

ESÔFAGO DE BARRETT: ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS E MOLECULARES DA SEQUÊNCIA METAPLASIA-DISPLASIA-ADENOCARCINOMA - ARTIGO DE REVISÃO

BARRETT'S ESOPHAGUS: PHYSIOPATHOLOGICAL AND MOLECULAR ASPECTS OF METAPLASIA-DYSPLASIA-ADENOCARCINOMA SEQUENCE – REVIEW ARTICLE

Bernardo Silveira Volkweis¹; Richard Ricachenevsky Gurski, TCBC-RS²

INTRODUÇÃO

1. Aspectos Históricos

Em 1950, um cirurgião britânico chamado Norman Barrett descreveu a presença de úlceras distais à junção esca-mo-colunar esofágica, a qual encontrava-se mais proximal que o habitual. Naquela época, considerava-se que a transição mucosa definia o órgão e que, portanto, as úlceras eram em tecido gástrico deslocado proximalmente por aderências mediastinais ou por esôfago curto congênito¹. Posteriormente, em 1953, Allison e Johnston reconheceram que o órgão se tratava de esôfago, porém com revestimento semelhante ao do estômago. Em 1957, Barrett publicou a descrição de esôfago distal com revestimento colunar, não justificado simplesmente por uma hérnia hiatal, e cujo epitélio não satisfazia as características do epitélio gástrico. Logo foi reconhecido que esse epitélio se tratava de uma condição adquirida, às custas de uma agressão ácida prolongada, sendo após denominada esôfago de Barrett (EB)².

2. Definição

Inicialmente, utilizava-se como critério diagnóstico a extensão mínima de 3 cm de epitélio colunar, com o conceito de que até 2 cm seria “normal” e que, com o ponto de corte de 3 cm, evitar-se-ia o exagero diagnóstico. Posteriormente, identificou-se que um fator importante para o risco de malignidade era o tipo de epitélio, sendo o tipo especializado intestinal, com células caliciformes, o que se associava com alterações displásicas e adenocarcinoma. Portanto, esse achado foi incorporado à definição de EB. Da mesma forma, pequenos segmentos (<3cm) também apresentavam risco de malignização, ampliando a definição de EB. A situação de metaplasia intestinal à biópsia da transição esôfago-gástrica, sem epitélio colunar endoscópico, caracteriza a metaplasia intestinal do cárdia (MIC), situação associada a doença do refluxo gastroesofágico (DRGE), provavelmente em estágio mais inicial que o EB³⁻⁵.

O EB é atualmente definido pela presença de mucosa colunar em esôfago distal, visível na Endoscopia Digestiva Alta (EDA), de qualquer extensão, e que à biópsia demonstre metaplasia intestinal especializada, caracterizada pela presença de células caliciformes⁶. Representa estágio avançado da DRGE e constitui fator de risco importante ao desenvolvimento do adenocarcinoma de esôfago (ACE)⁷⁻⁹.

3. Epidemiologia

O EB tem sua prevalência bastante variável na literatura, devido principalmente a diferentes critérios diagnósticos já utilizados, bem como à diversidade dos grupos analisados. Cerca de 15 a 30% das pessoas apresentam refluxo gastroesofágico regularmente, dos quais 5-10% poderão desenvolver EB. Portanto, até 3% da população ocidental pode desenvolver EB⁴. EB foi encontrado em cerca de 20% dos pacientes com sintomas digestivos altos (n=556)¹⁰.

O ACE tem apresentado incidência crescente no mundo ocidental, superando o carcinoma epidermóide e tornando-se o tipo mais comum das neoplasias de esôfago em algumas populações¹¹⁻¹³. Existem poucas publicações sobre a distribuição do adenocarcinoma de esôfago no Brasil e em nosso meio. Um estudo conduzido em Porto Alegre (RS), em um serviço de referência, descreveu proporção de 15% de adenocarcinomas dentre os tumores do esôfago e junção esôfago-gástrica (53/349) no período de 1987-1996¹⁴.

O risco de evolução para câncer em pacientes com EB é elevado, sendo relatado de 0,2 a 2,9% ao ano, cerca de 30 a 125 vezes o da população^{3,15}. No entanto, a maioria dos estudos apresenta amostras pequenas e não representativas da população. Por outro lado, estudos populacionais frequentemente sofrem limitação por estabelecerem critérios diagnósticos imperfeitos para EB. A mortalidade dos pacientes com EB tem resultados conflitantes, muitos deles semelhantes à da população¹⁶⁻²⁰.

A incidência de ACE em pacientes com metaplasia colunar do esôfago distal, visível ou não à endoscopia, foi

1. Cirurgião Geral do Serviço de Cirurgia Geral do HCPA; Mestre em Cirurgia pela UFRGS.

2. Professor do Programa de Pós-Graduação de Cirurgia da UFRGS. Mestre e Doutor em Medicina pela UFRGS. Pós-Doutor pela USC, Los Angeles – EUA.

Recebido em 20/04/2007

Aceito para publicação em 20/06/2007

Conflito de interesses: nenhum

Fonte de financiamento: nenhuma

Trabalho realizado no Serviço de Cirurgia do Aparelho Digestivo do Hospital de Clínicas de Porto Alegre - Programa de Pós-Graduação em Medicina: Cirurgia da UFRGS.

avaliada em grande estudo populacional na Irlanda do Norte no período de 1993 a 2000²¹. Foram diagnosticados 29 pacientes com câncer em 2.373 pacientes com metaplasia colunar esofágica. Com um seguimento médio de 11.068 pessoas-ano, o risco de ACE foi de 0,26% ao ano e de 0,4% ao ano para o subgrupo com metaplasia do tipo intestinal. Apenas homens com metaplasia colunar e com mais de 70 anos tiveram risco para neoplasia maior que 1% ao ano. A mortalidade proporcional por ACE foi significativamente maior nos pacientes com EB, especialmente nos com metaplasia intestinal, a qual foi oito vezes maior¹⁶. Apesar dos avanços no seu conhecimento e rastreamento, o ACE permanece uma doença de elevada mortalidade e sua curabilidade depende do diagnóstico precoce^{5;19}.

4. Etiologia e Patogênese

O EB está associado com DRGE de longa duração, embora os sintomas não tenham correlação precisa com refluxo ácido patológico¹⁰. As alterações manométricas do esfíncter esofageano inferior estão presentes em mais de 90% dos casos. A pHmetria de 24 horas demonstra refluxo ácido patológico em quase todos os pacientes. A motilidade ineficaz do corpo esofágico é freqüente nos pacientes com EB^{3;6;22;23}.

O refluxo alcalino duodenogastroesofágico, especialmente pela participação dos sais biliares, tem recebido atenção crescente no estudo da fisiopatogenia do EB e do ACE. O efeito carcinogênico dos sais biliares parece estar relacionado com sua capacidade de penetrar nas células, o que é dependente do pH do meio. Em pH intermediário, entre três e cinco, parece haver um ambiente favorável aos efeitos tóxicos dos sais biliares, devido ao componente não-ionizado que penetra nas células. Esse pH é freqüentemente encontrado em pacientes com uso de doses baixas e usuais de medicações anti-secretoras de ácido³.

Apesar de controvérsias em sua patogenia, o EB parece surgir de um processo que se inicia na “colunarização” da mucosa (1º passo) e posterior “intestinalização” (2º passo), com aumento gradual da extensão da mucosa colunar metaplásica^{22;23}. A região do esôfago distal entre o ligamento freno-esofágico e a junção esôfago-gástrica foi descrita por Hayward como o cárdia². Foi demonstrado que, no estado normal, essa região deveria ser revestida por epitélio escamoso, como o restante do esôfago proximal, e que a transição para o estômago se daria de forma abrupta, para uma mucosa oxíntica²⁴.

Em situações de refluxo gastroesofágico patológico, pode ocorrer uma transformação do epitélio escamoso para um epitélio colunar semelhante ao gástrico, porém mais simples e composto apenas por células colunares e mucosas, desprovido de células especializadas – parietais, principais e caliciformes, denominado epitélio juncional ou cárdico. Esse epitélio está usualmente presente em pacientes com sintomas de refluxo gastroesofágico, além de freqüentemente apresentar reação inflamatória à análise histológica. Essa situação, denominada de cardite, tem-se associado positivamente com demais evidências laboratoriais de refluxo gastroesofágico. Uma das hipóteses causais dessa transformação seria a estimulação de células-tronco do epitélio escamoso⁴.

