

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS CIRÚRGICAS

**A RAZÃO NEUTRÓFILO-LINFÓCITO COMO MARCADOR DE PROGRESSÃO  
DO ESÔFAGO DE BARRETT**

**VINICIUS JARDIM CAMPOS**

PORTO ALEGRE, 2018.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS CIRÚRGICAS

**A RAZÃO NEUTRÓFILO-LINFÓCITO COMO MARCADOR DE PROGRESSÃO  
DO ESÔFAGO DE BARRETT**

**VINICIUS JARDIM CAMPOS**

Orientador: Prof<sup>o</sup> Dr<sup>o</sup> Richard Ricachenevsky Gurski

Dissertação apresentada como pré-requisito parcial para obtenção de título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Cirúrgicas, Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Porto Alegre, 2018

## CIP - Catalogação na Publicação

Jardim Campos, Vinicius  
A RAZÃO NEUTRÓFILO-LINFÓCITO COMO MARCADOR DE  
PROGRESSÃO DO ESÔFAGO DE BARRETT / Vinicius Jardim  
Campos. -- 2019.  
119 f.  
Orientador: Richard Ricachenevsky Gurki.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de  
Pós-Graduação em Medicina: Ciências Cirúrgicas, Porto  
Alegre, BR-RS, 2019.

1. Esôfago de Barrett. 2. Câncer de esôfago. 3.  
Razão neutrófilo-linfócito. 4. Biomarcadores. I.  
Ricachenevsky Gurki, Richard, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os  
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

## DEDICATÓRIA

Dedico este modesto esforço acadêmico – que, espero, seja apenas o início de uma trajetória – às duas pessoas mais importantes na minha formação:

À minha mãe, pelo estímulo precoce à leitura, à escrita, à investigação e à busca do conhecimento;

E ao meu pai, pelo ensino – através do seu próprio exemplo – da ética de trabalho pela qual me pauto diariamente.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador, Prof<sup>o</sup> Richard Gurski, pelo despertar do interesse na área de cirurgia do esôfago e doença do refluxo através da sua paixão e entrega pelo assunto, que me contagiou desde os tempos de residência médica; agradeço também pela paciência e confiança comigo nesta pós-graduação, entre indas e vindas de projetos, idéias e motivações.

Ao Dr<sup>o</sup> Guilherme Mazzini, pelas preciosas contribuições neste trabalho desde a sua origem, com a generosidade de partilhar idéias e unir esforços que lhe são peculiares e constituem a marca do verdadeiro cientista.

Ao Dr<sup>o</sup> José Felipe Juchem, pelo indispensável auxílio na coleta de dados.

E, por fim, ao Criador, por ter dado ao homem inteligência, e não respostas, fazendo de nossas vidas essa estimulante busca pela verdade.

## LISTA DE ABREVIATURAS

ACE: adenocarcinoma de esôfago

AINE: anti-inflamatórios não-esteróides

CE: câncer de esôfago

CEE: carcinoma epidermóide de esôfago

DAG: esôfago de Barrett com displasia de alto grau

DBG: esôfago de Barrett com displasia de baixo grau

DRGE: doença do refluxo gastroesofágico

EB: esôfago de Barrett

EBsD: esôfago de Barrett sem displasia

EBcD: esôfago de Barrett com displasia

HR: *hazard ratio*

IC95%: intervalo de confiança no nível 95%

IL: interleucina

IBP: inibidores da bomba de prótons

OR: *odds ratio*

PCR: proteína C reativa

RNL: razão neutrófilo-linfócito

RR: risco relativo

TNF: fator de necrose tumoral

<b>1. RESUMO .....</b>	<b>9</b>
<b>1.1. Resumo em Português .....</b>	<b>9</b>
<b>1.2. Resumo em Inglês.....</b>	<b>10</b>
<b>2. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>3. REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>13</b>
<b>3.1. Epidemiologia do adenocarcinoma de esôfago e do esôfago de Barrett.....</b>	<b>16</b>
<b>3.2. A sequência metaplasia - displasia - neoplasia e as estratégias de seguimento do esôfago de Barrett. ....</b>	<b>24</b>
<b>3.3. O papel da inflamação na carcinogênese e a relação neutrófilo-linfócito como biomarcador periférico.....</b>	<b>31</b>
<b>4. JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>38</b>
<b>5. HIPÓTESES .....</b>	<b>39</b>
<b>5.1. Hipótese nula: .....</b>	<b>39</b>
<b>5.2. Hipótese operacional:.....</b>	<b>39</b>
<b>6. OBJETIVOS.....</b>	<b>40</b>
<b>6.1. Objetivo primário.....</b>	<b>40</b>
<b>6.2. Objetivo secundário .....</b>	<b>40</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>41</b>
<b>8. ARTIGO EM PORTUGUÊS .....</b>	<b>52</b>
<b>9. ARTIGO EM INGLÊS.....</b>	<b>82</b>
<b>10. TABELAS E FIGURAS DO TRABALHO.....</b>	<b>108</b>

<b>10.1.</b>	<b>Revisão da literatura .....</b>	<b>108</b>
<b>10.2.</b>	<b>Tabela 1 – características dos sujeitos do estudo.....</b>	<b>111</b>
<b>10.3.</b>	<b>Figura 1 – seleção dos pacientes com esôfago de Barrett.....</b>	<b>113</b>
<b>10.4.</b>	<b>Figura 2 – seleção dos pacientes com adenocarcinoma de esôfago.....</b>	<b>115</b>
<b>10.5.</b>	<b>Figura 3 – dados descritivos e correlação entre os três principais grupos.....</b>	<b>116</b>
<b>10.6.</b>	<b>Figura 4 – dados descritivos e correlação.....</b>	<b>117</b>
<b>10.7.</b>	<b>Figura 5 – curva <i>receiver operating characteristics</i>.....</b>	<b>118</b>
<b>10.8.</b>	<b>Figura 6 - regressão logística ordinal.....</b>	<b>119</b>



## 1. RESUMO

### 1.1. Resumo em Português

**Introdução:** A vigilância de pacientes com esôfago de Barrett (EB) baseia-se em biópsias endoscópicas para identificar a progressão da metaplasia para displasia e adenocarcinoma. A razão neutrófilo-linfócito (RNL) é uma medida indireta do desequilíbrio entre o sistema imune inato e adaptativo observado em fases iniciais da carcinogênese e tem sido estudada como um biomarcador em condições pré-malignas.

**Objetivo:** Investigar a capacidade da RNL de identificar pacientes com EB sob alto risco de progressão para displasia e neoplasia.

**Materiais e métodos:** Foram analisados retrospectivamente pacientes com diagnóstico de EB através de biópsias por endoscopia entre 2013 e 2017 com hemograma eletivo coletado dentro de 6 meses do exame, assim como pacientes atendidos por adenocarcinoma do esôfago distal (ACE) entre 2005 e 2017. A RNL foi calculada através da divisão das contagens de neutrófilos/linfócitos. Os casos foram classificados como EB sem displasia (EBsD), EB com displasia (EBcD) - se displasia de baixo ou alto grau presentes - e adenocarcinoma (ACE). Foi calculada a correlação entre os valores da RNL e os grupos de estudo, e curva "receiver operating characteristics" testou sua habilidade para diagnosticar ACE.

**Resultados:** 113 pacientes foram selecionados (EBsD, n=72; EBcD, n=11; ACE, n=30). A RNL aumentou progressivamente através dos grupos, sendo maior no grupo ACE (EBsD=1,92±0,7; EBcD=2,92±1,1; ACE=4,54±2,9; p<0,001). Houve correlação significativa entre os valores de RNL e a progressão de EBsD para EBcD e ACE (rs=0,53; p<0,001). Uma RNL>2,27 foi capaz de diagnosticar ACE com 80% de sensibilidade e 71% de especificidade (área sob a curva=0,8).

**Conclusão:** Há correlação positiva entre a RNL e a progressão do EB para displasia e câncer. Estudos prospectivos deverão ser realizados para avaliar a utilidade deste marcador na vigilância do EB.

**Palavras-chave:** esôfago de Barrett, neoplasias esofágicas, relação neutrófilo-linfócito

## 1.2. Resumo em Inglês.

**Background:** Surveillance of patients with Barrett's esophagus (BE) relies on endoscopic biopsy to identify the progression from metaplasia to dysplasia and adenocarcinoma. The neutrophil-lymphocyte ratio (NLR) is an indirect measure of the imbalance between innate and adaptive immune systems in early stages of carcinogenesis and has been studied as a biomarker in premalignant conditions. Our aim is to investigate if NLR could help surveillance for BE, identifying patients with higher risk of progression to dysplasia and neoplasia.

**Methods:** We retrospectively analyzed patients with endoscopic biopsies reporting BE between 2013 and 2017, with elective complete blood count within 6 months of the endoscopy, as well as patients with adenocarcinoma (ACE) of the distal esophagus between 2005 and 2017. NLR was calculated as total neutrophil count/total lymphocyte count. Cases were classified as non-dysplastic BE (ndBE), dysplastic BE (dBE) if either low grade or high-grade dysplasia were present, and adenocarcinoma (ACE). Receiver operating curve tested the ability of NLR to diagnose ACE.

**Results:** 113 patients were selected (ndBE, n=72; dBE, n=11; ACE, n=30). NLR progressively increased across the groups and was higher in ACE group (ndBE,  $1.92\pm 0.7$ ; dBE,  $2.92\pm 1.1$ ; ACE  $4.54\pm 2.9$ ,  $p<.001$ ). Additionally, there was a significant correlation between NLR and progression from ndBE to ACE (Figure 1,  $r=.53$ ,  $p<.001$ ).  $NLR > 2.27$  was able to diagnose ACE with 80% sensitivity and 71% specificity (area under the curve=.8).

**Conclusion:** There is a positive correlation between NLR and progression from BE to ACE. Prospective studies should be performed to assess its value in surveillance strategies.

**Keywords:** Barrett's esophagus, esophageal cancer, neutrophil-lymphocyte ratio.

## 2. INTRODUÇÃO

A inflamação e a imunidade desempenham importante papel como fator promotor ou "habilitador" da carcinogênese [1]. A "razão neutrófilo-linfócito" é um acurado marcador de inflamação sistêmica que guarda relação prognóstica com diversas neoplasias do trato digestivo. No contexto de lesões pré-malignas, tem sido estudada como ferramenta auxiliar na detecção precoce da progressão para neoplasia[2].

O adenocarcinoma de esôfago vem apresentando um aumento de grandes proporções em sua incidência ao redor do mundo nas últimas décadas, em um fenômeno epidemiológico com poucos precedentes na evolução histórica das neoplasias[3]. A vigilância de pacientes com diagnóstico de metaplasia intestinal do esôfago – sua lesão precursora, também conhecida como "esôfago de Barrett" – tem sido realizada com a finalidade de prevenção secundária desta neoplasia. No entanto, as estratégias vigentes baseiam-se em um procedimento invasivo e de alto custo (endoscopia digestiva alta sob sedação, com múltiplas biópsias), e em sua maioria levam em conta apenas a presença de displasia como marcador de risco para progressão [4]; este modelo tem sido considerado bastante inefetivo [4]. Tentativas de melhorar os seus resultados através do aumento da acurácia no diagnóstico de displasia ou de técnicas menos invasivas para obtenção de amostras, entre outros, acabam esbarrando na baixa incidência do adenocarcinoma em pacientes com esôfago de Barrett, que termina por limitar o impacto de qualquer estratégia posta em ação com base apenas nesse diagnóstico. Apesar de apresentarem um risco de adenocarcinoma de esôfago 30 a 125 vezes maior que o da população em geral, a incidência anual de neoplasia é inferior a 0,5% nestes pacientes[5–7]. Neste contexto, torna-se evidente a necessidade de estratificá-los em subgrupos de maior e menor

risco de progressão, idealmente através de métodos de baixo custo, baixo risco para o paciente e ampla disponibilidade. Assim, as estratégias de seguimento poderão ser individualizadas de forma mais coerente e custo-efetiva. Diversos biomarcadores tem sido estudados com esta finalidade.

Este trabalho tem por objetivo analisar – de forma inédita na literatura até o momento – a correlação da relação neutrófilo-linfócito com as diferentes fases de progressão do esôfago de Barrett, através de um estudo transversal retrospectivo baseado em análise de prontuários de pacientes atendidos no Hospital de Clínicas de Porto Alegre entre 2008 e 2017.

### 3. REVISÃO DA LITERATURA

A localização de referências para a presente revisão foi realizada principalmente através da busca ativa de referências em artigos de revisão e livros-texto sobre o assunto. Além disso, foram realizadas buscas na base de dados *Pubmed* com as seguintes estratégias, utilizando como filtro estudos em adultos:

- "*Barrett's esophagus AND neutrophil-to-lymphocyte ratio*": nenhuma referência encontrada.
- "*Barrett's esophagus AND biomarkers AND surveillance*": 57 referências encontradas.

Estudos analisando somente pacientes com câncer foram excluídos, restando 27 estudos dentro do escopo da revisão.

A **tabela 1** sumariza as referências encontradas e seus principais resultados até fevereiro/2018. Os trabalhos de maior relevância, assim como outros encontrados por busca ativa, serão analisados ao longo do texto.

**Tabela 1.**

**Estudos sobre biomarcadores na progressão do esôfago de Barrett [8-34].**

Estudo	País	Biomarcador	Principais resultados e comentários
<b>Bratlie et al. 2016</b>	Suécia	Sistema renina-angiotensina	Expressão de marcadores do sistema renina-angiotensina por IHQ mais elevada no EB que no epitélio escamoso de controles, e também mais elevada na displasia.
<b>Karamchandani et al. 2016</b>	EUA	CDX2, p120ctn, c-	Painel de marcadores IHQ, sem diferença entre EBsD e DBG, porém diferença significativa entre ambos e DAG/ACE.

		Myc and Jagged1	
<b>Di Caro et al. 2016</b>	Reino Unido	Obesidade e síndrome metabólica	Dados clínicos e de bioimpedância relacionados a obesidade e síndrome mostraram-se associados a EB e a displasia em relação a controles.
<b>Thomas et al. 2016</b>	EUA	Grelina e leptina sérica	Aumento da grelina associada a diagnóstico de EB, aumento da leptina associada a sintomas frequentes de DRGE porém inversamente relacionada a diagnóstico de EB.
<b>di Pietro et al. 2015</b>	Reino Unido	p53 e outros	p53 e outros marcadores de IHQ após biópsias guiadas por autofluorescência. Painel de marcadores deu boa acurácia ao método de biópsias seletivas para diagnóstico DAG e ACE.
<b>Hardikar et al. 2014</b>	EUA	PCR, IL-6, TNF solúvel e F2-isoprostanos	Estudo com biomarcadores séricos de inflamação em estudo de coorte com 397 pacientes com EB, dos quais 45 evoluíram para ACE. PCR e IL-6 elevadas PCR e IL-6 elevadas no sangue periférico correlacionaram-se com progressão para a neoplasia, porém houve perda da significância estatística após controle para idade, sexo, relação cintura-quadril e tabagismo.
<b>Wu et al. 2013</b>	EUA	microRNA	Estudo descritivo sobre expressão de microRNAs teciduais em EB e ACE.
<b>Duggan et al. 2013</b>	EUA	Glicose, insulina, leptina e adiponectina séricas	Leptina e resistência a insulina associada a progressão do EB para ACE (HR 2,45 e 2,51 respectivamente). Adiponectina inversamente relacionada.
<b>Rizk et al 2012</b>	EUA	Mesotelina	Marcador histológico expresso em DAG e ACE, porém não em pacientes sem EB ou em EB sem displasia ou DBG.
<b>O'Doherty et al. 2010</b>	Reino Unido	Transferrina e ferritina séricas e ingestão de ferro	Estudo de casos e controles. Ferritina e transferrina inversamente associada a EB (OR 0,47 e 0,41); alta ingestão de ferro inversamente relacionada a ACE (OR 0,50).

<b>Sikkema et al. 2009</b>	Holanda	p53 e ki67	Retrospectivo. Marcadores histológicos p53 e, em menor grau, ki67, associados a progressão do EB para ACE.
<b>Mokrowiecka et al. 2009</b>	Polônia	mutação no gene APC	Comparação de mutação no gene APC entre pacientes com DRGE, EB, EBcD e ACE, sem diferença entre os grupos.
<b>Abe et al. 2009</b>	Japão	H. pylori. Pepsinogênio sérico.	Estudo descritivo, pacientes com EB mais frequentemente com H. pylori negativo e altos níveis de Pepsinogênio.
<b>Chatzopoulos et. al 2007</b>	Grécia	Bax e Ki-67	Marcadores histológicos de apoptose (Bax) e proliferação (Ki67) elevados no EB em comparação com pacientes com DRGE.
<b>Di Martino et al. 2006</b>	Reino Unido	Fatores de crescimento semelhantes a insulina (IGFs)	Marcadores histológicos IGFs detectados por PCR e IHQ mais frequentes em epitélios de pacientes com ACE do que em pacientes com EB.
<b>Lomo et al. 2006</b>	EUA	BCDA	“basal crypt displasia-like atypia”. Marcador histológico associado a positividade do p53 e a displasia e ACE.
<b>Streitz et al. 2005</b>	EUA	Proteínas teciduais	Descritivo, padrões de expressão proteica em tecidos de pacientes com EB com e sem ACE associado, utilizando espectrofotometria.
<b>Olliver et al., 2005</b>	Reino Unido	Dano ao DNA tecidual	Análise histológica de dano ao DNA, associação com EB e com ACE.
<b>Rudolph et al. 2003</b>	EUA	Selênio	Estudo transversal, níveis séricos de selênio inversamente associados a DAG (OR 0,5, IC 95% 0,3-0,9).
<b>Hillman et al. 2003</b>	Austrália	Marcadores endoscópicos	Esofagite, nodularidade, úlcera, estenose associada a DAG e ACE (HR 6,7)
<b>Vaughan et al 2002</b>	EUA	Relação cintura-quadril	Relação com marcadores genéticos e de citometria de fluxo (aneuploidia e outros)
<b>Weston et al. 2001</b>	EUA	p53	hiper-expressão histológica de p53 dividiu os pacientes com DBG em um subgrupo com maior risco de progressão.
<b>Montgomery et al. 2001</b>	EUA	Displasia	Avaliação da displasia como marcador comparando diagnóstico inicial com diagnósticos após revisão por grupo de patologistas cegados. Diagnóstico inicial com melhor correlação com a progressão.

<b>Bhargava et al. 2000</b>	EUA	Mapeamento endoscópico, p53	Método de mapeamento bidimensional das biópsias esofágicas associadas a p53 e outros marcadores, efetivo para localização de sítios de maior risco para novas biópsias no local.
<b>Reid et al. 2000</b>	EUA	Aneuploidia, 4N	Dados histológicos obtidos por citometria de fluxo identificaram subgrupos de pacientes com displasia expostos a maior risco de progressão.
<b>Giménez et al. 2000</b>	Espanha	Aneuploidia, índice proliferativo	Dados histológicos obtidos por citometria de fluxo identificaram subgrupos de pacientes com displasia expostos a maior risco de progressão.
<b>Chinyama, 1999.</b>	Reino Unido	produtos do gene da mucina	Expressão aberrante de MUC 1 relacionada a displasia no EB e perda da expressão da MUC 2 a ACE.
EB = esôfago de Barrett; EBsD = esôfago de Barrett sem displasia; EBcD = esôfago de Barrett com displasia; ACE = adenocarcinoma de esôfago; DBG = esôfago de Barrett com displasia de baixo grau, DAG = esôfago de Barrett com displasia de alto grau, IHQ: imuno-histoquímica, HR = <i>hazard ratio</i> , OR = <i>odds ratio</i> .			

### 3.1. Epidemiologia do adenocarcinoma de esôfago e do esôfago de Barrett.

Excluindo-se os cânceres de pele não-melanoma, o câncer de esôfago é a 8ª neoplasia mais incidente no mundo, passando da 7ª causa de morte por câncer na década de 1990 para a 6ª posição em 2013. É a 6ª neoplasia mais incidente em homens e a 11ª em mulheres ao redor do mundo. A mortalidade pelo câncer esofágico apresenta taxas de mortalidade semelhantes às taxas de incidência em (7,7 e 9,0/100 mil, respectivamente, em homens), figurando entre as neoplasias mais letais juntamente com o câncer de pulmão, o câncer gástrico e o câncer de fígado [35–37].

Globalmente, cerca de 90% dos casos de câncer esofágico correspondem a carcinomas epidermóides, e o restante a adenocarcinomas, havendo marcantes diferenças geográficas, étnicas e



etiológicas entre os dois subtipos [38]. O país de maior incidência de carcinoma epidermóide de esôfago (CEE) é a China, com 14,6 casos/100 mil; já o país de maior incidência de adenocarcinoma de esôfago (ACE) é a Escócia, com 6,6 casos/100 mil[36]. Nos EUA, a incidência de câncer de esôfago (CE) é de 4,7/100 mil, dentre os quais 2,7 casos/100 mil de ACE. Apesar da taxa de incidência geral de CE estar estável nos EUA nas últimas décadas, a incidência de ACE na década de 70 era de apenas 0,4/100 mil; um padrão de declínio ou estabilidade na incidência de CEE e de rápido aumento da incidência de ACE tem sido observado em diversos países ao redor do mundo, porém de forma mais intensa no ocidente. Dentre as principais neoplasias de importância para a saúde pública, o ACE é a que apresenta maior aumento de incidência nas últimas décadas. Este fato tem levado vários autores a descrever este fenômeno como uma "epidemia de adenocarcinoma de esôfago" [3]. Nos EUA, estas taxas desaceleraram nos últimos anos, caindo de 8,4% ao ano antes de 1997 para 1,6% até 2009, permanecendo, no entanto, em ascensão [3,39].

Observa-se uma proporção mais elevada de CEE em países asiáticos (90% dos casos) e em países subdesenvolvidos do hemisfério sul, em contraste a uma menor incidência geral de CE e uma proporção maior de ACE em países ocidentais, especialmente em países desenvolvidos da Europa e América do Norte [37]. Uma série de 2007 esofagectomias realizadas em um centro de referência nos EUA [40] entre 1976 e 2006 ilustra o padrão de acometimento do CE nos países desenvolvidos do ocidente nas últimas décadas: entre 1976 e 1997 foram realizadas 1063 esofagectomias (média de 48 casos/ano), 74% dos casos por neoplasia, dentre os quais 69% com diagnóstico de ACE; na segunda parte da série, entre 1998 e 2006, foram realizadas 944 esofagectomias (média de 118 casos/ano), 78% por neoplasia, com uma proporção de 86% de ACE ( $p < 0,001$ ); entre as esofagectomias realizadas por causas diversas do câncer, observou-se entre os dois períodos do

estudo um aumento na proporção de cirurgias indicadas por displasia de alto grau em esôfago de Barrett, de 19% dos casos no primeiro período para 44% no período subsequente.

