástrica, inibição da secreção dos granulócitos e estabilização das membranas de mastócitos e lisossomas. ⁽⁹⁸⁾ Já foi demonstrada a capacidade das PGE₂ e PGI₂ de inibir a produção de radicais livres e liberação enzimática pelos neutrófilos. ⁽⁹⁸⁾ As PGs são também importantes na carcinogênese ao modularem a proliferação celular, apoptose e angiogênese. ⁽¹⁸⁻²¹⁾

2.3 A enzima ciclo-oxigenase e o trato gastro-intestinal.

A ciclo-oxigenase é a enzima responsável pela conversão do AA em PG, TXA₂ e PGI₂. Pelo menos duas isoformas foram identificadas nos seres humanos, a COX-1 e COX-2, que dividem 60% de homologia na cadeia de aminoácidos e têm atividades enzimáticas similares. ⁽²²⁾

A COX-1 é uma enzima constitutiva dos tecidos gastro-intestinais, à qual é atribuída a função de manutenção da integridade celular, através da síntese das PG envolvidas na proteção tecidual. ^(23, 24) Seus níveis não se alteram em resposta a estímulos tais como citocinas e fatores de crescimento. ⁽²³⁾

Ao contrário, a expressão da COX-2 é baixa ou indetectável na maioria dos tecidos em condições basais, sendo estimulada por mediadores inflamatórios (interleucina-1), fatores de crescimento, promotores tumorais (fator de necrose tumoral α e interferon-gama) e oncogenes. ⁽²³⁻²⁵⁾ Por outro lado, glicocorticóides e interleucina-10 são capazes de inibir a indução da COX-2. ^(23, 24) O óxido nítrico

estimula a síntese de prostaglandinas *in vitro*, provavelmente, pela via da ciclo-oxigenase. ^(23, 24)

A resposta inflamatória no TGI é um processo dinâmico integrado e modulado por uma grande variedade de mecanismos celulares e hormonais, que incluem peptídeos solúveis como as citocinas, metabólitos ativos do oxigênio, fator de ativação plaquetária, produtos do metabolismo bacteriano e eicosanóides. Em experimentos animais de modelos de inflamação, a expressão e atividade da COX-2 estiveram marcadamente alteradas, enquanto os níveis da proteína COX-1 mantiveram-se inalterados nestes casos. ⁽²³⁾

Várias linhas de pesquisa demonstraram o efeito protetor dos anti-inflamatórios não esteroidais, promovendo a redução da incidência do câncer colorretal. O mecanismo de proteção ainda não foi completamente esclarecido, porém acredita-se que uma alteração no metabolismo do AA, através da inibição da COX-2 pelo anti-inflamatório esteja envolvida. ^(18, 23, 26)

A mucosa gástrica normal expressa quase que exclusivamente a isoforma COX-1. A expressão da COX-2 na mucosa gástrica normal é baixa ou abaixo dos níveis de detecção. Por outro lado, níveis elevados de RNAm de COX-2 e aumento da expressão desta enzima, ao estudo imuno-histoquímico, têm sido detectados em espécimes de adenocarcinoma gástrico, principalmente no tipo intestinal. ^(25-32, 102)

Wilson *et al.* evidenciaram níveis significativamente elevados de RNAm da COX-2 e imuno-expressão desta proteína no esôfago de Barrett, em comparação a controles pareados de mucosa gástrica normal. ⁽³³⁾

Apesar da maioria dos estudos demonstrarem o aumento da expressão da COX-2 no esôfago de Barrett, Zimmermann *et al.* evidenciaram imuno-expressão aumentada da COX-2 no adenocarcinoma do esôfago, porém não encontrando o

mesmo achado no Barrett. No mesmo estudo observaram ainda elevada imunoreatividade da COX-2 no carcinoma espino-celular. ⁽¹⁰³⁾

Shirvani *et al.* encontraram expressão fraca da COX-2 no epitélio esofágico e duodenal normais, porém com expressão aumentada no esôfago de Barrett, na displasia a ele associada e no adenocarcinoma de esôfago. Neste trabalho, ácidos e sais biliares induziram aumento significativo da expressão da COX-2 em cultura de células de Barrett, atenuado pelo uso de inibidores seletivos da COX-2. ⁽³⁵⁾

No estudo de Kandil *et al.* o nível de RNAm da COX-2 foi indetectável na mucosa esofágica normal, enquanto 41% dos pacientes com esôfago de Barrett expressaram positivamente a proteína. Não houve diferença de expressão entre os pacientes com e sem displasia. ⁽³⁷⁾

Buskens *et al.* encontraram expressão fraca ou ausente da COX-2 no epitélio esofágico normal, 50% de positividade no esôfago de Barrett e 98,6% no adenocarcinoma do esôfago. Observaram ainda que a expressão da proteína esteve associada à maior incidência de metástase à distância e recorrência local da doença, bem como redução significativa da sobrevida. ⁽¹⁰²⁾

Lagorce *et al.* demonstraram, por estudo imuno-histoquímico, maior expressão da COX-2 no esôfago de Barrett e adenocarcinoma associado, em comparação a mucosa do esôfago normal. ⁽³⁶⁾ Nos casos de Barrett, a expressão da COX-2 foi observada em 91% daqueles sem displasia, 94% nos com displasia, e 97% nos adenocarcinomas. A expressão da COX-2 foi mais elevada na mucosa do esôfago de Barrett com e sem displasia e adenocarcinoma em comparação ao epitélio esofágico normal, entretanto sem diferença entre eles. Assim, como os autores do trabalho anteriormente citado, este grupo sugere que a proteína COX-2 deva representar seu papel precocemente na metaplasia do Barrett. ⁽³⁶⁾

O aumento da expressão da COX-2 no esôfago de Barrett e adenocarcinoma do esôfago também foi confirmado no estudo de Morris *et al.* Contudo, ao contrário do estudo de Lagorce *et al.* encontraram expressão progressivamente mais elevada de acordo com o grau de displasia. ⁽¹⁰⁴⁾

Na resposta ao refluxo gastro-esofágico, a patogênese do adenocarcinoma do terço distal do esôfago envolve a seguinte seqüência de eventos: substituição do epitélio escamoso normal por epitélio colunar metaplásico (esôfago de Barrett) e progressão da metaplasia colunar para displasia até o adenocarcinoma. ^(26, 104) Muitos autores acreditam que a COX-2 tenha papel importante nesta seqüência, atuando de forma direta nos fatores celulares que serão discutidos a seguir. ^(18, 26, 36, 37, 104) O aumento da expressão da COX-2 e seu papel no desenvolvimento do adenocarcinoma de esôfago foi confirmado por vários autores. ^(35, 36, 103-106)

A importância da COX-2 na carcinogênese de tecidos gastro-intestinais está bem estabelecida, porém os mecanismos de ação envolvidos ainda não estão completamente esclarecidos. ^(18, 23, 34, 36, 38-42, 107) Há evidências de que a inibição da apoptose e a promoção do crescimento celular, estímulo da angiogênese, além de aumento do potencial invasivo e metastático estejam envolvidos. ^(18-21, 25, 30, 34, 41-43)

Tsujii *et al.* demonstraram *in vitro* que as células que expressam COX-2 são resistentes a apoptose, e apresentam aumento da expressão do gene bcl-2 (supressor da apoptose celular). ⁽⁴²⁾

Sheng *et al.* utilizando a PGE₂ e um inibidor seletivo da COX-2 também evidenciaram *in vitro* que a COX-2 é capaz de inibir a morte celular programada em células intestinais epiteliais. Observaram ainda, que a PGE₂ além de inibir a apoptose celular induziu a expressão do gene bcl-2. ⁽²⁰⁾ Recentemente Chen *et al.* encontraram expressão bastante elevada da COX-2 e do gene bcl-2 no

adenocarcinoma gástrico, reforçando a hipótese de que a COX-2 deva regular a expressão do gene supressor da apoptose celular. ⁽³⁰⁾

A inibição seletiva da COX-2 foi capaz de levar a supressão da proliferação celular e aumentar apoptose em estudos *in vitro* com células do adenocarcinoma associado ao esôfago de Barrett, que expressam positivamente a COX-2. ^(34, 107)

O aumento da agressividade e do poder metastático das células tumorais positivas para COX-2 foi atribuído, por Tsujii *et al.*, à modulação da adesão celular. A expressão das proteínas de adesão está sabidamente reduzida nas células positivas para COX-2, o que pode promover a redução da adesão celular e aumentar seu potencial invasivo. ⁽⁴²⁾ Outro mecanismo provavelmente envolvido é a ativação das metaloproteinases 1 e 2, enzimas capazes de digerir a matriz de colágeno da membrana basal, estimulando a disseminação neoplásica. ⁽⁴³⁾

Estimulados pela evidência de que o crescimento tumoral é diretamente dependente da irrigação vascular, Tsujii *et al.* demonstraram *in vitro* que a COX-2 é a enzima reguladora da angiogênese no câncer colorretal, através do estímulo a migração endotelial e formação vascular. ⁽¹⁸⁾ A correlação entre a expressão da COX-2 no adenocarcinoma do esôfago e a maior produção de fatores de crescimento endotelial (VEGF-A) e linfático (VEGF-C) foi confirmada posteriormente. ⁽⁴¹⁾

Estudos populacionais demonstraram que o uso de anti-inflamatório foi capaz de reduzir a incidência e a mortalidade do câncer de esôfago. ^(108, 109) A redução dos óbitos esteve relacionada à regularidade e tempo de uso da medicação. ⁽¹⁰⁹⁾

A associação da expressão da COX-2 com a infecção pelo HP foi estudada por diversos autores. Em estudo *in vitro* com células gástricas, o HP promoveu elevação dos níveis de RNAm de COX-2 e na produção de PGE₂ pela ciclo-

oxigenase. ⁽¹¹⁰⁾ A expressão da COX-2 foi negativa na mucosa gástrica normal não colonizada pelo HP, enquanto sua imuno-expressão esteve aumentada na gastrite associada ao HP e lesões gástricas ulceradas. ⁽¹¹¹⁾ Sung *et al.* encontraram maior expressão da COX-2 em espécimes de biópsias de pacientes infectados pelo HP com gastrite crônica ativa, gastrite atrófica, metaplasia intestinal e adenocarcinoma gástrico. Esta expressão foi superior à dos controles não-infectados, porém sem diferença significativa entre os grupos. ⁽³¹⁾

Acredita-se que o HP contribua para o aumento da expressão da COX-2 através da liberação de substâncias que levam à transcrição da enzima ou ao estímulo da produção de citocinas pró-inflamatórias, estas, por sua vez, capazes de estimular a transcrição da enzima e estabilização do RNAm. ⁽²⁵⁾

Em estudo realizado por Yu *et al.* a expressão da COX-2 foi significativamente superior nos casos de metaplasia intestinal ou displasia associados à infecção pelo HP, do que naqueles sem a bactéria. ⁽³²⁾

A associação da expressão da COX-2 e a presença do refluxo gastro-esofágico foi estudada por Hanoui *et al.* Estes autores sugeriram que a expressão da COX-2 no epitélio esofágico normal fosse modulada pela exposição ácida em pacientes com sintomas de refluxo gastro-esofágico, uma vez que a expressão da proteína foi significativamente mais acentuada neste grupo de pacientes. No entanto, não observaram correlação com a presença de esofagite endoscópica ou histológica. ⁽¹¹²⁾

Até o momento, não foi possível estabelecer uma associação clara da mucosa gástrica ectópica com o esôfago de Barrett, bem como nenhuma evidência de que exista risco elevado de malignização. Assim, não há indicação formal da realização de biópsias da lesão bem como não há orientação a respeito do seu

seguimento. Avaliar a imuno-expressão da COX-2 na MGE, proteína comprovadamente elevada no esôfago de Barrett e com associação bem estabelecida com a carcinogênese nos tecidos gastro-intestinais, motivou a realização deste estudo.

3 OBJETIVOS

1- Avaliar a imuno-expressão da proteína COX-2 em biópsias de mucosa gástrica ectópica do esôfago cervical e compará-la a imuno-expressão da mesma proteína em biópsias do esôfago distal, antro e corpo gástrico normais e do esôfago de Barrett.

2- Avaliar a prevalência da mucosa gástrica ectópica no esôfago cervical na amostra estudada, bem como seu padrão histológico e a colonização pelo HP.

4 CASUÍSTICA E MÉTODO

4.1 Casuística.

Foram avaliados prospectivamente os pacientes submetidos à endoscopia digestiva alta (EDA) no Setor de Endoscopia Digestiva da Disciplina de Gastroenterologia da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), no período de agosto de 2001 a maio de 2002. Os exames realizados em caráter de urgência foram excluídos.

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNIFESP (Anexo). Todos os pacientes assinaram termo de consentimento livre e esclarecido antes da inclusão no estudo.

O esôfago cervical foi avaliado cuidadosamente à procura de ilhotas de MGE. Os dados demográficos dos pacientes (sexo e idade), sintomas que os levaram à realização do exame endoscópico, os dados da endoscopia propriamente dita e características da MGE (tamanho e número) foram registrados no momento do exame. Os pacientes com MGE foram submetidos à pesquisa do HP por teste ultrarrápido da urease ⁽¹¹³⁾ em fragmento de biópsia do antro gástrico. O fragmento de biópsia da MGE foi encaminhado para avaliação histológica no Departamento de Patologia da UNIFESP.

O grupo das amostras de tecidos normais e o grupo com esôfago de Barrett foram obtidos por levantamento do banco de dados do Setor de Endoscopia e do Departamento de Patologia. Para o grupo com mucosas normais, foram selecionados retrospectivamente indivíduos com características demográficas comparáveis ao grupo da MGE, encaminhados ao serviço de endoscopia no período do estudo, que apresentavam exame endoscópico normal e que haviam sido submetidos à biópsias do esôfago distal, antro e corpo gástrico por solicitação do médico assistente. Na seleção dos pacientes com esôfago de Barrett foi utilizado o

Banco de dados do Departamento de Patologia, do qual foram extraídos também pacientes com características demográficas comparáveis e diagnóstico histológico confirmado sem evidência de displasia. Em todos os grupos, os cortes histológicos foram adquiridos dos blocos de parafina do arquivo do Departamento de Patologia da UNIFESP.