A exposição continuada do esôfago ao refluxo patológico pode determinar a progressão em extensão proximal da mucosa cárdica. Quanto maior o seu comprimento, maior a chance desse epitélio apresentar diferenciação do tipo intestinal, com a presença de células caliciformes, caracterizando o EB¹⁰. A intestinalização da mucosa colunar associa-se com diminuição da atividade inflamatória, supostamente por uma maior resistência à agressão ácida. A metaplasia intestinal ocorre principalmente na área mais proximal da mucosa colunar, próximo da transição escamo-colunar, com progressão distal variável¹⁰. Esse fato pode ser explicado pelo ambiente menos ácido dessa região (pH entre três e cinco), pela maior neutralização da saliva e pela distância da junção esofago-gástrica, levando a um pH que favorece a intestinalização. O período entre a formação do epitélio colunar simples e sua posterior diferenciação intestinal tem sido relatado como de 5 a 10 anos, em média^{3;10;25}.

A “intestinalização” da mucosa cárdica caracteriza um estágio pré-maligno, visto que a mesma pode progredir para displasia e adenocarcinoma. Os mecanismos moleculares envolvidos nesse processo não estão bem esclarecidos. Sabe-se, todavia, que pacientes com EB apresentam maior duração dos sintomas e maior refluxo biliar. Foi demonstrado, em estudo experimental, que o epitélio intestinal sofre maior atividade proliferativa e inflamatória quando submetido a estímulo ácido e alcalino alternados, e não apenas ao estímulo ácido²⁶.

O processo de “intestinalização” parece ser de instalação gradual e progressiva³. De acordo com a extensão do epitélio colunar, o EB pode ser classificado em curto (=3cm) ou longo (>3cm). Estudos têm demonstrado que a extensão do EB tem correlação inversa à pressão e ao comprimento do esfíncter esofágico inferior e direta à intensidade do refluxo ácido esofágico^{10;27}. Também o *clearance* esofágico está prejudicado, quanto maior a extensão do epitélio metaplásico^{3;10;22;27}.

A metaplasia intestinal encontrada em mucosa cárdica da junção gastro-esofágica, não-visível à endoscopia digestiva alta, não é considerada EB, porém parece ser resultado de refluxo gastroesofágico, e não da infecção por *Helicobacter pylori* (HP), como se pensava anteriormente. A infecção pelo HP está associada à metaplasia intestinal que ocorre no epitélio fúndico, de qualquer localização. Portanto, a presença de epitélio metaplásico do tipo intestinal, na junção gastroesofágica, pode estar associada a DRGE, se ocorrer em epitélio cárdico, ou ser devida à infecção por HP, se em epitélio fúndico, com células oxínticas e parietais²³.

A progressão do EB para o ACE decorre de uma série de eventos genéticos e epigenéticos que se manifestam fenotipicamente em uma seqüência: metaplasia, displasia de baixo grau, displasia de alto grau e adenocarcinoma²⁸⁻³¹.

5. Displasia e avaliação prognóstica atual

Displasia significa a presença de epitélio neoplásico restrito à membrana basal, sendo, portanto, uma lesão pré-maligna e que também pode ser chamada de neoplasia intra-epitelial. Encontra-se entre o espectro que vai desde alterações regenerativas não neoplásicas (atipias indefinidas para displasia) até neoplasia com invasão da lâmina própria (car-

cinoma). Seu diagnóstico compreende aspectos arquiteturais e citológicos. Identificam-se proliferação e distorção glandular. Alterações citológicas incluem variação de tamanho e forma nuclear, aumento nuclear e nucleolar e da relação núcleo/citoplasma, hipercromatismo e aumento das mitoses anormais^{32,33}.

De acordo com o grau de anormalidades, as alterações citológicas podem ser classificadas em: indeterminada para displasia, displasia de baixo grau (DBG) e displasia de alto grau (DAG). A avaliação prognóstica atual é baseada na presença e graduação da displasia, sendo os pacientes arrolados em seguimento endoscópico com biópsias seriadas, segundo essa classificação^{4,34}.

A displasia significa risco aumentado de ACE. Contudo, a história natural dos pacientes com diferentes estágios de displasia é variável, sugerindo que tal classificação é heterogênea. Isso pode ser explicado por vários fatores: variabilidade diagnóstica intra e inter-observador, problemas de amostragem e regressão variável para epitélio não-neoplásico.^{33,35,36} Montgomery *et al.* realizaram estudo prospectivo avaliando a concordância do diagnóstico de displasia no EB, sua evolução e sobrevida. O diagnóstico “majoritário” da displasia foi possível em 72% (39/138) dos casos, definido pela concordância em 13 ou mais de um total de 24 avaliações. Pacientes sem displasia não evoluíram para câncer em seguimento médio de 48 meses. Pacientes indefinidos para displasia ou com DBG apresentaram evolução semelhante, com progressão para câncer em 14 a 20% dos casos, após seguimento médio de 39 meses. Pacientes com displasia de alto grau foram submetidos a ressecção precoce e apresentaram câncer em até 60% dos casos. Não houve mortalidade nos pacientes sem displasia. Um paciente dos 15 (7%), com diagnóstico inicial de DBG, morreu aos 46 meses de ACE, ao passo que 13% (2/15) dos pacientes com DAG morreram dentro de 20 meses em média. A mortalidade dos pacientes com diagnóstico inicial de câncer foi de 33% (4/12)³⁷. A progressão para câncer também correlaciona-se com a extensão e com a presença de úlceras no epitélio colunar^{34,37,38}.

6. Biologia Molecular e Carcinogênese

Considerando-se o risco elevado de ACE nos pacientes com EB e as limitações da avaliação da displasia, vários marcadores moleculares têm sido pesquisados, a fim de indicar o prognóstico de forma mais precisa, uma vez que pacientes com EB progridem de forma heterogênea e variável na seqüência metaplasia-displasia-adenocarcinoma^{4,32,39,40}.

O processo da carcinogênese do EB envolve uma série de anormalidades genéticas e epigenéticas que ocorrem em múltiplas etapas e resultam em atividade proliferativa descontrolada, independente dos controles estimulatórios e inibitórios, bloqueio da morte celular programada (apoptose), estímulo à angiogênese e invasão tecidual³⁹⁻⁴². Os eventos com correlação mais constante e de maior aplicação prognóstica no EB, até o momento, são a atividade proliferativa, as alterações de ploidias do ácido desoxirribonucléico (DNA) e mutações do gene p53³². As fases do ciclo celular e os principais marcadores moleculares em estudo no esôfago de Barrett serão descritas sumariamente a seguir.

6.1. O Ciclo Celular

O ciclo celular compreende todo o período entre duas divisões mitóticas. É controlado por uma série de moléculas presentes no núcleo celular, que determinam se a célula entrará em mitose, diferenciação, repouso ou morte. Apresenta cinco fases: G1 (*first gap*), S (*DNA synthesis*), G2 (*second gap*), M (mitose) e G0 (repouso) (Figura 1). Durante a fase G1, ocorre a síntese de proteínas e de ácido ribonucléico (RNA). Nessa fase, há um ponto crítico, denominado ponto de restrição (Ponto R), quando a célula pode seguir o ciclo para a divisão ou sair e entrar em repouso. Na fase S, ocorre a duplicação do DNA e a célula torna-se tetraplóide (4n). Em G2, a célula prepara-se para a mitose. Na fase M, ocorre a divisão celular em duas células filhas diplóides (2n). Após a mitose, a célula pode entrar na fase G0, na qual fica em repouso, ou reiniciar outro ciclo⁴³.