Conforme estimativa do Instituto Nacional do Câncer para 2016 [41] a incidência de CE no Brasil é de 8,0 casos/100 mil homens e 2,7 casos/100 mil mulheres, o que equivale a aproximadamente 11 mil novos casos por ano – a 6ª neoplasia mais incidente considerando ambos os sexos. Na região sul do Brasil, observa-se o dobro da taxa nacional de incidência, com 16,8 novos casos/100 mil homens, sendo a 5ª neoplasia mais incidente no sexo masculino nesta região e a 11ª entre as mulheres. Na região norte, a menos acometida, é a 11ª neoplasia mais frequente em homens. No Rio Grande do Sul e na cidade de Porto Alegre, observam-se taxas ainda maiores que a média regional: 20,1 e 14,2 a cada 100 mil homens, e 7,0 e 5,3 a cada 100 mil mulheres, respectivamente. A proporção entre os dois principais subtipos de CE no Brasil reportada pelo Instituto Nacional do Câncer é de 90% CEE e 10% ACE. No entanto, não há publicações de registros nacionais que explicitem detalhes destes dados, como a distribuição regional dos dois subtipos. Um estudo de prevalência dos subtipos de CE realizado no sul do Brasil [42] a partir de dados obtidos em exames endoscópicos entre 1987 e 1996 mostrou uma proporção de 15% de casos de adenocarcinoma de esôfago ou da junção esofagogástrica. Considerando a proporção estimada pelo INCA de 10%, estima-se uma incidência anual de ACE no Rio Grande do Sul de 2 casos/100 mil em homens e 0,7/100 mil em mulheres, taxas inferiores porém próximas a de países desenvolvidos onde a proporção de ACE é maior, o que caracteriza o Rio Grande do Sul como uma potencial área de alta incidência para ambos os subtipos histológicos.

Conforme a análise de Edgren et al. [3], as causas da "epidemia" do ACE ainda não são bem compreendidas. Os estudos epidemiológicos sobre o ACE provém em sua maioria de países desenvolvidos, com alta confiabilidade nos dados mesmo levando-se em conta dados de décadas

passadas, reduzindo a chance de viés relacionado à maior identificação de casos. As mudanças que ocorreram nos critérios de classificação do adenocarcinoma gástrico proximal no período - uma neoplasia de incidência também crescente nas últimas décadas - também não explicam o fenômeno, sendo inclusive consideradas um fator que pode ter levado a subestimação dos casos de ACE. Além disso, fatores etiológicos em comum entre essas duas patologias podem estar envolvidos no aumento de ocorrência observado em ambas. O fato de a proporção de casos iniciais e a mortalidade por ACE ter permanecido estável nas últimas décadas afasta, por sua vez, a possibilidade de viés relacionado a um maior número de diagnósticos por melhor acesso aos métodos ou refinamento tecnológico, o que levaria a um aumento de detecção em fases mais precoces da doença. Ademais, os incrementos tecnológicos para rastreamento e diagnóstico do ACE foram modestos no período em comparação com o montante do aumento de casos detectados.

Dentre os fatores de risco identificados para o desenvolvimento do ACE, a doença do refluxo gastroesofágico (DRGE) e sua principal complicação, o esôfago de Barrett (EB), são os mais conhecidos [5,43,44]. A definição de EB, embora ainda alvo de divergências entre diferentes sociedades científicas, tem sido definida de forma mais consistente como a presença de metaplasia intestinal histologicamente confirmada (epitélio metaplásico com células caliciformes) em amostra de epitélio colunar visível ao exame da mucosa esofágica[45][46]. Chandrasoma et al. [47], em análise histopatológica de 74 pacientes submetidos a esofagectomia por adenocarcinoma do esôfago distal e do cárdia, encontrou metaplasia intestinal associada ao tumor em 65% dos casos; entre os tumores iniciais, a associação foi de 100%, diminuindo a medida em que aumentava o tamanho do tumor. O estudo conclui que em ambos os casos a neoplasia parece ter origem em epitélio metaplásico, que tende a ser gradualmente substituído pela neoplasia a medida em que esta avança até que totalmente substituído em tumores maiores.

Embora a dificuldade em uniformizar métodos de diagnóstico e rastreamento em paciente com DRGE e EB dificultem a obtenção de dados populacionais fidedignos, existem evidências de que ambas as patologias também vem apresentando aumento de incidência nas últimas décadas[48–50], o que pode estar relacionado com aumento na incidência do ACE. Um estudo britânico [51] observou um aumento da frequência do diagnóstico EB em estudos endoscópicos de 0,2 para 1,6% entre 1977 e 1996. A prevalência atual estimada de esôfago de Barrett varia entre 0,5% - 2% na população geral e entre de 5-15% em pacientes com DRGE [6,52,53]. A prevalência de DRGE na população geral de países ocidentais varia entre 15-20%, com um aumento significativo nas últimas décadas [54]. No Brasil, em inquérito populacional realizado em 22 cidades [55], a prevalência de pirose foi de 11,9%.

A obesidade e a gordura abdominal aumentam em 2-3 vezes o risco de ACE [56]. Sua associação com a DRGE e o EB é bem conhecida, porém também está associada de forma isolada, da mesma forma que o aumento da circunferência abdominal e da relação cintura-quadril [57]. A obesidade, assim como o ACE, ganhou dimensões de epidemia nas últimas décadas[58]; embora as populações acometidas pela epidemia da obesidade tenham sobreposição geográfica clara com as regiões de maior aumento da incidência do ACE, existe – como pondera Edgren et al. – uma grande discrepância entre o aumento observado na prevalência de obesidade – cerca de 3 vezes nas regiões mais acometidas – e o de ACE, de aproximadamente 600% em algumas regiões do mundo. Outro dado discrepante neste ponto é que, embora a epidemia de obesidade tenha afetado igualmente a população branca e negra norte-americana, houve redução da incidência de ACE nesta última. A mesma incongruência na teoria da obesidade como explicação para a epidemia do ACE observa-se analisando a proporção da neoplasia entre os sexos – 7-10 vezes maior em homens – enquanto que a obesidade aumentou de forma igual ou em alguns casos até maior no sexo feminino.

A relação de risco entre o sexo masculino e o ACE não é totalmente compreendida. Embora o EB acometa também com mais frequência o sexo masculino (2-3 homens para cada mulher), a diferença entre os sexos é muito maior em casos de neoplasia. Homens com EB apresentam um risco 2-3 vezes maior de progressão para ACE.

O álcool e o tabaco, fatores de risco de grande impacto no CEE, desempenham diferentes papéis no ACE. O tabagismo, embora não seja um fator de risco bem definido para o desenvolvimento do EB em pacientes com DRGE, uma vez estabelecido o epitélio metaplásico proporciona um aumento de risco de evolução para ACE proporcionalmente a carga tabágica e ao tempo de exposição ao tabaco [59]. O consumo de álcool, por sua vez, não parece ser um fator de risco nem para o desenvolvimento de EB e nem para progressão para ACE.

Um amplo levantamento global feito pela *International Agency for Research on Cancer* (IARC) acerca do papel do consumo de café e chás na carcinogênese não encontrou associação entre os variados componentes dessas bebidas e a ocorrência de câncer de esôfago. Por outro lado, o estudo observou relação direta entre o consumo regular de bebidas com mais 60-65°C e a ocorrência de carcinoma epidermóide de boca e esôfago [60]. Um estudo realizado no Rio Grande do Sul, onde o consumo diário da erva mate sob infusão de água quente é amplamente difundido entre os diversos estratos sociais da população, constatou uma mediana de temperatura da água de 64,4°C no momento do consumo [61]. Este hábito regional pode explicar, ao menos em parte, a maior ocorrência de CEE na região, porém é pouco provável que guarde qualquer relação com a ocorrência do ACE.

Diversos estudos de coorte observacionais realizados ao redor do mundo [62–64] mostraram efeito benéfico dos inibidores da bomba de prótons (IBP) em pacientes com EB, com uma redução do risco de desenvolvimento de displasia de alto grau (DAG) ao redor de 50% entre usuários regulares do medicamento. Nenhum destes estudos, no entanto, utilizou dados populacionais, sendo

em geral baseados em amostras de centro de referência; tampouco há estudos controlados sobre o tema. Apesar de indicado por todos os consensos, a capacidade dos IBPs de deter a evolução do EB está longe de ser tranquilizadora. Um dado alarmante é a persistência de pH esofágico ácido em 18,6% dos pacientes recebendo esomeprazol 40 mg duas vezes ao dia no estudo de Spechler et al., que analisou em ensaio duplo cego os dados de pHmetria de pacientes com EB recebendo diferentes dosagens da droga [65]. Além disso, o fato de o tratamento com IBPs apenas modificar o pH do refluxato gástrico sem impedir a ocorrência do refluxo em si deixa a mucosa esofágica exposta a outros componentes de papel carcinogênico bem estabelecido. Ácidos biliares, por exemplo, são observados com mais frequência na mucosa de pacientes com EB em comparação com pacientes com DRGE sem metaplasia [66]; o papel carcinogênico destas substâncias já é bem conhecido [66,67]. Neste sentido, a cirurgia anti-refluxo (funduplicatura) oferece uma vantagem teórica adicional em relação ao tratamento clínico ao bloquear a ocorrência mecânica do refluxo ao invés de apenas modificar a sua composição química [68]. Um estudo publicado em 2003 por Gurski et al. [69] analisou a evolução de 91 pacientes com EB sem displasia ou com displasia de baixo-grau (DBG) tratados com IBP ou cirurgia anti-refluxo, por um tempo de seguimento médio de 50 meses; entre os pacientes com displasia de baixo-grau, houve regressão para EB não displásico em 68% dos pacientes, e de EB para epitélio normal (com ausência de metaplasia) em 21% dos casos; em análise multivariada, epitélio colunar com menos de 3 cm (EB curto) e realização de tratamento cirúrgico foram os únicos fatores relacionados a quaisquer dos padrões de regressão histopatológica.

Diversos estudos mostram um efeito inverso entre o uso de anti-inflamatórios não esteróides (AINE) com o diagnóstico e com a progressão do EB, com uma redução de risco estimada em 40-50% entre usuários regulares desse tipo de medicamento. A infecção da mucosa gástrica pelo *Helicobacter pylori* também parece ser um fator protetor contra a ocorrência de EB e de ACE, sendo

um dos mecanismos aventados a redução da produção de ácido secundária a gastrite crônica causada pela bactéria. Algumas evidências apontam para um efeito protetor relacionado ao uso de estatinas, porém os dados são conflitantes e não permitem uma conclusão segura [70].

Um estudo mostrou ocorrência de EB em familiares de 1º grau de 28% dos pacientes com ACE. Diversas evidências apontam para possíveis relações genéticas na ocorrência do EB e do ACE porém, até o momento, não foram identificadas síndromes familiares específicas [70].

O aumento da frequência de DRGE, EB e ACE desde a década de 60, especialmente entre a população de origem europeia em países ocidentais, é um fenômeno epidemiológico que, embora bem documentado, tem causas ainda pouco compreendidas. O Brasil, um país de composição étnica altamente variada, faz parte de um grupo de países de alta incidência de CE, com grande predominância do subtipo epidermóide. A região sul do país - uma região de colonização europeia maciça, com fluxos imigratórios relativamente recentes na história - é a região mais acometida por CE no país. Ainda que a proporção entre os subtipos pareça guardar relação semelhante a observada em nível nacional, a alta incidência geral observada potencializa também o impacto epidemiológico do ACE na região. Frente às dificuldades de acesso ao sistema de saúde enfrentadas pela população brasileira e à dependência do acesso a endoscopia para o diagnóstico do esôfago de Barrett, é esperado que a imensa maioria da população em risco esteja à margem do sistema de saúde. Levando em conta o fato de que a epidemia do ACE ao redor do mundo apresentou grandes variações temporais entre os diferentes países, como aponta Edgren et al., sendo inicialmente observada no Reino Unido na década de 60, nos EUA na década de 70 e na escandinávia apenas na década de 80, e que sua incidência segue aumentando em todas essas regiões, é possível que fenômeno semelhante possa vir a acometer a população brasileira ou, em um cenário mais pessimista, já possa estar

acometendo, porém às margens da detecção das insuficientes bases de dados nacionais e do precário acesso a serviços de saúde de qualidade por parcela considerável da população.

### **3.2. A sequência metaplasia – displasia – neoplasia e as estratégias de seguimento do esôfago de Barrett.**

O termo "rastreamento" (*screening*) é utilizado para designar estratégias efetuadas sobre indivíduos assintomáticos com vistas à detecção e manejo de condições que possam aumentar o risco de determinado agravo (prevenção primária). Já o termo "seguimento" ou "vigilância" (*surveillance*) é utilizado para designar estratégias efetuadas sobre indivíduos com determinada doença, visando prevenir ou diagnosticar precocemente as suas complicações (prevenção secundária). Via de regra, as estratégias para detecção precoce do EB são denominadas "rastreamento", enquanto que os exames regulares realizados em pacientes que já tem diagnóstico de EB, visando a detecção da displasia ou do ACE em estágio precoce, compõem as chamadas estratégias de "seguimento" do EB.

Qualquer estratégia deve seguir alguns pressupostos imprescindíveis, como por exemplo, uma adequada relação risco-benefício e custo-benefício. O risco e o custo de uma estratégia preventiva estão relacionados com o método utilizado, e o denominador desta relação é a capacidade que a intervenção proposta tem de detectar casos tratáveis em um alto número de indivíduos seguidos. As estratégias de prevenção do câncer colorretal através de exames endoscópicos de rastreamento e seguimento, por exemplo, são invasivas e de alto custo; no entanto, estima-se que foram responsáveis pela queda de 30% na incidência da neoplasia somente na primeira década do século XX [71]. O benefício de uma estratégia de vigilância estará sempre limitado ao montante do risco adicional que o grupo a ser vigiado apresenta em relação à população em geral. Portanto, nem sempre



uma condição pré-maligna bem definida clinicamente torna-se automaticamente uma oportunidade efetiva para prevenção da neoplasia.

No caso do EB, uma limitação importante das suas estratégias de seguimento reside no fato de que, apesar de aumentar significativamente o risco de ACE em relação à população em geral, a incidência ajustada entre pacientes com e sem diagnóstico não é tão impactante como se poderia imaginar. Outro fato importante é o alto grau de invasão e de custo dos métodos adotados. Ambos os fatores somados geram um estratégia de baixíssima efetividade.

A correlação causal entre a DRGE, a metaplasia intestinal (EB) e o ACE é matéria de consenso entre especialistas [45]. Conforme o trabalho já citado de Chandrasoma et al. [47], a metaplasia intestinal está presente na grande maioria dos ACE em estágio inicial, sendo gradualmente transformada em tecido neoplásico a medida que o tumor avança. Uma análise retrospectiva realizada em pacientes com ACE submetidos à terapia neoadjuvante [72] reforçou esta observação ao revelar a presença de metaplasia intestinal circunjacente ao adenocarcinoma em 75% dos pacientes antes da quimioterapia; o dado mais interessante, no entanto, foi que após a terapia neoadjuvante, com a regressão do tecido tumoral, a metaplasia foi detectada em 97% dos casos.

Em torno de 50% dos pacientes com ACE já apresentam doença incurável ao diagnóstico, enquanto que os poucos pacientes detectados em fase assintomática da doença apresentam sobrevida significativamente maior [70]. Existem evidências mostrando melhor sobrevida também entre pacientes com diagnóstico prévio de EB e até mesmo pacientes com DRGE e com pelo menos uma endoscopia digestiva alta realizada previamente ao diagnóstico de ACE [4]. Estes dados levam a crer que a sobrevida em pacientes com ACE é bastante sensível ao grau de vínculo do paciente com serviços de saúde e com a realização de exames diagnósticos com maior frequência.

O rastreamento (*screening*) do EB na população geral ou em pacientes com diagnóstico de DRGE não é recomendado de forma unânime entre as sociedades de especialistas. Uma das razões é a relativa baixa prevalência – cerca de 1,6% da população – associada a falta de marcadores clínicos e demográficos que consigam selecionar de forma confiável os pacientes sob maior risco, já que estima-se que 40% dos pacientes com EB não apresenta qualquer tipo de sintoma de DRGE [6]. Apesar disso, a *British Society of Gastroenterology* recomenda o rastreamento do EB em pacientes com pelo menos três fatores clínicos de risco: sexo masculino, > 50 anos de idade, raça branca, sintomas crônicos de DRGE e obesidade [46].

Estratégias de seguimento (*surveillance*) de pacientes com diagnóstico firmado de EB, por sua vez, apesar de amplamente recomendadas por todas as sociedades de especialistas, tem conseguido mostrar apenas evidências indiretas de benefício. Em metanálise publicada em fevereiro de 2018 por Codipilly et al. [73] sobre o efeitos das estratégias de seguimento do EB nos desfechos relacionados ao ACE, uma análise de 12 estudos de coorte evidenciou maior sobrevida geral e específica em pacientes com ACE diagnosticado durante seguimento do EB em comparação com pacientes diagnosticados após ocorrência de sintomas (RR = 0,73; IC95% = 0,57 - 0,94), e o seguimento foi associado a detecção de tumores mais precoces; no entanto, após ajuste para viés de prevalência e viés de "tempo de espera" (*length time / lead-time bias*), os benefícios encontrados foram eliminados ou no mínimo atenuados. Todas as estratégias das principais sociedades de gastroenterologia e endoscopia digestiva ao redor do mundo (*AGA – American Gastroenterological Association; ACG – American College of Gastroenterology; ASGE – American Society for Gastrointestinal Endoscopy; BSG – British Society of Gastroenterology; SFED – French Society of Digestive Endoscopy*) encontram-se sustentadas por dois pilares: a endoscopia digestiva alta com múltiplas biópsias como método e a presença de epitélio displásico como marcador de risco [70].

Esta abordagem, apesar de racional e coerente com o entendimento que se tem sobre a evolução do ACE em pacientes com EB, apresenta diversas limitações na prática.

O uso da displasia como marcador de risco impõe a necessidade de análise histológica do epitélio metaplásico, já que sua presença não altera o seu aspecto macroscópico; esta análise é feita a partir de biópsias, atualmente realizadas por endoscopia digestiva alta. O desconforto usual do exame aliado ao tempo consumido pelo alto número de biópsias necessárias para uma amostragem minimamente representativa da área de metaplasia torna imperativa a necessidade de sedação para o procedimento, aumentando ainda mais o seu custo e morbidade, além de retirar o paciente do trabalho pelo resto do dia. Outro problema da estratificação baseada apenas na detecção histopatológica da displasia reside na grande variedade interobservador para o seu diagnóstico, com valores publicados de *kappa* tão baixos quanto 0,11 mesmo entre patologistas especializados[74]. Ademais, mesmo os protocolos de biópsia considerados padrão-ouro, como protocolo de Seattle – que recomenda biópsias nos quatro quadrantes a cada 2 cm de epitélio colunar visível – são capazes de avaliar apenas uma pequena fração da área sob risco (<5%) [75]. Devido ao fato de as alterações displásicas não ocorrerem de modo uniforme ao longo do epitélio, os falsos-negativos podem ser apenas minimizados – através de óticas de alta precisão, corantes, marcadores imuno-histoquímicos para displasia, entre outros – porém nunca totalmente eliminados. Com relação ao método de obtenção das amostras, técnicas menos invasivas tem sido testadas, como a endoscopia transnasal, a avaliação por cito-esponja e a cápsula endoscópica; nenhuma delas, no entanto, se mostrou capaz de superar as dificuldades citadas.

Além das inúmeras limitações dos métodos vigentes avaliação do EB, outra importante – e, provavelmente, a principal – razão para o insucesso das estratégias atuais de seguimento reside nas características epidemiológicas desta doença. A coorte de base populacional publicada no *New*

*England Journal of Medicine* em 2011 por Hvid-Jensen et al. [5] sobre a incidência de ACE em pacientes com EB permanece como o estudo epidemiológico de maior impacto no assunto até o momento. Este trabalho, realizado a partir de registros de base populacional da Dinamarca, acompanhou a evolução pacientes com diagnóstico de EB entre 1992 e 2009, com 11028 casos registrados no período analisado, num total de 67105 pessoas-ano (mediana de 5,2 anos de seguimento). O risco anual de ACE entre pacientes com EB foi de 0,12% (IC 95% 0,09 - 0,15), ou 1 caso por 860 pacientes-ano. Quanto a displasia de alto grau, a incidência no primeiro ano de seguimento foi de 0,7%, e 1,1% após. A incidência de ACE e DAG combinadas foi de 2,6 casos por 1000 pessoas-ano, com uma taxa de incidência padronizada – comparando os pacientes com EB ao restante da população – de 21,1. A displasia de baixo grau (DBG) neste estudo foi um importante marcador de risco: a incidência de ACE foi de 2,3% entre os pacientes que apresentaram DBG ao diagnóstico de EB, em contraste com apenas 0,5% dos pacientes sem displasia no momento do diagnóstico; a presença de DBG gerou um risco relativo (RR) para ACE de 4,8 (IC95% 2,6 - 8,8) e para DAG de 4,7 (IC95% 3,0 - 7,6), e de 5,1 (IC95% 3,4 - 7,6) para ambos os desfechos combinados. Os achados deste estudo foram amplamente consistentes com os de outra coorte populacional realizada na Irlanda [76]. Os autores concluem que as medidas de risco encontradas foram 4-5 vezes mais baixas que os dados previamente estabelecidos por estudos de menores e que serviram de base para a elaboração das estratégias de rastreamento então (e até o presente) vigentes. Na metanálise sobre a mortalidade por ACE em pacientes com EB realizada por Sikkema et al., a principal causa de morte foi doença cardiovascular (35%); apenas 7% dos pacientes com EB morreram por ACE, correspondendo a um risco anual de apenas 0,3% [7].

Estes dados mostram que, apesar de haver um substrato racional sólido para a indicação de seguimento do EB com vistas a prevenção do ACE, apenas uma pequeníssima parcela dos pacientes

atualmente elegíveis para os protocolos de seguimento realmente se beneficiam destas estratégias que, por sua vez, são caras e invasivas. No entanto, existem também evidências que apontam para a necessidade de se seguir perseguindo uma estratégia ideal, entre elas o avanço na ocorrência do ACE nas últimas décadas e a alta letalidade da doença quando diagnosticada após a ocorrência de sintomas. Ademais, o rápido avanço tecnológico da endoscopia terapêutica tem disponibilizado opções de tratamento do EB com e sem displasia de forma minimamente invasiva, com uma perspectiva de substituir completamente a esofagectomia como forma de tratamento para a DAG, tornando ainda mais relevante o esforço para uma efetiva detecção destas condições [77–80]. Neste contexto, a identificação de fatores demográficos e de biomarcadores de uso clínico que sejam capazes de estratificar os pacientes com EB em subgrupos de maior e menor risco é, definitivamente, o ponto estratégico central para o delineamento de estratégias preventivas eficazes e custo-efetivas [4,6,46,76,81–85].