O fragmento da biópsia da MGE foi submetido à avaliação histológica, quanto ao tipo de epitélio presente e à colonização pelo HP, além do estudo imuno-histoquímico, como será descrito adiante. Os fragmentos dos grupos controle e esôfago de Barrett foram revisados para confirmação do diagnóstico histológico e encaminhados para avaliação imuno-histoquímica.

4.2 Método.

4.2.1 Avaliação endoscópica.

A EDA foi realizada segundo técnica habitual em todos os pacientes, após jejum de pelo menos 8 horas, utilizando anestesia tópica com “spray” de lidocaína na orofaringe, dimeticona por via oral e sedação endovenosa com doses individualizadas de midazolam, diazepam e meperedina. Os exames endoscópicos foram realizados com videogastoscópios de visão frontal.

4.2.2 Diagnóstico da infecção pelo HP com o teste ultra-rápido da urease.

Durante o exame endoscópico a pesquisa do HP foi realizada pelo teste ultra-rápido da urease nos pacientes com diagnóstico de MGE em fragmentos de biópsia do antro gástrico. ⁽¹¹³⁾ Este teste foi preparado diariamente e imediatamente antes do início do exame endoscópico, adicionando-se em frasco de vidro, 1 mL de água

destilada, 0,1g de uréia a 10% e duas gotas de vermelho de fenol a 1%. A solução preparada apresentava cor amarelada. Após a retirada dos fragmentos, eles eram imediatamente submersos nesta solução à temperatura ambiente. O teste foi interpretado como positivo quando ocorria mudança na coloração da solução do amarelo para o tom róseo ou vermelho em tempo inferior a cinco minutos.

4.2.3 Análise histológica dos fragmentos de biópsias de mucosa gástrica ectópica.

Os cortes histológicos da MGE foram submetidos à coloração com hematoxilina-eosina (HE) e Giemsa modificado ⁽¹¹⁴⁾, conforme descrição no Anexo 2 e 3, todas elas revisadas por um único patologista.

Os parâmetros avaliados nestas lâminas foram os seguintes:

- Tipo de mucosa gástrica encontrado: fúndica (compostas por células parietais, principais e secretoras de muco), antral (predomínio de células mucosas), ou mista; ⁽¹¹⁵⁾
 - Presença de metaplasia intestinal;
 - Processo inflamatório agudo: ausente (-) ou presente (1 a 3+), segundo a seguinte graduação: (1+) atividade em até 1/3 do número de glândulas presentes no fragmento da biópsia; (2+) atividade em até 2/3 do número de glândulas; (3+) atividade em todas as glândulas;
 - Processo inflamatório crônico: ausente (-) ou presente (1 a 3+), segundo a seguinte graduação: (1+) atividade em até 1/3 do número de glândulas presentes no fragmento da biópsia; (2+) atividade em até 2/3 do número de glândulas; (3+) atividade em todas as glândulas;
 - Presença do *Helicobacter pylori*;
-

4.2.4 Avaliação imuno-histoquímica.

O anticorpo utilizado para localização da proteína COX-2 foi a imunoglobulina IgG monoclonal anti-COX-2 contra antígeno humano obtida em camundongo (DAKO, Glostrup, Denmark) na diluição de 1:100.

O método de imuno-histoquímica, descrito no Anexo 4, para detecção da expressão da COX-2 foi empregado em um total de 52 amostras de biópsias, incluindo as lâminas do grupo da MGE, controles e esôfago de Barrett.

O método adotado para a reação imuno-histoquímica foi da estreptavidina-biotina-peroxidase, o qual utiliza três reagentes e é baseado na capacidade da estreptavidina ligar-se a biotina. O primeiro reagente utilizado é o anticorpo primário específico para o antígeno a ser localizado, enquanto o segundo reagente, representado pelo anticorpo secundário conjugado à biotina com capacidade para ligar-se especificamente ao anticorpo primário. O terceiro é o complexo peroxidase conjugado à biotina associada a estreptavidina. Ao final, utilizou-se um substrato e agente cromogênico, que permite visualizar o antígeno, devido à formação de um precipitado marrom estável na região correspondente ao citoplasma da célula.

4.2.5 Interpretação das reações imuno-histoquímicas.

Os dados foram categorizados através do sistema de escore descrito por Yamauchi *et al.* baseado na intensidade da reação e extensão da área corada.⁽³⁸⁾ A intensidade da reação e a extensão da área positiva (extensão da área corada) foram pontuadas, da seguinte forma:⁽³⁸⁾

Intensidade da reação:

1 - Fraca

2 - Moderada

3 - Forte

Extensão da área positiva:

0 - menos de 10%

1 - 10 a 40%

2 - 40 a 70%

3 - acima de 70%

No cálculo do escore de avaliação da imuno-expressão da COX-2 a pontuação da intensidade da reação foi multiplicada pela extensão da coloração gerando resultados de 0 a 9. As reações que obtiveram escore igual ou maior a 3 foram consideradas positivas e aquelas com valor menor que 3 foram ditas negativas.

O controle positivo foi um fragmento de adenocarcinoma de esôfago com expressão da proteína COX-2 sabidamente positivo em avaliação prévia.

4.3 Análise estatística.

A análise descritiva dos dados foi realizada pelo cálculo das medidas (médias e desvio padrão) e, também, pela construção de gráfico tipo *Box-Plot*.

A análise estatística das variáveis categóricas e numéricas foi realizada respectivamente pela utilização do teste “t” de *Student* e do teste exato de Fischer, executados no programa R 2.2.1. ⁽¹¹⁶⁾ Considerou-se diferença estatística significativa quando o resultado obtido pelos testes foi inferior a 0,05.

5 RESULTADOS

5.1 Características gerais da amostra estudada.

Foram avaliados prospectivamente 1327 pacientes encaminhados ao Setor de Endoscopia da Disciplina de Gastroenterologia da UNIFESP para realização de endoscopia digestiva alta diagnóstica, por indicações diversas, entre agosto de 2001 e maio de 2002. A média de idade do grupo foi de 48,3 (14 a 89) anos, com desvio padrão de 18,7 anos e a distribuição por sexo mostrou 725 mulheres e 602 homens.

Na amostra analisada foram encontrados 14 casos de MEG (1,1%). O grupo portador de MGE foi constituído por 8 homens e 6 mulheres, com média de idade de 47,4 anos (22 a 84) e desvio padrão de 18,8 anos (Tabela 1).

O grupo de amostras de tecidos normais foi constituído por 10 fragmentos de biópsia de esôfago e estômago endoscopicamente normais, adquiridos de 6 pacientes do sexo feminino e 4 do masculino, com média de idade de 54,5 anos (24 a 67) e desvio padrão de 14,9 anos. O grupo do esôfago de Barrett também foi formado por 10 pacientes, com diagnóstico histológico confirmado, sendo 4 do sexo feminino e 6 do masculino, com média de idade de 54,9 anos (32 a 71) e desvio padrão de 15,7 anos (Tabela 1).

Nenhum paciente dos três grupos referiu uso regular de anti-inflamatório não hormonal ou inibidor de bomba de prótons.

Tabela 1: Características gerais de pacientes com mucosa gástrica ectópica, mucosa normal de esôfago, antro e corpo gástricos e esôfago de Barrett.

Dados dos pacientes	MGE	Mucosa normal	Esôfago de Barrett	P
N	14	10	10	NS
Sexo				NS
Masculino	8 (57,1%)	4 (40,0%)	4 (40,0%)	
Feminino	6 (42,9%)	6 (60,0%)	6 (60,0%)	
Idade (anos)				NS
Média	47,4	54,5	54,9	
Variação	18 a 84	24 a 67	32 a 75	
Desvio-padrão	18,8	14,9	15,7	

5.2 Achados endoscópicos nos pacientes com mucosa gástrica ectópica avaliados no estudo.

Os achados endoscópicos nos pacientes estudados estão resumidos na Tabela 2.

Tabela 2: Achados endoscópicos observados na amostra de 1327 pacientes submetidos à endoscopia digestiva alta no período de agosto de 2001 a maio de 2002.

Diagnóstico endoscópico	N	Porcentagem (%)
Gastrite	443	33,4
Exame normal	247	18,6
Úlcera duodenal ativa/cicatrizada	203	15,3
Esofagite	184	13,9
Hipertensão portal*	177	13,3
Duodenite	106	7,9
Hérnia hiatal	102	7,7
Úlcera gástrica ativa ou cicatrizada	77	5,8
Cirurgia do TGI**	70	5,3
Outros***	91	6,8
Neoplasia gástrica	19	1,4
Mucosa gástrica ectópica	14	1,1
Esôfago de Barrett	12	0,9
Neoplasia de esôfago	11	0,8
Lesão submucosa do TGI	08	0,6
Outras neoplasias****	06	0,4

*Hipertensão portal incluiu: varizes de esôfago-gástricas, gastropatia congestiva.

**Cirurgia do TGI incluiu: gastrectomia e cirurgia de válvula anti-refluxo.

***Outros incluiu: xantelasma, pâncreas ectópico, pólipos gástrico e/ou duodenal, esofagite infecciosa, megaesôfago e metaplasia intestinal.

****Outras neoplasias incluiu: neoplasia de orofaringe e de papila.

A maioria dos pacientes (71,4%) apresentava apenas uma ilhota de MGE, em três casos (21,4%) foram identificadas duas e somente um paciente (7,2%) apresentava três (Tabela 3). O tamanho das ilhotas variou de 2 a 20 mm, com média de 6,5 mm (Tabela 3). Todas as ilhotas de MGE apresentavam-se como áreas de mucosa avermelhada, lisa, regular e bem delimitada, sem ulcerações ou estenoses associadas.

Dentre os 14 casos de MGE, 8 pacientes apresentavam também gastrite, 4 úlcera duodenal ativa ou cicatrizada, 3 esofagite, 2 hérnia hiatal, 1 hipertensão portal e 1 xantelasma no esôfago (Tabela 3). Não foi encontrado nenhum caso de esôfago de Barrett associado.

Os pacientes com MGE apresentaram achados endoscópicos sugestivos de doença do refluxo esôfago-gástrico (hérnia hiatal, esofagite e esôfago de Barrett) em 28,6% dos casos (4/14), enquanto na amostra geral a prevalência destes achados foi de 18,9% (248/1313). Avaliamos se tais alterações haviam sido mais freqüentes no grupo da MGE em comparação a amostra geral, porém não houve diferença estatística ($p = 0,16$).

Na amostra geral, o teste ultra-rápido da urease foi realizado no antro gástrico em 463 exames (34,9%), nos quais havia indicação de pesquisa da bactéria, tendo sido positivo em 51,2% das vezes (237/463). Já no grupo da MGE, a pesquisa do HP no antro pelo teste da urease foi realizada em todos os casos e foi positiva em 11 pacientes (78,6%). Nos indivíduos com mucosa normal, a pesquisa do HP pela coloração de Giemsa, foi efetuada nos fragmentos do antro e corpo gástrico, em todos os casos, e resultou positivo em 40% da amostra.

Tabela 3: Achados endoscópicos observados nos 14 pacientes com mucosa gástrica ectópica.

Achados endoscópicos	N	Porcentagem (%)
Número de Ilhotas de MGE		
01	10	71,4
02	03	21,4
03	01	7,2
Tamanho da ilhota de MGE		
≤ 10 mm	11	78,6
> 10 mm	03	21,4
Diagnóstico endoscópico associado		
Gastrite	08	57,1
Úlcera duodenal ativa/cicatrizada	04	28,6
Esofagite	03	21,4
Hérnia hiatal	02	14,3
Varizes de esôfago	01	7,2
Xantelasma	01	7,2

5.3 Avaliação histológica dos fragmentos de biópsia da mucosa gástrica ectópica.

Houve problemas logísticos com dois fragmentos de MGE não foram recuperados e estes pacientes foram excluídos da avaliação histológica e imuno-histoquímica.

A avaliação histológica inicial foi efetuada em cortes corados com HE para avaliação do padrão da mucosa gástrica (Figura 4). O tipo de mucosa mais encontrado foi o fúndico, em sete pacientes (58,3%), seguido pelo tipo misto (antral/fúndico) nos demais (Tabela 4).