6.2. Marcadores Celulares

6.2.1. Proteína do Retinoblastoma, Ciclinas e Quinases Dependente de Ciclinas (CDKS)

Ao entrar na Fase S, a célula segue o ciclo celular automaticamente, pouco suscetível a interrupções. Por outro lado, a transição G1-S é altamente regulada por fatores externos, principalmente de interações entre a proteína do retinoblastoma (Rb), ciclinas e quinases dependente de ciclinas (CDKs). O gene do Rb é um gene supressor tumoral, com papel no controle do ciclo celular e da apoptose. A proteína do Rb parece ser a controladora molecular da transição do ponto R. Quando fosforilada, a proteína Rb é inativada e permite a progressão da célula para a fase S. Por outro lado, quando não fosforilada, bloqueia o ciclo celular no ponto R. A fosforilação ocorre através da interação das ciclinas com CDKs⁴⁴.

Os níveis de CDKs mantêm-se constantes no ciclo celular. Os de ciclina, porém, são variáveis. As ciclinas D1 e E têm sido implicadas na carcinogênese do esôfago de Barrett, tendo sido caracterizados seus respectivos oncogenes (11q13;19q12). Pacientes com EB têm expressão aumentada de ciclina D1 em 46% dos casos, e sua presença correlaciona-

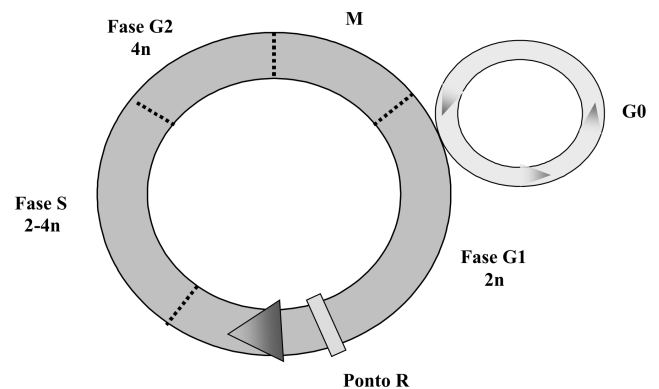


Figura 1 - O ciclo celular. Esquema representativo das fases do ciclo celular. O número cromossômico é referido pela letra “n”. (Adaptado de Souza RF, Morales CP, Spechler SJ. Review article: a conceptual approach to understanding the molecular mechanisms of cancer development in Barrett’s oesophagus. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15(8):1087-1100).

se com risco seis a sete vezes maior de ACE, em que está presente em até 70% dos casos^{45;47}.

A perda do alelo 13q, lócus do gene do Rb, tem sido encontrada em até 50% dos ACE, com perda da heterozigotidade em 36-48% dos casos, bem como alterações da transcrição do seu RNAm e perda imuno-histoquímica na progressão metaplasia-displasia-adenocarcinoma^{4;43;48;49}.

6. 2. 2. Fatores de Crescimento

A atividade proliferativa aumentada também pode ser desencadeada por desequilíbrio dos fatores de crescimento, seus receptores ou nos seus mecanismos de transdução celular. Níveis elevados de Fator de Crescimento Epidérmico (EGF) e do Fator de Crescimento Transformador-alfa (TGF- α) seus receptores (ErbB-1 e ErbB-2) têm sido encontrados no EB e no ACE. Expressão aumentada dos genes dos receptores cErb-1 (17p12-13) e cErb-2 (17q21) tem sido relatada no ACE. Os resultados, contudo, são ainda inconclusivos^{4;43;50-43}.

A interação dos fatores de crescimento com seus receptores, os quais têm propriedade de tirosina quinase, resulta na ativação da via Ras/Raf/*mitogen-activated protein kinases* (MAPK), que, por sua vez, culmina com o aumento dos níveis de ciclina D1. Até o momento, o oncogene K-Ras não se mostrou como um marcador promissor no EB⁵³⁻⁵⁵.

O TGF- β 1 pode originar estímulos proliferativos ou inibitórios, através de dois receptores, Tipo 1 e Tipo 2. Células normais usualmente respondem ao TGF- β 1 com inibição proliferativa, ao passo que as cancerígenas, de forma oposta. Sua sinalização intracelular ocorre através das proteínas SMAD2 e SMAD3, que se unem com SMAD4, formando o complexo SMAD2,3,4, que migra ao núcleo, determinando a transcrição genética. Foram detectadas mutações dos receptores e das proteínas SMAD no ACE originado do EB, ainda com resultados controversos^{43;56;57}.

6. 2. 3. Família INK4 de inibidores do ciclo celular

A ativação dos genes p15 e p16 resulta em inibição da proliferação celular. Ambos são membros da família INK-4 de inibidores celulares, os quais sintetizam proteínas que bloqueiam a fosforilação do Rb, induzida pelo complexo ciclina-cdk. Estudos sugerem que p15 e p16 são genes de supressão tumoral. A hipermetilação do p16, uma forma de inativação da transcrição de um gene, tem sido encontrada em 45 a 75% na carcinogênese de Barrett, sugerindo papel do p16 como supressor tumoral no ACE^{43;58-60}.

6.2.4. Cateninas, caderinas e gene da polipose adenomatosa colônica (APC)

Caderinas são moléculas responsáveis pela adesão célula-célula, através de sua ligação com proteínas citoplasmáticas chamadas cateninas, que estão ligadas ao citoesqueleto celular. Defeitos na interação caderinas-cateninas poderiam contribuir para aumento da agressividade tumoral. Alguns tumores que apresentam diminuição da função da E-caderina apresentam maior agressividade e metastatização^{61;62}.

A β -catenina também participa de vias de transdução celular, através da ativação no núcleo do fator de células T/

lymphoid enhanced binding factor (TCF/LEF-1), os quais aumentam transcrição de genes de crescimento. Na ausência de sua ativação, β -catenina é degradada pela proteína da APC, a qual compete com as caderinas. Carcinogênese pode ocorrer por ativação da via da β -catenina ou por inibição de sua degradação. Estudos com as caderinas e β -catenina ainda têm resultados controversos na carcinogênese de Barrett. A inativação do gene APC por metilação do promotor, no entanto, está presente em 80-90% dos casos com ACE e em 40-50% dos pacientes com EB sem displasia⁶³⁻⁶⁸.

6.2.5. Apoptose

A apoptose consiste na morte celular programada, ocorrendo na presença de danos irreparáveis ao DNA da célula. O gene p53 tem papel importante em induzir apoptose, presumivelmente através da indução de BAX (proteína proapoptótica), do Fas (receptor da superfície celular) e da diminuição das b-cateninas^{69;70}.

O aumento da ciclooxigenase-2 (COX-2) tem sido associado com resistência à apoptose. A produção da COX-2 pode ser estimulada por uma série de fatores, podendo ser produto da ativação da via Ras/Raf/MAPK. A COX-2 tem sido encontrada em níveis aumentados no ACE e no EB^{71;72}.

A sistema Fas-Fas *ligand* participa na apoptose mediada por linfócitos. Fas é um receptor celular que, quando ativado por Fas-*ligand* (FasL), induz à apoptose. Fas-*ligand* está presente na superfície de linfócitos. Tumores podem apresentar diminuição do Fas, com resistência à apoptose mediada por linfócitos. Também pode ocorrer expressão de FasL na superfície de alguns tumores, induzindo a apoptose de linfócitos que expressem receptores Fas. FasL esteve presente até 100% dos pacientes com ACE e EB com displasia. O papel do sistema Fas-FasL é ainda controverso na carcinogênese do EB^{73;74}.

6. 2. 6. Telômeros

Os telômeros são seqüências de DNA que ocupam as extremidades dos cromossomos, que não são codificadas, e servem como reguladoras da divisão celular. A cada divisão, ocorre um pequeno encurtamento dessa região, com progressiva diminuição, até que o ponto crítico seja atingido, em que a célula deverá parar sua divisão, entrando em estado de repouso (G0). Células em processo de carcinogênese podem expressar uma enzima chamada telomerase, que permite a manutenção dos telômeros e confere à célula capacidade proliferativa ilimitada. Estudos sugerem papel importante da ativação da telomerase no ACE, presente em até 100% dos casos. Essa enzima apresentou atividade crescente na seqüência metaplasia-displasia-adenocarcinoma no EB^{75;76}.