Alguns fatores clínicos e demográficos associados a maior ocorrência de ACE – sexo masculino, idade avançada, tabagismo, obesidade visceral, comprimento do epitélio colunar metaplásico, sintomas crônicos de DRGE, hérnia de hiato e estenose esofágica – tem sido testados em modelos de estimativa do risco de progressão. Dentre todos os citados, no entanto, apenas a presença de Barrett longo (epitélio colunar visível com 3 cm ou mais de extensão máxima) mostrou-se consistente, e é de fato é um dos critérios adotados pela *British Society of Gastroenterology* [46] para definição dos intervalos entre os exames endoscópicos.

Bird-Lieberman et al. [86], em um estudo de casos e controles aninhado em uma coorte de base populacional da Irlanda do Norte, introduziu de forma retrospectiva um conjunto de marcadores moleculares histopatológicos a um modelo de regressão logística a fim de avaliar a chance de progressão para DAG e EAC; DBG, ploidia anormal do DNA e a "lecitina *Aspergillus oryzae*" foram

os marcadores com melhor capacidade de predizer progressão. Com exceção do biomarcador Lewis<sup>x</sup>, todos os demais também apresentaram algum grau de associação (p53, expressão da ciclina A, aglutinina WG, Lewis<sup>a</sup>, sialyl). Em pacientes com DBG, cada biomarcador positivo adicionou uma OR de 3,7 (IC 95% 2,4 - 5,7) para progressão.

O marcador histológico p53 é um dos biomarcadores de progressão do EB mais estudados, com resultados razoavelmente consistentes até o momento. Sua adição na avaliação histológica da displasia – recomendada no último consenso da *British Society of Gastroenterology* [46] – aumenta a acurácia do diagnóstico e a concordância inter-observador [87]. Sua superexpressão também associou-se a progressão independente da idade, sexo ou comprimento do EB (RR ajustado = 5,6; IC 95% 3,1 - 10,3); o risco de progressão mostrou-se ainda maior para a perda da expressão do p53 (RR 14; IC 95% 5,3 - 37,2) [88]. No entanto, ainda não há consensos estabelecidos nas principais sociedades de Patologia ao redor do mundo quanto a aplicação e interpretação do p53 na prática clínica [6].

A proteína CDX2, naturalmente presente no núcleo das células da mucosa do intestino delgado e grosso, encontra-se expressa ectopicamente no esôfago de pacientes com EB e parece estar envolvida nas fases finais de evolução do epitélio colunar, mais especificamente na sua diferenciação em metaplasia do tipo intestinal. Um estudo realizado no Rio Grande do Sul através da análise imuno-histoquímica (IHQ) de 150 espécimes histológicos de epitélio esofágico, encontrou diferença significativa na expressão de CDX2 em pacientes com EB ou ACE em comparação com pacientes com esofagite péptica ou epitélio colunar sem metaplasia intestinal [89].

Existem diversas limitações quanto ao uso de biomarcadores moleculares e histológicos na prática clínica: seus métodos de testagem são, em muitos casos, altamente especializados e pouco padronizados; em sua maioria, agregam pouco impacto quando considerados individualmente,

tornando necessária a composição de um painel com diversos marcadores para obter uma correlação consistente; são limitados a amostragem do epitélio colunar através de múltiplas biópsias toda as limitações deste método; e, por fim, carecem estudos prospectivos avaliando sua real aplicabilidade.

### **3.3. O papel da inflamação na carcinogênese e a relação neutrófilo-linfócito como biomarcador periférico.**

A publicação “Hallmarks of Cancer” [90], publicada em 2000 na revista *Cell*, delineou um modelo conceitual de carcinogênese, com base nas evidências até então disponíveis, servindo de referência no assunto desde então. Este modelo estabeleceu seis “*marcos do desenvolvimento*” das células neoplásicas através das quais se torna possível que “sobrevivam, proliferem-se e disseminem-se”; são eles: sinalização proliferativa sustentada, evasão de supressores de crescimento celular, ativação da invasão e metástase, ativação da imortalidade replicativa, indução da angiogênese e resistência a morte celular. Em 2011, foi publicada pelos mesmo autores uma atualização deste modelo à luz de uma década inteira de novos estudos, com destaque para a descrição de dois marcos emergentes – o bloqueio à destruição pelo sistema imune e a desregulação do metabolismo energético celular – e de duas “*características habilitadoras*”, que atuam de forma subjacente a todos os oito marcos constituindo os mecanismos através dos quais eles são adquiridos pela neoplasia. Estas duas características habilitadoras são: *a* instabilidade genômica e *a inflamação* [1].

As similaridades clínicas entre as manifestações neoplásicas e inflamatórias, assim como a relação entre o sistema imune e a oncogênese, são motivo de debate desde os tempos de Virchow, que em 1863 já postulava que a inflamação crônica gerada por irritantes ambientais poderia

ocasionar neoplasias devido ao estímulo proliferativo sustentado gerado pela cicatrização do tecido lesado. A observação de que a relação do câncer com a imunidade e a inflamação representa uma reação natural de "defesa" do organismo afetado contra o tecido tumoral aberrante foi construída a partir de certas observações clínicas, como por exemplo, a incidência desproporcional de diversos tipos de neoplasia em indivíduos imunossuprimidos. Nas últimas décadas, no entanto, com a possibilidade de identificação dos diferentes subtipos celulares que compõe o tecido peritumoral através de marcadores moleculares específicos, este conceito foi passando por mudanças importantes. Estudos com espécimens histológicos demonstram que virtualmente todo tecido tumoral encontra-se infiltrado pelas células imunes do hospedeiro, mas com intensidade e composições celulares variáveis que, por sua vez, guardam relação com o comportamento do tumor e o prognóstico do hospedeiro [91,92]. Neste contexto, a relação entre a imunidade/inflamação e o câncer parece constituir um sistema mais ambíguo e complexo do que se supunha, a medida em que parece envolver não apenas mecanismos naturais de defesa e reparação tecidual, mas também a transformação de células imunes do hospedeiro – cooptadas pelos sinalizadores tumorais – em verdadeiros agentes pró-cancerígenos [93,94].

A resposta imune inata, representada por neutrófilos e macrófagos, constitui a primeira reação contra a lesão tecidual, desempenhando papel no isolamento de antígenos e células anormais, na limpeza de debris e na proliferação de novos tecidos no processo de cicatrização. A capacidade destas células de permear diferentes estruturas "invadindo tecidos", de sintetizar estroma e de induzir neovascularização através da síntese de diversos fatores de crescimento, guardam estreita relação com os marcos de desenvolvimento tumoral; de fato, este componente do sistema imune parece ser o instrumento utilizado pela neoplasia para adquirir estas habilidades [1]. O tecido neoplásico, desde os seus estágios mais iniciais de desenvolvimento, torna-se viável quando atinge a capacidade de



"aparelhar" estas células do sistema imune inato e utilizar suas habilidades no processo de oncogênese [1,93,95]. Por outro lado, o sistema imune adaptativo (ou humoral), através da sua resposta imune específica, coordenada e sustentada, mediada pelos linfócitos, parece estar mais envolvido nos mecanismos de resposta anti-oncogênica. Em análise de diversos espécimes histológicos extraídos de estudos de coorte de pacientes com câncer, Pagés et al. observou que a infiltração por linfócitos T na periferia tumoral foi um forte preditor de maior sobrevida global e também de sobrevida livre de doença [91].

A intensidade da resposta humoral é amplamente dependente do grau de cooptação do sistema inato, responsável por iniciar a cadeia de resposta imune através da apresentação de antígenos e pela produção de citocinas que atraem os linfócitos T à periferia tumoral. Fatores solúveis como a interleucina 6 (IL-6) produzidos pelas células tumorais alteram a maturação de macrófagos a ponto de bloquearem a sua capacidade de ativar o recrutamento de linfócitos T citotóxicos [96,97]. Em uma metanálise sobre o papel da infiltração de linfócitos T na periferia tumoral no prognóstico de pacientes oncológicos publicada por Gooden et al. em 2011 [98], observou-se efeito protetor (HR = 0,58; IC95% = 0,43 - 0,78) para mortalidade de pacientes com tumores infiltrados por linfócitos CD3+. McCourt et al. [99] observaram a produção de fatores promotores de angiogênese (VEGF 1) em macrófagos ativados por citocinas inflamatórias (IL-6, TNF), enquanto Jablonska et al. [100] observaram correlação entre a intensidade da produção de TNF e IL-6 por macrófagos de pacientes com adenocarcinoma de mama e carcinoma epidermóide de com critérios de agressividade da neoplasia (estágios mais avançados, resposta ao tratamento).

Outras evidências acerca do papel carcinogênico da inflamação surgiram com o crescente interesse de drogas anti-inflamatórias na quimioprevenção do câncer. O ácido acetil-salicílico (AAS)

é provavelmente a droga mais estudada neste contexto, com estudos apontando efeito protetor para diversas neoplasias digestivas, entre elas o câncer colorretal, gástrico e esofágico [101].

Morales et al. [102] revisou as evidências relacionadas a progressão do EB à luz do modelo proposto por Hanahan e Weinberg na publicação "*Hallmarks of Cancer Progression in Barrett's Esophagus*" (2002), já apontando – mesmo antes da atualização do modelo em 2011 – diversos fatores inflamatórios desencadeados pela refluxo ácido e biliar não só na formação da metaplasia como também na aquisição de características malignas pelo epitélio metaplásico. Uma revisão feita por Volkweis et al. [103] e outra mais recente de Poehlman et al. sobre a progressão do EB [104] destacou o papel do refluxo ácido e biliar crônico com o estímulo à produção de citocinas inflamatórias, radicais livres de oxigênio e de fatores de transcrição, como o CDX2.

Cabe ressaltar, conforme explicitado por Hanahan e Weinberg, que boa parte das evidências encontradas a respeito da cooptação tumoral do sistema imune são encontradas logo nas fases iniciais da carcinogênese, sendo este processo, nas palavras dos autores, "*capaz de levar lesões pré-malignas incipientes à transformação em massas tumorais plenamente desenvolvidas*". Os autores concluem que a compreensão destes mecanismos se reveste de importância ainda maior quando considerado o contexto da detecção e tratamento precoce das neoplasias, e não apenas no estudo prognóstico de tumores já plenamente desenvolvidos[1].

Ao revisar os estudos disponíveis sobre biomarcadores inflamatórios para o diagnóstico precoce do câncer, observa-se uma predominância de marcadores histopatológicos (biomoleculares, citometria de fluxo, imuno-histoquímicos). No entanto, há interesse crescente no estudo de biomarcadores periféricos, pela sua maior reprodutibilidade e aplicabilidade clínica. Entre os biomarcadores periféricos de inflamação sistêmica mais estudados neste contexto estão a proteína C

reativa (PCR), a albumina, a interleucina 6 (IL-6), o fator de necrose tumoral (TNF) e a *relação neutrófilo-linfócito* (RNL).

Um grupo de pesquisadores da Universidade de Glasgow propôs uma ferramenta prognóstica em pacientes oncológicos - o *Glasgow Prognostic Score* - composto pela medida da proteína C reativa e da albumina no sangue periférico. Em revisão após mais de uma década de experiência, incluindo mais de 60 estudos e um total > 30 mil pacientes, verificou-se significativo valor preditivo deste escore composto por marcadores inflamatórios para diversos desfechos clínicos – sobrevida geral, sobrevida livre de doença, caquexia, complicações pós-operatórias – de forma independente ao estágio tumoral e outras variáveis prognósticas tradicionais [105].

Hardikar et al. (2014) [13] analisou a correlação de biomarcadores séricos de inflamação com a progressão do EB em estudo de coorte com 397 pacientes, dos quais 45 evoluíram para ACE. PCR e IL-6 elevadas no sangue periférico foram associadas a um risco cerca de duas vezes maior de progressão para a neoplasia, porém houve perda da significância estatística após controle para idade, sexo, relação cintura-quadril e tabagismo (HR / IC 95% de 1,77 / 0,93 - 3,37 para PCR e 1,79 / 0,93 - 3,43 para IL-6).

A RNL é outro marcador de inflamação sistêmica que tem sido relacionado ao prognóstico de pacientes oncológicos. Um dos principais atrativos deste marcador – além da facilidade de obtenção na prática clínica por ser calculado pela divisão da contagem total de neutrófilos pela de linfócitos em um hemograma comum de sangue periférico – é a sua expressão indireta da relação entre o sistema imune inato (neutrófilos, macrófagos) e o sistema imune humoral (linfócitos), cujo desequilíbrio é um dos marcos conceituais mais bem estabelecidos no que diz respeito a relação do sistema imune/inflamatório com a carcinogêneses, conforme ilustrado anteriormente. Isto confere uma vantagem teórica da RNL sobre marcadores inflamatórios relativamente inespecíficos, como a

PCR. Fang et al. analisou estes dois marcadores em uma série de 226 pacientes com carcinoma epidermóide da cavidade oral; uma PCR > 5 esteve associada a uma RNL  $\geq 2,44$ , e ambos os marcadores foram capazes de prever prognóstico de forma independente; a RNL, todavia, foi capaz de estratificar subgrupos de maior risco mesmo dentre os pacientes com PCR elevada [106].

A capacidade da RNL de representar o desbalanço entre a imunidade inata e humoral tem sido sugerida por diversos trabalhos. Motomura et al. [107], em estudo com pacientes transplantados por hepatocarcinoma, demonstrou associação entre uma RNL  $\geq 4$  e o aumento na expressão tumoral de interleucina-17 e da infiltração peritumoral por macrófagos. Kantola et al. [108], em estudo com portadores de carcinoma colorretal, encontrou associação entre a elevação da RNL e o aumento de diversas citocinas em sangue periférico (IL-1ra, IL-6, IL-7, IL-8, IL-12, MCP-1, PDGFBB).

Uma revisão sistemática publicada em 2013 também pela Universidade de Glasgow [109] avaliou a correlação entre a RNL e o prognóstico de pacientes oncológicos. Os desfechos primários foram sobrevida geral e específica, recorrência e resposta ao tratamento; também foi avaliada a associação da RNL com outras características clínicas e outros marcadores inflamatórios. Em três coortes de pacientes não selecionados (n = 21193), analisando tumores variados, a RNL mostrou-se um preditor independente de sobrevida; o limiar utilizado variou de 3,3 a 5,0. Trinta e quatro estudos incluindo somente pacientes com neoplasias sólidas operáveis (n = 12426) fizeram parte da amostra, e entre estes o limiar de RNL mais comumente utilizado foi 5,0 (16 estudos); sete destes estudos avaliaram a RNL em tumores do TGI superior (um em câncer de esôfago, seis em câncer gástrico), todos demonstrando relação entre a RNL elevada e menor sobrevida geral, e quatro deles reportando também uma relação com o estágio tumoral, especialmente com o estágio T, inclusive desde os seus estágios precoces; o limiar nesses estudos variou entre 2,0 e 5,0. Estudos avaliando pacientes que receberam neoadjuvância ou quimiorradioterapia definitiva também evidenciaram a RNL como

preditor de resposta e sobrevida. A grande variabilidade de limiares utilizados dificultou o cálculo de uma medida de risco média entre os estudos; a título de ilustração deste ponto, cito o estudo de Sato et al. [110], analisando a RNL em pacientes com câncer de esôfago: após análise multivariada, uma RNL  $< 2,2$  e a ausência de linfonodos positivos foram os únicos fatores preditores de resposta patológica completa após neoadjuvância. Já no estudo de Mohri et al. [111], uma RNL  $> 2,2$  foi fator preditor independente para menor sobrevida em pacientes com câncer gástrico, juntamente com tamanho do tumor e estágio T.

Como se pode observar, está bem estabelecido o papel da RNL e de outros biomarcadores periféricos relacionados à inflamação sistêmica no prognóstico de pacientes oncológicos. Gemenetzi et al., no entanto, em estudo publicado na revista *Annals of Surgery* em 2017 [2], analisou o papel deste biomarcador sob uma diferente perspectiva: a detecção de neoplasia em uma condição pré-maligna. Em análise retrospectiva de 272 pacientes submetidos a ressecção pancreática por neoplasia intraductal papilar e mucinosa (IPMN), foi analisada a RNL como fator preditivo para displasia e neoplasia na peça cirúrgica. Os IPMN são as neoplasias císticas benignas do pâncreas mais prevalentes ao redor do mundo, e estão associadas a risco variável de progressão para adenocarcinoma. Atualmente, estes pacientes são submetidos a um protocolo de seguimento onde o risco de neoplasia é estimado com base em dados de imagem (tamanho da lesão, presença de componente sólido, dilatação do ducto pancreático) e alguns dados clínicos, como a presença de icterícia [112]; pacientes com critérios de alto risco tem indicação de pancreatectomia. Uma RNL  $> 4$  foi associada a uma OR de 6,62 para carcinoma invasor (IC 95% 2,23 - 20,9,  $p < 0,001$ ), superando critérios tradicionais de ressecção, como a dilatação do ducto pancreático (OR = 5,14), presença de componente sólido na lesão (OR = 3,16) e tamanho  $> 3$  cm (OR = 4,91). Neste estudo, no entanto, a RNL não apresentou sensibilidade suficiente para predizer displasia de alto-grau.

A razão neutrófilo-linfócito, conclui-se, tem se mostrado promissora na avaliação não apenas prognóstica, mas também diagnóstica de pacientes oncológicos. Sua coleta é feita de forma simples, através de uma amostra de sangue periférico, e sua mensuração através de um método barato, amplamente disponível, confiável e reproduzível entre diferentes serviços - um simples hemograma. Estes fatores, aliados a sua relação conceitual com processos biomoleculares da carcinogênese que vem sendo sucessivamente reforçados na literatura – especialmente às fases mais iniciais da invasão maligna – confere a este biomarcador um grande potencial de uso na prática clínica, especialmente em protocolos de vigilância de condições pré-malignas. Tendo em vista a urgente necessidade de ferramentas de estratificação de risco com estas características para os pacientes com diagnóstico de EB, temos na RNL um dos biomarcadores que merece atenção especial neste contexto.

#### **4. JUSTIFICATIVA**

O ACE é a neoplasia de maior crescimento de incidência no mundo nas últimas décadas, fenômeno considerado por alguns autores como uma verdadeira epidemia. O Brasil é um país de alta incidência de CE, especialmente no estado do Rio Grande do Sul. Apesar da predominância do subtipo epidermóide em nosso meio, não há dados populacionais que de fato tenham avaliado o possível impacto desta epidemia em nosso meio. Fatores relacionados ao ACE, como DRGE, obesidade, elevada proporção de idosos e de etnia racial branca, entre outros, sugerem que a população do Rio Grande do Sul pode estar exposta ao mesmo tipo de risco que outros países onde esse fenômeno foi observado.

O simples diagnóstico de EB é um fator de risco para neoplasia insuficiente para traçar estratégias efetivas de prevenção. Neste sentido, a identificação de biomarcadores relacionados a progressão

para displasia e neoplasia assume importância estratégica na delimitação de subgrupos de maior ou menor risco dentre a totalidade dos pacientes com EB.

Marcadores periféricos de inflamação sistêmica são ferramentas acuradas na avaliação prognóstica de neoplasias; mais recentemente, tem sido estudados também como preditores de progressão em condições pré-malignas, inclusive o EB. A maioria dos trabalhos publicados sobre o tema, no entanto, baseia-se em técnicas histopatológicas que, por sua vez, tem demonstrado baixa aplicabilidade prática por razão de sua alta complexidade, custo, pouca uniformidade entre diferentes métodos de aferição e dependência de exames invasivos para coleta de material [4]. Existem poucos estudos na literatura [13,113,114] que utilizaram biomarcadores inflamatórios de sangue periférico na avaliação da progressão do EB; nenhum deles utilizou a RNL como marcador, não encontrando-se, pois, na presente revisão, nenhum estudo publicado sobre este tema.

## **5. HIPÓTESES**

### **5.1. Hipótese nula:**

- Não há correlação entre o aumento da RNL com a progressão do EB para displasia e neoplasia.

### **5.2. Hipótese operacional:**

- Há correlação significativa entre o aumento da RNL com a progressão do EB para displasia e neoplasia.

## **6. OBJETIVOS**

### **6.1. Objetivo primário**

Analisar a correlação entre o aumento da RNL e as diferentes fases de progressão do EB.

### **6.2. Objetivo secundário**

Estimar a relação de risco entre o marcador e a progressão do Barrett para displasia e câncer.



## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* [Internet]. 2011 Mar 4;144(5):646–74. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
2. Gemenetzi G, Bagante F, Griffin JF, Rezaee N, Javed AA, Manos LL, et al. Neutrophil-to-lymphocyte Ratio is a Predictive Marker for Invasive Malignancy in Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms of the Pancreas. *Ann Surg* [Internet]. 2017 Aug;266(2):339–45. Available from: <http://dx.doi.org/10.1097/SLA.0000000000001988>
3. Edgren G, Adami H-O, Weiderpass E, Weiderpass Vainio E, Nyrén O. A global assessment of the oesophageal adenocarcinoma epidemic. *Gut* [Internet]. 2013 Oct;62(10):1406–14. Available from: <http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2012-302412>
4. Sami SS, Raganath K, Iyer PG. Screening for Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma: rationale, recent progress, challenges, and future directions. *Clin Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2015 Apr;13(4):623–34. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2014.03.036>
5. Hvid-Jensen F, Pedersen L, Drewes AM, Sørensen HT, Funch-Jensen P. Incidence of adenocarcinoma among patients with Barrett's esophagus. *N Engl J Med* [Internet]. 2011 Oct 13;365(15):1375–83. Available from: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1103042>
6. Runge TM, Abrams JA, Shaheen NJ. Epidemiology of Barrett's Esophagus and Esophageal Adenocarcinoma. *Gastroenterol Clin North Am* [Internet]. 2015 Jun 1;44(2):203–31. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889855315000187>
7. Sikkema M, de Jonge PJF, Steyerberg EW, Kuipers EJ. Risk of esophageal adenocarcinoma and mortality in patients with Barrett's esophagus: a systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2010 Mar;8(3):235–44; quiz e32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2009.10.010>
8. Bratlie SO, Edebo A, Casselbrant A, Helander HF, Fändriks L. The renin-angiotensin system in Barrett's esophagus. *Scand J Gastroenterol* [Internet]. 2016 Sep;51(9):1037–42. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/00365521.2016.1174881>
9. Karamchandani DM, Lehman HL, Ohanessian SE, Massé J, Welsh PA, Odze RD, et al. Increasing diagnostic accuracy to grade dysplasia in Barrett's esophagus using an immunohistochemical panel for CDX2, p120ctn, c-Myc and Jagged1. *Diagn Pathol* [Internet]. 2016 Feb 29;11:23. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13000-016-0473-7>

10. Di Caro S, Cheung WH, Fini L, Keane MG, Theis B, Haidry R, et al. Role of body composition and metabolic profile in Barrett's oesophagus and progression to cancer. *Eur J Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2016 Mar;28(3):251–60. Available from: <http://dx.doi.org/10.1097/MEG.0000000000000536>
11. Thomas SJ, Almers L, Schneider J, Graham JE, Havel PJ, Corley DA. Ghrelin and Leptin Have a Complex Relationship with Risk of Barrett's Esophagus. *Dig Dis Sci* [Internet]. 2016 Jan;61(1):70–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s10620-015-3867-6>
12. di Pietro M, Boerwinkel DF, Shariff MK, Liu X, Telakis E, Lao-Sirieix P, et al. The combination of autofluorescence endoscopy and molecular biomarkers is a novel diagnostic tool for dysplasia in Barrett's oesophagus. *Gut* [Internet]. 2015 Jan;64(1):49–56. Available from: <http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2013-305975>
13. Hardikar S, Onstad L, Song X, Wilson AM, Montine TJ, Kratz M, et al. Inflammation and oxidative stress markers and esophageal adenocarcinoma incidence in a Barrett's esophagus cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 2014 Nov;23(11):2393–403. Available from: <http://dx.doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-14-0384>
14. Wu X, Ajani JA, Gu J, Chang DW, Tan W, Hildebrandt MAT, et al. MicroRNA expression signatures during malignant progression from Barrett's esophagus to esophageal adenocarcinoma. *Cancer Prev Res* [Internet]. 2013 Mar;6(3):196–205. Available from: <http://dx.doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-12-0276>
15. Duggan C, Onstad L, Hardikar S, Blount PL, Reid BJ, Vaughan TL. Association between markers of obesity and progression from Barrett's esophagus to esophageal adenocarcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2013 Aug;11(8):934–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2013.02.017>
16. Rizk NP, Servais EL, Tang LH, Sima CS, Gerdes H, Fleisher M, et al. Tissue and serum mesothelin are potential markers of neoplastic progression in Barrett's associated esophageal adenocarcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 2012 Mar;21(3):482–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-11-0993>
17. O'Doherty MG, Abnet CC, Murray LJ, Woodside JV, Anderson LA, Brockman JD, et al. Iron intake and markers of iron status and risk of Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma. *Cancer Causes Control* [Internet]. 2010 Dec;21(12):2269–79. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s10552-010-9652-0>
18. Sikkema M, Kerkhof M, Steyerberg EW, Kusters JG, van Strien PMH, Looman CWN, et al. Aneuploidy and overexpression of Ki67 and p53 as markers for neoplastic progression in Barrett's esophagus: a case-control study. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 2009 Nov;104(11):2673–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2009.437>
19. Mokrowiecka A, Wierchniewska-Lawska A, Smolarz B, Romanowicz-Makowska H, Malecka-Panas E. [Polymorphism/loss of heterozygosity of APC gene in GERD-Barrett's metaplasia-dysplasia-adenocarcinoma sequence]. *Pol Merkur Lekarski* [Internet]. 2009 May;26(155):385–9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19606680>

20. Abe Y, Iijima K, Koike T, Asanuma K, Imatani A, Ohara S, et al. Barrett's esophagus is characterized by the absence of *Helicobacter pylori* infection and high levels of serum pepsinogen I concentration in Japan. *J Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2009 Jan;24(1):129–34. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1440-1746.2008.05691.x>
21. Chatzopoulos D, Kyrgidis A, Kountouras J, Zavos C, Molyvas E, Venizelos I. Bax upregulation may provide a rationale for the low incidence of esophageal adenocarcinoma in a Greek cohort of patients with Barrett's esophagus. *Hepatogastroenterology* [Internet]. 2007 Apr;54(75):705–9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17591046>
22. Di Martino E, Wild CP, Rotimi O, Darnton JS, Olliver RJ, Hardie LJ. IGFBP-3 and IGFBP-10 (CYR61) up-regulation during the development of Barrett's oesophagus and associated oesophageal adenocarcinoma: potential biomarkers of disease risk. *Biomarkers* [Internet]. 2006 Nov;11(6):547–61. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/13547500600896791>
23. Lomo LC, Blount PL, Sanchez CA, Li X, Galipeau PC, Cowan DS, et al. Crypt dysplasia with surface maturation: a clinical, pathologic, and molecular study of a Barrett's esophagus cohort. *Am J Surg Pathol* [Internet]. 2006 Apr;30(4):423–35. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16625087>
24. Streitz JM Jr, Madden MT, Marimanikkuppam SS, Krick TP, Salo WL, Aufderheide AC. Analysis of protein expression patterns in Barrett's esophagus using MALDI mass spectrometry, in search of malignancy biomarkers. *Dis Esophagus* [Internet]. 2005;18(3):170–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1442-2050.2005.00488.x>
25. Olliver JR, Hardie LJ, Gong Y, Dexter S, Chalmers D, Harris KM, et al. Risk factors, DNA damage, and disease progression in Barrett's esophagus. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 2005 Mar;14(3):620–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-04-0509>
26. Rudolph RE, Vaughan TL, Kristal AR, Blount PL, Levine DS, Galipeau PC, et al. Serum selenium levels in relation to markers of neoplastic progression among persons with Barrett's esophagus. *J Natl Cancer Inst* [Internet]. 2003 May 21;95(10):750–7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12759393>
27. Hillman LC, Chiragakis L, Clarke AC, Kaushik SP, Kaye GL. Barrett's esophagus: Macroscopic markers and the prediction of dysplasia and adenocarcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2003 May;18(5):526–33. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12702044>
28. Vaughan TL, Kristal AR, Blount PL, Levine DS, Galipeau PC, Prevo LJ, et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drug use, body mass index, and anthropometry in relation to genetic and flow cytometric abnormalities in Barrett's esophagus. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 2002 Aug;11(8):745–52. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12163328>
29. 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* [Internet]. 2001 May;96(5):1355–62. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2001.03851.x>
30. Montgomery E, Goldblum JR, Greenson JK, Haber MM, Lamps LW, Lauwers GY, et al. 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* [Internet]. 2001 Apr;32(4):379–88. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/hupa.2001.23511>
  31. Bhargava P, Eisen GM, Holterman DA, Azumi N, Hartmann DP, Hanfelt JJ, et al. Endoscopic mapping and surrogate markers for better surveillance in Barrett esophagus. A study of 700 biopsy specimens. *Am J Clin Pathol* [Internet]. 2000 Oct;114(4):552–63. Available from: <http://dx.doi.org/10.1309/93WG-ERRB-PN57-C15A>
  32. 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* [Internet]. 2000 Jul;95(7):1669–76. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2000.02196.x>
  33. Giménez A, Minguela A, de Haro LM, Parrilla P, Bermejo J, Pérez D, et al. DNA ploidy status and proliferative activity as markers of malignant potential in Barrett's esophagus: flow cytometric study using routinely paraffin-embedded tissue. *World J Surg* [Internet]. 2000 Jan;24(1):72–7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10594207>
  34. Chinyama CN, Marshall RE, Owen WJ, Mason RC, Kothari D, Wilkinson ML, et al. Expression of MUC1 and MUC2 mucin gene products in Barrett's metaplasia, dysplasia and adenocarcinoma: an immunopathological study with clinical correlation. *Histopathology* [Internet]. 1999 Dec;35(6):517–24. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10583575>
  35. Global Burden of Disease Cancer Collaboration, Fitzmaurice C, Dicker D, Pain A, Hamavid H, Moradi-Lakeh M, et al. The Global Burden of Cancer 2013. *JAMA Oncol* [Internet]. 2015 Jul;1(4):505–27. Available from: <http://dx.doi.org/10.1001/jamaoncol.2015.0735>
  36. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016. *CA Cancer J Clin* [Internet]. 2016 Jan;66(1):7–30. Available from: <http://dx.doi.org/10.3322/caac.21332>
  37. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* [Internet]. 2011 Mar;61(2):69–90. Available from: <http://dx.doi.org/10.3322/caac.20107>
  38. Forman D, Bray F, Brewster DH, Gombe Mbalawa C. Cancer incidence in five continents, vol. X (electronic version). Lyon: IARC. 2013. 2013;
  39. Dubecz A, Solymosi N, Stadlhuber RJ, Schweigert M, Stein HJ, Peters JH. Does the Incidence of Adenocarcinoma of the Esophagus and Gastric Cardia Continue to Rise in the Twenty-First Century?-a SEER Database Analysis. *J Gastrointest Surg* [Internet]. 2013 Nov 15; Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11605-013-2345-8>
  40. Orringer MB, Marshall B, Chang AC, Lee J, Pickens A, Lau CL. Two Thousand Transhiatal

Esophagectomies: Changing Trends, Lessons Learned. *Ann Surg* [Internet]. 2007 Sep;246(3):363–74. Available from: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00000658-200709000-00003>

41. da Silva IN de CJAG. INCA: Estimativa 2016. Incidência de câncer no Brasil. MINISTÉRIO DA SAÚDE INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA) [Internet]. 2015; Available from: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/>
42. De Barros SG, Vidal RM, Luz LP, Ghisolfi ES, Barlem GG, Komlós F, et al. Prevalence of adenocarcinoma of the esophagus and esophagogastric junction in a 10 year period at a cancer referral center in southern Brazil. *Arq Gastroenterol* [Internet]. 1999;36(1):32–6. Available from: <http://europepmc.org/abstract/med/10511877>
43. Lagergren J, Bergström R, Lindgren A, Nyrén O. Symptomatic gastroesophageal reflux as a risk factor for esophageal adenocarcinoma. *N Engl J Med* [Internet]. 1999 Mar 18;340(11):825–31. Available from: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM199903183401101>
44. Cameron AJ, Romero Y. Symptomatic gastro-oesophageal reflux as a risk factor for oesophageal adenocarcinoma. *Gut* [Internet]. 2000 Jun;46(6):754–5. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10807883>
45. American Gastroenterological Association, Spechler SJ, Sharma P, Souza RF, Inadomi JM, Shaheen NJ. American Gastroenterological Association medical position statement on the management of Barrett’s esophagus. *Gastroenterology* [Internet]. 2011 Mar;140(3):1084–91. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2011.01.030>
46. Fitzgerald RC, di Pietro M, Ragnath K, Ang Y, Kang J-Y, Watson P, et al. British Society of Gastroenterology guidelines on the diagnosis and management of Barrett’s oesophagus. *Gut* [Internet]. 2014 Jan;63(1):7–42. Available from: <http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2013-305372>
47. Chandrasoma P, Wickramasinghe K, Ma Y, DeMeester T. Is intestinal metaplasia a necessary precursor lesion for adenocarcinomas of the distal esophagus, gastroesophageal junction and gastric cardia? *Dis Esophagus* [Internet]. 2007;20(1):36–41. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1442-2050.2007.00638.x>
48. van Soest EM, Dieleman JP, Siersema PD, Sturkenboom MCJM, Kuipers EJ. Increasing incidence of Barrett’s oesophagus in the general population. *Gut* [Internet]. 2005 Aug;54(8):1062–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1136/gut.2004.063685>
49. Coleman HG, Bhat S, Murray LJ, McManus D, Gavin AT, Johnston BT. Increasing incidence of Barrett’s oesophagus: a population-based study. *Eur J Epidemiol* [Internet]. 2011 Sep;26(9):739–45. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s10654-011-9596-z>
50. El-Serag HB. Time Trends of Gastroesophageal Reflux Disease: A Systematic Review. *Clin Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2007 Jan 1;5(1):17–26. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2006.09.016>

51. Caygill CPJ, Reed PI, Johnston BJ, Hill MJ, Ali MH, Levi S. A single centres 20 years experience of columnar-lined (Barrett) oesophagus diagnosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 1999 Dec [cited 2018 Jan 20];11(12):1355. Available from: [http://journals.lww.com/eurojgh/Abstract/1999/12000/A\\_single\\_centres\\_20\\_years\\_experience\\_of.3.aspx](http://journals.lww.com/eurojgh/Abstract/1999/12000/A_single_centres_20_years_experience_of.3.aspx)
52. Ronkainen J, Aro P, Storskrubb T, Johansson S-E, Lind T, Bolling-Sternevald E, et al. Prevalence of Barrett's esophagus in the general population: an endoscopic study. *Gastroenterology* [Internet]. 2005 Dec;129(6):1825–31. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2005.08.053>
53. Hayeck TJ, Kong CY, Spechler SJ, Gazelle GS, Hur C. The prevalence of Barrett's esophagus in the US: estimates from a simulation model confirmed by SEER data. *Dis Esophagus* [Internet]. 2010 Aug;23(6):451–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1442-2050.2010.01054.x>
54. El-Serag HB, Sweet S, Winchester CC, Dent J. Update on the epidemiology of gastro-oesophageal reflux disease: a systematic review. *Gut* [Internet]. 2014 Jun;63(6):871–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2012-304269>
55. Moraes-Filho JPP, Chinzon D, Eisig JN, Hashimoto CL, Zaterka S. Prevalence of heartburn and gastroesophageal reflux disease in the urban Brazilian population. *Arq Gastroenterol* [Internet]. 2005 Apr;42(2):122–7. Available from: <http://dx.doi.org/S0004-28032005000200011>
56. Naveed M, Dunbar KB. Esophageal adenocarcinoma: risk factors. In: *Esophageal cancer and barrett's esophagus* [Internet]. John Wiley & Sons, Ltd; 2015. p. 35–44. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/9781118655153.ch4>
57. O'Doherty MG, Freedman ND, Hollenbeck AR, Schatzkin A, Abnet CC. A prospective cohort study of obesity and risk of oesophageal and gastric adenocarcinoma in the NIH-AARP Diet and Health Study. *Gut* [Internet]. 2012 Sep;61(9):1261–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2011-300551>
58. Nguyen DM, El-Serag HB. The epidemiology of obesity. *Gastroenterol Clin North Am* [Internet]. 2010 Mar;39(1):1–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gtc.2009.12.014>
59. Hardikar S, Onstad L, Blount PL, Odze RD, Reid BJ, Vaughan TL. The role of tobacco, alcohol, and obesity in neoplastic progression to esophageal adenocarcinoma: a prospective study of Barrett's esophagus. *PLoS One* [Internet]. 2013 Jan 3;8(1):e52192. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0052192>
60. Coffee, tea, mate, methylxanthines and methylglyoxal. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon, 27 February to 6 March 1990. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum* [Internet]. 1991;51:1–513. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1674554>
61. Barros SGS de, Ghisolfi ES, Luz LP, Barlem GG, Vidal RM, Wolff FH, et al. Mate (chimarrão)

é consumido em alta temperatura por população sob risco para o carcinoma epidermóide de esôfago. *Arq Gastroenterol* [Internet]. 2000 [cited 2018 Jan 21];37(1):25–30. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-28032000000100006&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-28032000000100006&lng=pt&tlng=pt)

62. Kastelein F, Spaander MCW, Steyerberg EW, Biermann K, Valkhoff VE, Kuipers EJ, et al. Proton pump inhibitors reduce the risk of neoplastic progression in patients with Barrett's esophagus. *Clin Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2013 Apr;11(4):382–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2012.11.014>
63. Hillman LC, Chiragakis L, Shadbolt B, Kaye GL, Clarke AC. Proton-pump inhibitor therapy and the development of dysplasia in patients with Barrett's oesophagus. *Med J Aust* [Internet]. 2004 Apr 19;180(8):387–91. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15089728>
64. de Jonge PJF, Steyerberg EW, Kuipers EJ, Honkoop P, Wolters LMM, Kerkhof M, et al. Risk Factors for the Development of Esophageal Adenocarcinoma in Barrett's Esophagus. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 2006 Jul 1;101:1421. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2006.00626.x>
65. Spechler SJ, Sharma P, Traxler B, Levine D, Falk GW. Gastric and esophageal pH in patients with Barrett's esophagus treated with three esomeprazole dosages: a randomized, double-blind, crossover trial. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 2006 Sep;101(9):1964–71. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2006.00661.x>
66. Jürgens S, Meyer F, Spechler SJ, Souza R. The role of bile acids in the neoplastic progression of Barrett's esophagus - a short representative overview. *Z Gastroenterol* [Internet]. 2012 Sep;50(9):1028–34. Available from: <http://dx.doi.org/10.1055/s-0032-1312922>
67. Quante M, Bhagat G, Abrams JA, Marache F, Good P, Lee MD, et al. Bile acid and inflammation activate gastric cardia stem cells in a mouse model of Barrett-like metaplasia. *Cancer Cell* [Internet]. 2012 Jan 17;21(1):36–51. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccr.2011.12.004>
68. Simic AP, Bonavina L, Demeester SR. *Surgery For Benign Oesophageal Disorders* [Internet]. World Scientific; 2017. 312 p. Available from: <https://market.android.com/details?id=book-uUNBDwAAQBAJ>
69. Gurski RR, Peters JH, Hagen JA, DeMeester SR, Bremner CG, Chandrasoma PT, et al. Barrett's esophagus can and does regress after antireflux surgery: a study of prevalence and predictive features. *J Am Coll Surg* [Internet]. 2003 May;196(5):706–12; discussion 712–3. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1072-7515\(03\)00147-9](http://dx.doi.org/10.1016/S1072-7515(03)00147-9)
70. Sharma P, Sampliner R, Ilson D. *Esophageal Cancer and Barrett's Esophagus* [Internet]. John Wiley & Sons; 2015. 304 p. Available from: <https://market.android.com/details?id=book-eKV1CgAAQBAJ>
71. Rex DK, Boland CR, Dominitz JA, Giardiello FM, Johnson DA, Kaltenbach T, et al. Colorectal

- Cancer Screening: Recommendations for Physicians and Patients From the U.S. Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer. *Gastroenterology* [Internet]. 2017 Jul;153(1):307–23. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2017.05.013>
72. Theisen J, Stein HJ, Dittler HJ, Feith M, Moebius C, Kauer WKH, et al. Preoperative chemotherapy unmasks underlying Barrett's mucosa in patients with adenocarcinoma of the distal esophagus. *Surg Endosc* [Internet]. 2002 Apr;16(4):671–3. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00464-001-8307-3>
  73. Codipilly DC, Chandar AK, Singh S, Wani S, Shaheen NJ, Inadomi JM, et al. The Effect of Endoscopic Surveillance in Patients with Barrett's Esophagus: A Systematic Review and Meta-analysis. *Gastroenterology* [Internet]. 2018 Feb 16; Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2018.02.022>
  74. Brown J, Sharma P. From Prague to Seattle: Improved Endoscopic Technique and Reporting Improves Outcomes in Patients with Barrett's Esophagus. *Dig Dis Sci* [Internet]. 2016 Jan;61(1):4–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s10620-015-3958-4>
  75. Lao-Sirieix P, Fitzgerald R. Surveillance and screening of Barrett's oesophagus. *Br J Hosp Med* [Internet]. 2006 Jul;67(7):355–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.12968/hmed.2006.67.7.21619>
  76. Bhat S, Coleman HG, Yousef F, Johnston BT, McManus DT, Gavin AT, et al. Risk of malignant progression in Barrett's esophagus patients: results from a large population-based study. *J Natl Cancer Inst* [Internet]. 2011 Jul 6;103(13):1049–57. Available from: <http://dx.doi.org/10.1093/jnci/djr203>
  77. Hamade N, Sharma P. Ablation Therapy for Barrett's Esophagus: New Rules for Changing Times. *Curr Gastroenterol Rep* [Internet]. 2017 Aug 17;19(10):48. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11894-017-0589-2>
  78. Rees JR, Lao-Sirieix P, Wong A, Fitzgerald RC. Treatment for Barrett's oesophagus. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2010 Jan 20;(1):CD004060. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD004060.pub2>
  79. Simić A, Skrobić O, Micev M, Gligorijević M, Velicković D, Ivanović N, et al. Radiofrequency ablation for Barrett's esophagus high-volume center initial results. *Acta Chir Iugosl* [Internet]. 2012;59(1):19–24. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22924298>
  80. Bulsiewicz WJ, Infantolino A, Lightdale CJ, Ertan A, Pruitt RE, Muthusamy VR, et al. Su1109 The Safety and Efficacy of Endoscopic Mucosal Resection Prior to Radiofrequency Ablation for Dysplastic Barrett's Esophagus: Results From the U.S. RFA Registry. *Gastroenterology* [Internet]. 2012 May;142(5):S – 427. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016508512616084>
  81. Spechler SJ, Souza RF. Barrett's esophagus. *N Engl J Med* [Internet]. 2014 Aug 28;371(9):836–45. Available from: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMra1314704>



82. Anaparthi R, Sharma P. Progression of Barrett oesophagus: role of endoscopic and histological predictors. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2014 Sep;11(9):525–34. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrgastro.2014.69>
83. Wang KK, Sampliner RE, Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. Updated guidelines 2008 for the diagnosis, surveillance and therapy of Barrett’s esophagus. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 2008 Mar;103(3):788–97. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2008.01835.x>
84. Corley DA, Levin TR, Habel LA, Weiss NS, Buffler PA. Surveillance and survival in Barrett’s adenocarcinomas: a population-based study. *Gastroenterology* [Internet]. 2002 Mar;122(3):633–40. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11874995>
85. Shaheen NJ. Does surveillance endoscopy improve life expectancy in those with Barrett’s esophagus? *Gastroenterology* [Internet]. 2001 Dec;121(6):1516–8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11729134>
86. Bird-Lieberman EL, Dunn JM, Coleman HG, Lao-Sirieix P, Oukrif D, Moore CE, et al. Population-based study reveals new risk-stratification biomarker panel for Barrett’s esophagus. *Gastroenterology* [Internet]. 2012 Oct;143(4):927–35.e3. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2012.06.041>
87. Kaye PV, Haider SA, Ilyas M, James PD, Soomro I, Faisal W, et al. Barrett’s dysplasia and the Vienna classification: reproducibility, prediction of progression and impact of consensus reporting and p53 immunohistochemistry. *Histopathology* [Internet]. 2009 May;54(6):699–712. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2559.2009.03288.x>
88. Kastelein F, Biermann K, Steyerberg EW, Verheij J, Kalisvaart M, Looijenga LHJ, et al. Aberrant p53 protein expression is associated with an increased risk of neoplastic progression in patients with Barrett’s oesophagus. *Gut* [Internet]. 2013 Dec;62(12):1676–83. Available from: <http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2012-303594>
89. Streher LA, Campos V, da Silva Mazzini G, Binato M, Meurer L, Edelweiss MI, et al. CDX2 Overexpression in Barrett’s Esophagus and Esophageal Adenocarcinoma. Available from: <http://dx.doi.org/10.4236/jct.2014.5707>
90. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* [Internet]. 2000 Jan 7;100(1):57–70. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10647931>
91. Pagès F, Galon J, Dieu-Nosjean M-C, Tartour E, Sautès-Fridman C, Fridman W-H. Immune infiltration in human tumors: a prognostic factor that should not be ignored. *Oncogene* [Internet]. 2010 Feb 25;29(8):1093–102. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/onc.2009.416>
92. Dvorak HF. Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. *N Engl J Med*, 1986 315(26): p 1650-9.
93. de Visser KE, Eichten A, Coussens LM. Paradoxical roles of the immune system during cancer