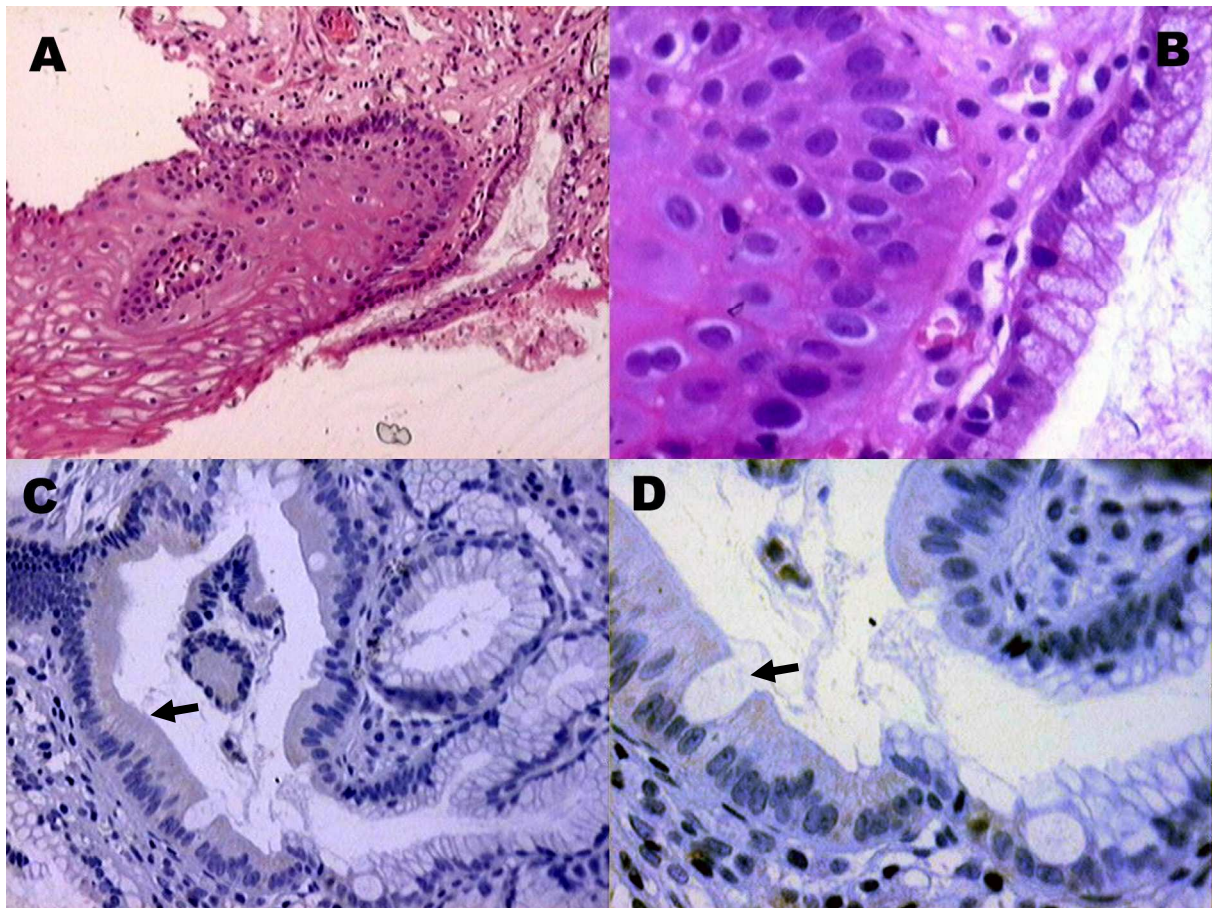
Quanto ao processo inflamatório, observou-se inflamação crônica inativa em três pacientes, crônica com atividade leve em cinco deles e os outros quatro casos não apresentavam processo inflamatório crônico (Tabela 4). Não foi evidenciada inflamação aguda em nenhum dos fragmentos de biópsia da mucosa ectópica. Em dois espécimes de biópsia da MGE foi observada metaplasia intestinal (Figura 4) e em um deles um xantelasma (Tabela 4).

Não foi observada, nesta amostra, correlação entre a presença do processo inflamatório crônico na MGE e os achados endoscópicos de DGRE ($p = 1,00$). A correlação entre a presença do processo inflamatório crônico e a infecção pelo HP será discutida adiante. Não foi identificado nenhum grau de displasia celular em nenhum dos espécimes de biópsias da MGE.

Tabela 4: Achados histológicos observados nos 12 fragmentos de mucosa gástrica ectópica analisados.

Parâmetros histológicos	N	Porcentagem (%)
Padrão de mucosa		
Fúndica	07	58,3
Antral/Fúndica	05	41,7
Processo inflamatório crônico		
Ausente	04	33,3
Inativo	03	25,0
Atividade leve (até 1/3 da extensão)	05	41,7
Processo inflamatório agudo		
Ausente	12	100,0
Pesquisa do HP (Giemsa)		
Negativa	06	50,0
Positiva	06	50,0
Outros achados histológicos		
Metaplasia intestinal	02	16,6
Xantelasma	01	8,3

Figura 4: Cortes histológicos de fragmentos de mucosa gástrica ectópica. A: HE (100x) mostrando a transição do epitélio escamoso para o epitélio colunar. B: HE (400x) mostrando detalhe da transição do epitélio escamoso para o epitélio colunar. C: Imuno-histoquímica (200x) documentando presença de metaplasia intestinal com borda em escova (seta). D: (400x) detalhe do mesmo corte com presença de células caliciformes (seta).



A pesquisa do HP na mucosa gástrica ectópica, pela da coloração de Giemsa modificado, foi positiva em 6 pacientes (50%) (Figura 5) sendo que todos eles apresentaram a bactéria no antro gástrico. Ao avaliarmos a prevalência da bactéria na MGE apenas naqueles indivíduos colonizados no antro gástrico, esta taxa foi de 66,7% (6/9 casos).

A colonização pelo HP (Tabela 5) foi mais freqüente quando o epitélio encontrado era do tipo misto (66,7%), entretanto esta diferença não foi significativa ($p = 1,00$). Observou-se também, que a bactéria teve maior prevalência na presença de processo inflamatório crônico (83,3%) em comparação aos casos sem inflamação (16,7%), com diferença estatística significativa ($p = 0,01$). Quanto à associação da metaplasia intestinal e mucosa ectópica, um paciente apresentava o HP e o outro não, não havendo diferença estatística ($p = 1,00$).

Todos os pacientes nos quais a pesquisa do HP na mucosa ectópica estava positiva apresentavam também a bactéria no antro gástrico (6/6). Os outros três pacientes colonizados no antro gástrico não apresentaram a bactéria na mucosa ectópica ($p = 0,18$).

A colonização da MGE pelo HP também não foi influenciada pela presença de achados endoscópicos de refluxo esôfago-gástrico, uma vez que, nenhum dos pacientes com a infecção na mucosa ectópica apresentou tais achados. Por outro lado, 66,7% dos pacientes (4/6) sem a infecção na heterotopia mostraram pelo menos um dos achados sugestivos de refluxo ($p = 0,06$).

Figura 5: A e B: Cortes histológicos de fragmentos de mucosa gástrica ectópica, em casos distintos, com coloração de Giemsa modificado (1.000x), mostrando a presença do *Helicobacter pylori* (seta).

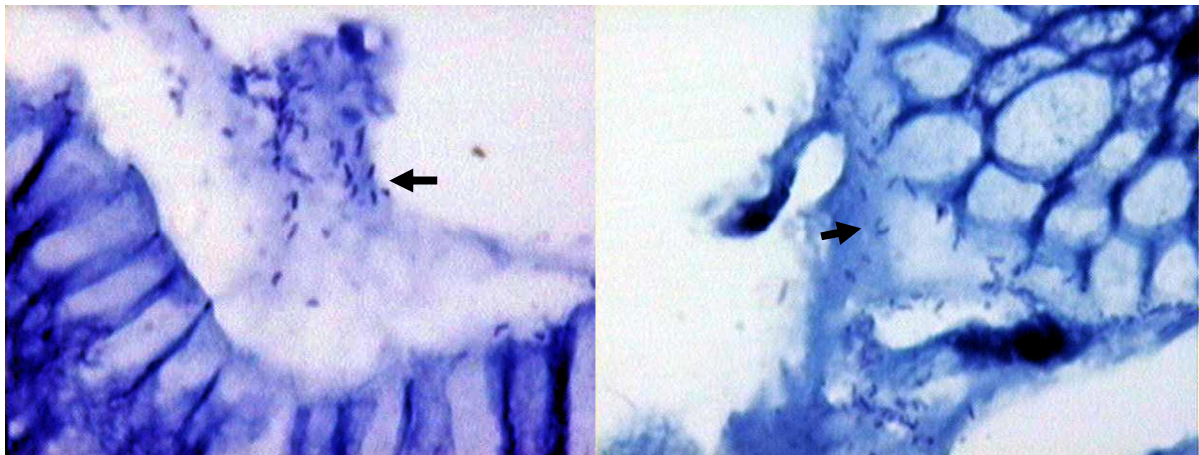


Tabela 5: Características dos 12 fragmentos de mucosa gástrica ectópica analisados quanto à colonização pelo *Helicobacter pylori*.

Parâmetros avaliados	HP positivo	HP negativo	p
Padrão de mucosa			
Fúndica	2	3	
Antral/Fúndica	4	3	0,99
Processo inflamatório crônico			
Ausente	1	3	
Inativo	0	3	
Atividade leve (até 1/3 da extensão)	5	0	0,01
Metaplasia intestinal			
Presente	1	1	
Ausente	5	5	1,00
Teste da urease no antro			
Positivo	6	3	
Negativo	0	3	0,18
Achados endoscópicos de DRGE			
Presente	0	4	
Ausente	6	2	0,06

DRGE: Doença do refluxo gastro-esofágico

5.4 Avaliação Imuno-histoquímica.

Os fragmentos de biópsia foram divididos em cinco grupos para avaliação dos resultados imuno-histoquímicos, sendo eles: MGE, esôfago normal, antro gástrico normal, corpo gástrico normal e esôfago de Barrett.

A avaliação da reação imuno-histoquímica mostrou positividade na expressão da proteína COX-2 na MGE em 41,7%. A Figura 6 ilustra este achado.

Nas biópsias dos indivíduos dos grupos normais (esôfago, antro e corpo normal), a expressão da proteína COX-2 foi negativa em todos os fragmentos. A Figura 7 ilustra este achado.

No grupo do esôfago de Barrett a imuno-expressão da COX-2 foi positiva em 9 casos (90%). A Figura 8 ilustra a expressão no esôfago de Barrett.

A análise estatística demonstrou diferença significativa entre os grupos ($p = 0,001$). A expressão da COX-2 na MGE foi significativamente maior do que nos fragmentos de tecido normal ($p = 0,04$) e menor do que no esôfago de Barrett ($p = 0,03$). Estes dados estão sumarizados na Tabela 6.

Tabela 6: Resultados da avaliação imuno-histoquímica encontrados nos fragmentos de mucosa gástrica ectópica, mucosa de esôfago, antro gástrico e corpo gástrico normais e esôfago de Barrett.

Parâmetro imuno-histoquímicos	N (%)
Mucosa gástrica ectópica	
Negativo (0 a 3)	7 (58,3)
Positivo (≥ 3)	5 (41,7)
Esôfago normal	
Negativo (0 a 3)	10 (100,0)
Positivo (≥ 3)	0 (0)
Antro gástrico normal	
Negativo (0 a 3)	10 (100,0)
Positivo (≥ 3)	0 (0)
Corpo gástrico normal	
Negativo (0 a 3)	10 (100,0)
Positivo (≥ 3)	0 (0)
Esôfago de Barrett	
Negativo (0 a 3)	1 (10,0)
Positivo (≥ 3)	9 (90,0)

p = 0,001

Figura 6: Cortes histológicos de fragmentos de mucosa gástrica ectópica submetidos à reação imuno-histoquímica com anticorpo anti-COX-2. A: (200x) acentuada imunopositividade em células epiteliais. B: (400x) detalhe da imunopositividade citoplasmática. C: (200x) e D: (400x) evidenciando imuno-expressão da COX-2 nas células epiteliais.

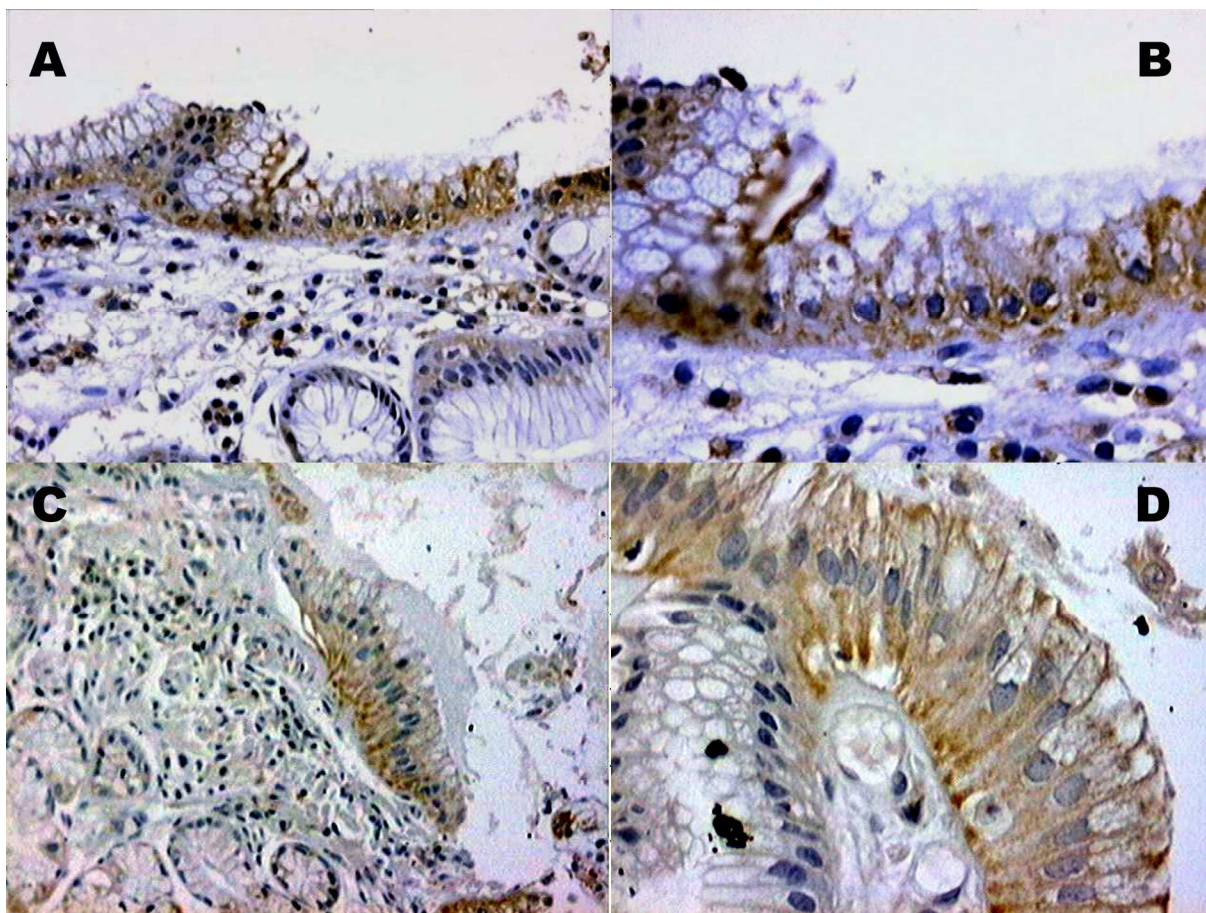


Figura 7: Corte histológico de fragmento de mucosa gástrica normal submetido à reação imuno-histoquímica com anticorpo anti-COX-2, com aumento de 200x, mostrando ausência de imuno-expressão da COX-2.