6. 2. 7. Ploidia do DNA

Células são denominadas aneuplóides quando seu conteúdo de DNA não for diplóide (2n) nem tetraplóide (4n). A ploidia é aferida por citometria de fluxo de uma suspensão de células marcadas com corante fluorescente. Aneuploidias refletem grandes alterações do DNA. Mais de 90% dos casos de DAG e ACE apresentam aneuploidias segundo alguns estudos. Pacientes com EB sem displasia com aneuploidias pare-

cem progredir mais para a seqüência displasia-adenocarcinoma. Os resultados da literatura, contudo, ainda são conflitantes e o método continua sendo objeto de pesquisa^{41:76-78}.

6. 2. 8. A Proteína p53

A proteína p53 representa o produto de um gene supressor tumoral. Sua forma normal ou selvagem tem meia-vida curta e rapidamente desaparece do meio celular. Contudo, o resultado de sua mutação é uma proteína que se acumula na célula, podendo ser identificada por vários métodos, dentre os quais se destaca a técnica imuno-histoquímica⁴³. Quando ocorre dano no DNA, a proteína p53 acumula-se, com a finalidade de bloquear o ciclo celular até que se suceda o reparo do DNA. Um dos mecanismos que permite essa atividade é a inibição das ciclinas D1 e E e, conseqüentemente, da fosforilação e inativação da proteína Rb⁷⁹.

Um dos marcadores mais estudados na carcinogênese de Barrett até o momento, o p53 tem apresentado boa correlação com a evolução metaplasia-displasia-adenocarcinoma.⁽⁸⁰⁻⁸⁶⁾ O p53 tem apresentado especificidade para alterações displásicas, sendo negativo em casos de EB sem displasia na maioria dos estudos. Está presente em 20% dos casos indeterminados para displasia, em 10 a 55% na DBG e 50 a 80% na DAG. Sua positividade no câncer é freqüente, relatada de 55 a 95%^{80:81,85-88}. Além disso, o p53 mostrou-se melhor preditor da evolução para câncer que a presença de displasia⁸¹. A inativação do gene p53 também foi estudada, ocorrendo freqüentemente por meio da perda da heterozigotidade, estando presente em 50-90% dos casos de ACE^{89:90}.

7. Atividade Proliferativa e Ki-67

A atividade proliferativa pode ser estudada através da incorporação de timidina tritiada ao DNA celular, mensuração de antígenos nucleares, como o Ki-67 e o antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA), e da expressão da enzima ornitina decarboxilase. A timidina tritiada é uma técnica realizada *in vivo* e daí decorrem suas inúmeras limitações técnicas e éticas. PCNA expressa a progressão da transição G1/S e Ki-67 representa as células proliferativas (G1,S,G2,M). Ambos podem ser aferidos por análise imuno-histoquímica de material conservado em parafina. A expressão do PCNA pode ocorrer em situações de não-proliferação, como no reparo do DNA, determinando resultado em falso-positivo^{91:95}.

A proteína Ki-67, localizada no núcleo celular, está intimamente associada com proliferação celular, e sua aferição, através do índice de expressão do Ki-67, por técnica imuno-histoquímica, tem se destacado em relação aos métodos anteriormente citados, por sua elevada acurácia e maior factibilidade técnica. Seu gene encontra-se no cromossomo 10 e consiste de 15 éxons e 30.000 pares de bases que transcreve duas formas predominantes, uma de 320 e outra de 359kDa. A estrutura protéica é caracterizada por 10 supostas seqüências nucleares, 143 sítios potenciais de fosforilação de proteína quinase C, 89 sítios para caseína quinase II, 2 sítios de tirosina quinase e 8 sítios para CDKs^{91:96}.

O ki-67 localiza-se predominantemente no nucléolo. Durante a dissociação nucleolar da mitose, concentra-se na periferia dos cromossomos⁹⁷. Até o momento, não é reconhecida sua função precisa no ambiente celular, porém existem especulações de que ela se ligue aos cromossomos na divisão celular e que participe da dissolução nucleolar. A sua fosforilação e desfosforilação coincidem com o trânsito de células pela mitose e são reguladas pelo complexo ciclina B/cdc2⁹⁶⁻⁹⁸.

Algumas mutações do gene da proteína ki-67 já foram descritas em diferentes linhagens tumorais⁹⁹. Ela está presente em células que entram em G1, aumenta durante o ciclo celular e declina rapidamente após a mitose. Sua alta associação com células em proliferação permitiu estudos em tumores de diversos tecidos, na busca de indicadores prognósticos⁹¹. O desenvolvimento de anticorpos que reconhecem o antígeno ki-67 em material fixado em formalina e conservado em parafina, como o MIB-1, facilitou grandemente o estudo do ki-67, cujo anticorpo inicial podia ser utilizado apenas em peças congeladas ou frescas⁹⁷.

Sua distribuição foi inicialmente estudada em tecidos normais. Tecidos que apresentam regeneração constante (intestino, pele, testículos) costumam apresentar maior marcação nos compartimentos proliferativos, ao passo que tecidos não proliferativos não apresentam marcação ou o fazem de forma escassa. O processo de reparo de DNA pela célula não parece associar-se com participação do Ki-67, o que lhe confere vantagem em relação ao PCNA¹⁰⁰.

A atividade proliferativa foi determinada através da análise do Ki-67 em vários tumores do aparelho digestivo, bem como nas neoplasias de mama, melanomas e linfomas. O índice do Ki-67 (percentual de células marcadas/total de células avaliadas) tem sido utilizado para quantificar a atividade proliferativa de determinado tumor ou tecido. A contagem pode ser realizada pelo patologista ou de forma eletrônica. Porschen *et al* demonstraram a positividade do ki-67 em 165 carcinomas digestivos, através da contagem eletrônica, sendo as médias de 24% para os tumores gástricos, 36% para os esofágicos (n=27), 37% para os colônicos e 34% para os retais. Todos os tumores esofágicos, contudo, eram carcinomas epidermóides¹⁰⁰.

8. Ki-67 e a Seqüência Metaplasia-Displasia-Adenocarcinoma

Diversos estudos têm avaliado o papel do ki-67 na carcinogênese do esôfago de Barrett. Sugere-se um aumento da atividade proliferativa na seqüência metaplasia-displasia-adenocarcinoma. Contudo, os resultados são conflitantes, tanto no que se refere à prevalência do ki-67 no ACE e no EB, quanto à sua correlação com a evolução metaplasia-displasia-adenocarcinoma^{88:101-103}.

Hong *et al*.¹⁰¹ conduziram estudo imuno-histoquímico com MIB-1 em 43 pacientes com biópsias de estômago normal (n=17), EB sem displasia (n=17), EB com displasia de baixo grau (n=21), EB com displasia de alto grau (n=14) e ACE (n=5). Foram estratificadas as diversas regiões do epitélio colunar (superfície, cripta superficial, cripta profunda e glândulas profundas). Houve diferença significativa entre as displasias de

baixo e de alto grau, no que se referiu ao local de marcação pelo ki-67, com aumento do compartimento superficial marcado na última, em detrimento do predomínio profundo, na primeira. Também houve diferença significativa no índice do ki-67 entre os casos sem displasia e os com displasia de baixo grau. O escore médio para os casos de ACE foi de 38%¹⁰¹.

Outro estudo avaliando a correlação da expressão do Ki-67 na seqüência displasia-adenocarcinoma foi conduzido em 44 peças de esofagectomias, dos quais 39 eram por ACE e cinco, por EB com displasia de alto grau. Os autores encontraram diferença significativa entre os grupos, com incremento progressivo na positividade do Ki-67 de 14% na DBG, para 73% na DAG e 87% no ACE¹⁰³.

Feith *et al.*, em estudo com 24 pacientes com adenocarcinoma do esôfago distal ressecado, avaliaram a prevalência do Ki-67, p53 e E-caderina nas respectivas peças cirúrgicas, em áreas de adenocarcinoma, esôfago de Barrett e esôfago normal. Apenas pacientes com a seqüência completa metaplasia-displasia-adenocarcinoma na mesma peça foram avaliados. A prevalência do Ki-67 diferiu significativamente entre os grupos, com aumento progressivo na seguinte seqüência: epitélio escamoso (20%), Barrett sem displasia (34%), Barrett com displasia (44%) e adenocarcinoma (60%). Não houve associação da atividade do Ki-67 com o estadiamento tumoral. Também não houve correlação entre o ki-67, p53 e a expressão de E-caderina⁸⁸.