- development. *Nat Rev Cancer* [Internet]. 2006 Jan;6(1):24–37. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrc1782>
94. Talmadge JE, Donkor M, Scholar E. Inflammatory cell infiltration of tumors: Jekyll or Hyde. *Cancer Metastasis Rev* [Internet]. 2007 Dec;26(3-4):373–400. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s10555-007-9072-0>
  95. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature* [Internet]. 2002;420(6917):860–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nature01322>
  96. DeNardo DG, Andreu P, Coussens LM. Interactions between lymphocytes and myeloid cells regulate pro- versus anti-tumor immunity. *Cancer Metastasis Rev* [Internet]. 2010 Jun;29(2):309–16. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s10555-010-9223-6>
  97. Petrie HT, Klassen LW, Kay HD. Inhibition of human cytotoxic T lymphocyte activity in vitro by autologous peripheral blood granulocytes. *J Immunol* [Internet]. 1985 Jan;134(1):230–4. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3871101>
  98. Gooden MJM, de Bock GH, Leffers N, Daemen T, Nijman HW. The prognostic influence of tumour-infiltrating lymphocytes in cancer: a systematic review with meta-analysis. *Br J Cancer* [Internet]. 2011 Jun 28;105(1):93–103. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/bjc.2011.189>
  99. McCourt M, Wang JH, Sookhai S, Redmond HP. Proinflammatory mediators stimulate neutrophil-directed angiogenesis. *Arch Surg* [Internet]. 1999 Dec;134(12):1325–31; discussion 1331–2. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10593330>
  100. Jabłońska E, Kiluk M, Markiewicz W, Piotrowski L, Grabowska Z, Jabłoński J. TNF-alpha, IL-6 and their soluble receptor serum levels and secretion by neutrophils in cancer patients. *Arch Immunol Ther Exp* [Internet]. 2001;49(1):63–9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11266093>
  101. Jolly K, Cheng KK, Langman MJS. NSAIDs and gastrointestinal cancer prevention. *Drugs* [Internet]. 2002;62(6):945–56. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11929340>
  102. Morales CP, Souza RF, Spechler SJ. Hallmarks of cancer progression in Barrett's oesophagus. *Lancet* [Internet]. 2002 Nov 16;360(9345):1587–9. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)11569-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(02)11569-8)
  103. Volkweis BS, Gurski RR. Esôfago de Barrett: aspectos fisiopatológicos e moleculares da seqüência metaplasia-displasia-adenocarcinoma - artigo de revisão. *Rev Col Bras Cir* [Internet]. 2008 [cited 2018 Jan 20];35(2):114–23. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-69912008000200009&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-69912008000200009&lng=pt&tlng=pt)
  104. Poehlmann A, Kuester D, Malfertheiner P, Guenther T, Roessner A. Inflammation and Barrett's carcinogenesis. *Pathol Res Pract* [Internet]. 2012 May 15;208(5):269–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.prp.2012.03.007>

105. McMillan DC. The systemic inflammation-based Glasgow Prognostic Score: a decade of experience in patients with cancer. *Cancer Treat Rev* [Internet]. 2013 Aug;39(5):534–40. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ctrv.2012.08.003>
106. Fang H-Y, Huang XY, Chien H-T, Chang JT-C, Liao C-T, Huang J-J, et al. Refining the role of preoperative C-reactive protein by neutrophil/lymphocyte ratio in oral cavity squamous cell carcinoma. *Laryngoscope* [Internet]. 2013 Nov;123(11):2690–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/lary.24105>
107. Motomura T, Shirabe K, Mano Y, Muto J, Toshima T, Umemoto Y, et al. Neutrophil-lymphocyte ratio reflects hepatocellular carcinoma recurrence after liver transplantation via inflammatory microenvironment. *J Hepatol* [Internet]. 2013 Jan;58(1):58–64. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2012.08.017>
108. Kantola T, Klintrup K, Väyrynen JP, Vornanen J, Bloigu R, Karhu T, et al. Stage-dependent alterations of the serum cytokine pattern in colorectal carcinoma. *Br J Cancer* [Internet]. 2012 Nov 6;107(10):1729–36. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/bjc.2012.456>
109. Guthrie GJK, Charles KA, Roxburgh CSD, Horgan PG, McMillan DC, Clarke SJ. The systemic inflammation-based neutrophil-lymphocyte ratio: experience in patients with cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* [Internet]. 2013 Oct;88(1):218–30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.critrevonc.2013.03.010>
110. Sato H, Tsubosa Y, Kawano T. Correlation between the pretherapeutic neutrophil to lymphocyte ratio and the pathologic response to neoadjuvant chemotherapy in patients with advanced esophageal cancer. *World J Surg* [Internet]. 2012 Mar;36(3):617–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00268-011-1411-1>
111. Mohri Y, Tanaka K, Ohi M, Yokoe T, Miki C, Kusunoki M. Prognostic significance of host- and tumor-related factors in patients with gastric cancer. *World J Surg* [Internet]. 2010 Feb;34(2):285–90. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00268-009-0302-1>
112. Rohde L, Osvaldt AB. *Rotinas em Cirurgia Digestiva* [Internet]. Artmed Editora; 2017. 944 p. Available from: [https://market.android.com/details?id=book-Aqs\\_DwAAQBAJ](https://market.android.com/details?id=book-Aqs_DwAAQBAJ)
113. Thrift AP, Garcia JM, El-Serag HB. A multibiomarker risk score helps predict risk for Barrett’s esophagus. *Clin Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2014 Aug;12(8):1267–71. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2013.12.014>
114. Hardikar S, Song X, Risques RA, Montine TJ, Duggan C, Blount PL, et al. Obesity and inflammation markers in relation to leukocyte telomere length in a cross-sectional study of persons with Barrett’s esophagus. *BMC Obes* [Internet]. 2015 Sep 10;2:32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s40608-015-0063-3>.

## **8. ARTIGO EM PORTUGUÊS**

# CORRELAÇÃO DA RAZÃO NEUTRÓFILO-LINFÓCITO COM A PROGRESSÃO PARA DISPLASIA E ADENOCARCINOMA EM PACIENTES COM ESÔFAGO DE BARRETT: ESTUDO TRANSVERSAL RETROSPECTIVO.

*Vinicius Jardim Campos\**, *Guilherme da Silva Mazzini*, *José Felipe Juchem*,  
*Richard Ricachenevsky Gurski*.

Hospital de Clínicas de Porto Alegre  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Rua Ramiro Barcelos, 2350 Rio Branco  
CEP 90035-003 Porto Alegre/RS, Brasil

\*Autor correspondente:  
[viniciusjcampos@gmail.com](mailto:viniciusjcampos@gmail.com)  
Passo da Pátria 540/301, Bela Vista  
CEP 90460-060 Porto Alegre/RS, Brasil

---

**Introdução:** A vigilância de pacientes com esôfago de Barrett (EB) baseia-se em biópsias endoscópicas para identificar a progressão da metaplasia para displasia e adenocarcinoma. A razão neutrófilo-linfócito (RNL) é uma medida indireta do desequilíbrio entre o sistema imune inato e adaptativo observado em fases iniciais da carcinogênese e tem sido estudada como um biomarcador em condições pré-malignas.

**Objetivo:** Investigar a capacidade da RNL de identificar pacientes com EB sob alto risco de progressão para displasia e neoplasia.

**Materiais e métodos:** Foram analisados retrospectivamente pacientes com diagnóstico de EB através de biópsias por endoscopia entre 2013 e 2017 com hemograma eletivo coletado dentro de 6 meses do exame, assim como pacientes com internação por adenocarcinoma do esôfago distal (ACE) entre 2005 e 2017. A RNL foi calculada através da divisão das contagens de neutrófilos/linfócitos. Os casos foram classificados como EB sem displasia (EBsD), EB com displasia (EBcD) - se displasia de baixo ou alto grau presentes - e adenocarcinoma (ACE). Foi calculada a correlação entre os valores da RNL e os grupos de estudo, e curva "receiver operating characteristics" testou sua habilidade para diagnosticar ACE.

**Resultados:** 113 pacientes foram selecionados (EBsD, n=72; EBcD, n=11; ACE, n=30). A RNL aumentou progressivamente através dos grupos, sendo maior no grupo ACE (EBsD=1,92±0,7; EBcD=2,92±1,1; ACE=4,54±2,9; p<0,001). Houve correlação significativa entre os valores de RNL e a progressão de EBsD para EBcD e ACE ( $r_s=0,53$ ; p<0,001). Uma RNL>2,27 foi capaz de diagnosticar ACE com 80% de sensibilidade e 71% de especificidade (área sob a curva=0,8).

**Conclusão:** há correlação positiva entre a RNL e a progressão do EB para displasia e câncer. Estudos prospectivos deverão ser realizados para avaliar a utilidade deste marcador na vigilância do EB.

**Palavras-chave:** esôfago de Barrett, neoplasias esofágicas, relação neutrófilo-linfócito.

## **INTRODUÇÃO**

O esôfago de Barrett (EB) é um estágio final da doença do refluxo gastroesofágico (DRGE), em que o epitélio escamoso do esôfago distal é substituído por um epitélio colunar especializado do tipo intestinal[1]. A DRGE e o EB, por sua vez, apresentam estreita relação com o desenvolvimento do adenocarcinoma de esôfago (ACE), através da bem estabelecida sequência de metaplasia intestinal, displasia e neoplasia [2]. Esta sequência constitui a base racional das estratégias de seguimento ("vigilância") do EB, que vem ganhando relevância crescente frente o aumento de proporções epidêmicas na incidência de ACE nas últimas décadas [3,4] e os avanços recentes no armamentário disponível para o tratamento endoscópico da displasia de alto grau (DAG) e do câncer precoce [5–8]. Os protocolos de seguimento vigentes, no entanto, tem sido alvo de constantes questionamentos quanto a sua eficácia e custo-efetividade [9]. Inúmeros esforços tem sido direcionados ao aprimoramento das técnicas de visualização endoscópica e de diagnóstico histológico da displasia; a baixa incidência de ACE entre pacientes com EB, no entanto, limita de forma considerável a margem de custo-efetividade de qualquer técnica empregada: apesar de expostos a um risco 30-125 vezes maior que o da população em geral [3], a incidência de ACE em pacientes com EB não ultrapassa 0,1 a 0,5% ao ano, ou 10 casos/mil pacientes-ano considerando-se em conjunto a incidência de ACE e DAG [10,11]. Neste contexto, torna-se evidente a necessidade de ferramentas capazes de identificar o subgrupo de pacientes com EB que estão expostos a um risco elevado de progressão.

Eventos inflamatórios gerados pela ação do refluxo ácido e biliar que pontuam cada etapa da evolução do EB para displasia e neoplasia [2,12–21] tem motivado o estudo de biomarcadores inflamatórios como fatores preditivos de progressão [22,23]. A relação neutrófilo-linfócito (RNL) é um biomarcador periférico conceitualmente relacionado ao desequilíbrio entre o sistema imune inato e humoral observado em diversas etapas da carcinogênese, especialmente em suas fases mais iniciais [24–32]. Seu papel prognóstico em diversas neoplasias já está bem estabelecido[33–37]; recentemente, mostrou-se um acurado preditor de neoplasia em lesões pré-malignas de pâncreas [38].

## **MÉTODOS**

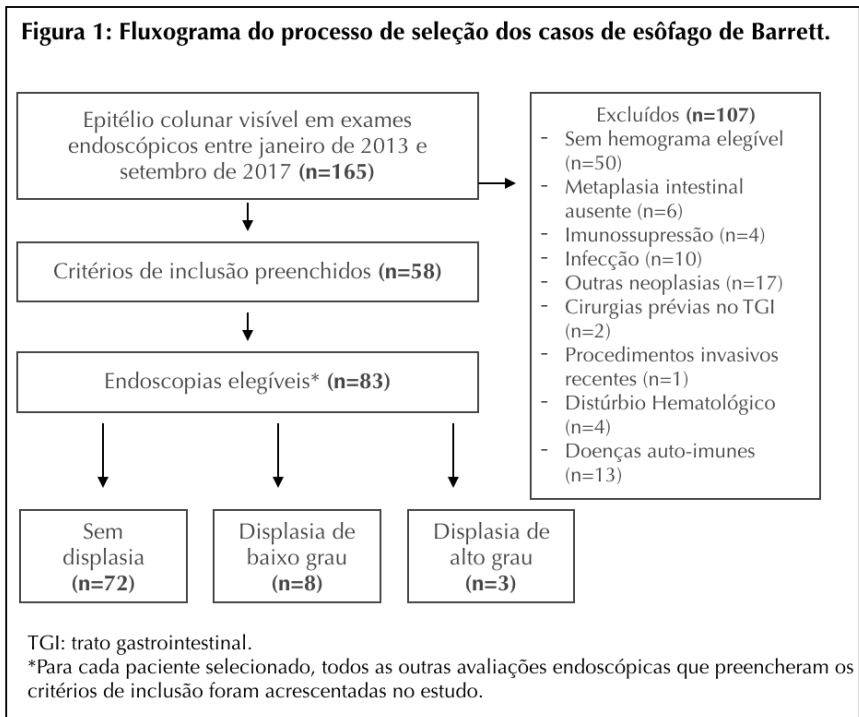
Foi realizado um estudo transversal retrospectivo, com coleta de dados a partir de prontuários médicos. O desfecho principal a ser avaliado foi a correlação da RNL com as diferentes fases de progressão do EB.

Registros consecutivos de pacientes submetidos a exames endoscópicos entre janeiro de 2013 e setembro de 2017 foram analisados; cento e sessenta pacientes com descrição de epitélio colunar visível no esôfago distal foram separados para análise de prontuário. Destes, 107 foram excluídos com base nos seguintes critérios: ausência de pelo menos uma endoscopia associada a um hemograma elegível, ausência de metaplasia intestinal confirmada histologicamente, imunossupressão por drogas ou doenças crônicas, doenças infecciosas, câncer, distúrbio hematológico, doença auto-imune e cirurgias prévias no trato gastrointestinal exceto funduplicatura por DRGE. Para ser considerado elegível, o hemograma deveria ter sido coletado em um período compreendido entre 6 meses antes e 6 meses após o exame endoscópico em questão, e fora de um contexto de infecção ou outros procedimentos invasivos (como dilatação esofágica ou cirurgias). Na presença de mais de um hemograma elegível, foi selecionado o exame com data de coleta mais próxima da data da endoscopia.

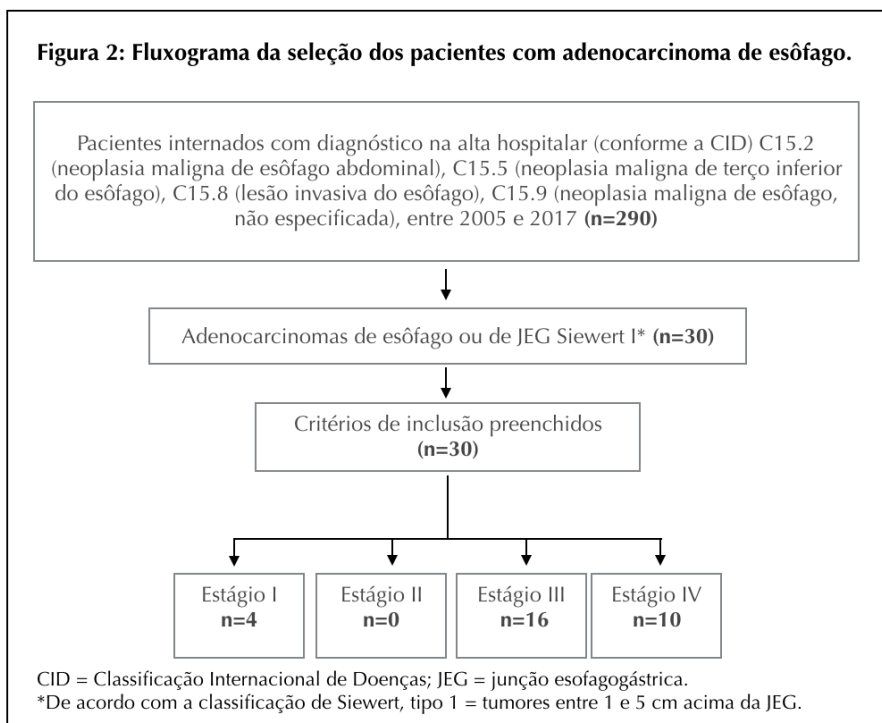
Para cada paciente selecionado, foram incluídos todos os exames endoscópicos registrados em que foram realizadas biópsias do epitélio colunar e que estiveram associados a um hemograma elegível; dos 58 pacientes restantes após a aplicação dos critérios de exclusão, foram incluídos, portanto, 83 exames endoscópicos para análise (1 paciente com 5 exames elegíveis, 1 paciente com 4 exames, 4 pacientes com 3 exames e 10 pacientes com 2 exames elegíveis). Do total destes 83 casos de EB, 72 não apresentavam displasia, 8 apresentavam displasia de baixo grau e 3 displasia de alto grau.

Os pacientes com ACE foram selecionados a partir de registros de alta hospitalar entre janeiro de 2005 e dezembro de 2017 em que constavam os seguintes códigos, conforme a classificação internacional de doenças (CID): C15.2 (neoplasia maligna de esôfago abdominal), C15.5 (neoplasia maligna de terço inferior do esôfago), C15.8 (lesão invasiva do esôfago), C15.9 (neoplasia maligna de esôfago, não especificada), totalizando 290 casos. Destes 290 casos, 30 corresponderam a adenocarcinoma de esôfago ou de junção esofagogástrica (JEG) do tipo 1 da classificação de Siewert[39] (lesão entre 1 e 5 cm cranialmente à JEG anatômica); foram aplicados os mesmos critérios de exclusão dos casos de EB, exceto a necessidade de metaplasia intestinal confirmada, sendo todos os 30 pacientes elegíveis. As **figuras 1 e 2** resumizam este processo de seleção.

**Figura 1: Fluxograma do processo de seleção dos casos de esôfago de Barrett.**



**Figura 2: Fluxograma da seleção dos pacientes com adenocarcinoma de esôfago.**



Foram coletados dados clínicos e demográficos relevantes, como sexo, idade, raça, tabagismo, etilismo, índice de massa corporal (IMC), diagnóstico de diabetes, uso de anti-inflamatórios (AINEs), inibidores da bomba de prótons (IBP) e estatinas, assim como dados da descrição endoscópica (extensão do epitélio colunar, presença de hérnia hiatal) e anatomopatológica (diagnóstico histológico, número de biópsias).



O EB foi classificado em seguimento longo (EB longo) quando com 3 cm ou mais de comprimento máximo à endoscopia, e de seguimento curto (EB curto) quando menor que 3 cm. Hérnia hiatal foi definida como distância igual ou maior a 2 cm entre a linha Z e o pinçamento diafragmático, sendo de pequeno porte até 3 cm, médio porte até 5 cm e grande porte quando > 5 cm.

A divisão entre estágios dos pacientes com ACE foi realizada com base nos critérios então vigentes da classificação TNM, segundo a *American Joint Committee on Cancer* (2010). Para fins de análise, os casos foram agrupados entre os 4 principais estágios (I, II, III e IV).

A razão neutrófilo-linfócito (RNL) foi calculada a partir da divisão da contagem total de neutrófilos pela contagem de linfócitos em células por milímetros cúbicos. Os diagnósticos histopatológicos de metaplasia intestinal, displasia e adenocarcinoma foram realizados por especialistas do serviço de Patologia da instituição.

Foram divididos três grupos principais para análise, com base nos estágios de progressão: esôfago de Barrett sem displasia (EBsD), esôfago de Barrett com displasia de baixo ou alto grau (EBcD) e adenocarcinoma (ACE), tendo como principal desfecho a correlação do aumento da RNL com a progressão entre os estágios de gravidade da doença. Posteriormente, esta mesma análise foi realizada subdividindo-se os pacientes do grupo ACE de acordo com estadiamento clínico.

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para comparação entre duas variáveis contínuas foi utilizado o teste t de student (médias) e Mann-Whitney (dados assimétricos); entre duas variáveis categóricas, foi utilizado o teste de qui-quadrado ou exato de Fisher. Para comparação de três médias, foi utilizada a ANOVA one-way, seguida de teste post-hoc de Tukey. Na comparação de 3 categorias, foi utilizado teste de qui-quadrado ou de Fisher, seguido de post-hoc pelo método de Bonferroni. Para análise da correlação da RNL com os diferentes grupos de estudo, foi calculado o coeficiente de correlação não paramétrico de Spearman ( $r_s$ ). Uma regressão logística ordinal foi realizada para modelar o desfecho diagnóstico entre três níveis. Foi modelada uma curva *receiver operating characteristics* (ROC) e calculada a área sob a curva (AUC), sensibilidade, especificidade e razão de verossimilhança para o diagnóstico de ACE.

O nível de significância (alfa) adotado foi de 0,05. Foi utilizado o SPSS versão 22.0.

## RESULTADOS

A média de idade do grupo EBsD foi  $59,6 \pm 14,7$  anos, com diferença significativa para o grupo ACE (média  $68,7 \pm 13,0$ ;  $p=0,015$ ). O grupo EBcD (média  $57,1 \pm 17,5$ ) não apresentou diferença significativa com nenhum dos outros grupos ( $p>0,05$ ). A proporção de pacientes do sexo masculino no grupo EBsD também foi significativamente menor em relação o grupo ACE (43,1% e 73,3% respectivamente,  $p=0,009$ ), enquanto o grupo EBcD (72,7%) não mostrou diferença em relação aos demais ( $p>0,05$ ). Os sujeitos do estudo foram majoritariamente da raça branca.