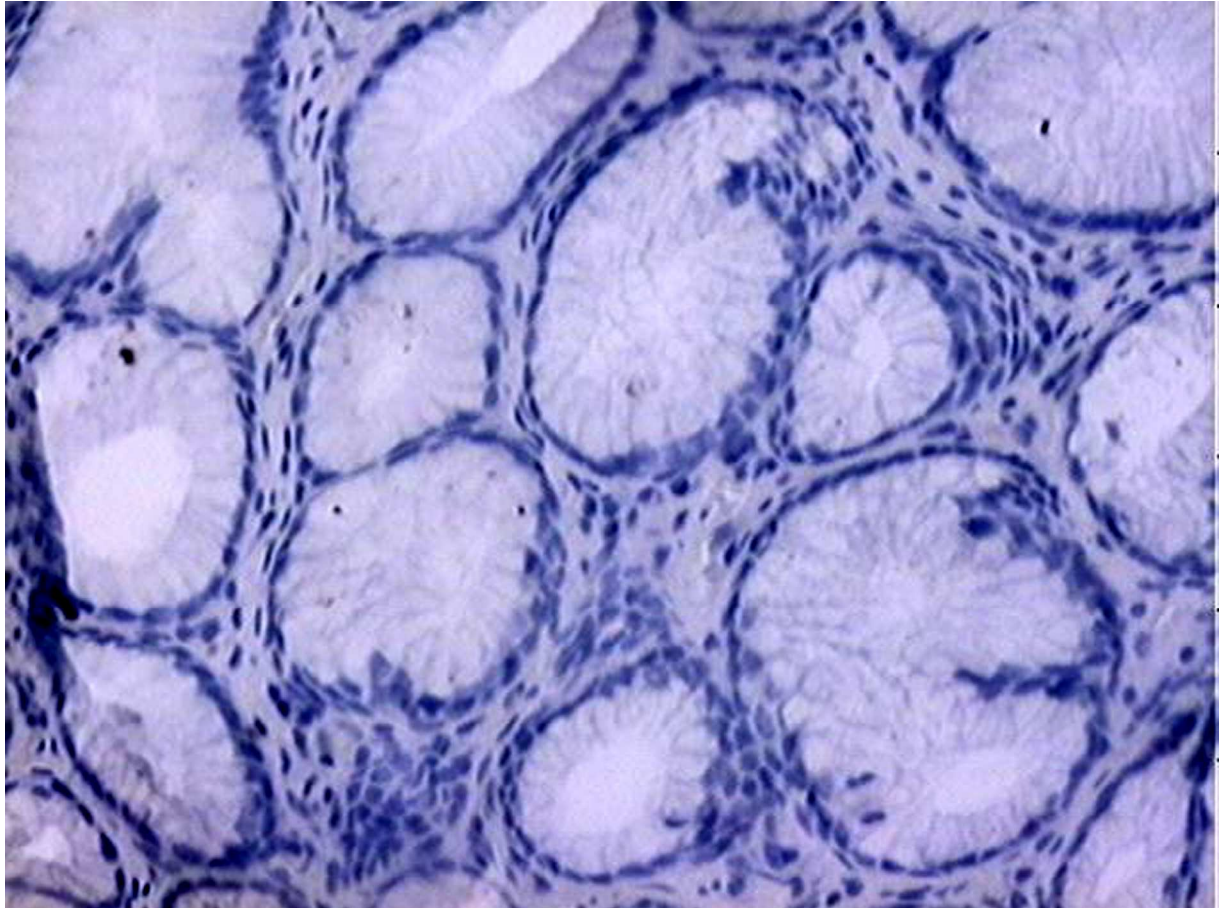
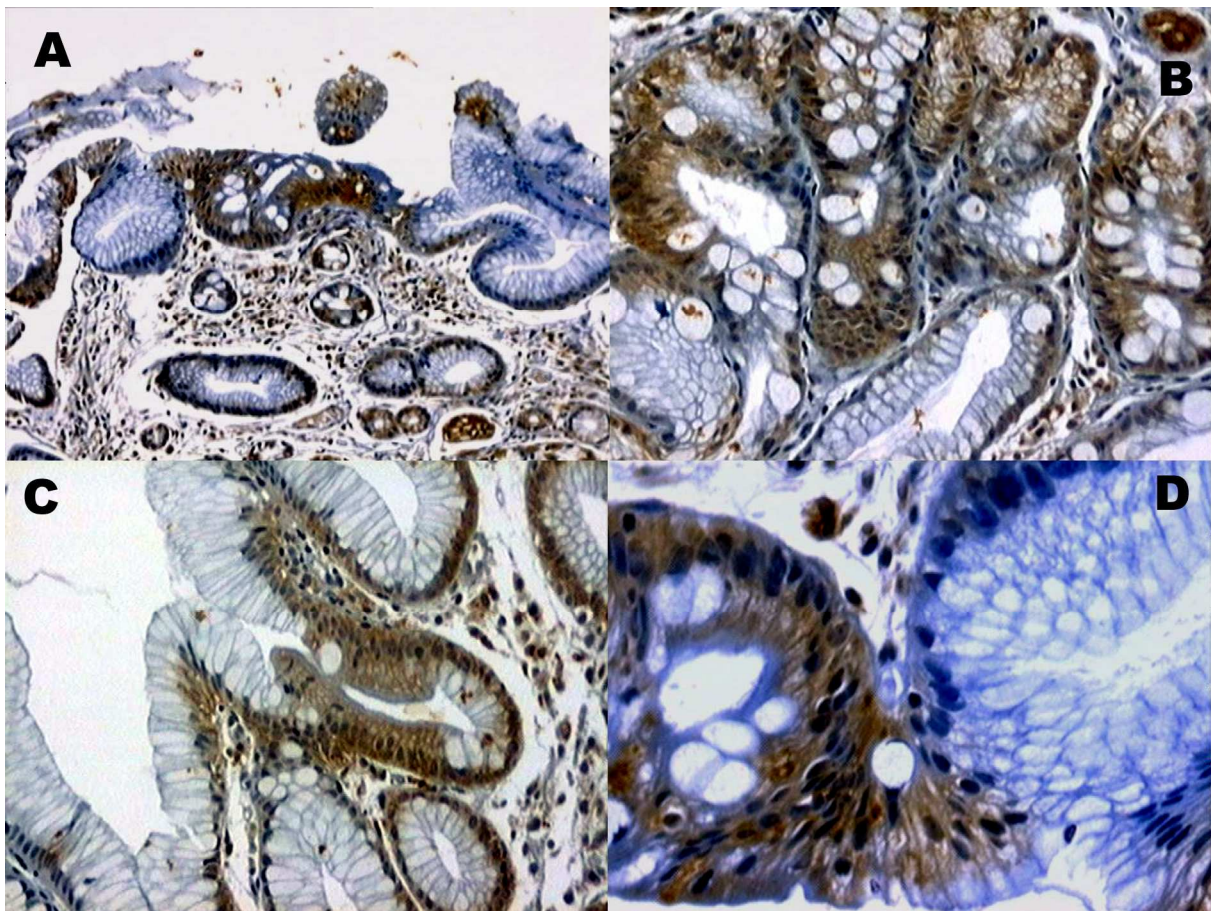
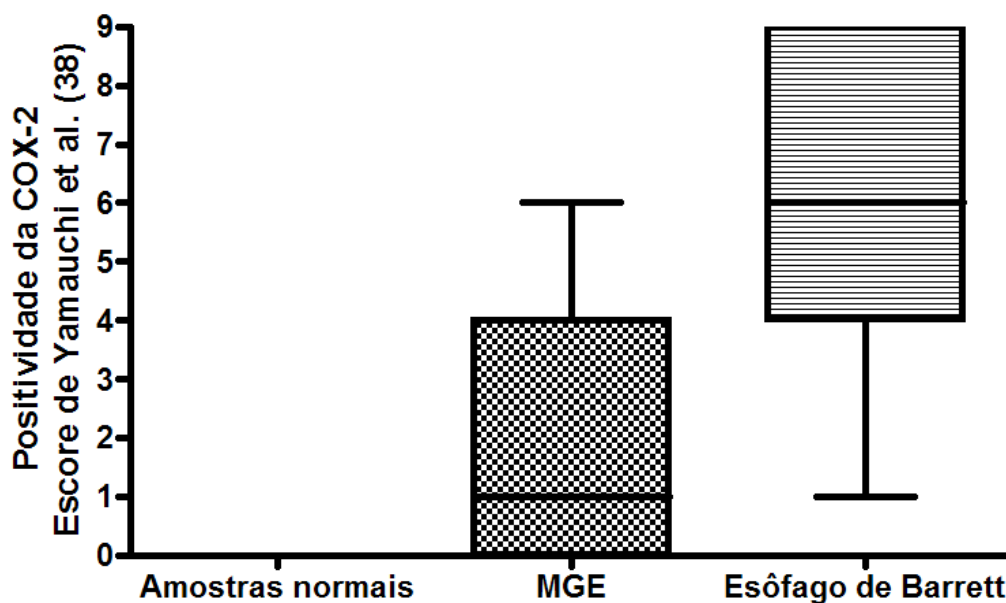


Figura 8: Cortes histológicos de fragmentos de esôfago de Barrett submetidos à reação imuno-histoquímica com anticorpo anti-COX-2. A: (100x) expressão da COX-2 no epitélio metaplásico. B e C: (200x) diferença da expressão da COX-2 no epitélio metaplásico e colunar. D: (400x) realce da diferença da expressão de COX-2 em ambos epitélios analisados.



A média do escore de Yamamuchi *et al.* ⁽³⁸⁾ para a imuno-expressão da COX-2 na MGE foi de 2,1, com desvio padrão de 2,3, enquanto no esôfago de Barrett a média foi de 6,1, com desvio padrão de 2,7. Quando analisamos a distribuição da positividade da COX-2 pela média do escore obtido em cada grupo, notamos elevação da expressão da proteína na mucosa ectópica, que progride e atinge o valor máximo no esôfago de Barrett, como pode ser observado no Gráfico 1.

Gráfico 1: Gráfico *Box-Plot* da distribuição da média do escore de positividade da expressão da COX-2 na mucosa normal de esôfago, antro e corpo gástricos, mucosa gástrica ectópica e esôfago de Barrett.



A tabela 7 resume os resultados dos fatores relacionados a imuno-expressão da COX-2 na MGE. No grupo com MGE, a imuno-expressão da COX-2 foi positiva em 5 pacientes, sendo 4 (80%) do sexo masculino, com média de Idade de 38 anos. Dentre os 7 pacientes com MGE que não expressaram a proteína, 4 (57,1%) eram do sexo masculino, com média de idade de 56 anos. Não houve diferença estatística quanto ao sexo e idade entre os pacientes que expressaram ou não a proteína.

O número médio de ilhotas de mucosa gástrica ectópica foi o mesmo (1,4) e o tamanho médio da ilhota foi 7,4 mm naqueles que expressaram a COX-2 e 6,2 mm naqueles com expressão negativa.

Dentre os quatro pacientes com achados endoscópicos de DRGE, três (60%) apresentaram positividade para COX-2 contra apenas um (7,1%) cuja imuno-expressão da COX-2 foi negativa. Não encontramos diferença significativa nesta comparação ($p = 0,22$).

Com respeito ao tipo de mucosa encontrado, o padrão misto foi o mais frequente nos casos COX-2 positivo (60%), enquanto o padrão fúndico (71,4%) foi mais comum quando a expressão da proteína foi negativa, entretanto não houve diferença significativa ($p = 0,56$).

Quanto à presença de processo inflamatório crônico na MGE, pode-se observar que quando a imuno-expressão da COX-2 foi positiva, 20% dos pacientes (1) não apresentava nenhum grau de inflamação crônica, 60% (3) apresentava inflamação inativa e os demais 20% (1) infiltrado inflamatório crônico com atividade leve. Quando a expressão da COX-2 foi negativa, 57,1% (4) dos pacientes apresentava processo inflamatório crônico com atividade leve, enquanto 42,9% (3) não apresentaram inflamação. Também não houve diferença estatisticamente

significante quanto à presença de processo inflamatório crônico e expressão da COX-2 na mucosa ectópica ($p = 0,12$)

O HP foi encontrado em um paciente (20%) com expressão positiva da COX-2 na MGE e em 5 (71,4%) casos com expressão negativa, sem diferença significativa ($p = 0,24$).

A metaplasia intestinal foi observada em 2 pacientes com MGE, ambos não apresentaram imuno-expressão da COX-2 ($p = 0,47$).

Tabela 7: Comparação dos indivíduos com mucosa gástrica ectópica com imuno-expressão positiva e negativa da proteína COX-2.

Parâmetros avaliados	COX-2 positivo	COX-2 negativo	p
Sexo			
Masculino:Feminino	4:1	4:3	0,58
Idade (anos)			
Média	38	56	
Variação	18 - 67	40 - 84	
Diagnóstico endoscópico associado			
Gastrite	01 (20,0%)	06 (85,7%)	0,07
Úlcera duodenal ativa/cicatrizada	0	02 (28,6%)	0,47
Esofagite	02 (40,0%)	01 (14,3%)	0,52
Hérnia hiatal	01 (20,0%)	01 (14,3%)	1,00
Varizes de esôfago	01 (20,0%)	0	0,42
Padrão de mucosa			
Fúndica	02 (40,0%)	05 (71,4%)	
Antral/Fúndica	03 (60,0%)	02 (28,6%)	0,56
Processo inflamatório crônico			
Ausente	01 (20,0%)	03 (42,9%)	
Inativo	03 (60,0%)	0	
Atividade leve (até 1/3 da extensão)	01 (20,0%)	04 (57,1%)	0,12
Pesquisa do HP (Giemsa)			
Positiva	01 (20,0%)	05 (71,4%)	0,24
Metaplasia intestinal	0	02 (28,6%)	0,47

6 DISCUSSÃO

A MGE é um achado do exame endoscópico considerado de baixa relevância clínica. Não há indicação formal de biópsia ou mesmo protocolo para acompanhamento desta alteração.