Polkowski *et al.* analisaram a atividade proliferativa pelo índice do Ki-67 em 25 peças de esofagectomia, em diversas áreas histológicas. Houve pequena diferença entre os diferentes estágios de displasia, com 45% no EB sem displasia, 46% no EB com DBG e 55% na DAG. Apesar dos resultados, houve correlação linear significativa entre a atividade proliferativa e a progressão histológica. Também houve aumento do compartimento proliferativo em direção à superfície da cripta na progressão para DAG. Não foi avaliada a positividade no câncer e não foi utilizado grupo controle⁸⁷.

Lauwers *et al.* analisaram a atividade do Ki-67 em 20 peças de esofagectomia, apresentando índices de 10% no epitélio gástrico normal, 20% no EB com DBG e 50% no EB com DAG. Houve progressão superficial do compartimento proliferativo na DAG. Não foi relatada a atividade proliferativa no câncer¹⁰².

A técnica de citometria de fluxo foi utilizada previamente em alguns estudos para aferição do ki-67. Os resultados não mostraram diferenças na contagem total do Ki-67 quando da estratificação de pacientes com EB sem displasia, displasia de baixo grau, displasia de alto grau e adenocarcinoma^{104;105}. Além disso, a técnica de citometria de fluxo requer amostras de tecido fresco, compromete a arquitetura tecidual, necessita equipamento dispendioso e é uma técnica de execução trabalhosa^{77;78;106;107}.

9. Análise do Autor

O ACE tem apresentado incidência crescente em nosso meio. Sua mortalidade é elevada, e a cura depende do diag-

nóstico em estágios iniciais¹⁰⁸. O Esôfago de Barrett caracteriza-se como lesão pré-maligna, podendo levar ao desenvolvimento do ACE. O seguimento atual é baseado na avaliação anatomopatológica convencional da presença de displasia e sua graduação. Essa avaliação prognostica, entretanto, possui inúmeras limitações, selecionando grupos heterogêneos de pacientes quanto ao risco de câncer, de forma que muitos pacientes são submetidos a endoscopias e a reavaliações desnecessárias e onerosas sem confirmação da evolução para ACE. Por outro lado, há pacientes que, mesmo em seguimento, evoluem para câncer, sendo diagnosticados tardiamente, já com metástases linfáticas e, conseqüentemente, com comprometimento dos resultados do tratamento^{37;109}.

Torna-se necessária, portanto, a identificação de marcadores moleculares que possam prever com precisão o risco de evolução para câncer nos diferentes pacientes. A biologia molecular tem evoluído bastante no estudo da carcinogênese no EB, principalmente devido à progressão deste conhecimento na seqüência metaplasia-displasia-adenocarcinoma.

São inúmeros os mecanismos moleculares envolvidos na carcinogênese de Barrett. Há empenho progressivo no estudo e na descoberta das mais diversas rotas metabólicas, com o intuito de aperfeiçoar em última instância o manejo clínico desses pacientes. Os trabalhos analisando o Ki-67, marcador de nosso especial interesse, apesar de concordarem que há correlação entre a atividade proliferativa e a progressão metaplasia-adenocarcinoma, demonstram que a expressão do Ki-67 nos diferentes estágios dessa evolução é bastante variável. Sua expressão no ACE é relatada de 38 a 60%, ao passo que no EB sem displasia, de 10 a 45%. Ademais, as diferenças absolutas são pequenas entre os grupos. Esses resultados podem ser atribuídos a amostras pequenas e pouco representativas, baseadas em peças de esofagectomia, na maioria das vezes, estudando-as em suas diferentes áreas histológicas, e não baseada em pacientes, cada um representando um único diagnóstico na constituição das amostras. Além disso, a técnica imuno-histoquímica pode sofrer pequenas modificações nos diversos serviços, como diferentes anticorpos e concentrações, variações nas etapas da apresentação antigênica e diferentes técnicas para contagem do Ki-67, explicando as diferenças nos resultados.

O objetivo dessa revisão da literatura foi apresentar as principais áreas de investigação na carcinogênese do EB, sem, no entanto, esgotá-las, devido à amplitude do tema. Estamos estudando estes aspectos de forma sistemática, em linha de pesquisa específica, já tendo sido avaliados marcadores como c-myc, CdX2, p53 e p16. Tais estudos já tiveram seus resultados encaminhados à publicação. A presente revisão da literatura embasa outro estudo, objeto de dissertação de mestrado, que avalia a expressão do antígeno Ki-67 na carcinogênese do esôfago de Barrett, cujos resultados serão também encaminhados para publicação em artigo original.

ABSTRACT

The Barrett's esophagus (BE) is defined as endoscopically visible columnar mucosa at the distal esophagus, of any extension, proved to harbor intestinal metaplasia on biopsy, highlighted by the presence of goblet cells. BE denotes long-standing gastroesophageal reflux disease (GERD) and is an important risk factor for the development of esophageal adenocarcinoma (EAC). Therefore, these patients must be on follow-up, in order to diagnose cancer early. BE patients have frequent alterations in esophageal physiologic studies. Alkaline duodenogastroesophageal reflux seems to have important role. The development BE occurs in steps, initially with formation of cardiac type mucosa subsequent intestinalization. Further progression can follow a sequence, from low grade dysplasia, to high grade dysplasia and esophageal adenocarcinoma. Current follow-up is based on the presence of dysplasia. It has limitations, grouping patients heterogeneously. Different steps of carcinogenesis have been studied looking for an ideal prognostic marker. Uncontrolled proliferative activity, apoptosis inhibition, angiogenesis, tissue invasion and metastases formation are all implicated in cancer origin. Some cycle cell molecules have been studied in BE, such as retinoblastoma protein, cyclins, kinase dependent cyclins and cell cycle inhibitors. The P53 protein is one of the most investigated in the metaplasia-adenocarcinoma progression. Growth Factors, apoptotic proteins, telomers and DNA ploidy have also been searched. Increased proliferative activity has been implicated in Barrett's carcinogenesis and the Ki-67 antigen, through immunohistochemical analysis, has become the the method of choice. Present in the nucleus, it is found in proliferative cells only. Some studies suport association between Ki-67 activity and the metaplasia-dysplasia-adenocarcinoma sequence. The results, however, are inconclusive and research should follow this way (Rev. Col. Bras. Cir. 2008; 35(2): 114-123).

Key words: Barrett esophagus; Adenocarcinoma; Esophageal neoplasms; Ki-67 antigen; Tumor markers, Biological; Metaplasia.