O índice de massa corporal (IMC) foi significativamente maior no grupo EBsD ( $31,5 \pm 1,14$ ) em comparação com o grupo ACE ( $24,9 \pm 1,84$ ;  $p=0,006$ ). História de etilismo foi significativamente mais prevalente no grupo EBcD (27,3%,  $n=3$ ) do que nos demais ( $p = 0,011$ ), que não diferiram estatisticamente entre si apesar da maior prevalência no grupo ACE (21,4%,  $n=6$ , em comparação com 5,6%,  $n= 4$ , no grupo EBsD;  $p>0,05$ ).

O uso de IBP foi significativamente menor no grupo ACE (27,3%,  $n=6$ ) em comparação com os demais (95,8% com  $n=68$  para o grupo EBsD, e 90,9% com  $n=10$  no grupo EBcD, ( $p<0,001$ ). Não houve diferença estatística entre os três grupos quanto ao uso de estatinas ( $p=0,056$ ).

Quanto aos grupos EBsD e EBcD, houve uma alta proporção de EB longo em ambos os grupos: 54,2% ( $n=39$ ) e 70% ( $n=7$ ), respectivamente. Setenta e oito por cento dos exames endoscópicos realizados nos pacientes com EB seguiram o Protocolo de Seattle (01 biópsia em cada quadrante para cada 2 cm de epitélio colunar visível). Setenta e dois por cento dos casos do grupo EBsD e 80% do grupo EBcD apresentaram hérnia hiatal ( $p=0,719$ ). Vinte e dois e vinte e sete por cento dos pacientes nos grupos EBsD e EBcD, respectivamente, apresentavam história prévia de cirurgia antirrefluxo ( $p=0,708$ ).

Entre os sujeitos do grupo ACE, 13,3% ( $n=4$ ) pertenciam ao estágio I, 53,3% ( $n=16$ ) ao estágio III e 33,3% ( $n=10$ ) ao estágio IV. Não houve nenhum caso de pacientes no estágio II.

Os dados acima encontram-se sumarizados na **tabela 1**.

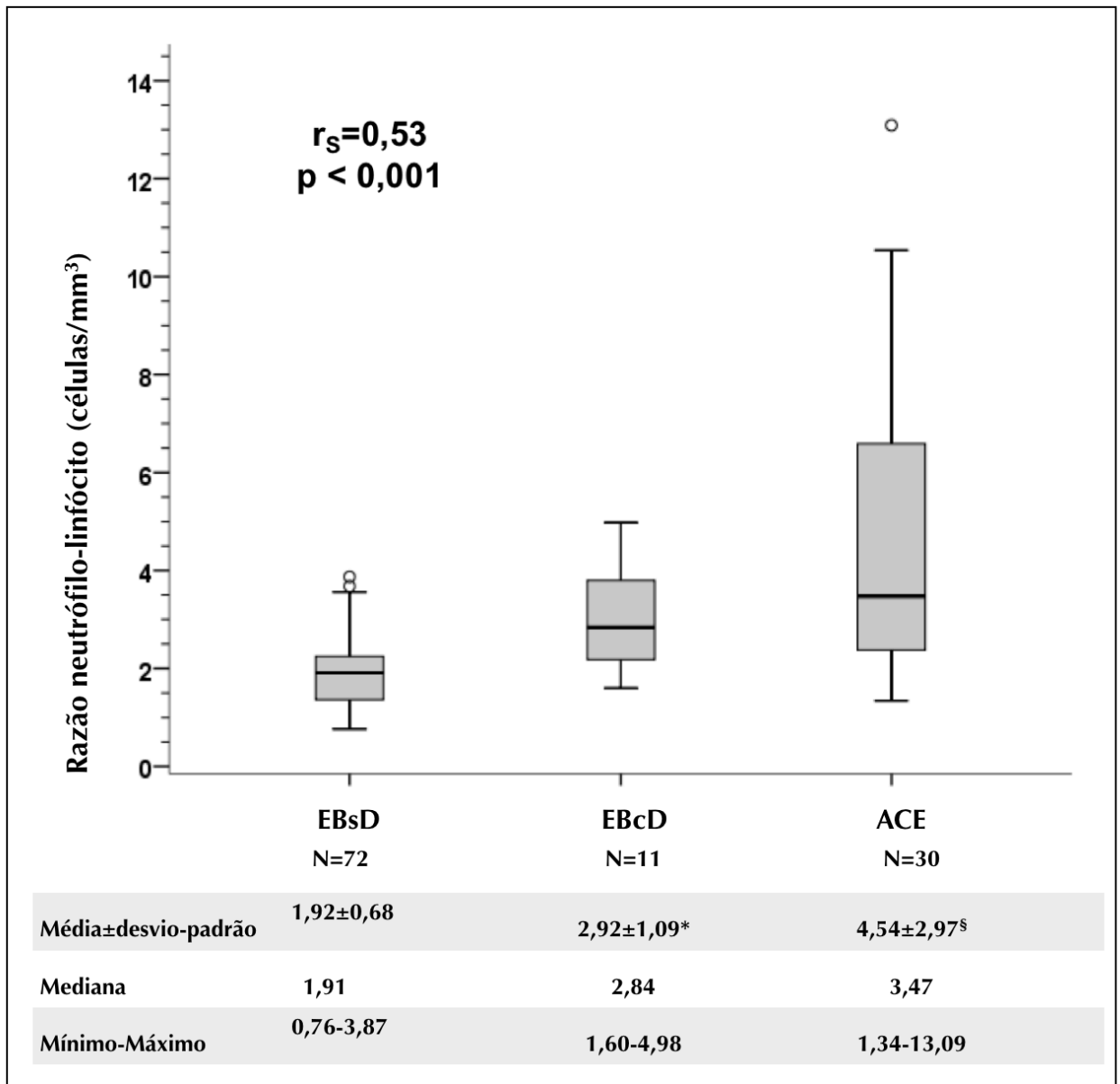
<b>TABELA 1: Características dos sujeitos incluídos no estudo.</b>				
<b>CARACTERÍSTICAS</b>	<b>EBsD N = 72</b>	<b>EBcD N = 11</b>	<b>ACE N = 30</b>	<b>p</b>
Idade, anos	$59,6 \pm 14,7^a$	$57,1 \pm 17,5^{a,b}$	$68,7 \pm 13,9^b$	0,011

Sexo masculino, N(%)	31(43,1) <sup>a</sup>	8(72,7) <sup>a,b</sup>	22(73,3) <sup>b</sup>	0,009
Raça, N(%)				
branca	68(94,4) <sup>a</sup>	11(100,0) <sup>a</sup>	28(93,3) <sup>a</sup>	0,499
preta	1(1,4) <sup>a</sup>	0(0,0) <sup>a</sup>	2(6,7) <sup>a</sup>	
parda	3(4,2) <sup>a</sup>	0(0,0) <sup>a</sup>	0(0,0) <sup>a</sup>	
IMC	N = 22 31,5±1,14 <sup>a</sup>	N=4 28,4±1,37 <sup>a,b</sup>	N=12 24,9±1,84 <sup>b</sup>	0,008
Tabagismo, N(%)	N = 69 24(34,8) <sup>a</sup>	N = 11 8(72,7) <sup>a</sup>	N = 29 16(55,2) <sup>a</sup>	0,020
Etilismo, N(%)	N = 72 4(5,6) <sup>a</sup>	N = 11 3(27,3) <sup>b</sup>	N = 28 6(21,4) <sup>a,b</sup>	0,011
DM tipo 2, N(%)	N = 69 15(21,7)	N = 10 1(10)	N = 27 3(11,1)	0,490
Uso de IBP, N(%)	N = 71 68(95,8) <sup>a</sup>	N = 11 10(90,9) <sup>a</sup>	N = 28 6(27,3) <sup>b</sup>	<0,001
Uso de AAS, N(%)	N = 71 22(31,0) <sup>a</sup>	N = 10 3(30,0) <sup>a</sup>	N = 26 5(19,2) <sup>a</sup>	0,526
Uso de outros AINE, N(%)	N=70 1(1,4) <sup>a</sup>	N=10 0(0,0) <sup>a</sup>	N=26 0(0,0) <sup>a</sup>	>0,999
Uso de estatinas, N(%)	N = 71 28(39,4) <sup>a</sup>	N = 10 1(10) <sup>a</sup>	N = 26 5(19,2) <sup>a</sup>	0,056
Praga C, cm	N= 48	N= 7		
mediana	1	2		0,339
mínimo-máximo	0-9	0-10		
Praga M, cm	N=48	N=7		
mediana	3	4		0,980
mínimo-máximo	1-9	0-6		
Comprimento máximo do EB	N=65	N=8		
mediana	30	45		0,528
mínimo-máximo	5-100	10-60		
EB longo <sup>§</sup> , N(%)	N=72 39(54,2)	N=10 7(70)		0,603
Hérnia hiatal, N(%)	N=71	N=10		
1 a 3 cm	32(45,1)	2(20,0)		0,719
> 3 e ≤ 5 cm	13(18,3)	5(50,0)		
> 5 cm	6(8,5)	0(0,0)		
Adoção do Protocolo de Seattle, N(%)	57(79,1)	8(72,7)		0,697
Esofagite, N(%)	11(15,27)	0(0,0)		>0,999

Cirurgia antirrefluxo prévia N(%)	16(22,2)	3(27,2)	0,708
Neoadjuvância, n(%)		2(6,6)	
Esofagectomia, n(%)		6(20,0)	
Estadiamento <sup>∞</sup> , n(%)			
Estágio I		4(13,3)	
Estágio II		0(0,0)	
Estágio III		16(53,3)	
Estágio IV		10(33,3)	
<p>EB = esôfago de Barrett; EBsD = esôfago de Barrett sem displasia; EBcD = esôfago de Barrett com displasia; ACE = adenocarcinoma de esôfago; IMC = índice de massa corporal em kg/m<sup>2</sup>; HAS = hipertensão arterial sistêmica; DM = diabetes mellitus; IBP = inibidor da bomba de prótons; AAS = ácido acetil salicílico; AINE = anti-inflamatório não-esteróide; Praga C e M = comprimento circunferencial e comprimento máximo do epitélio colunar, respectivamente, conforme a classificação de Praga.</p> <p><sup>a, b, c</sup> = grupos com a mesma letra sobrescrita não apresentaram diferença significativa ao teste de post-hoc.</p> <p>*dose diária expressa em número de comprimidos de 20 mg de omeprazol ou dose equivalente de outros IBPs.</p> <p><sup>§</sup> Seguimento longo = epitélio colunar ≥ 3 cm de comprimento máximo.</p> <p><sup>∞</sup> Conforme classificação da <i>American Joint Committee on Cancer</i>, 2010.</p>			

Não houve diferença estatisticamente significativa entre média de RNL do grupo EBsD e EBcD (1,92±0,68 e 2,92±1,09, respectivamente; p=0,154); ambos os grupos, no entanto, diferiram significativamente do grupo ACE (média de 4,54±2,97, p<0,001 e p<0,05, respectivamente). Houve correlação positiva, de força moderada, entre a média de RNL e a progressão entre os grupos:  $r_s = 0,53$ ; p<0,001 (**figura 3**). A significância desta correlação persistiu após subdivisão dos pacientes com ACE entre estágio I e estágio III/IV ( $r_s = 0,51$ ; p<0,001; **figura 4**).

**Figura 3: Dados descritivos e correlação entre os três principais grupos.**

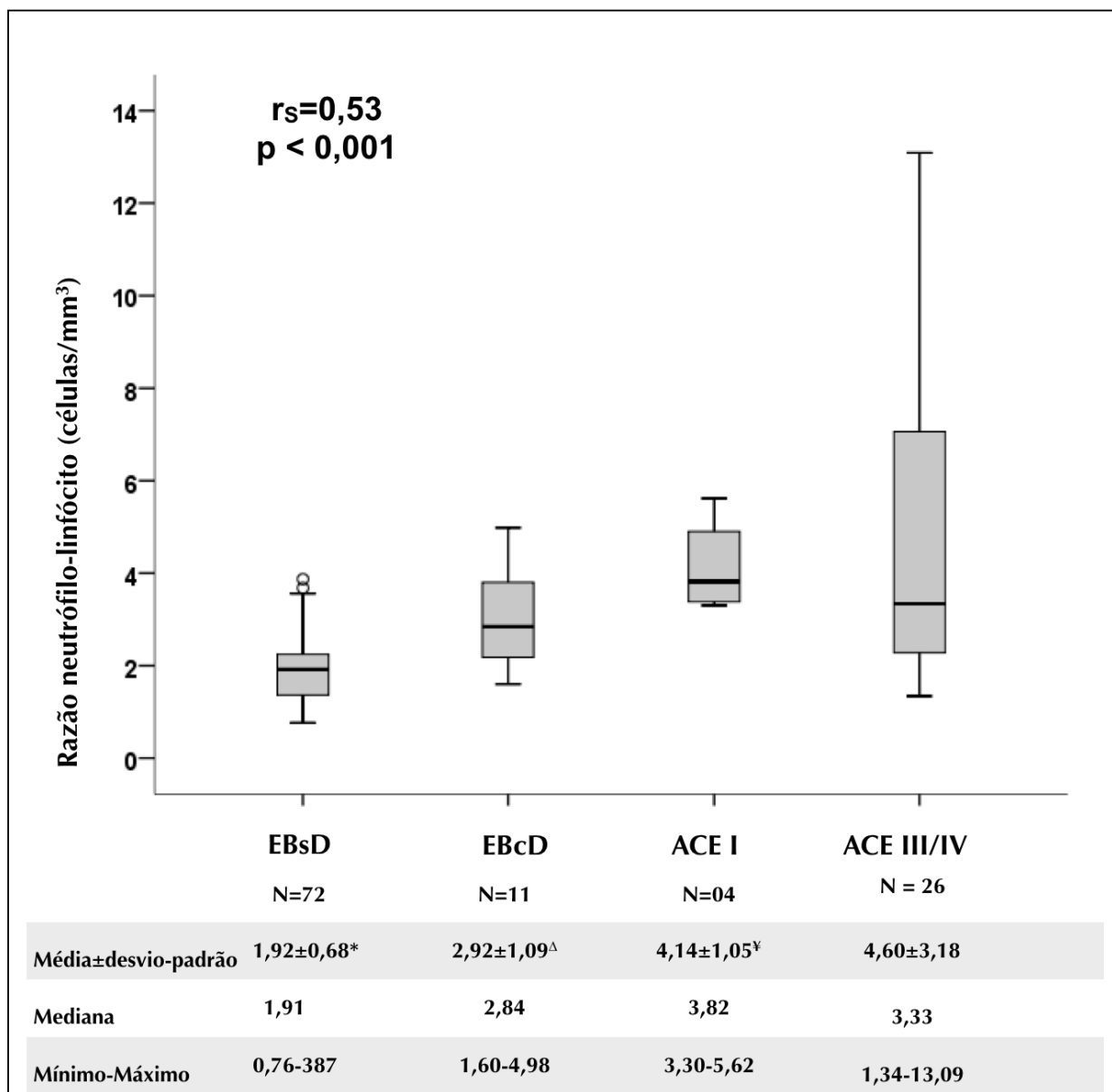


EBsD = esôfago de Barrett sem displasia; EBcD = esôfago de Barrett com displasia; ACE = adenocarcinoma de esôfago;  $r_s$  = coeficiente de correlação de Spearman;  $p$  = significância estatística.

\* $p = 0,154$  comparado a EBsD.

§ $p < 0,001$  comparado a EBsD,  $p < 0,05$  comparado a EBcD.

**Figura 4: Dados descritivos e correlação entre os grupos, adenocarcinomas divididos por estágio clínico.**



EBsD = esôfago de Barrett sem displasia, EBcD = esôfago de Barrett com displasia, ACE I = adenocarcinoma de esôfago estágio I, conforme classificação do *American Joint Committee on Cancer, 2010*.

$r_s$  = correlação de Spearman,  $p$  = significância estatística.

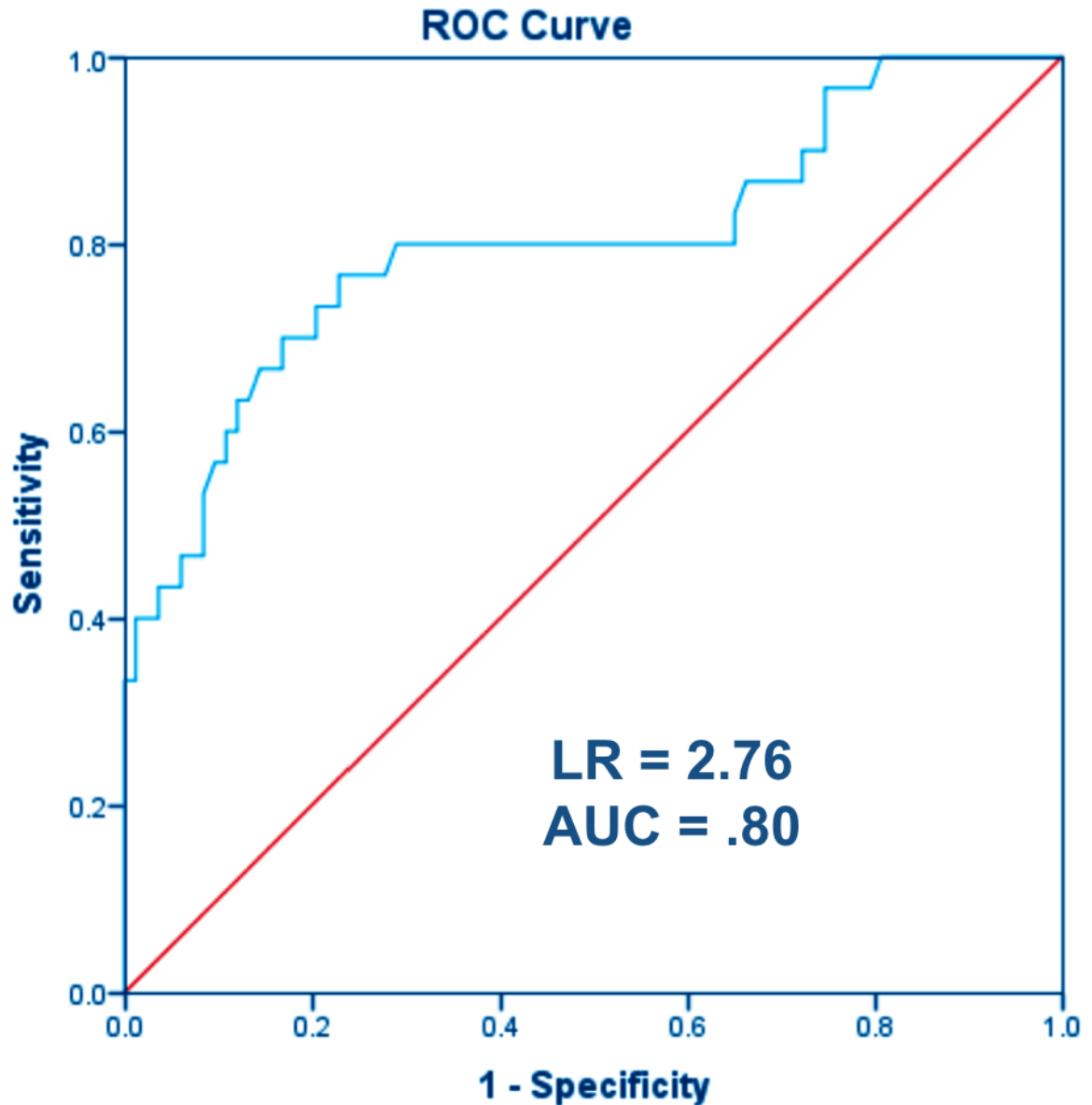
\* $p < 0.0001$  em comparação com ACE III/IV;  $p$  não significativo na comparação com outros grupos.

<sup>Δ</sup> $p = 0.030$  em comparação com ACE III/IV;  $p$  não significativo na comparação com outros grupos.

<sup>Υ</sup> $p$  não significativo na comparação com outros grupos.

Uma RNL > 2,27 apresentou sensibilidade de 80,0% e especificidade de 71,1% para o diagnóstico de câncer (razão de verossimilhança = 2,76, AUC = 0,8; **figura 5**).

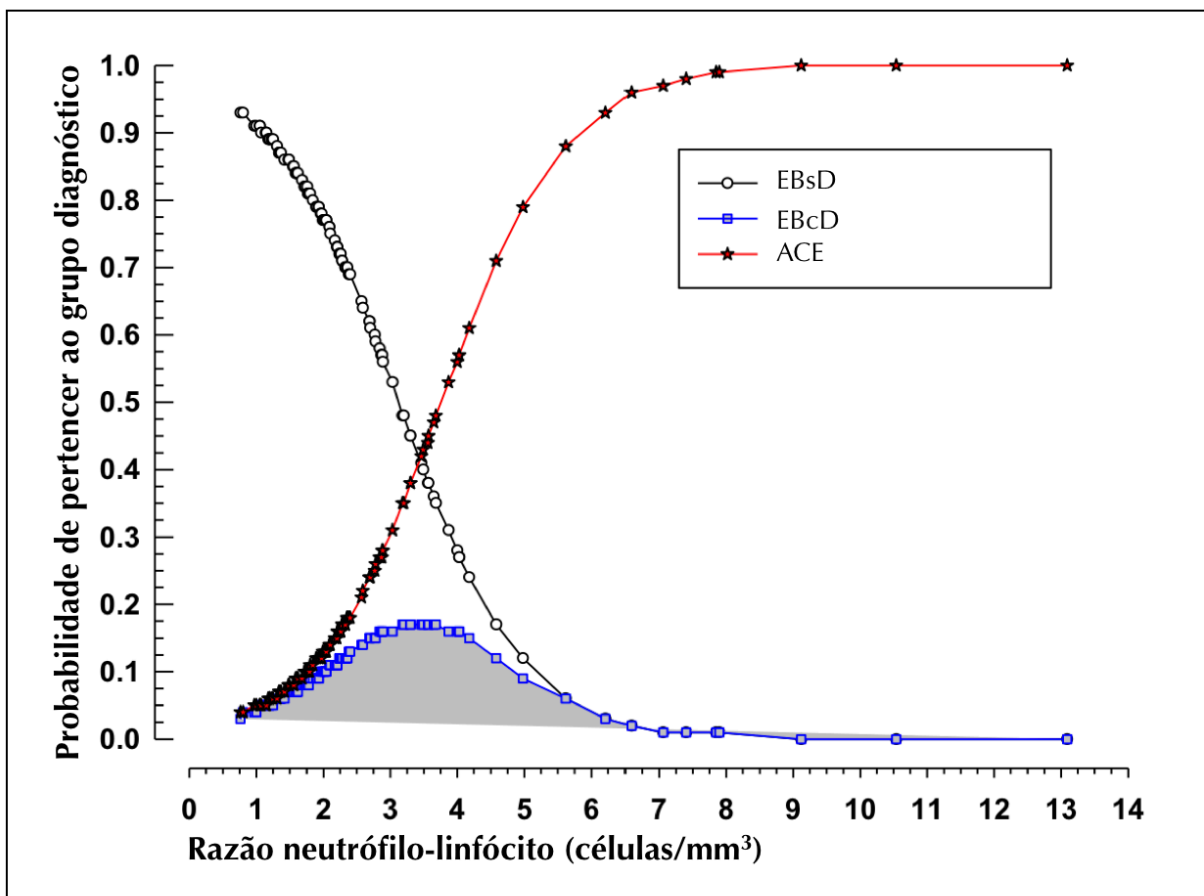
**Figura 5: Curva *receiver-operating characteristics*.**



LR = *likelihood ratio* ou razão de verossimilhança.  
AUC = área sob a curva

A **figura 6** mostra a probabilidade do desfecho diagnóstico de acordo com o nível de RNL. Os resultados deste modelo, no entanto, estão atrelados a probabilidade pré-teste da amostra (73,4% para EBsD, 9,7% para EBcD e 26,5% para ACE), que não reflete a proporção observada na população.