No estudo aqui apresentado, 14 casos de MGE foram encontrados ao se avaliar 1327 exames endoscópicos realizados num período de 10 meses, uma prevalência de 1,1%, compatível com valores descritos na literatura (0,1% a 10%). Não foi observada diferença estatística quanto a sexo e idade, dados semelhantes aos trabalhos anteriores. ⁽¹⁻¹⁰⁾

A manifestação de sintomas tais como desconforto na orofaringe, rouquidão, odinofagia, disfagia e sensação de queimação no terço superior do esôfago foi descrita em 6,2 a 20% dos pacientes com MGE em estudos prospectivos. ^(1, 3, 5-8)

As características macro e microscópicas das lesões encontradas nesta casuística são similares àquelas previamente relatadas na literatura. Na maioria das vezes foram encontradas lesões únicas (71,4%) e menores que 10 mm (78,6%), com superfície avermelhada, lisa, regular e bem delimitada. ^(1-4, 8-10, 12, 13, 45)

O tipo histológico mais freqüente na MGE neste estudo foi o fúndico (58,3%). A inflamação crônica foi identificada em 66,7% dos casos e a aguda não foi observada em nenhum caso, achados considerados semelhantes aos já publicados. ^(1-5, 9, 11-13)

Os achados endoscópicos de refluxo esôfago-gástrico não foram correlacionados à presença de infiltrado inflamatório ($p = 1,00$).

Em nossa amostra, o HP foi positivo na metade dos casos de MGE (6/12). Considerando apenas os pacientes que apresentavam a bactéria no antro gástrico a taxa de colonização na MGE chegou a 66,7% (6/11). Estes dados são comparáveis

aos valores encontrados em trabalhos anteriores (25 a 56,5% e 40 a 87,5% respectivamente).^(2, 4, 14)

Assim como no estudo de Gutierrez *et al.*, a colonização da MGE pelo HP não foi influenciada pelo tipo de mucosa encontrado ou presença da metaplasia intestinal.⁽¹⁴⁾ Entretanto, ao contrário destes autores, a colonização do antro gástrico pela bactéria em nosso estudo não foi associada à infecção da MGE. Por outro lado, a presença de processo inflamatório crônico e a infecção na MGE foram correlacionadas de forma estatisticamente significante.⁽¹⁴⁾

Dentre os mecanismos implicados na infecção pelo HP na MGE discute-se a importância do refluxo esôfago-gástrico, que para alguns autores desempenha papel importante na colonização da mucosa ectópica.^(14, 53) No presente estudo, os achados endoscópicos compatíveis com DRGE não foram encontrados em nenhum dos pacientes colonizados pelo HP na mucosa ectópica, enquanto 66,7% dos pacientes sem a infecção pela bactéria apresentaram tais alterações endoscópicas.

A metaplasia intestinal esteve presente em 16,6% (2 casos), prevalência pouco acima da descrita na literatura (0 a 10,7%)^(1-5, 9, 12, 13)

Neste estudo, nenhuma complicação associada a mucosa ectópica foi observada, entretanto, foram descritas na literatura disfagia secundária à formação de anel, estenoses benignas,^(9, 12, 45, 60-66) ulceração da mucosa⁽⁶⁷⁾ que pode ser complicada por hemorragia,⁽⁶⁸⁾ fístula esôfago-traqueal⁽⁶⁹⁾ e perfuração.⁽⁷⁰⁾ Lesões polipóides hiperplásicas⁽⁷¹⁻⁷³⁾ ou adenomatosas⁽⁷⁴⁾ também estão descritas na MGE. Podemos encontrar ainda relatos de adenocarcinoma de esôfago associado a MGE.⁽⁷⁵⁻⁹⁴⁾

A prevalência de achados endoscópicos sugestivos de doença do refluxo gastro-esofágico (esofagite erosiva, hérnia hiatal e esôfago de Barrett) não foi maior

nos pacientes com MGE em comparação a amostra geral de 1327 pacientes ($p = 0,16$), assim como na maioria dos estudos. ^(1-4, 8, 45, 55) Feller e Weaver encontraram maior prevalência de hérnia hiatal nos pacientes com MGE, porém sem diferença significativa. ⁽⁷⁾ Jacobs e Dehou identificaram maior frequência de esofagite erosiva nos pacientes com MGE, com diferença significativa. ⁽⁵⁾ Avidan *et al.* encontraram associação significativa entre a presença da MGE e o esôfago de Barrett, hérnia hiatal e úlcera gástrica. ⁽¹⁶⁾ Na casuística aqui apresentada, nenhum caso de esôfago de Barrett associado a MGE foi encontrado.

A tabela 8 apresenta um resumo dos principais estudos a respeito da MGE.

Tabela 8: Resumo dos principais estudos publicados estudando a mucosa gástrica ectópica.

	(3)	(9)	(12)	(7)	(45)	(11)	(1)	(8)	(8)	(5)	(2)	(14)	(4)	Thuler*
Ano de publicação	1985	1986	1986	1986	1988	1990	1991	1994	1994	1997	2000	2003	2004	2006
N	420	324	1000	403	?	?	634	878	1441	674	791	1495	660	1327
Prevalência (%)	3,8	1,2	2	2,5	(12/?)	(11/?)	10	0,34	0,42	4,9	2,27	3,8	1,67	1,1
Tipo de estudo	P	P	P	R	P	P	P	R	R	P	P	P	P	P
Média da idade (anos)	47,5	56	50	61,7	45	50,3	-	59,7	54	-	52,5	41	43,6	47,4
Sexo F:M	8:8	1:3	13:7	3:7	4:8	6:5	-	2:1	3:3	19:14	5:13	29:28	8:3	8:6
Número de ilhotas (%)				-								-		
Única	87,5	100	85		42	90,9	45,3	66,7	66,7	84,8	66,6		81,8	71,4
Múltiplas	12,5		15		58	9,1	54,6	33,3	33,3	15,2	33,2		18,2	28,6
Tamanho da ilhota (mm)	2 - 30	10 - 40	5 - 15		3 - 10	-	2 - 50	5 - 15	8 - 20	-	3 - 25	-	5 - 30	2 - 20
Sintomas (%)	6,3	50	20	20	16,7	-	-	0	0	9,1	5,5	-	6,2	14,3
Tipo de mucosa (%)		-												
Fúndica	100		100		91,6	60	45,9	33,3	83,3	60,7	45,4	11	37,5	58,3
Cárdica						20	24,6			21,4	45,4			
Antral						10	18			-		54	62,5	
Mista						10				17,9	9,2	35		41,7
Processo inflamatório (%)														
Agudo		-	-	-	0	-	13,1			-	-	35,4		0
Crônico	+	75	20		100		46,8	-	33,3	92,8	91	-	87,5	66,7
Atrofia da mucosa (%)	-	-		-	-		1,63	-	-			-	0	0
Metaplasia (%)	0	25	0	-	0	-	0	-	-	10,7	0	14,6	0	16,6
HP na MGE (%)	-	-	-	-	-	-	-	0	0	1/?	54,5	56,3	25	50
Complicações - Anel (%)		25	5	0	8,3	0	0	0	0	0	0		0	0
COX-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	41,7%

P: Prospectivo, R: Retrospectivo, F: Feminino, M: Masculino, HP: Helicobacter pylori, MGE: mucosa gástrica ectópica, * presente estudo

A mucosa gástrica ectópica e o esôfago de Barrett são considerados pela maioria dos autores duas entidades distintas. A primeira é definida como uma má formação congênita do esôfago proximal, enquanto segunda é uma condição adquirida encontrada no esôfago distal. ^(1, 3, 4, 8, 11, 12, 45, 48, 49) Apesar da patogenia destas duas condições ser diferente, alguns autores demonstraram aspectos imuno-histoquímicos comuns. ^(11, 12, 15, 93, 95)

Bogomoletz *et al.* observaram semelhança na secreção de mucinas pela MGE e pelo esôfago de Barrett. ⁽¹⁵⁾ Chatelain *et al.* e Lauwers *et al.* demonstraram o mesmo padrão de imuno-expressão das citoqueratinas CK-7 e CK-20 em ambas as mucosas. ^(93, 95) Lauwers *et al.* identificaram ainda similaridade na imuno-expressão das MUC. ⁽⁹⁵⁾ Por outro lado Feurle *et al.* e Shah *et al.* encontraram perfil hormonal distinto na MGE quando comparado ao encontrado no epitélio metaplásico do Barrett. ^(11, 12)

Como pode ser observado na revisão da literatura, a correlação da MGE com o esôfago de Barrett foi estudada, especialmente quanto aos seus aspectos patogênicos e os resultados encontrados são contraditórios. Apesar de alguns trabalhos demonstrarem semelhanças no padrão imuno-histoquímico, a teoria da má formação embriogênica ainda é a mais amplamente aceita para o aparecimento da MGE.

Estudos comparando a prevalência de achados da doença do refluxo gastro-esofágico e da presença da MGE também mostraram resultados inconsistentes e nenhuma correlação pôde de fato ser estabelecida. ^(1-5, 7, 8, 45, 55)

Entretanto, estudos visando identificar a imuno-expressão de proteínas associadas a carcinogênese do trato gastro-intestinal na MGE não foram encontrados.

O objetivo deste trabalho foi identificar a imuno-expressão da COX-2, proteína sabidamente associada a carcinogênese do TGI, na MGE. Realizamos ainda, a comparação da sua expressão na mucosa ectópica com àquela observada em tecidos esofágico e gástrico normais e no esôfago de Barrett. Neste último sua expressão é elevada e está envolvida na seqüência de eventos da transformação do epitélio metaplásico em displásico e adenocarcinoma. (26, 36, 37, 104)

A COX-2 não é enzima presente constitutivamente nos tecidos do trato gastro-intestinal, sendo sua expressão induzida por mediadores inflamatórios, fatores de crescimento, promotores e oncogenes. (23-25) Sua expressão é negativa ou fracamente positiva no epitélio esofágico normal. (36, 37, 103, 117) Este achado já demonstrado anteriormente por vários autores, foi confirmado neste estudo, assim como sua ausência no antro e corpo gástrico normais.

A imuno-expressão da COX-2 e sua correlação com câncer colorretal está bem estabelecida na literatura. Mais recentemente, houve interesse crescente na associação da expressão de tal proteína ao esôfago de Barrett e ao adenocarcinoma a ele associado. Vários autores documentaram o aumento da expressão da COX-2 no esôfago de Barrett por avaliação imuno-histoquímica ou por técnica de PCR. (33, 35-37, 104)

Wilson *et al.* encontraram elevação do RNAm da COX-2 em 80% dos fragmentos de esôfago de Barrett. (33) Os resultados foram confirmados posteriormente por outros autores, indicando que a proteína COX-2 está aumentada no epitélio metaplásico do esôfago de Barrett e no adenocarcinoma a ele associado. (35-37)

Achados contraditórios isolados foram encontrados por Zimmermann *et al.*, que apesar de terem encontrado maior expressão da proteína COX-2 no

adenocarcinoma do esôfago, não reproduziram os achados no esôfago de Barrett.
(103)

Estudos *in vitro* sugerem que as células que expressam a COX-2 sejam resistentes à apoptose, ^(34, 42) além de apresentarem níveis elevados da proteína bcl-2, gene anti-apoptótico. ^(20, 30, 42) Ainda reforçando este achado, o uso de anti-inflamatório seletivos da COX-2 foi capaz de reverter a resistência à apoptose exibindo um efeito anti-proliferativo. ^(34, 107)

O aumento da invasividade e poder metastático das células tumorais positivas para COX-2 foi associado à redução das proteínas de adesividade ⁽⁴²⁾ e à ativação das metaloproteinases 1 e 2. ⁽⁴³⁾ A COX-2 parece ainda promover o aumento dos fatores de crescimento endotelial, promovendo a angiogênese. ^(18, 41)

A tendência de malignização do esôfago de Barrett com risco de desenvolvimento do adenocarcinoma no terço distal do esôfago está bem estabelecida, sendo hoje uma condição reconhecidamente pré-maligna. Entretanto, a malignização e conseqüentemente o aparecimento do adenocarcinoma na MGE é extremamente rara e apenas alguns casos isolados estão descritos na literatura. ⁽⁷⁵⁻⁹⁴⁾

Neste trabalho, houve expressão positiva da COX-2 em 90% dos casos de esôfago de Barrett, semelhante à maioria dos trabalhos publicados, trazendo consistência aos resultados observados. Interessante foi o resultado da imunohistoquímica da COX-2 na MGE, com expressão positiva em 41,7% dos casos, diferença significativa em comparação àquela observada nos tecidos normais. Vale ressaltar ainda o padrão progressivo da expressão da COX-2, negativa na mucosa normal, elevando-se na MGE e atingindo pico no esôfago de Barrett.

Com estas duas observações uma série de discussões a respeito do comportamento da MGE, até o momento considerada benigna e de baixa relevância clínica, é levantada. Uma vez que a expressão da COX-2, proteína associada a carcinogênese e em especial ao adenocarcinoma em diversos tecidos do tubo digestivo, esteve significativamente aumentada, esta mucosa heterotópica talvez devesse ser avaliada mais cautelosamente.

O aumento da expressão da COX-2 na MGE em relação à mucosa esofágica e gástrica normais nos leva a questionar quais possíveis fatores poderiam influenciar a expressão de tal proteína na mucosa ectópica. O refluxo gastro-esofágico, ainda que na ausência de lesão esofágica endoscópica, não corroboraria também para o desenvolvimento do processo inflamatório na MGE e para a imuno-expressão da COX-2?

Ao contrário dos resultados encontrados por Hanoui *et al.*, que demonstraram maior expressão da COX-2 no esôfago distal de pacientes com sintomas de refluxo gastro-esofágico, neste estudo não foi observada associação entre os achados endoscópicos de refluxo e a expressão da proteína na MGE do esôfago cervical ($p = 0,222$).

Não é possível afirmar, em face da pequena dimensão da amostra, que o refluxo esôfago-gástrico desempenhe algum papel na inflamação da MGE ou na expressão da COX-2. A presença de lesões pépticas gastro-duodenais também não se mostrou importante na determinação da expressão da COX-2.

Em busca de outros possíveis fatores determinantes da expressão da COX-2 na MGE, a correlação dos aspectos histológicos da MGE (padrão do epitélio, presença de infiltrado inflamatório crônico e colonização pelo HP) com a expressão

da proteína foi estudada, não alcançando diferença estatisticamente significativa ($p = 0,56$, $p = 0,12$ e $p = 0,24$, respectivamente).