REFERÊNCIAS

- Barrett NR. Chronic peptic ulcer of the oesophagus and 'oesophagitis'. *Br J Surg.* 1950; 38(150):175-82.
- Hayward J. The lower end of the oesophagus. *Thorax.* 1961;16:36-41.
- DeMeester SR, DeMeester TR. Columnar mucosa and intestinal metaplasia of the esophagus: fifty years of controversy. *Ann Surg.* 2000; 231(3):303-21.
- Jenkins GJ, Doak SH, Parry JM, D'Souza FR, Griffiths AP, Baxter JN. Genetic pathways involved in the progression of Barrett's metaplasia to adenocarcinoma. *Br J Surg.* 2002; 89(7):824-37.
- Shaheen NJ. Advances in Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma. *Gastroenterology.* 2005; 128(6):1554-66.
- Peters JH, Hagen JA, DeMeester SR. Barrett's esophagus. *J Gastrointest Surg.* 2004; 8(1):1-17.
- Cameron AJ, Carpenter HA. Barrett's esophagus, high-grade dysplasia, and early adenocarcinoma: a pathological study. *Am J Gastroenterol.* 1997; 92(4):586-91.
- Lagergren J, Bergstrom R, Lindgren A, Nyren O. Symptomatic gastroesophageal reflux as a risk factor for esophageal adenocarcinoma. *N Engl J Med.* 1999; 340(11):825-31.
- Cameron AJ, Ott BJ, Payne WS. The incidence of adenocarcinoma in columnar-lined (Barrett's) esophagus. *N Engl J Med.* 1985; 313(14):857-9.
- Oberg S, DeMeester TR, Peters JH, Hagen JA, Nigro JJ, DeMeester SR, Theisen J, Campos GM, Crookes PF. The extent of Barrett's esophagus depends on the status of the lower esophageal sphincter and the degree of esophageal acid exposure. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1999; 117(3):572-80.
- Devesa SS, Blot WJ, Fraumeni JF Jr. Changing patterns in the incidence of esophageal and gastric carcinoma in the United States. *Cancer.* 1998; 83(10):2049-53.
- Dolan K, Sutton R, Walker SJ, Morris AI, Campbell F, Williams EM. New classification of oesophageal and gastric carcinomas derived from changing patterns in epidemiology. *Br J Cancer.* 1999; 80(5-6):834-42.
- Watson A. Barrett's oesophagus—50 years on. *Br J Surg.* 2000; 87(5):529-31.
- de Barros SG, Vidal RM, Luz LP, Ghisolfi ES, Barlem GG, Komlós F, Wolff FH, Breyer HP, Pütten AC, Dietz J, Kruel CD, Grüber AC, Prolla JC. [Prevalence of adenocarcinoma of the esophagus and esophagogastric junction in a 10 year period at a cancer referral center in southern Brazil]. *Arq Gastroenterol.* 1999; 36(1):32-6.
- Spechler SJ. The natural history of dysplasia and cancer in esophagitis and Barrett esophagus. *J Clin Gastroenterol.* 2003; 36(5 Suppl):S2-S5.
- Anderson LA, Murray LJ, Murphy SJ, Fitzpatrick DA, Johnston BT, Watson RG, McCarron P, Gavin AT. Mortality in Barrett's oesophagus: results from a population based study. *Gut.* 2003; 52(8):1081-4.
- Eckardt VF, Kanzler G, Bernhard G. Life expectancy and cancer risk in patients with Barrett's esophagus: a prospective controlled investigation. *Am J Med.* 2001; 111(1):33-7.
- van der Burgh A, Dees J, Hop WC, van Blankenstein M. Oesophageal cancer is an uncommon cause of death in patients with Barrett's oesophagus. *Gut.* 1996; 39(1):5-8.
- Macdonald CE, Wicks AC, Playford RJ. Final results from 10 year cohort of patients undergoing surveillance for Barrett's oesophagus: observational study. *BMJ.* 2000; 321(7271):1252-5.
- Van der Veen AH, Dees J, Blankensteijn JD, van Blankenstein M. Adenocarcinoma in Barrett's oesophagus: an overrated risk. *Gut.* 1989; 30(1):14-8.
- Murray L, Watson P, Johnston B, Sloan J, Mainie IM, Gavin A. Risk of adenocarcinoma in Barrett's oesophagus: population based study. *BMJ.* 2003; 327(7414):534-5.
- Chandrasoma P. Pathophysiology of Barrett's esophagus. *Semin Thorac Cardiovasc Surg.* 1997; 9(3):270-8.
- Oberg S, Peters JH, DeMeester TR, Chandrasoma P, Hagen JA, Ireland AP, Ritter MP, Mason RJ, Crookes P, Bremner CG. Inflammation and specialized intestinal metaplasia of cardiac mucosa is a manifestation of gastroesophageal reflux disease. *Ann Surg.* 1997; 226(4):522-30; discussion 530-2.
- Chandrasoma PT, Der R, Ma Y, Dalton P, Taira M. Histology of the gastroesophageal junction: an autopsy study. *Am J Surg Pathol.* 2000; 24(3):402-9.

25. Lieberman DA, Oehlke M, Helfand M. Risk factors for Barrett's esophagus in community-based practice. GORGE consortium. Gastroenterology Outcomes Research Group in Endoscopy. *Am J Gastroenterol.* 1997; 92(8):1293-7.
26. 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.
27. DeMeester TR. Clinical biology of the Barrett's metaplasia, dysplasia to carcinoma sequence. *Surg Oncol.* 2001; 10(3):91-102.
28. Hameeteman W, Tytgat GN, Houthoff HJ, van den Tweel JG. Barrett's esophagus: development of dysplasia and adenocarcinoma. *Gastroenterology.* 1989; 96(5 Pt 1):1249-56.
29. Reid BJ. Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma. *Gastroenterol Clin North Am.* 1991; 20(4):817-34.
30. Reid BJ, Blount PL, Rubin CE, Levine DS, Haggitt RC, Rabinovitch PS. Flow-cytometric and histological progression to malignancy in Barrett's esophagus: prospective endoscopic surveillance of a cohort. *Gastroenterology.* 1992; 102(4 Pt 1):1212-9.
31. Skinner DB, Walther BC, Riddell RH, Schmidt H, Iacone C, DeMeester TR. Barrett's esophagus. Comparison of benign and malignant cases. *Ann Surg.* 1983; 198(4):554-65.
32. Fléjou JF. Barrett's oesophagus: from metaplasia to dysplasia and cancer. *Gut.* 2005; 54 Suppl 1:i6-12.
33. Reid BJ, Haggitt RC, Rubin CE, Roth G, Surawicz CM, Van Belle G, Lewin K, Weinstein WM, Antonioli DA, Goldman H, et al. Observer variation in the diagnosis of dysplasia in Barrett's esophagus. *Hum Pathol.* 1988; 19(2):166-78.
34. Nobukawa B, Abraham SC, Gill J, Heitmiller RF, Wu TT. Clinicopathologic and molecular analysis of high-grade dysplasia and early adenocarcinoma in short- versus long-segment Barrett esophagus. *Hum Pathol.* 2001; 32(4):447-54.
35. Levine DS, Haggitt RC, Blount PL, Rabinovitch PS, Rusch VW, Reid BJ. An endoscopic biopsy protocol can differentiate high-grade dysplasia from early adenocarcinoma in Barrett's esophagus. *Gastroenterology.* 1993 ;105(1):40-50.
36. Reid BJ, Weinstein WM, Lewin KJ, Haggitt RC, VanDeventer G, DenBesten L, Rubin CE. Endoscopic biopsy can detect high-grade dysplasia or early adenocarcinoma in Barrett's esophagus without grossly recognizable neoplastic lesions. *Gastroenterology.* 1988; 94(1):81-90.
37. Montgomery E, Goldblum JR, Greenson JK, Haber MM, Lamps LW, Lauwers GY, Lazenby AJ, Lewin DN, Robert ME, Washington K, Zahurak ML, Hart J. Dysplasia as a predictive marker for invasive carcinoma in Barrett esophagus: a follow-up study based on 138 cases from a diagnostic variability study. *Hum Pathol.* 2001; 32(4):379-88.
38. Menke-Pluymers MB, Hop WC, Dees J, van Blankenstein M, Tilanus HW. Risk factors for the development of an adenocarcinoma in columnar-lined (Barrett) esophagus. The Rotterdam Esophageal Tumor Study Group. *Cancer.* 1993; 72(4):1155-8.
39. Jankowski JA, Wright NA, Meltzer SJ, Triadafilopoulos G, Geboes K, Casson AG, Kerr D, Young LS. Molecular evolution of the metaplasia-dysplasia-adenocarcinoma sequence in the esophagus. *Am J Pathol.* 1999; 154(4):965-73.
40. Morales CP, Souza RF, Spechler SJ. Hallmarks of cancer progression in Barrett's oesophagus. *Lancet.* 2002; 360(9345):1587-9.
41. Wijnhoven BP, Tilanus HW, Dinjens WN. Molecular biology of Barrett's adenocarcinoma. *Ann Surg.* 2001; 233(3):322-37.
42. Sanders DSA, Taniere P, Harrison RF, Jankowski JAZ. Clinical and molecular pathology of the metaplasia-dysplasia-carcinoma sequence in Barrett's oesophagus. *Curr Diag Pathol.* 2003; 9(4):235-41.
43. Souza RF, Morales CP, Spechler SJ. Review article: a conceptual approach to understanding the molecular mechanisms of cancer development in Barrett's oesophagus. *Aliment Pharmacol Ther.* 2001; 15(8):1087-100.
44. Lundberg AS, Weinberg RA. Control of the cell cycle and apoptosis. *Eur J Cancer.* 1999; 35(4):531-9.
45. Arber N, Gammon MD, Hibshoosh H, Britton JA, Zhang Y, Schonberg JB, Rotterdam H, Fabian I, Holt PR, Weinstein IB. Overexpression of cyclin D1 occurs in both squamous carcinomas and adenocarcinomas of the esophagus and in adenocarcinomas of the stomach. *Hum Pathol.* 1999; 30(9):1087-92.
46. Arber N, Lightdale C, Rotterdam H, Han KH, Sgambato A, Yap E, Ahsan H, Finegold J, Stevens PD, Green PH, Hibshoosh H, Neugut AI, Holt PR, Weinstein IB. Increased expression of the cyclin D1 gene in Barrett's esophagus. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1996; 5(6):457-9.
47. Sarbia M, Bektas N, Muller W, Heep H, Borchard F, Gabbert HE. Expression of cyclin E in dysplasia, carcinoma, and nonmalignant lesions of Barrett esophagus. *Cancer.* 1999; 86(12):2597-601.
48. Boynton RF, Huang Y, Blount PL, Reid BJ, Raskind WH, Haggitt RC, Newkirk C, Resau JH, Yin J, McDaniel T, et al. Frequent loss of heterozygosity at the retinoblastoma locus in human esophageal cancers. *Cancer Res.* 1991; 51(20):5766-9.
49. Coppola D, Schreiber RH, Mora L, Dalton W, Karl RC. Significance of Fas and retinoblastoma protein expression during the progression of Barrett's metaplasia to adenocarcinoma. *Ann Surg Oncol.* 1999; 6(3):298-304.
50. Jankowski J, McMenemin R, Hopwood D, Penston J, Wormsley KG. Abnormal expression of growth regulatory factors in Barrett's oesophagus. *Clin Sci (Lond).* 1991; 81(5):663-8.
51. Jankowski J, Hopwood D, Wormsley KG. Flow-cytometric analysis of growth-regulatory peptides and their receptors in Barrett's oesophagus and oesophageal adenocarcinoma. *Scand J Gastroenterol.* 1992; 27(2):147-54.
52. Jankowski J, Hopwood D, Pringle R, Wormsley KG. Increased expression of epidermal growth factor receptors in Barrett's esophagus associated with alkaline reflux: a putative model for carcinogenesis. *Am J Gastroenterol.* 1993; 88(3):402-8.
53. Brito MJ, Filipe MI, Linehan J, Jankowski J. Association of transforming growth factor alpha (TGFA) and its precursors with malignant change in Barrett's epithelium: biological and clinical variables. *Int J Cancer.* 1995; 60(1):27-32.
54. Malumbres M, Pellicer A. RAS pathways to cell cycle control and cell transformation. *Front Biosci.* 1998; 3:d887-d912.
55. Trautmann B, Wittekind C, Strobel D, Meixner H, Keymling J, Gossner L, Ell C, Hahn EG. K-ras point mutations are rare events in premalignant forms of Barrett's oesophagus. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 1996; 8(8):799-804.
56. Zhou S, Kinzler KW, Vogelstein B. Going mad with Smads. *N Engl J Med.* 1999; 341(15):1144-6.
57. Garrigue-Antar L, Souza RF, Vellucci VF, Meltzer SJ, Reiss M. Loss of transforming growth factor-beta type II receptor gene expression in primary human esophageal cancer. *Lab Invest.* 1996; 75(2):263-72.
58. Klump B, Hsieh CJ, Holzmann K, Gregor M, Porschen R. Hypermethylation of the CDKN2/p16 promoter during neoplastic progression in Barrett's esophagus. *Gastroenterology.* 1998; 115(6):1381-6.
59. Merlo A, Herman JG, Mao L, Lee DJ, Gabrielson E, Burger PC, Baylin SB, Sidransky D. 5' CpG island methylation is