**Figura 6: Regressão logística ordinal.**



EBsD = esôfago de Barrett sem displasia; EBcD = esôfago de Barrett com displasia; ACE = adenocarcinoma de esôfago.

## DISCUSSÃO

O uso exclusivo da displasia como marcador do risco de progressão do EB para neoplasia vincula os protocolos atuais de seguimento à necessidade de uma amostragem do epitélio colunar através de endoscopia sob sedação. Além do custo e da morbidade associadas, esta abordagem acaba limitada pela baixa representatividade (<5%) das biópsias – ainda que realizadas de forma adequada – em relação à totalidade do epitélio sob risco [40]. Além disso, existe baixa concordância inter-observador para o diagnóstico de displasia, com valores reportados de *kappa* tão baixos quanto 0,11 mesmo entre patologistas especializados [41]. Outro aspecto importante é que a incidência de ACE entre pacientes com EB de modo geral é baixa – 0,33% ao ano, podendo, inclusive, estar mais próxima a 0,1% conforme estudos recentes de base populacional [10,42,43] – de modo que 93% destes pacientes acabam morrendo por outras causas [11]. Recentes avanços na terapia endoscópica da displasia e do carcinoma precoce de esôfago [5–



8,44–49] tem disponibilizado valiosos instrumentos para a mudança da história natural do ACE, uma neoplasia de alta letalidade; no entanto, o seu potencial encontra-se amplamente limitado pelos fatores supramencionados. Um dos caminhos apontados de forma consistente entre especialistas da área consiste no desenvolvimento de ferramentas não-invasivas, de baixo custo e de fácil aplicabilidade, que – ao estratificarem de forma mais acurada os pacientes com EB quanto ao risco de progressão para neoplasia – possibilitem a adoção de técnicas de diagnóstico e intervalos de avaliação mais adequados para cada subgrupo, aumentando assim a eficácia e custo-efetividade da estratégia de seguimento implementada [9,40,43,46,50–56]. Assim, grupos de alto risco de progressão poderiam ser submetidos a estratégias mais agressivas de rastreamento da displasia e do câncer precoce, com maior aproveitamento da tecnologia disponível dentro de uma relação de custo-benefício adequada; no outro extremo, um grande número de pacientes com risco mínimo de progressão poderiam ser poupados de procedimentos invasivos e dispendiosos.

Dados clínicos e demográficos – como extensão do epitélio colunar, sexo, idade e etnia – tem sido testados [57] como critério para individualização dos intervalos de seguimento endoscópico, porém sem solidez suficiente para ampla recomendação clínica [1,58]. O uso de biomarcadores relacionados a progressão do EB, por sua vez, tem sido alvo de crescente interesse.

A maioria dos estudos que avaliaram a relação de biomarcadores com displasia e câncer no EB [21,22,50,59–81] utilizaram técnicas baseadas em histopatologia, que além de, em muitos casos, serem pouco uniformizadas para a prática clínica permanecem atreladas às limitações da amostragem por biópsias. Biomarcadores periféricos, por outro lado, oferecem a possibilidade de selecionar os pacientes antes mesmo da indicação de um procedimento invasivo.

A estreita relação entre os mecanismos biomoleculares de progressão do EB com o processo inflamatório gerado pelo refluxo ácido e biliar no esôfago distal [2,15,82] remete à possibilidade de que biomarcadores que pontuam cada etapa deste processo possam ser utilizados como preditores de risco para o desenvolvimento de displasia e neoplasia. Um estudo de coorte publicado por Hardikkar et al. [22] analisou a correlação de biomarcadores séricos de inflamação com a progressão do EB; proteína C reativa (PCR) e interleucina 6 (IL-6) elevadas no sangue periférico foram associadas a um risco duas vezes maior de progressão para a neoplasia; neste estudo, porém, houve perda da significância estatística após controle para idade, sexo, relação cintura-quadril e tabagismo (*hazard ratio* e IC 95%, respectivamente, de 1,77 e 0,93 - 3,37 para PCR, e 1,79 e 0,93-3,43 para IL-6).

A RNL é um marcador de inflamação sistêmica que correlaciona-se com a sobrevida e com outros desfechos prognósticos em pacientes oncológicos [33]. Um dos principais atrativos deste

marcador – além da facilidade de obtenção na prática clínica – é a sua expressão, de forma indireta, do desequilíbrio entre o sistema imune inato (neutrófilos) e o sistema imune humoral (linfócitos), responsável por boa parte dos eventos inflamatórios relacionados a carcinogênese. Diversas evidências demonstram que, desde as etapas mais precoces do desenvolvimento tumoral, as células do sistema imune inato são cooptadas e estimuladas pela neoplasia, que utiliza-se da sua capacidade de penetrar tecidos e de produzir estroma e neovasos para crescer e tornar-se invasiva; o sistema humoral, por sua vez, é inibido através do bloqueio da apresentação de antígenos, entre outros mecanismos[24]. Esta característica conceitual confere a RNL uma vantagem teórica sobre marcadores inflamatórios menos específicos, como a PCR e a IL-6. Fang et al. analisaram a PCR e a RNL em uma série de 226 pacientes com carcinoma epidermóide da cavidade oral; embora ambos os marcadores tenham se correlacionado com o prognóstico de forma independente, a RNL foi capaz de estratificar subgrupos de maior risco inclusive dentre os pacientes com PCR elevada [25]

Gemenetzi et al, em recente publicação [38], analisou o papel da RNL como preditor do adenocarcinoma ductal de pâncreas em pacientes com neoplasia intraductal papilar e mucinosa (IPMN); RNL > 4 gerou uma *odds ratio* (OR) de 6,62, superior a de critérios tradicionais de ressecção deste tipo de lesão como tamanho do tumor, dilatação do ducto pancreático e presença de componente sólido no cisto.

Este é o primeiro estudo realizado para avaliar a correlação da RNL com a progressão do EB do qual temos conhecimento. Os três grupos foram divididos de acordo com as principais etapas de progressão (metaplasia intestinal sem displasia, displasia e adenocarcinoma); a opção por agrupar displasia de baixo e alto grau decorreu do baixo número de casos de displasia encontrados (baixo grau, n = 8; alto grau, n = 3), fato que pode ter influenciado também na falha em obter diferença estatística entre as médias do grupo EBsD e EBcD. Apesar desta limitação, foi possível observar uma correlação de força moderada entre o aumento da RNL e a progressão entre as três fases da doença.

A força desta correlação também foi expressa na boa acurácia apresentada pelo marcador para o diagnóstico de ACE, mesmo utilizando-se um ponto de corte relativamente baixo (2,27) em comparação com alguns estudos semelhantes. Na revisão sistemática publicada em 2013 por Guthrie et al [33] sobre o papel da RNL como preditor de prognóstico em pacientes com câncer, o ponto de corte mais comumente utilizado dentre 34 estudos avaliando neoplasias sólidas operáveis foi de 5,0 (16 estudos); nos 7 trabalhos que incluíram apenas câncer gástrico e esofágico, o ponto de corte variou de 2,0 a 5,0. No trabalho de Sato et al. [83] uma RNL > 2,2 foi preditor independente de resposta patológica completa após neoadjuvância para câncer

esofágico, e no estudo de Mohri et al. [30] o mesmo ponto de corte foi um dos principais preditores de sobrevida em pacientes operados por câncer gástrico. Há, portanto, grande variedade entre os estudos quanto ao ponto de corte adotado. Na revisão de Guthrie et al., no entanto, alguns estudos com câncer gástrico e esofágico demonstraram uma correlação entre o aumento da RNL com a progressão do estágio T desde os seus estágios mais precoces. Este dado sugere que para detecção de neoplasia em fases iniciais devem ser utilizados pontos de corte menores do que os indicados para avaliação prognóstica de neoplasias já estabelecidas.

O etilismo – que não é considerado um fator de risco relevante para ACE ou para progressão do EB [3] – foi mais frequente no grupo da displasia; devido ao baixo número de sujeitos nesse grupo, é possível que tal achado deva-se ao acaso. A idade mais avançada e a predominância do sexo masculino no grupo ACE, por sua vez, refletem o padrão de evolução da doença: ambos os fatores são importantes preditores demográficos de progressão do EB, sendo este um padrão observado em coortes populacionais [10,43]. A baixa proporção de uso de IBP no grupo ACE reflete dados da literatura que demonstram a ausência de um diagnóstico prévio de EB ou DRGE na maioria destes pacientes [3]. O uso de estatinas e AINEs – drogas que já foram relacionadas a redução do risco de progressão do EB [84,85] – foi equiparável entre os grupos.

Houve uma alta proporção (50%) de sujeitos excluídos do estudo por falta de hemograma no período estabelecido, o que gera preocupações quanto a possibilidade de viés de seleção relacionado aos motivos que levaram a solicitação de hemograma para uns e não para outros. A análise de registros dos sujeitos excluídos, no entanto, aponta mais para uma relação aleatória do que sistemática, sendo comum - porém não uniforme dentro das equipes assistenciais - a prática de solicitação de exames laboratoriais gerais de "revisão" para pacientes em acompanhamento ambulatorial, sem uma suspeita clínica específica. No estudo de Gemenetzis et al. [38], também retrospectivo, houve a mesma proporção de 50% de exclusão por falta de hemograma.

A predominância de pacientes com ACE em estágio III ou IV (86,6%) pode ter contribuído para uma correlação positiva e para diferença da média de RNL neste grupo em relação às demais, tendo em vistas as evidências relacionando maiores valores de RNL com tumores mais avançados [33]. No entanto, manteve-se a força da correlação mesmo após a divisão do grupo ACE em dois novos grupos, de acordo com o estadiamento (estágio I / estágio III e IV). A proporção entre os estágios encontrada na amostra em parte reflete a realidade do câncer esofágico no mundo, onde mais de 50% dos pacientes se apresenta com doença incurável ao diagnóstico, sendo provável que esta proporção seja ainda maior em serviços brasileiros [86]. Por outro lado, apenas 20% dos pacientes com ACE foram submetidos a esofagectomia e apenas 1 paciente foi submetido a ecoendoscopia para estadiamento, de modo que a maior parte dos

casos foi estadiado apenas com base em critérios endoscópicos e tomográficos. É possível que isto tenha gerado uma super-alocação dos casos em estágio II para o estágio III, e do estágio III para o IV e vice-versa.

Já a maior prevalência de obesidade no grupo EBsD e a alta proporção de EB de segmento longo em ambos os grupos EBsD e EBcD constituem um viés de papel oposto – com potencial de diminuir as diferenças entre os grupos – já que inúmeros estudos descrevem um aumento basal dos marcadores inflamatórios em pacientes obesos, e o EB longo – um preditor de progressão já consolidado [58] – por sua vez, está relacionado a maiores níveis de PCR e IL-6 [14]. Estas características da amostra podem ter aumentado a média de RNL nos dois grupos de EB, contrabalançando o efeito da predominância de pacientes em estágio III/IV no grupo ACE.

Um aspecto deste trabalho que deve ser ponderado é a ausência de revisão de lâminas para confirmação do diagnóstico de displasia por um segundo patologista, especializado – um assunto que é motivo de debate na literatura [77,87,88]. Enquanto algumas referências reforcem o valor do diagnóstico confirmado por patologistas especializados na área, demonstrando inclusive risco significativamente maior de progressão para ACE para os casos revisados, outras evidências apontam para uma limitação inerente ao método. No estudo de Montgomery et al. [89], por exemplo, o valor de *kappa* antes e depois de consenso por patologistas especializados foi de 0,23 e 0,31, respectivamente. O mesmo autor, encontrou maior correlação entre a incidência de ACE e o diagnóstico de displasia firmado por um patologista ligado a assistência do que com um diagnóstico firmado por maioria entre 12 patologistas cegados [89]. Sharma et al. [90] argumenta que não há critérios objetivos que definam um patologista "expert", e que a esta definição tem aplicabilidade limitada no cenário real de assistência. O último consenso norte-americano admite esta controvérsia, mas recomenda a confirmação do diagnóstico de displasia por um segundo patologista [1]. Por outro lado, um ponto positivo quanto a avaliação da displasia no nosso estudo é a alta proporção de aderência ao Protocolo de Seattle [1,41] para amostragem do epitélio metaplásico: 78%, marca que supera amplamente a estimativa encontrada na literatura, inferior a 50% na rotina assistencial [91]. Cabe aqui frisar que os dados deste estudo foram coletados em um hospital universitário de alto-padrão de qualidade assistencial, acreditado pela *Joint Commission International* [92].

Os resultados deste estudo devem ser levados em conta de acordo com algumas características dessa casuística. O número total de pacientes em protocolo de vigilância do EB no serviço de endoscopia da nossa instituição se mostrou insuficiente para gerar um número maior de casos de displasia, que usualmente ocorre em uma fração pequena de pacientes em seguimento. Um fenômeno observado durante a revisão dos registros foi uma diminuição gradual de novos

pacientes a medida em que se analisavam anos anteriores, o que é esperado tendo em vista que, uma vez incluídos em protocolo de seguimento, os pacientes tendem a permanecer por muitos anos vinculados, acumulando-se ao longo do tempo. Foi por esta razão que se optou por não prosseguir para além do ano de 2013 na busca por pacientes com EB, pois neste último ano o número de pacientes novos encontrados já foi baixo. No caso dos adenocarcinomas, a busca sistemática de casos também apresentou inúmeras limitações; a principal delas é que a CID não distingue entre os subtipos de tumor; em uma população onde a grande maioria dos casos de câncer esofágico correspondem ao subtipo epidermóide [93], selecionar os casos de adenocarcinoma com base neste tipo de registro pode ser uma tarefa bastante árdua. Por esta razão, optamos por restringir a nossa busca a CIDs registrados no momento da alta hospitalar, para aumentar a chance de correção do diagnóstico, e excluindo-se os códigos com menor probabilidade de corresponderem a adenocarcinomas (p. ex. neoplasia do esôfago torácico e neoplasia do terço médio do esôfago). Esta estratégia, embora necessária para viabilizar a busca, certamente levou a perda de casos; o montante dessa perda, porém, é difícil de estimar.

## **CONCLUSÃO**

Houve correlação entre o aumento da razão neutrófilo-linfócito e os estágios evolutivos da progressão do esôfago de Barrett para displasia e neoplasia, o que sugere que este marcador tem potencial para uso na estratificação de risco destes pacientes.

## **PERSPECTIVAS**

Levando-se em conta que a ampla disponibilidade, alta reprodutibilidade e baixo custo da RNL são vantagens dificilmente superáveis por outros métodos e que sua base conceitual tem sido reforçada por sucessivas publicações, acreditamos que este marcador deva ser matéria de estudos prospectivos com poder suficiente para avaliar sua utilidade em protocolos de seguimento.

## **REFERÊNCIAS**

1. American Gastroenterological Association, Spechler SJ, Sharma P, Souza RF, Inadomi JM,

- Shaheen NJ. American Gastroenterological Association medical position statement on the management of Barrett's esophagus. *Gastroenterology* [Internet]. 2011 Mar;140(3):1084–91. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2011.01.030>
2. Morales CP, Souza RF, Spechler SJ. Hallmarks of cancer progression in Barrett's oesophagus. *Lancet* [Internet]. 2002 Nov 16;360(9345):1587–9. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)11569-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(02)11569-8)
  3. Runge TM, Abrams JA, Shaheen NJ. Epidemiology of Barrett's Esophagus and Esophageal Adenocarcinoma. *Gastroenterol Clin North Am* [Internet]. 2015 Jun 1;44(2):203–31. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889855315000187>
  4. Edgren G, Adami H-O, Weiderpass E, Weiderpass Vainio E, Nyrén O. A global assessment of the oesophageal adenocarcinoma epidemic. *Gut* [Internet]. 2013 Oct;62(10):1406–14. Available from: <http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2012-302412>
  5. Hamade N, Sharma P. Ablation Therapy for Barrett's Esophagus: New Rules for Changing Times. *Curr Gastroenterol Rep* [Internet]. 2017 Aug 17;19(10):48. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11894-017-0589-2>
  6. Simić A, Skrobić O, Micev M, Gligorijević M, Velicković D, Ivanović N, et al. Radiofrequency ablation for Barrett's esophagus high-volume center initial results. *Acta Chir Iugosl* [Internet]. 2012;59(1):19–24. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22924298>
  7. Rees JR, Lao-Sirieix P, Wong A, Fitzgerald RC. Treatment for Barrett's oesophagus. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2010 Jan 20;(1):CD004060. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD004060.pub2>
  8. Bulsiewicz WJ, Kim HP, Dellon ES, Cotton CC, Pasricha S, Madanick RD, et al. Safety and efficacy of endoscopic mucosal therapy with radiofrequency ablation for patients with neoplastic Barrett's esophagus. *Clin Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2013 Jun;11(6):636–42. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2012.10.028>
  9. Sami SS, Rangunath K, Iyer PG. Screening for Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma: rationale, recent progress, challenges, and future directions. *Clin Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2015 Apr;13(4):623–34. Available from:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2014.03.036>

10. Hvid-Jensen F, Pedersen L, Drewes AM, Sørensen HT, Funch-Jensen P. Incidence of adenocarcinoma among patients with Barrett's esophagus. *N Engl J Med* [Internet]. 2011 Oct 13;365(15):1375–83. Available from: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1103042>
11. Sikkema M, de Jonge PJF, Steyerberg EW, Kuipers EJ. Risk of esophageal adenocarcinoma and mortality in patients with Barrett's esophagus: a systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2010 Mar;8(3):235–44; quiz e32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2009.10.010>
12. Kavanagh ME, O'Sullivan KE, O'Hanlon C, O'Sullivan JN, Lysaght J, Reynolds JV. The esophagitis to adenocarcinoma sequence; the role of inflammation. *Cancer Lett* [Internet]. 2014 Apr 10;345(2):182–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.canlet.2013.08.017>
13. DeMeester SR, DeMeester TR. Columnar Mucosa and Intestinal Metaplasia of the Esophagus. *Ann Surg* [Internet]. 2000;231(3):303–21. Available from: <http://dx.doi.org/10.1097/00000658-200003000-00003>
14. Ryan AM, Healy LA, Power DG, Byrne M, Murphy S, Byrne PJ, et al. Barrett esophagus: prevalence of central adiposity, metabolic syndrome, and a proinflammatory state. *Ann Surg* [Internet]. 2008 Jun;247(6):909–15. Available from: <http://dx.doi.org/10.1097/SLA.0b013e3181612cac>
15. Poehlmann A, Kuester D, Malfertheiner P, Guenther T, Roessner A. Inflammation and Barrett's carcinogenesis. *Pathol Res Pract* [Internet]. 2012 May 15;208(5):269–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.prp.2012.03.007>
16. Quante M, Bhagat G, Abrams JA, Marache F, Good P, Lee MD, et al. Bile acid and inflammation activate gastric cardia stem cells in a mouse model of Barrett-like metaplasia. *Cancer Cell* [Internet]. 2012 Jan 17;21(1):36–51. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccr.2011.12.004>
17. Oberg S, Peters JH, De Meester TR. Inflammation and Specialized Intestinal Metaplasia of Cardiac Mucosa Is a Manifestation of Gastroesophageal Reflux Disease.
18. Jürgens S, Meyer F, Spechler SJ, Souza R. The role of bile acids in the neoplastic progression of Barrett's esophagus - a short representative overview. *Z Gastroenterol*

- [Internet]. 2012 Sep;50(9):1028–34. Available from: <http://dx.doi.org/10.1055/s-0032-1312922>
19. Triadafilopoulos G. Acid and bile reflux in Barrett's esophagus: a tale of two evils. *Gastroenterology* [Internet]. 2001 Dec;121(6):1502–6. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11729130>
  20. Fitzgerald RC, Abdalla S, Onwuegbusi BA, Sirieix P, Saeed IT, Burnham WR, et al. Inflammatory gradient in Barrett's oesophagus: implications for disease complications. *Gut* [Internet]. 2002 Sep;51(3):316–22. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12171950>
  21. Olliver JR, Hardie LJ, Dexter S, Chalmers D, Wild CP. DNA damage levels are raised in Barrett's oesophageal mucosa relative to the squamous epithelium of the oesophagus. *Biomarkers* [Internet]. 2003 Nov;8(6):509–21. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/13547500310001644961>
  22. Hardikar S, Onstad L, Song X, Wilson AM, Montine TJ, Kratz M, et al. Inflammation and oxidative stress markers and esophageal adenocarcinoma incidence in a Barrett's esophagus cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 2014 Nov;23(11):2393–403. Available from: <http://dx.doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-14-0384>
  23. Dvorakova K, Payne CM, Ramsey L, Holubec H, Sampliner R, Dominguez J, et al. Increased expression and secretion of interleukin-6 in patients with Barrett's esophagus. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2004 Mar 15;10(6):2020–8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15041721>
  24. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* [Internet]. 2011 Mar 4;144(5):646–74. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
  25. Fang H-Y, Huang XY, Chien H-T, Chang JT-C, Liao C-T, Huang J-J, et al. Refining the role of preoperative C-reactive protein by neutrophil/lymphocyte ratio in oral cavity squamous cell carcinoma. *Laryngoscope* [Internet]. 2013 Nov;123(11):2690–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/lary.24105>
  26. Kantola T, Klintrup K, Väyrynen JP, Vornanen J, Bloigu R, Karhu T, et al. Stage-dependent alterations of the serum cytokine pattern in colorectal carcinoma. *Br J Cancer* [Internet].