A correlação da expressão da COX-2 com a infecção pelo HP foi pesquisada por diversos autores. Os resultados apurados neste trabalho a respeito desta associação na MGE foram contraditórios aos resultados previamente publicados, obtidos em células gástricas *in vitro* e na mucosa gástrica, nos quais a expressão da COX-2 esteve aumentada na presença do HP. (25, 31, 32, 110, 111)

Como atuar diante da informação de que a MGE de fato expressa em quase metade dos casos esta proteína potencialmente carcinogênica e qual o seu significado clínico são as principais perguntas geradas por este trabalho. Como já foi discutido e confirmado neste trabalho, a COX-2 não está presente nos tecidos normais. Sua expressão é estimulada por vários fatores, dentre eles: mediadores pró-inflamatórios e pró-tumorais e, seus efeitos na carcinogênese estão bem documentados em estudos *in vitro*.

O aumento do risco de desenvolvimento de neoplasia nos diversos tecidos que expressam a COX-2 parece ser um consenso na literatura, entretanto seria este um indicador de maior chance de transformação maligna também na MGE? Não existem descrições na literatura que corroborem esta teoria, portanto este se torna um achado único e isolado, insuficiente para determinar em caráter definitivo quaisquer diretrizes a respeito de conduta diante da MGE.

Considerando o tamanho da amostra avaliada neste trabalho, aliado à ausência de seguimento dos pacientes, não é possível afirmar qual o potencial de malignização da MGE, tampouco delinear condutas diante deste achado. Entretanto, cabe discutir, se hoje os dados que temos em mãos, já são suficientes para sugerirmos uma avaliação mais cautelosa, que inclua a realização de biópsias

seriadas em todos os casos de mucosa gástrica ectópica no esôfago proximal e, possivelmente, instituir um protocolo de acompanhamento da evolução de uma mesma lesão ao longo do tempo como atuamos perante o esôfago de Barrett.

Diante do achado da referida expressão da COX-2, proteína com potencial carcinogênico na MGE, devemos sugerir neste momento, que enquanto aguardamos estudos futuros a respeito de seu potencial de malignização devemos proceder a realização de biópsias seriadas das lesões.

7 CONCLUSÕES

1 - A imuno-expressão da COX-2 foi significativamente mais elevada na mucosa gástrica ectópica em comparação à mucosa do esôfago, antro e corpo gástrico normais, porém não alcançando os níveis de expressão do esôfago de Barrett. Tal imuno-expressão não foi influenciada por sexo, idade, diagnósticos endoscópicos associados, características histológicas nem pela infecção pelo HP.

2 - A prevalência da MGE na amostra estudada foi de 1,1%.

3 - O tipo histológico mais comum da MGE foi o fúndico (58,3%) e o HP esteve presente na metade dos casos. A infecção pela bactéria foi mais freqüente na vigência de processo inflamatório crônico.

Anexo 1: Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa.



Universidade Federal de São Paulo
Escola Paulista de Medicina

Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital São Paulo

São Paulo, 7 de outubro de 2005.
CEP 1087/05

Ilmo(a). Sr(a).

Pesquisador(a) FERNANDA PRATA B. MARTINS THULER

Co-Investigadores: Angelo Paulo Ferrari Jr (orientador), Ricardo Artigiani Neto

Disciplina/Departamento: Gastroenterologia/Medicina da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo

Patrocinador: Recursos Próprios.

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA INSTITUCIONAL

Ref: Projeto de pesquisa intitulado: **"Imunoexpressão da cicloxigenase-2 em mucosa gástrica ectópica no esôfago cervical"**.

CARACTERÍSTICA PRINCIPAL DO ESTUDO: retrospectivo, com material estocado.

RISCOS ADICIONAIS PARA O PACIENTE: sem risco, desconforto mínimo, sem procedimento invasivo.

OBJETIVOS: Avaliar a imuno-expressão da proteína COX-2 em biópsias de mucosa gástrica ectópica no esôfago cervical em comparação a biópsias do esôfago distal, antro e corpo gástricos normais. Avaliar a prevalência da mucosa gástrica ectópica no esôfago cervical na população estudada, bem como o padrão histológico da mucosa e a prevalência do HP nesta mucosa.

RESUMO: Serão avaliados, retrospectivamente, os pacientes submetidos à endoscopia digestiva alta (EDA) no Setor de Endoscopia Digestiva da Unifesp, no período de agosto de 2001 a maio de 2002. Os dados, tais como laudos dos exames endoscópicos e parâmetros demográficos serão recuperados do banco de dados do setor. Serão selecionados pacientes com diagnóstico endoscópico de mucosa gástrica ectópica (MGE) no esôfago cervical. Será realizado levantamento das biópsias efetuadas na MGE, e resultado da pesquisa do H pylori (HP) no antro gástrico por teste ultrarrápido da urease nestes pacientes. Grupo controle será constituído por indivíduos com exame endoscópico normal e que tenham sido submetidos a biópsias do esôfago distal, antro e corpo gástrico por solicitação médica. Serão utilizados blocos de parafina do arquivo do Departamento de Patologia da UNIFESP, para estudo imuno-histoquímico para identificação da proteína COX-2. A análise da reação será semiquantitativa, e os dados categorizados de acordo com o escore baseado na intensidade da reação e extensão da coloração.

FUNDAMENTOS E RACIONAL: Estudo fundamentado, visando avaliar a expressão da proteína COX-2 em mucosa gástrica ectópica no esôfago cervical.

MATERIAL E MÉTODO: Estudo será realizado com material estocado, sem contato com paciente.

TCLE: Apresenta justificativa para não obtenção do TCLE.

DETALHAMENTO FINANCEIRO: sem financiamento externo.

CRONOGRAMA: 12 meses.

OBJETIVO ACADÊMICO: doutorado.

ENTREGA DE RELATÓRIOS PARCIAIS AO CEP PREVISTOS PARA: 02/10/2006 e 27/09/2007.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo **ANALISOU** e **APROVOU** o projeto de pesquisa referenciado.

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas.

2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.

3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Atenciosamente,

Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da

Universidade Federal de São Paulo/ Hospital São Paulo

Anexo 2: Coloração de hematoxilina-eosina. ⁽¹¹⁴⁾

- Desparafinização e diafanização dos cortes histológicos em 2 banhos de xilol;
- Eliminação do xilol através de 3 banhos de álcool absoluto;
- Hidratação em água corrente por 5 minutos;
- Coloração pela hematoxilina de Harris por 5 minutos;
- Diferenciação em solução de álcool-ácido;
- Lavagem em água corrente por 10 minutos;
- Coloração pela eosina alcoólica;
- Desidratação dos cortes em concentrações de álcool;
- Diafanização em xilol;
- Montagem dos cortes com lamínulas em resina Entellan (Sigma Co, St Louis, MO)
- Identificação

Resultado: Os núcleos ficam corados em azul, e o citoplasma e as fibras colágenas em vermelho.

Anexo 3: Coloração de Giemsa modificado. ⁽¹¹⁴⁾

- Desparafinização e diafanização dos cortes histológicos em 2 banhos de xilol;
- Eliminação do xilol através de 3 banhos de álcool absoluto;
- Hidratação em água corrente por 5 minutos;
- Lavar em água destilada;
- Solução de coloração de Giemsa (solução azul de metileno 0,75g, glicerina 35mL e álcool metílico 65mL) durante 20 minutos;
- Lavar rapidamente em água destilada;
- Lavar em água corrente;
- Enxugar a lâmina com papel filtro;
- Desidratar rapidamente;
- Montagem dos cortes com lamínulas em resina Entellan (Sigma Co, St Louis, MO)
- Identificação

Resultado: Microorganismos em azul negro, núcleos em azul, demais estruturas azul pálido.

Anexo 4: Método imuno-histoquímico. ⁽¹¹⁴⁾

- Cortes de 3 µm de espessura foram colocados em lâminas tratadas com 3-aminopropiltriétoxissilano (A3648 Sigma Co, St Louis, MO) e deixadas em estufa a 60°C por 12 horas;
 - Desparafinização realizada em um banho de xilol por 30 minutos em temperatura ambiente;
 - Hidratação em banhos de etanol em concentrações decrescentes;
 - 1 banho de etanol 95%;
 - 1 banho de etanol 80%;
 - 1 banho de etanol 70%;
 - Lavagem em água corrente;
 - Recuperação antigênica com o uso de microondas, em tampão citrato, pH 6,0 em potência alta por 20 minutos, deixando-se esfriar à temperatura ambiente por 20 minutos;
 - Lavagem em água corrente
 - Bloqueio da peroxidase endógena pela aplicação de água oxigenada a 3%, por 4 vezes, 5 minutos cada, lavando-se , em seguida, em água corrente e tampão PBS, pH 7,4 com BSA;
 - Incubação com anticorpo primário diluído em título pré-estabelecido (COX-2 – 1:100) em solução de BSA 1%, diluída em tampão PBS, em câmara úmida a 4°C, por 18 horas;
 - Lavagem em tampão PBS, por 2 vezes;
 - Incubação com anticorpo secundário biotilado (Kit LSAB+) (DAKO, Glostrup, Denmark) em câmara úmida à temperatura ambiente por 15 minutos;
 - Lavagem em tampão PBS, pH 7,4, por 2 vezes;
-

- Incubação com complexo streptavidina-biotina peroxidase (kit LSAB+) (DAKO, Glostrup, Denmark) em câmara úmida à temperatura ambiente por 15 minutos;
 - Lavagem com tampão PBS, pH 7,4, por 2 vezes;
 - Revelação com substrato cromogênico (3,3' – diaminobenzide – DS637 Sigma Co, St Louis, MO) e água oxigenada a 1% em tampão PBS pH 7,4, por 5 minutos a 37°C;
 - Lavagem extensiva em água destilada;
 - Contra-coloração com hematoxilina de Harris por 1 minuto;
 - Lavagem extensiva em água destilada;
 - Desidratação em 3 banhos de etanol em concentrações crescentes;
 - 1 banho de etanol 70%;
 - 1 banho de etanol 80%;
 - 1 banho de etanol 95%;
 - Diafanização em 3 banhos e xilol;
 - Montagem dos cortes com lamínula em resina Entellan (Sigma Co, St. Louis, MO);
 - Identificação
-

Anexo 5: Dados dos pacientes com diagnóstico endoscópico de MGE.

Paciente	Sexo	Idade	Sintomas	Achados endoscópicos associados	Número de ilhotas	Tamanho da (s) ilhota (s) - mm	Urease de Antro	HP na MGE	Padrão MGE	Processo inflamatório	Outros achados histológicos
1	M	77	0	Gastrite	1	6	+	+	Fúndica	Ausente	
2	F	42	0	Úlcera duodenal	1	3	+	-	Fúndica	Ausente	Metaplasia intestinal
3	M	49	0	-	1	5	-	-	Fúndica	Ausente	
4	M	34	0	Hérnia hiatal Hipertensão portal	2	5	-	-	Antral/fúndica	Crônico inativo	
5	M	45	0	Gastrite	2	6/15	+	+	Fúndica	Crônico atividade leve	
6	F	18		Esofagite	1	10	+	-	Antral/fúndica	Crônico inativo	
7	F	58	1	Gastrite + Úlcera duodenal	3	2/2/3	+	+	Antral/fúndica	Crônico atividade leve	
8	M	67	1	Esofagite + gastrite	2	2/5	+	-	Antral/fúndica	Crônico inativo	
9	F	40	0	Gastrite Xantelasma gástrico	1	4	+	+	Fúndica	Crônico atividade leve	Metaplasia intestinal Xantelasma
10	M	22	0	-	1	20	+	+	Fúndica	Crônico atividade leve	
11	M	46	0	Gastrite	1	15	+	+	Antral/fúndica	Crônico atividade leve	
12	M	84	0	Hérnia hiatal + Esofagite + Gastrite	1	6	-	-	Fúndica	Ausente	
13	F	41	0	Gastrite + Úlcera duodenal	1	5	+				
14	F	41	0	Úlcera duodenal	1	5	+				

0: ausente 1: presente

Resultados da imuno-expressão da COX-2 nos pacientes com MGE.

Paciente	Intensidade da reação	Extensão da área positiva	Score de Yamauchi et al.
1	1	0	0
2	2	0	0
3	2	2	4
4	3	1	3
5	1	0	0
6	2	2	4
7	2	1	2
8	3	2	6
9	1	0	0
10	3	2	6
11	1	0	0
12	0	0	0

Anexo 6: Resultados da imuno-expressão da COX-2 nos pacientes com amostras de esôfago, antro e corpo gástrico normais.

1	Paciente	Sexo	Idade	Teste da urease Antro	HP – Coloração Giemsa	Epitélio escamoso Intensidade da reação	Epitélio escamoso Extensão área positiva	Epitélio escamoso Score de Yamauchi et al.	Antro gástrico Intensidade da reação	Antro gástrico Extensão área positiva	Antro gástrico Score de Yamauchi et al.	Corpo gástrico Intensidade da reação	Corpo gástrico Extensão área positiva	Corpo gástrico Score de Yamauchi et al.
2	F	F	62	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	F	F	58	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	M	F	65	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	M	M	67	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	M	M	45	-	-	0	0	0	2	1	2	0	0	0
7	F	F	48	+	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	M	M	58	-	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	M	M	64	+	+	0	0	0	1	0	0	0	0	0
10	F	F	24	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	F	F	67	+	+	0	0	0	2	0	0	0	0	0

Anexo 7: Resultados da imuno-expressão da COX-2 nos pacientes com esôfago de Barrett.