- associated with transcriptional silencing of the tumour suppressor p16/CDKN2/MTS1 in human cancers. *Nat Med.* 1995; 1(7):686-92.
60. Wong DJ, Barrett MT, Stoger R, Emond MJ, Reid BJ. p16INK4a promoter is hypermethylated at a high frequency in esophageal adenocarcinomas. *Cancer Res.* 1997; 57(13):2619-22.
 61. Aberle H, Schwartz H, Kemler R. Cadherin-catenin complex: protein interactions and their implications for cadherin function. *J Cell Biochem.* 1996; 61(4):514-23.
 62. Bracke ME, van Roy FM, Mareel MM. The E-cadherin/catenin complex in invasion and metastasis. *Curr Top Microbiol Immunol.* 1996; 213(Pt 1):123-61.
 63. Bailey T, Biddlestone L, Shepherd N, Barr H, Warner P, Jankowski J. Altered cadherin and catenin complexes in the Barrett's esophagus-dysplasia-adenocarcinoma sequence: correlation with disease progression and dedifferentiation. *Am J Pathol.* 1998; 152(1):135-44.
 64. Rubinfeld B, Albert I, Porfiri E, Fiol C, Munemitsu S, Polakis P. Binding of GSK3beta to the APC-beta-catenin complex and regulation of complex assembly. *Science.* 1996; 272(5264):1023-6.
 65. Seery JP, Syrigos KN, Karayiannakis AJ, Valizadeh A, Pignatelli M. Abnormal expression of the E-cadherin-catenin complex in dysplastic Barrett's oesophagus. *Acta Oncol.* 1999; 38(7):945-8.
 66. Washington K, Chiappori A, Hamilton K, Shyr Y, Blanke C, Johnson D, Swyers J, Beauchamp D. Expression of beta-catenin, alpha-catenin, and E-cadherin in Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinomas. *Mod Pathol.* 1998; 11(9):805-13.
 67. Eads CA, Lord RV, Kurumboor SK, Wickramasinghe K, Skinner ML, Long TI, Peters JH, DeMeester TR, Danenberg KD, Danenberg PV, Laird PW, Skinner KA. Fields of aberrant CpG island hypermethylation in Barrett's esophagus and associated adenocarcinoma. *Cancer Res.* 2000; 60(18):5021-6.
 68. Kawakami K, Brabender J, Lord RV, Groshen S, Greenwald BD, Krasna MJ, et al. Hypermethylated APC DNA in plasma and prognosis of patients with esophageal adenocarcinoma. *J Natl Cancer Inst.* 2000; 92(22):1805-11.
 69. Kannan K, Amariglio N, Rechavi G, Givol D. Profile of gene expression regulated by induced p53: connection to the TGF-beta family. *FEBS Lett.* 2000; 470(1):77-82.
 70. Miyashita T, Reed JC. Tumor suppressor p53 is a direct transcriptional activator of the human bax gene. *Cell.* 1995; 80(2):293-9.
 71. 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.
 72. 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.
 73. Younes M, Schwartz MR, Ertan A, Finnie D, Younes A. Fas ligand expression in esophageal carcinomas and their lymph node metastases. *Cancer.* 2000; 88(3):524-8.
 74. Younes M, Schwartz MR, Finnie D, Younes A. Overexpression of Fas ligand (FasL) during malignant transformation in the large bowel and in Barrett's metaplasia of the esophagus. *Hum Pathol.* 1999; 30(11):1309-13.
 75. Lord RV, Salonga D, Danenberg KD, Peters JH, DeMeester TR, Park JM, et al. Telomerase reverse transcriptase expression is increased early in the Barrett's metaplasia, dysplasia, adenocarcinoma sequence. *J Gastrointest Surg.* 2000; 4(2):135-42.
 76. Morales CP, Lee EL, Shay JW. In situ hybridization for the detection of telomerase RNA in the progression from Barrett's esophagus to esophageal adenocarcinoma. *Cancer.* 1998; 83(4):652-9.
 77. Reid BJ, Haggitt RC, Rubin CE, Rabinovitch PS. Barrett's esophagus. Correlation between flow cytometry and histology in detection of patients at risk for adenocarcinoma. *Gastroenterology.* 1987; 93(1):1-11.
 78. Reid BJ, Levine DS, Longton G, Blount PL, Rabinovitch PS. Predictors of progression to cancer in Barrett's esophagus: baseline histology and flow cytometry identify low- and high-risk patient subsets. *Am J Gastroenterol.* 2000; 95(7):1669-76.
 79. Giaccia AJ, Kastan MB. The complexity of p53 modulation: emerging patterns from divergent signals. *Genes Dev.* 1998; 12(19):2973-83.
 80. Younes M, Lebovitz RM, Lechago LV, Lechago J. p53 protein accumulation in Barrett's metaplasia, dysplasia, and carcinoma: a follow-up study. *Gastroenterology.* 1993; 105(6):1637-42.
 81. Younes M, Ertan A, Lechago LV, Somoano JR, Lechago J. p53 Protein accumulation is a specific marker of malignant potential in Barrett's metaplasia. *Dig Dis Sci.* 1997; 42(4):697-701.
 82. Gimenez A, de Haro LM, Parrilla P, Bermejo J, Perez-Guillermo M, Ortiz MA. Immunohistochemical detection of p53 protein could improve the management of some patients with Barrett esophagus and mild histologic alterations. *Arch Pathol Lab Med.* 1999; 123(12):1260-3.
 83. Weston AP, Banerjee SK, Sharma P, Tran TM, Richards R, Cherian R. p53 protein overexpression in low grade dysplasia (LGD) in Barrett's esophagus: immunohistochemical marker predictive of progression. *Am J Gastroenterol.* 2001; 96(5):1355-62.
 84. Skacel M, Petras RE, Rybicki LA, Gramlich TL, Richter JE, Falk GW, et al. p53 expression in low grade dysplasia in Barrett's esophagus: correlation with interobserver agreement and disease progression. *Am J Gastroenterol.* 2002; 97(10):2508-13.
 85. Flejou JF, Potet F, Muzeau F, Le Pelletier F, Fekete F, Henin D. Overexpression of p53 protein in Barrett's syndrome with malignant transformation. *J Clin Pathol.* 1993; 46(4):330-3.
 86. Fléjou JF, Volant A, Diebold MD, Sagan C, Vissuzaine C, Croué A, Robaszkievicz M, Potet F. [Overexpression of protein p53 and Barrett esophagus. A frequent and early event in the course of carcinogenesis]. *Gastroenterol Clin Biol.* 1995; 19(5):475-81.
 87. Polkowski W, van Lanschot JJ, ten Kate FJ, Baak JP, Tytgat GN, Obertop H, Voorn WJ, Offerhaus GJ. The value of p53 and Ki67 as markers for tumour progression in the Barrett's dysplasia-carcinoma sequence. *Surg Oncol.* 1995; 4(3):163-71.
 88. Feith M, Stein HJ, Mueller J, Siewert JR. Malignant degeneration of Barrett's esophagus: the role of the Ki-67 proliferation fraction, expression of E-cadherin and p53. *Dis Esophagus.* 2004; 17(4):322-7.
 89. Meltzer SJ, Yin J, Huang Y, McDaniel TK, Newkirk C, Iseri O, Vogelstein B, Resau JH. Reduction to homozygosity involving p53 in esophageal cancers demonstrated by the polymerase chain reaction. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991; 88(11):4976-80.
 90. Blount PL, Ramel S, Raskind WH, Haggitt RC, Sanchez CA, Dean PJ, Rabinovitch PS, Reid BJ. 17p allelic deletions and p53 protein overexpression in Barrett's adenocarcinoma. *Cancer Res.* 1991; 51(20):5482-6.
 91. McCormick D, Chong H, Hobbs C, Datta C, Hall PA. Detection of the Ki-67 antigen in fixed and wax-embedded sections with the monoclonal antibody MIB1. *Histopathology.* 1993; 22(4):355-60.

92. Garewal HS, Gerner EW, Sampliner RE, Roe D. Ornithine decarboxylase and polyamine levels in columnar upper gastrointestinal mucosae in patients with Barrett's esophagus. *Cancer Res.* 1988; 48(11):3288-91.
93. Garewal HS, Sampliner R, Gerner E, Steinbronn K, Alberts D, Kendall D. Ornithine decarboxylase activity in Barrett's esophagus: a potential marker for dysplasia. *Gastroenterology.* 1988; 94(3):819-21.
94. Gray MR, Hall PA, Nash J, Ansari B, Lane DP, Kingsnorth AN. Epithelial proliferation in Barrett's esophagus by proliferating cell nuclear antigen immunolocalization. *Gastroenterology.* 1992; 103(6):1769-76.
95. Gray MR, Wallace HM, Goulding H, Hoffman J, Kenyon WE, Kingsnorth AN. Mucosal polyamine metabolism in the columnar lined oesophagus. *Gut.* 1993; 34(5):584-7.
96. Endl E, Gerdes J. The Ki-67 protein: fascinating forms and an unknown function. *Exp Cell Res.* 2000; 257(2):231-7.
97. Brown DC, Gatter KC. Ki67 protein: the immaculate deception? *Histopathology* 2002 Jan;40(1):2-11.
98. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol.* 2000; 182(3):311-22.
99. Buban T, Schmidt M, Broll R, ntal-Szalmas P, Duchrow M. Detection of mutations in the cDNA of the proliferation marker Ki-67 protein in four tumor cell lines. *Cancer Genet Cytogenet.* 2004; 149(1):81-4.
100. Porschen R, Kriegel A, Langen C, Classen S, Hilse M, Lohe B, Hengels KJ, Borchard F. Assessment of proliferative activity in carcinomas of the human alimentary tract by Ki-67 immunostaining. *Int J Cancer.* 1991;47(5):686-91.
101. Hong MK, Laskin WB, Herman BE, Johnston MH, Vargo JJ, Steinberg SM, Allegra CJ, Johnston PG. Expansion of the Ki-67 proliferative compartment correlates with degree of dysplasia in Barrett's esophagus. *Cancer.* 1995; 75(2):423-9.
102. Lauwers GY, Kandemir O, Kubilis PS, Scott GV. Cellular kinetics in Barrett's epithelium carcinogenic sequence: roles of apoptosis, bcl-2 protein, and cellular proliferation. *Mod Pathol.* 1997; 10(12):1201-8.
103. Rioux-Leclercq N, Turlin B, Sutherland F, Heresbach N, Launois B, Campion JP, Ramee MP. Analysis of Ki-67, p53 and Bcl-2 expression in the dysplasia-carcinoma sequence of Barrett's esophagus. *Oncol Rep.* 1999; 6(4):877-82.
104. Iftikhar SY, Steele RJ, Watson S, James PD, Dilks K, Hardcastle JD. Assessment of proliferation of squamous, Barrett's and gastric mucosa in patients with columnar lined Barrett's oesophagus. *Gut.* 1992; 33(6):733-7.
105. Reid BJ, Sanchez CA, Blount PL, Levine DS. Barrett's esophagus: cell cycle abnormalities in advancing stages of neoplastic progression. *Gastroenterology.* 1993; 105(1):119-29.
106. Reid MM. Flow cytometry and Kleihauer tests. *J Clin Pathol.* 1996; 49(4):354.
107. Haggitt RC, Reid BJ, Rabinovitch PS, Rubin CE. Barrett's esophagus. Correlation between mucin histochemistry, flow cytometry, and histologic diagnosis for predicting increased cancer risk. *Am J Pathol.* 1988; 131(1):53-61.
108. Holscher AH, Bollschweiler E, Schneider PM, Siewert JR. Early adenocarcinoma in Barrett's oesophagus. *Br J Surg.* 1997; 84(10):1470-3.
109. Edwards MJ, Gable DR, Lentsch AB, Richardson JD. The rationale for esophagectomy as the optimal therapy for Barrett's esophagus with high-grade dysplasia. *Ann Surg.* 1996; 223(5):585-9.

Como citar este artigo:

Volkweis BS, Gurski RR. Esôfago de Barrett: aspectos fisiopatológicos e moleculares da seqüência metaplasia-displasia-adenocarcinoma - artigo de revisão. *Rev Col Bras Cir.* [periódico na Internet] 2008; 35(2). Disponível em URL: <http://www.scielo.br/rcbc>

Endereço para correspondência

Bernardo Silveira Volkweis
Rua Dr. Paulo Franco dos Reis Nº 100/ 302
Bairro Boa Vista
90480-090 - Porto Alegre - RS
Fone: (51) 30281841
Email: bvolkweis@terra.com.br