Paciente	Sexo	Idade	Intensidade da reação	Extensão área positiva	Score de Yamauchi et al.
1	F	33	2	2	4
2	M	69	3	3	9
3	F	66	2	3	6
4	M	32	2	3	6
5	F	52	3	3	9
6	F	59	3	3	9
7	M	51	3	3	9
8	M	41	1	1	1
9	F	75	2	2	4
10	F	71	2	2	4

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Borhan-Manesh F, Farnum JB. Incidence of heterotopic gastric mucosa in the upper oesophagus. *Gut*. 1991;32(9):968-72.
 2. Maconi G, Pace F, Vago L, Carsana L, Bargiggia S, Porro GB. Prevalence and clinical features of heterotopic gastric mucosa in the upper oesophagus (inlet patch). *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2000;12(7):745-9.
 3. Jabbari M, Goresky CA, Lough J, Yaffe C, Daly D, Cote C. The inlet patch: heterotopic gastric mucosa in the upper esophagus. *Gastroenterology*. 1985;89(2):352-6.
 4. Akbayir N, Alkim C, Erdem L, Sokmen HM, Sungun A, Basak T, et al. Heterotopic gastric mucosa in the cervical esophagus (inlet patch): endoscopic prevalence, histological and clinical characteristics. *J Gastroenterol Hepatol*. 2004;19(8):891-6.
 5. Jacobs E, Dehou MF. Heterotopic gastric mucosa in the upper esophagus: a prospective study of 33 cases and review of literature. *Endoscopy*. 1997;29(8):710-5.
 6. Nakajima H, Munakata A, Sasaki Y, Yoshida Y. pH profile of esophagus in patients with inlet patch of heterotopic gastric mucosa after tetragastrin stimulation. An endoscopic approach. *Dig Dis Sci*. 1993;38(10):1915-9.
 7. Feller SC, Weaver GA. Heterotopic gastric mucosa in the upper esophagus. *Gastroenterology*. 1986;90(1):257-8.
 8. Wang GQ, Dawsey SM, Zhou MH, Lewin KJ. Gastric heterotopia in the upper esophagus (inlet patch) in endoscopic surveys in northern China. *J Clin Gastroenterol*. 1994;19(4):321-4.
 9. Truong LD, Stroehlein JR, McKechnie JC. Gastric heterotopia of the proximal esophagus: a report of four cases detected by endoscopy and review of literature. *Am J Gastroenterol*. 1986;81(12):1162-6.
-

10. Takeji H, Ueno J, Nishitani H. Ectopic gastric mucosa in the upper esophagus: prevalence and radiologic findings. *AJR Am J Roentgenol.* 1995;164(4):901-4.
 11. Feurle GE, Helmstaedter V, Buehring A, Bettendorf U, Eckardt VF. Distinct immunohistochemical findings in columnar epithelium of esophageal inlet patch and of Barrett's esophagus. *Dig Dis Sci.* 1990;35(1):86-92.
 12. Shah KK, DeRidder PH. Ectopic gastric mucosa in proximal esophagus. Its clinical significance and hormonal profile. *J Clin Gastroenterol.* 1986;8(5):509-13.
 13. Chen CH, DeRidder PH, Fink-Bennett D, Alexander TJ. Detection of heterotopic gastric mucosa in the upper esophagus with ^{99m}Tc-pertechnetate scintigraphy. *J Clin Gastroenterol.* 1989;11(1):23-6.
 14. Gutierrez O, Akamatsu T, Cardona H, Graham DY, El-Zimaity HM. *Helicobacter pylori* and heterotopic gastric mucosa in the upper esophagus (the inlet patch). *Am J Gastroenterol.* 2003;98(6):1266-70.
 15. Bogomoletz WV, Geboes K, Feydy P, Nasca S, Ectors N, Rigaud C. Mucin histochemistry of heterotopic gastric mucosa of the upper esophagus in adults: possible pathogenic implications. *Hum Pathol.* 1988;19(11):1301-6.
 16. Avidan B, Sonnenberg A, Chejfec G, Schnell TG, Sontag SJ. Is there a link between cervical inlet patch and Barrett's esophagus? *Gastrointest Endosc.* 2001;53(7):717-21.
 17. Smith WL, Marnett LJ, DeWitt DL. Prostaglandin and thromboxane biosynthesis. *Pharmacol Ther.* 1991;49(3):153-79.
 18. Tsujii M, Kawano S, Tsuji S, Sawaoka H, Hori M, DuBois RN. Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells. *Cell.* 1998;93(5):705-16.
 19. Kambayashi T, Alexander HR, Fong M, Strassmann G. Potential involvement of IL-10 in suppressing tumor-associated macrophages. *Colon-26-derived*
-

- prostaglandin E2 inhibits TNF-alpha release via a mechanism involving IL-10. *J Immunol.* 1995;154(7):3383-90.
20. Sheng H, Shao J, Morrow JD, Beauchamp RD, DuBois RN. Modulation of apoptosis and Bcl-2 expression by prostaglandin E2 in human colon cancer cells. *Cancer Res.* 1998;58(2):362-6.
21. Gately S. The contributions of cyclooxygenase-2 to tumor angiogenesis. *Cancer Metastasis Rev.* 2000;19(1-2):19-27.
22. van Rees BP, Saukkonen K, Ristimaki A, Polkowski W, Tytgat GN, Drillenburger P, et al. Cyclooxygenase-2 expression during carcinogenesis in the human stomach. *J Pathol.* 2002;196(2):171-9.
23. Eberhart CE, Dubois RN. Eicosanoids and the gastrointestinal tract. *Gastroenterology.* 1995;109(1):285-301.
24. Mitchell JA, Larkin S, Williams TJ. Cyclooxygenase-2: regulation and relevance in inflammation. *Biochem Pharmacol.* 1995;50(10):1535-42.
25. Saukkonen K, Rintahaka J, Sivula A, Buskens CJ, Van Rees BP, Rio MC, et al. Cyclooxygenase-2 and gastric carcinogenesis. *Apmis.* 2003;111(10):915-25.
26. van Rees BP, Ristimaki A. Cyclooxygenase-2 in carcinogenesis of the gastrointestinal tract. *Scand J Gastroenterol.* 2001;36(9):897-903.
27. Joo YE, Oh WT, Rew JS, Park CS, Choi SK, Kim SJ. Cyclooxygenase-2 expression is associated with well-differentiated and intestinal-type pathways in gastric carcinogenesis. *Digestion.* 2002;66(4):222-9.
28. Nardone G, Rocco A, Vaira D, Staibano S, Budillon A, Tatangelo F, et al. Expression of COX-2, mPGE-synthase1, MDR-1 (P-gp), and Bcl-xL: a molecular pathway of H pylori-related gastric carcinogenesis. *J Pathol.* 2004;202(3):305-12.
-

29. Ristimaki A, Honkanen N, Jankala H, Sipponen P, Harkonen M. Expression of cyclooxygenase-2 in human gastric carcinoma. *Cancer Res.* 1997;57(7):1276-80.
 30. Chen XL, Su BS, Sun RQ, Zhang J, Wang YL. Relationship between expression and distribution of cyclooxygenase-2 and bcl-2 in human gastric adenocarcinoma. *World J Gastroenterol.* 2005;11(8):1228-31.
 31. Sung JJ, Leung WK, Go MY, To KF, Cheng AS, Ng EK, et al. Cyclooxygenase-2 expression in Helicobacter pylori-associated premalignant and malignant gastric lesions. *Am J Pathol.* 2000;157(3):729-35.
 32. Yu LZ, Gao HJ, Bai JF, Sun G, Zhao HL, Sun L, et al. Expression of COX-2 proteins in gastric mucosal lesions. *World J Gastroenterol.* 2004;10(2):292-4.
 33. Wilson KT, Fu S, Ramanujam KS, Meltzer SJ. Increased expression of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in Barrett's esophagus and associated adenocarcinomas. *Cancer Res.* 1998;58(14):2929-34.
 34. Souza RF, Shewmake K, Beer DG, Cryer B, Spechler SJ. Selective inhibition of cyclooxygenase-2 suppresses growth and induces apoptosis in human esophageal adenocarcinoma cells. *Cancer Res.* 2000;60(20):5767-72.
 35. Shirvani VN, Ouatu-Lascar R, Kaur BS, Omary MB, Triadafilopoulos G. Cyclooxygenase 2 expression in Barrett's esophagus and adenocarcinoma: Ex vivo induction by bile salts and acid exposure. *Gastroenterology.* 2000;118(3):487-96.
 36. Lagorce C, Paraf F, Vidaud D, Couvelard A, Wendum D, Martin A, et al. Cyclooxygenase-2 is expressed frequently and early in Barrett's oesophagus and associated adenocarcinoma. *Histopathology.* 2003;42(5):457-65.
 37. Kandil HM, Tanner G, Smalley W, Halter S, Radhika A, Dubois RN. Cyclooxygenase-2 expression in Barrett's esophagus. *Dig Dis Sci.* 2001;46(4):785-9.
-

38. Yamauchi T, Watanabe M, Kubota T, Hasegawa H, Ishii Y, Endo T, et al. Cyclooxygenase-2 expression as a new marker for patients with colorectal cancer. *Dis Colon Rectum*. 2002;45(1):98-103.
 39. Xiong B, Sun TJ, Hu WD, Cheng FL, Mao M, Zhou YF. Expression of cyclooxygenase-2 in colorectal cancer and its clinical significance. *World J Gastroenterol*. 2005;11(8):1105-8.
 40. Chen X, Ouyang Q, Zhang WY, Li XS, Liang HL. [The clinical, pathological features and expression of Ki-67 and COX-2 in severe reflux esophagitis and Barrett's esophagus]. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2005;36(2):207-9.
 41. von Rahden BH, Stein HJ, Puhlinger F, Koch I, Langer R, Piontek G, et al. Coexpression of cyclooxygenases (COX-1, COX-2) and vascular endothelial growth factors (VEGF-A, VEGF-C) in esophageal adenocarcinoma. *Cancer Res*. 2005;65(12):5038-44.
 42. Tsujii M, DuBois RN. Alterations in cellular adhesion and apoptosis in epithelial cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase 2. *Cell*. 1995;83(3):493-501.
 43. Tsujii M, Kawano S, DuBois RN. Cyclooxygenase-2 expression in human colon cancer cells increases metastatic potential. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94(7):3336-40.
 44. Rector L, Connerley M. Aberrant mucosa in the esophagus in infants and children. *Arch Pathol Lab Med*. 1941;31:285-94.
 45. Van Asche C, Rahm AE, Jr., Goldner F, Crumbaker D. Columnar mucosa in the proximal esophagus. *Gastrointest Endosc*. 1988;34(4):324-6.
 46. Delapava S, Pickren JW, Adler RH. Ectopic Gastric Mucosa of the Esophagus. A Study on Histogenesis. *N Y State J Med*. 1964;64:1831-5.
-

47. Variend S, Howat AJ. Upper oesophageal gastric heterotopia: a prospective necropsy study in children. *J Clin Pathol.* 1988;41(7):742-5.
 48. Ishoo E, Busaba NY. Ectopic gastric mucosa in the cervical esophagus. *Am J Otolaryngol.* 2002;23(3):181-4.
 49. Rattner HM, McKinley MJ. Heterotopic gastric mucosa of the upper esophagus. *Gastroenterology.* 1986;90(5 Pt 1):1309.
 50. Moore KL, Persaud TVN. Capítulo 12: Aparelho digestivo. *The Developing Human - Clinically oriented embryology.* 5th. ed. Philadelphia, Pennsylvania: W.B. Saunders Company; 1993.
 51. Sadler TW. Chapter 14: Digestive System. *Langman's Medical Embryology.* 7th. ed. Baltimore, Maryland: Williams & Wilkins; 1995.
 52. Johns BA. Developmental changes in the oesophageal epithelium in man. *J Anat.* 1952;86(4):431-42.
 53. Borhan-Manesh F, Farnum JB. Study of *Helicobacter pylori* colonization of patches of heterotopic gastric mucosa (HGM) at the upper esophagus. *Dig Dis Sci.* 1993;38(1):142-6.
 54. Flejou JF, Potet F, Molas G, Bogomoletz WV, Nasca S, Rigaud C, et al. *Campylobacter*-like organisms in heterotopic gastric mucosa of the upper oesophagus. *J Clin Pathol.* 1990;43(11):961.
 55. Ollyo JB, Savary M, Monnier P, Fontollier C, Wellinger J, Levi F, et al. Is heterotopic columnar epithelium in the esophagus clinically relevant. *Gastroenterology.* 1988;94:A333.
 56. Akbayir N, Sokmen HM, Calis AB, Bolukbas C, Erdem L, Alkim C, et al. Heterotopic gastric mucosa in the cervical esophagus: could this play a role in the
-

pathogenesis of laryngopharyngeal reflux in a subgroup of patients with posterior laryngitis? *Scand J Gastroenterol.* 2005;40(10):1149-56.

57. Hamilton JW, Thune RG, Morrissey JF. Symptomatic ectopic gastric epithelium of the cervical esophagus. Demonstration of acid production with Congo red. *Dig Dis Sci.* 1986;31(4):337-42.

58. Galan AR, Katzka DA, Castell DO. Acid secretion from an esophageal inlet patch demonstrated by ambulatory pH monitoring. *Gastroenterology.* 1998;115(6):1574-6.

59. Rattner HM, McKinley MJ, Schmid JM. Ectopic gastric epithelium. *Dig Dis Sci.* 1987;32(7):780-1.

60. Jerome-Zapadka KM, Clarke MR, Sekas G. Recurrent upper esophageal webs in association with heterotopic gastric mucosa: case report and literature review. *Am J Gastroenterol.* 1994;89(3):421-4.

61. Waring JP, Wo JM. Cervical esophageal web caused by an inlet patch of gastric mucosa. *South Med J.* 1997;90(5):554-5.

62. Williams SM, May C, Krause DW, Harned RK. Symptomatic congenital ectopic gastric mucosa in the upper esophagus. *AJR Am J Roentgenol.* 1987;148(1):147-8.

63. Powell RW, Luck SR. Cervical esophageal obstruction by ectopic gastric mucosa. *J Pediatr Surg.* 1988;23(7):632-4.

64. McBride MA, Vanagunas AA, Breshnahan JP, Barch DB. Combined endoscopic thermal electrocoagulation with high dose omeprazole therapy in complicated heterotopic gastric mucosa of the esophagus. *Am J Gastroenterol.* 1995;90(11):2029-31.

65. Steadman C, Kerlin P, Teague C, Stephenson P. High esophageal stricture: a complication of "inlet patch" mucosa. *Gastroenterology.* 1988;94(2):521-4.

66. Yarborough CS, McLane RC. Stricture related to an inlet patch of the esophagus. *Am J Gastroenterol.* 1993;88(2):275-6.
 67. Byrne M, Sheehan K, Kay E, Patchett S. Symptomatic ulceration of an acid-producing oesophageal inlet patch colonized by helicobacter pylori. *Endoscopy.* 2002;34(6):514.
 68. Bataller R, Bordas JM, Ordi J, Llach J, Elizalde JI, Mondelo F. Upper gastrointestinal bleeding: a complication of "inlet patch mucosa" in the upper esophagus. *Endoscopy.* 1995;27(3):282.
 69. Kohler B, Kohler G, Riemann JF. Spontaneous esophagotracheal fistula resulting from ulcer in heterotopic gastric mucosa. *Gastroenterology.* 1988;95(3):828-30.
 70. Sanchez-Pernaute A, Hernando F, Diez-Valladares L, Gonzalez O, Perez Aguirre E, Furio V, et al. Heterotopic gastric mucosa in the upper esophagus ("inlet patch"): a rare cause of esophageal perforation. *Am J Gastroenterol.* 1999;94(10):3047-50.
 71. Oguma J, Ozawa S, Omori T, Kitagawa Y, Saikawa Y, Mikami S, et al. EMR of a hyperplastic polyp arising in ectopic gastric mucosa in the cervical esophagus: case report. *Gastrointest Endosc.* 2005;61(2):335-8.
 72. Raine CH. Ectopic gastric mucosa in the upper esophagus as a cause of dysphagia. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1983;92(1 Pt 1):65-6.
 73. Rana SS, Panda N, Sinha SK, Nada R, Nagi B, Bhasin DK. Heterotopic gastric mucosa in the upper esophagus manifesting as a polypoidal mass causing dysphagia. *Gastrointest Endosc.* 2006;63(1):185-7.
-

74. Mion F, Lambert R, Partensky C, Cherkaoui M, Berger F. High-grade dysplasia in an adenoma of the upper esophagus developing on heterotopic gastric mucosa. *Endoscopy*. 1996;28(7):633-5.
 75. Abe T, Hosokawa M, Kusumi T, Kusano M, Hokari K, Kagaya H, et al. Adenocarcinoma arising from ectopic gastric mucosa in the cervical esophagus. *Am J Clin Oncol*. 2004;27(6):644-5.
 76. Berkelhammer C, Bhagavan M, Templeton A, Raines R, Walloch J. Gastric inlet patch containing submucosally infiltrating adenocarcinoma. *J Clin Gastroenterol*. 1997;25(4):678-81.
 77. Carrie A. Adenocarcinoma of the upper end of the oesophagus arising from ectopic gastric epithelium. *Br J Surg*. 1950;37(148):474.
 78. Christensen WN, Sternberg SS. Adenocarcinoma of the upper esophagus arising in ectopic gastric mucosa. Two case reports and review of the literature. *Am J Surg Pathol*. 1987;11(5):397-402.
 79. Danoff B, Cooper J, Klein M. Primary adenocarcinoma of the upper oesophagus. *Clin Radiol*. 1978;29(5):519-22.
 80. Hirayama N, Arima M, Miyazaki S, Shimada H, Okazumi S, Matsubara H, et al. Endoscopic mucosal resection of adenocarcinoma arising in ectopic gastric mucosa in the cervical esophagus: case report. *Gastrointest Endosc*. 2003;57(2):263-6.
 81. Ishii K, Ota H, Nakayama J, Katsuyama T, Matsuzawa K, Honda T, et al. Adenocarcinoma of the cervical oesophagus arising from ectopic gastric mucosa. The histochemical determination of its origin. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*. 1991;419(2):159-64.
-

82. Lauwers GY, Scott GV, Vauthey JN. Adenocarcinoma of the upper esophagus arising in cervical ectopic gastric mucosa: rare evidence of malignant potential of so-called "inlet patch". *Dig Dis Sci.* 1998;43(4):901-7.
 83. Noguchi T, Takeno S, Takahashi Y, Sato T, Uchida Y, Yokoyama S. Primary adenocarcinoma of the cervical esophagus arising from heterotopic gastric mucosa. *J Gastroenterol.* 2001;36(10):704-9.
 84. Pai S, Deshpande R, Naresh KN. Adenocarcinoma of cervical esophagus arising in aberrant gastric mucosa. *Indian J Gastroenterol.* 1997;16(4):157-8.
 85. Pech O, May A, Gossner L, Vieth M, Trump F, Stolte M, et al. Early stage adenocarcinoma of the esophagus arising in circular heterotopic gastric mucosa treated by endoscopic mucosal resection. *Gastrointest Endosc.* 2001;54(5):656-8.
 86. Schmidt H, Riddell RH, Walther B, Skinner DB, Riemann JF, Groitl H. [Adenocarcinoma of heterotopic gastric mucosa in the proximal esophagus]. *Leber Magen Darm.* 1985;15(4):144-7.
 87. Sperling RM, Grendell JH. Adenocarcinoma arising in an inlet patch of the esophagus. *Am J Gastroenterol.* 1995;90(1):150-2.
 88. Takagi A, Ema Y, Horii S, Morishita M, Miyaishi O, Kino I. Early adenocarcinoma arising from ectopic gastric mucosa in the cervical esophagus. *Gastrointest Endosc.* 1995;41(2):167-70.
 89. Clemente C. [A case of adenocarcinoma of the upper third of the esophagus arising on ectopic gastric tissue (author's transl)]. *Tumori.* 1974;60(1):17-24.
 90. Davis WM, Goodwin MN, Jr., Black HC, Jr., Hawk JC. Polypoid adenocarcinoma of the cervical esophagus. *Arch Pathol.* 1969;88(4):367-70.
 91. Raphael HA, Ellis FH, Jr., Dockerty MB. Primary adenocarcinoma of the esophagus: 18-year review and review of literature. *Ann Surg.* 1966;164(5):785-96.
-

92. Alrawi SJ, Winston J, Tan D, Gibbs J, Loree TR, Hicks W, et al. Primary adenocarcinoma of cervical esophagus. *J Exp Clin Cancer Res.* 2005;24(2):325-30.
 93. Chatelain D, de Lajarte-Thirouard AS, Tiret E, Flejou JF. Adenocarcinoma of the upper esophagus arising in heterotopic gastric mucosa: common pathogenesis with Barrett's adenocarcinoma? *Virchows Arch.* 2002;441(4):406-11.
 94. Klaase JM, Lemaire LC, Rauws EA, Offerhaus GJ, van Lanschot JJ. Heterotopic gastric mucosa of the cervical esophagus: a case of high-grade dysplasia treated with argon plasma coagulation and a case of adenocarcinoma. *Gastrointest Endosc.* 2001;53(1):101-4.
 95. Lauwers GY, Mino M, Ban S, Forcione D, Eatherton DE, Shimizu M, et al. Cytokeratins 7 and 20 and mucin core protein expression in esophageal cervical inlet patch. *Am J Surg Pathol.* 2005;29(4):437-42.
 96. Schroeder WW, Myer CM, 3rd, Schechter GL. Ectopic gastric mucosa in the cervical esophagus. *Laryngoscope.* 1987;97(2):131-5.
 97. Payne-James JJ, Loft DE, Mears T, Lovell D. Symptomatic cervical oesophageal ectopic (heterotopic) gastric mucosa treated with omeprazole. *J Int Med Res.* 1991;19(2):161-4.
 98. Wallace JL. Prostaglandins, NSAIDs, and cytoprotection. *Gastroenterol Clin North Am.* 1992;21(3):631-41.
 99. Irvine RF. How is the level of free arachidonic acid controlled in mammalian cells? *Biochem J.* 1982;204(1):3-16.
 100. Samuelsson B, Dahlen SE, Lindgren JA, Rouzer CA, Serhan CN. Leukotrienes and lipoxins: structures, biosynthesis, and biological effects. *Science.* 1987;237(4819):1171-6.
-

101. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins and Cotran: PATHOLOGIC BASIS OF DISEASE. 7th ed. St. Louis: W.B. Saunders, An imprint of Elsevier; 2005.
 102. Buskens CJ, Van Rees BP, Sivula A, Reitsma JB, Haglund C, Bosma PJ, et al. Prognostic significance of elevated cyclooxygenase 2 expression in patients with adenocarcinoma of the esophagus. *Gastroenterology*. 2002;122(7):1800-7.
 103. Zimmermann KC, Sarbia M, Weber AA, Borchard F, Gabbert HE, Schror K. Cyclooxygenase-2 expression in human esophageal carcinoma. *Cancer Res*. 1999;59(1):198-204.
 104. Morris CD, Armstrong GR, Bigley G, Green H, Attwood SE. Cyclooxygenase-2 expression in the Barrett's metaplasia-dysplasia-adenocarcinoma sequence. *Am J Gastroenterol*. 2001;96(4):990-6.
 105. Oyama K, Fujimura T, Ninomiya I, Miyashita T, Kinami S, Fushida S, et al. A COX-2 inhibitor prevents the esophageal inflammation-metaplasia-adenocarcinoma sequence in rats. *Carcinogenesis*. 2005;26(3):565-70.
 106. Buskens CJ, Ristimaki A, Offerhaus GJ, Richel DJ, van Lanschot JJ. Role of cyclooxygenase-2 in the development and treatment of oesophageal adenocarcinoma. *Scand J Gastroenterol Suppl*. 2003(239):87-93.
 107. Cheong E, Ivory K, Doleman J, Parker ML, Rhodes M, Johnson IT. Synthetic and naturally occurring COX-2 inhibitors suppress proliferation in a human oesophageal adenocarcinoma cell line (OE33) by inducing apoptosis and cell cycle arrest. *Carcinogenesis*. 2004;25(10):1945-52.
 108. Funkhouser EM, Sharp GB. Aspirin and reduced risk of esophageal carcinoma. *Cancer*. 1995;76(7):1116-9.
 109. Thun MJ, Namboodiri MM, Calle EE, Flanders WD, Heath CW, Jr. Aspirin use and risk of fatal cancer. *Cancer Res*. 1993;53(6):1322-7.
-

110. Romano M, Ricci V, Memoli A, Tuccillo C, Di Popolo A, Sommi P, et al. Helicobacter pylori up-regulates cyclooxygenase-2 mRNA expression and prostaglandin E2 synthesis in MKN 28 gastric mucosal cells in vitro. J Biol Chem. 1998;273(44):28560-3.
111. Tatsuguchi A, Sakamoto C, Wada K, Akamatsu T, Tsukui T, Miyake K, et al. Localisation of cyclooxygenase 1 and cyclooxygenase 2 in Helicobacter pylori related gastritis and gastric ulcer tissues in humans. Gut. 2000;46(6):782-9.
112. Hamoui N, Peters JH, Schneider S, Uchida K, Yang D, Vallbohmer D, et al. Increased acid exposure in patients with gastroesophageal reflux disease influences cyclooxygenase-2 gene expression in the squamous epithelium of the lower esophagus. Arch Surg. 2004;139(7):712-6; discussion 6-7.
113. Thillainayagam AV, Arvind AS, Cook RS, Harrison IG, Tabaqchali S, Farthing MJ. Diagnostic efficiency of an ultrarapid endoscopy room test for Helicobacter pylori. Gut. 1991;32(5):467-9.
114. Michalany J. Técnica Histológica em Anatomia Patológica: com instruções para o cirurgião, enfermeiro e citotécnico. São Paulo: Editora Pedagógica e Universitária, Ltda.; 1980.
115. Junqueira LC, Carneiro J. Histologia Básica. 8a. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1995.
116. Agresti A. Categorical Data Analysis. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons; 2002.
117. Yu HP, Shi LY, Lu WH, Su YH, Li YY, Xu SQ. Expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) in human esophageal cancer and in vitro inhibition by a specific COX-2 inhibitor, NS-398. J Gastroenterol Hepatol. 2004;19(6):638-42.
-

ABSTRACT

Background and Aims: Ectopic gastric mucosa is considered a congenital condition and an endoscopic incidental finding in most cases. No clinical significance has been attributed to this entity so far and rare cases of adenocarcinoma are described in the literature. At the present moment, there isn't enough data to sustain that this heterotopic mucosa must be biopsied, nevertheless a follow-up should be instituted. The cyclooxygenase-2 (COX-2) is a protein enrolled in the development of gastrointestinal tumors, by inhibiting apoptosis and regulating angiogenesis. The aim of this study was to evaluate by immunohistochemistry the prevalence of COX-2 expression in ectopic gastric mucosa (EGM) and correlate this expression to normal tissue samples and Barrett's esophagus. This study also aimed to determine the inlet patch prevalence, to identify its macroscopic and histological characteristics as well as the colonization by *Helicobacter pylori*.

Methods: We prospectively evaluated 1327 patients to disclose the presence of EGM during the period of August 2001 and May 2002. Biopsies were taken from the patch to histological evaluation and from the gastric antrum to disclose *Helicobacter pylori* infection. In addition, biopsies taken from normal esophageal mucosa, normal gastric antrum and body and Barrett's esophagus were recovered from data bank. EGM biopsies were assessed to rule out the type of gastric epithelium, presence of *Helicobacter pylori* and inflammation. COX-2 was assessed by immunohistochemistry and performed in all three group samples by the avidin-biotin complex technique. This study was approved by our Institution's Ethics Committee.

Results: Heterotopic gastric patch was found in 14 patients (1,1%). Patch size ranged from 2 to 20 mm, and appeared as a single islet in 10 patients, two patches in

3 and three in only one patient. Histological examination revealed fundic type epithelium in 58.3% and antral/fundic in 41.7%. *Helicobacter pylori* was present in half cases and chronic inflammation in 66.7%. Epithelial expression of COX-2 was negative in 10 normal distal esophagus, 10 normal gastric antrum and 10 normal gastric body specimens. The comparison between COX-2 expression in normal mucosa and ectopic gastric mucosa reached statistical significance ($p = 0.04$) as well as between EGM and Barrett's esophagus ($p = 0.03$).

COX-2 immunoexpression in EGM was unrelated to sex gender, age, epithelium type, presence of chronic inflammation or intestinal metaplasia, *H. pylori* infection and none of associated endoscopic findings.

Conclusion: Our results demonstrate up-regulation of COX-2 in EGM, suggesting a possible malignant potential of this so-called harmless ectopic mucosa.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)