- 2012 Nov 6;107(10):1729–36. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/bjc.2012.456>
27. Petrie HT, Klassen LW, Kay HD. Inhibition of human cytotoxic T lymphocyte activity in vitro by autologous peripheral blood granulocytes. *J Immunol* [Internet]. 1985 Jan;134(1):230–4. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3871101>
  28. Gooden MJM, de Bock GH, Leffers N, Daemen T, Nijman HW. The prognostic influence of tumour-infiltrating lymphocytes in cancer: a systematic review with meta-analysis. *Br J Cancer* [Internet]. 2011 Jun 28;105(1):93–103. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/bjc.2011.189>
  29. Talmadge JE, Donkor M, Scholar E. Inflammatory cell infiltration of tumors: Jekyll or Hyde. *Cancer Metastasis Rev* [Internet]. 2007 Dec;26(3-4):373–400. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s10555-007-9072-0>
  30. Mohri Y, Tanaka K, Ohi M, Yokoe T, Miki C, Kusunoki M. Prognostic significance of host- and tumor-related factors in patients with gastric cancer. *World J Surg* [Internet]. 2010 Feb;34(2):285–90. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00268-009-0302-1>
  31. McCourt M, Wang JH, Sookhai S, Redmond HP. Proinflammatory mediators stimulate neutrophil-directed angiogenesis. *Arch Surg* [Internet]. 1999 Dec;134(12):1325–31; discussion 1331–2. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10593330>
  32. Jabłońska E, Kiluk M, Markiewicz W, Piotrowski L, Grabowska Z, Jabłoński J. TNF-alpha, IL-6 and their soluble receptor serum levels and secretion by neutrophils in cancer patients. *Arch Immunol Ther Exp* [Internet]. 2001;49(1):63–9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11266093>
  33. Guthrie GJK, Charles KA, Roxburgh CSD, Horgan PG, McMillan DC, Clarke SJ. The systemic inflammation-based neutrophil-lymphocyte ratio: experience in patients with cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* [Internet]. 2013 Oct;88(1):218–30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.critrevonc.2013.03.010>
  34. Toh E, Wilson J, Sebag-Montefiore D, Botterill I. Neutrophil:lymphocyte ratio as a simple and novel biomarker for prediction of locoregional recurrence after chemoradiotherapy for squamous cell carcinoma of the anus. *Colorectal Dis* [Internet]. 2014 Mar;16(3):O90–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/codi.12467>

35. Ishizuka M, Oyama Y, Abe A, Kubota K. Combination of platelet count and neutrophil to lymphocyte ratio is a useful predictor of postoperative survival in patients undergoing surgery for gastric cancer. *J Surg Oncol* [Internet]. 2014 Dec;110(8):935–41. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/jso.23753>
36. Walsh SR, Cook EJ, Goulder F, Justin TA, Keeling NJ. Neutrophil-lymphocyte ratio as a prognostic factor in colorectal cancer. *J Surg Oncol* [Internet]. 2005;91(3):181–4. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jso.20329/full>
37. Motomura T, Shirabe K, Mano Y, Muto J, Toshima T, Umemoto Y, et al. Neutrophil-lymphocyte ratio reflects hepatocellular carcinoma recurrence after liver transplantation via inflammatory microenvironment. *J Hepatol* [Internet]. 2013 Jan;58(1):58–64. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2012.08.017>
38. Gemenetzis G, Bagante F, Griffin JF, Rezaee N, Javed AA, Manos LL, et al. Neutrophil-to-lymphocyte Ratio is a Predictive Marker for Invasive Malignancy in Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms of the Pancreas. *Ann Surg* [Internet]. 2017 Aug;266(2):339–45. Available from: <http://dx.doi.org/10.1097/SLA.0000000000001988>
39. Siewert JR, Stein HJ. Carcinoma of the gastroesophageal junction - classification, pathology and extent of resection. *Dis Esophagus* [Internet]. 1996 Jul 1 [cited 2018 Feb 28];9(3):173–82. Available from: <https://academic.oup.com/dote/article-abstract/9/3/173/2798630>
40. Lao-Sirieix P, Fitzgerald R. Surveillance and screening of Barrett's oesophagus. *Br J Hosp Med* [Internet]. 2006 Jul;67(7):355–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.12968/hmed.2006.67.7.21619>
41. Brown J, Sharma P. From Prague to Seattle: Improved Endoscopic Technique and Reporting Improves Outcomes in Patients with Barrett's Esophagus. *Dig Dis Sci* [Internet]. 2016 Jan;61(1):4–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s10620-015-3958-4>
42. Desai TK, Krishnan K, Samala N, Singh J, Cluley J, Perla S, et al. The incidence of oesophageal adenocarcinoma in non-dysplastic Barrett's oesophagus: a meta-analysis. *Gut* [Internet]. 2012 Jul;61(7):970–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2011-300730>
43. Bhat S, Coleman HG, Yousef F, Johnston BT, McManus DT, Gavin AT, et al. Risk of

- malignant progression in Barrett's esophagus patients: results from a large population-based study. *J Natl Cancer Inst* [Internet]. 2011 Jul 6;103(13):1049–57. Available from: <http://dx.doi.org/10.1093/jnci/djr203>
44. Peery AF, Shaheen NJ. Esophagus: Endoscopic therapy for flat, dysplastic Barrett esophagus. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2011 Apr;8(4):186–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrgastro.2011.38>
  45. Jagadeshram VP, Kely CJ. Low grade dysplasia in Barrett's esophagus: Should we worry? *World J Gastrointest Pathophysiol* [Internet]. 2014 May 15;5(2):91–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.4291/wjgp.v5.i2.91>
  46. Thoguluva Chandrasekar V, Vennalaganti P, Sharma P. Management of Barrett's esophagus: From screening to newer treatments. *Rev Gastroenterol Mex* [Internet]. 2016 Apr;81(2):91–102. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rgmex.2015.07.007>
  47. Riddell RH. Early detection of neoplasia of the esophagus and gastroesophageal junction. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 1996 May;91(5):853–63. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8633572>
  48. Haidry R, Lovat L, Sharma P. Radiofrequency ablation for Barrett's dysplasia: past, present and the future? *Curr Gastroenterol Rep* [Internet]. 2015 Mar;17(3):13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11894-015-0433-5>
  49. Sharma P. Endoscopic Mucosal Resection as the Primary Treatment for Barrett Esophagus With Dysplasia. *Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2015 Oct;11(10):703–5. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27330498>
  50. 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* [Internet]. 2001 May;96(5):1355–62. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2001.03851.x>
  51. Sharma P. Low-grade dysplasia in Barrett's esophagus. *Gastroenterology* [Internet]. 2004 Oct 1 [cited 2018 Jan 23];127(4):1233–8. Available from: <http://www.gastrojournal.org/article/S0016508504014398/abstract>
  52. Anaparthi R, Sharma P. Progression of Barrett oesophagus: role of endoscopic and

- histological predictors. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2014 Sep;11(9):525–34. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrgastro.2014.69>
53. Katzka DA, Sharma P. Barrett's oesophagus: sharpening the view. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* [Internet]. 2015 Feb;29(1):1–2. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bpg.2014.12.001>
  54. Spechler SJ, Souza RF. Barrett's esophagus. *N Engl J Med* [Internet]. 2014 Aug 28;371(9):836–45. Available from: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMra1314704>
  55. Varghese S, Lao-Sirieix P, Fitzgerald RC. Identification and clinical implementation of biomarkers for Barrett's esophagus. *Gastroenterology* [Internet]. 2012 Mar;142(3):435–41.e2. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2012.01.013>
  56. Bird-Lieberman EL, Dunn JM, Coleman HG, Lao-Sirieix P, Oukrif D, Moore CE, et al. Population-based study reveals new risk-stratification biomarker panel for Barrett's esophagus. *Gastroenterology* [Internet]. 2012 Oct;143(4):927–35.e3. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2012.06.041>
  57. Di Caro S, Cheung WH, Fini L, Keane MG, Theis B, Haidry R, et al. Role of body composition and metabolic profile in Barrett's oesophagus and progression to cancer. *Eur J Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2016 Mar;28(3):251–60. Available from: <http://dx.doi.org/10.1097/MEG.0000000000000536>
  58. Fitzgerald RC, di Pietro M, Ragnath K, Ang Y, Kang J-Y, Watson P, et al. British Society of Gastroenterology guidelines on the diagnosis and management of Barrett's oesophagus. *Gut* [Internet]. 2014 Jan;63(1):7–42. Available from: <http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2013-305372>
  59. Bratlie SO, Edebo A, Casselbrant A, Helander HF, Fändriks L. The renin-angiotensin system in Barrett's esophagus. *Scand J Gastroenterol* [Internet]. 2016 Sep;51(9):1037–42. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/00365521.2016.1174881>
  60. di Pietro M, Boerwinkel DF, Shariff MK, Liu X, Telakis E, Lao-Sirieix P, et al. The combination of autofluorescence endoscopy and molecular biomarkers is a novel diagnostic tool for dysplasia in Barrett's oesophagus. *Gut* [Internet]. 2015 Jan;64(1):49–56. Available from: <http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2013-305975>

61. Karamchandani DM, Lehman HL, Ohanessian SE, Massé J, Welsh PA, Odze RD, et al. Increasing diagnostic accuracy to grade dysplasia in Barrett's esophagus using an immunohistochemical panel for CDX2, p120ctn, c-Myc and Jagged1. *Diagn Pathol* [Internet]. 2016 Feb 29;11:23. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13000-016-0473-7>
62. Thomas SJ, Almers L, Schneider J, Graham JE, Havel PJ, Corley DA. Ghrelin and Leptin Have a Complex Relationship with Risk of Barrett's Esophagus. *Dig Dis Sci* [Internet]. 2016 Jan;61(1):70–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s10620-015-3867-6>
63. Wu X, Ajani JA, Gu J, Chang DW, Tan W, Hildebrandt MAT, et al. MicroRNA expression signatures during malignant progression from Barrett's esophagus to esophageal adenocarcinoma. *Cancer Prev Res* [Internet]. 2013 Mar;6(3):196–205. Available from: <http://dx.doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-12-0276>
64. Duggan C, Onstad L, Hardikar S, Blount PL, Reid BJ, Vaughan TL. Association between markers of obesity and progression from Barrett's esophagus to esophageal adenocarcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2013 Aug;11(8):934–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2013.02.017>
65. Rizk NP, Servais EL, Tang LH, Sima CS, Gerdes H, Fleisher M, et al. Tissue and serum mesothelin are potential markers of neoplastic progression in Barrett's associated esophageal adenocarcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 2012 Mar;21(3):482–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-11-0993>
66. O'Doherty MG, Abnet CC, Murray LJ, Woodside JV, Anderson LA, Brockman JD, et al. Iron intake and markers of iron status and risk of Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma. *Cancer Causes Control* [Internet]. 2010 Dec;21(12):2269–79. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s10552-010-9652-0>
67. Sikkema M, Kerkhof M, Steyerberg EW, Kusters JG, van Strien PMH, Looman CWN, et al. Aneuploidy and overexpression of Ki67 and p53 as markers for neoplastic progression in Barrett's esophagus: a case-control study. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 2009 Nov;104(11):2673–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2009.437>
68. Mokrowiecka A, Wierzchniewska-Ławska A, Smolarz B, Romanowicz-Makowska H, Malecka-Panas E. [Polymorphism/loss of heterozygosity of APC gene in GERD-Barrett's

- metaplasia-dysplasia-adenocarcinoma sequence]. *Pol Merkur Lekarski* [Internet]. 2009 May;26(155):385–9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19606680>
69. Abe Y, Iijima K, Koike T, Asanuma K, Imatani A, Ohara S, et al. Barrett's esophagus is characterized by the absence of *Helicobacter pylori* infection and high levels of serum pepsinogen I concentration in Japan. *J Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2009 Jan;24(1):129–34. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1440-1746.2008.05691.x>
  70. Chatzopoulos D, Kyrgidis A, Kountouras J, Zavos C, Molyvas E, Venizelos I. Bax upregulation may provide a rationale for the low incidence of esophageal adenocarcinoma in a Greek cohort of patients with Barrett's esophagus. *Hepatogastroenterology* [Internet]. 2007 Apr;54(75):705–9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17591046>
  71. Di Martino E, Wild CP, Rotimi O, Darnton JS, Olliver RJ, Hardie LJ. IGFBP-3 and IGFBP-10 (CYR61) up-regulation during the development of Barrett's oesophagus and associated oesophageal adenocarcinoma: potential biomarkers of disease risk. *Biomarkers* [Internet]. 2006 Nov;11(6):547–61. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/13547500600896791>
  72. Lomo LC, Blount PL, Sanchez CA, Li X, Galipeau PC, Cowan DS, et al. Crypt dysplasia with surface maturation: a clinical, pathologic, and molecular study of a Barrett's esophagus cohort. *Am J Surg Pathol* [Internet]. 2006 Apr;30(4):423–35. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16625087>
  73. Streitz JM Jr, Madden MT, Marimanikkuppam SS, Krick TP, Salo WL, Aufderheide AC. Analysis of protein expression patterns in Barrett's esophagus using MALDI mass spectrometry, in search of malignancy biomarkers. *Dis Esophagus* [Internet]. 2005;18(3):170–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1442-2050.2005.00488.x>
  74. Rudolph RE, Vaughan TL, Kristal AR, Blount PL, Levine DS, Galipeau PC, et al. Serum selenium levels in relation to markers of neoplastic progression among persons with Barrett's esophagus. *J Natl Cancer Inst* [Internet]. 2003 May 21;95(10):750–7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12759393>
  75. Hillman LC, Chiragakis L, Clarke AC, Kaushik SP, Kaye GL. Barrett's esophagus: Macroscopic markers and the prediction of dysplasia and adenocarcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2003 May;18(5):526–33. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12702044>

76. Vaughan TL, Kristal AR, Blount PL, Levine DS, Galipeau PC, Prevo LJ, et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drug use, body mass index, and anthropometry in relation to genetic and flow cytometric abnormalities in Barrett's esophagus. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 2002 Aug;11(8):745–52. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12163328>
77. Montgomery E, Goldblum JR, Greenson JK, Haber MM, Lamps LW, Lauwers GY, et al. 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* [Internet]. 2001 Apr;32(4):379–88. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/hupa.2001.23511>
78. Eisen GM, Montgomery EA, Azumi N, Hartmann DP, Bhargava P, Lippman M, et al. Qualitative mapping of Barrett's metaplasia: a prerequisite for intervention trials. *Gastrointest Endosc* [Internet]. 1999 Dec;50(6):814–8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10570342>
79. 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* [Internet]. 2000 Jul;95(7):1669–76. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2000.02196.x>
80. Giménez A, Minguela A, de Haro LM, Parrilla P, Bermejo J, Pérez D, et al. DNA ploidy status and proliferative activity as markers of malignant potential in Barrett's esophagus: flow cytometric study using routinely paraffin-embedded tissue. *World J Surg* [Internet]. 2000 Jan;24(1):72–7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10594207>
81. Chinyama CN, Marshall RE, Owen WJ, Mason RC, Kothari D, Wilkinson ML, et al. Expression of MUC1 and MUC2 mucin gene products in Barrett's metaplasia, dysplasia and adenocarcinoma: an immunopathological study with clinical correlation. *Histopathology* [Internet]. 1999 Dec;35(6):517–24. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10583575>
82. Chandrasoma PT. Histologic definition of gastro-esophageal reflux disease. *Curr Opin Gastroenterol* [Internet]. 2013 Jul;29(4):460–7. Available from: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00001574-201307000-00019>

83. Sato H, Tsubosa Y, Kawano T. Correlation between the pretherapeutic neutrophil to lymphocyte ratio and the pathologic response to neoadjuvant chemotherapy in patients with advanced esophageal cancer. *World J Surg* [Internet]. 2012 Mar;36(3):617–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00268-011-1411-1>
84. Zhang S, Zhang X-Q, Ding X-W, Yang R-K, Huang S-L, Kastelein F, et al. Cyclooxygenase inhibitors use is associated with reduced risk of esophageal adenocarcinoma in patients with Barrett's esophagus: a meta-analysis. *Br J Cancer* [Internet]. 2014 Apr 29;110(9):2378–88. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/bjc.2014.127>
85. Kantor ED, Onstad L, Blount PL, Reid BJ, Vaughan TL. Use of statin medications and risk of esophageal adenocarcinoma in persons with Barrett's esophagus. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 2012 Mar;21(3):456–61. Available from: <http://dx.doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-11-1014>
86. Sharma P, Sampliner R, Ilson D. *Esophageal Cancer and Barrett's Esophagus* [Internet]. John Wiley & Sons; 2015. 304 p. Available from: <https://market.android.com/details?id=book-eKV1CgAAQBAJ>
87. Curvers WL, ten Kate FJ, Krishnadath KK, Visser M, Elzer B, Baak LC, et al. Low-grade dysplasia in Barrett's esophagus: overdiagnosed and underestimated. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 2010 Jul;105(7):1523–30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2010.171>
88. Reid BJ, Haggitt RC, Rubin CE, Roth G, Surawicz CM, Van Belle G, et al. Observer variation in the diagnosis of dysplasia in Barrett's esophagus. *Hum Pathol* [Internet]. 1988 Feb;19(2):166–78. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3343032>
89. Montgomery E, Bronner MP, Goldblum JR, Greenson JK, Haber MM, Hart J, et al. Reproducibility of the diagnosis of dysplasia in Barrett esophagus: a reaffirmation. *Hum Pathol* [Internet]. 2001 Apr;32(4):368–78. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/hupa.2001.23510>
90. Sharma P, Falk G, Sampliner R. Reply. *Clin Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2006 Nov 1 [cited 2018 Jan 29];4(11):1420. Available from: <http://www.cghjournal.org/article/S1542356506009074/abstract>



91. Peters FP, Curvers WL, Rosmolen WD, de Vries CE, Ten Kate FJW, Krishnadath KK, et al. Surveillance history of endoscopically treated patients with early Barrett's neoplasia: nonadherence to the Seattle biopsy protocol leads to sampling error. *Dis Esophagus* [Internet]. 2008 Apr 22;21(6):475–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1442-2050.2008.00813.x>
92. Joint Commission International. Joint Commission International Accreditation Standards for Hospitals [Internet]. Joint Commission Resources; 2007. 260 p. Available from: <https://www.jointcommissioninternational.org/>
93. da Silva IN de CJAG. INCA: Estimativa 2016. Incidência de câncer no Brasil. MINISTÉRIO DA SAÚDE INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA) [Internet]. 2015; Available from: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/>

## **9. ARTIGO EM INGLÊS**

**NEUTROPHIL-LYMPHOCYTE RATIO CORRELATES WITH PROGRESSION  
TO DYSPLASIA AND ADENOCARCINOMA IN PATIENTS WITH BARRETT'S  
ESOPHAGUS: A CROSS-SECTIONAL STUDY.**

*Vinicius Jardim Campos\*, Guilherme da Silva Mazzini, José Felipe Juchem,  
Richard Ricachenevsky Gurski.*

Hospital de Clínicas de Porto Alegre  
Federal University of Rio Grande do Sul  
Rua Ramiro Barcelos, 2350 Rio Branco  
CEP 90035-003 Porto Alegre / RS, Brazil

\* Corresponding author:  
[viniciusjcampos@gmail.com](mailto:viniciusjcampos@gmail.com)  
Passo da Pátria 540/301, Bela Vista  
CEP 90460-060 Porto Alegre / RS, Brazil

---

**Background:** Surveillance of patients with Barrett's esophagus (BE) relies on endoscopic biopsy to identify the progression from metaplasia to dysplasia and adenocarcinoma. The neutrophil-lymphocyte ratio (NLR) is an indirect measure of the imbalance between innate and adaptive immune systems in early stages of carcinogenesis and has been studied as a biomarker in premalignant conditions. Our aim was to investigate if NLR could help surveillance for BE, identifying patients with higher risk of progression to dysplasia and neoplasia.

**Methods:** We retrospectively analyzed patients with endoscopic biopsies reporting BE between 2005 and 2017, with elective complete blood count within 6 months of the endoscopy, as well as patients with adenocarcinoma (ACE) of the distal esophagus. NLR was calculated as total neutrophil count/total lymphocyte count. Cases were classified as non-dysplastic BE (ndBE), dysplastic BE (dBE) if either low grade or high-grade dysplasia was present, and adenocarcinoma (ACE). Spearman's correlation coefficient measured the relationship between the NLR and the presence of dysplasia/neoplasia, and a receiver operating curve tested the ability of NLR to diagnose ACE.

**Results:** 113 patients were selected (ndBE, n=72; dBE, n=11; ACE, n=30). NLR progressively increased across the groups and was higher in ACE group (ndBE,  $1.92 \pm 0.7$ ; dBE,  $2.92 \pm 1.1$ ; ACE  $4.54 \pm 2.9$ ,  $p < .001$ ). Additionally, there was a significant correlation between NLR and progression from ndBE to ACE ( $r = .53$ ,  $p < .001$ ). NLR  $> 2.3$  was able to diagnose ACE with 80% sensitivity and 71% specificity (area under the curve = .8).

**Conclusion:** There is a positive correlation between NLR and progression from BE to ACE. Prospective studies should be performed to assess its value in surveillance strategies.

**Keywords:** Barrett's esophagus, esophageal cancer, neutrophil-lymphocyte ratio.

## **INTRODUCTION**

Barrett's esophagus (BE) is a final stage of gastroesophageal reflux disease (GERD), in which the squamous epithelium of the distal esophagus is replaced by a specialized columnar epithelium of intestinal type [1]. GERD and BE, in turn, have close relationship with the development of adenocarcinoma of the esophagus (ACE) by the well established steps of intestinal metaplasia, dysplasia and neoplasia [1]. This sequence is the rational basis for surveillance strategies, which have gained fresh prominence in face of the rise of epidemic proportions in the incidence of ACE in recent decades [2,3], as well the recent advances in the armamentarium available for endoscopic treatment of high-grade dysplasia (HGD) and early cancer [4–7]. The current surveillance protocols, however, have been subject to constant questioning about its efficacy and cost-effectiveness [8]. Numerous efforts have been directed to improvement of endoscopic imaging techniques and histological diagnosis of dysplasia; the low incidence of CEA in patients with EB, on the other hand, considerably limits the cost-effectiveness margins of any technique employed: while exposed to a risk 30-125 times higher than the general population [2], ACE incidence in patients with EB does not exceed 0.1 to 0.5% per year or 10 cases/1000 patients-years considering together the incidence of ACE and HGD [9,10]. In this context, there's an unmistakable need for tools capable of identifying the subgroup of patients with EB are exposed to a high risk of progression.

Inflammatory events generated by the action of acid and biliary reflux that stress each step of progression from metaplasia to dysplasia and neoplasia [1,11–20] has motivated the study of inflammatory biomarkers as predictors of BE progression [21,22]. The neutrophil-lymphocyte ratio (NLR) is a peripheral biomarker that reflects the relation between the innate and the adaptive immune systems, whose imbalance is a key concept in the role of inflammation as an enabling characteristic of carcinogenesis, especially in its early stages [23–31]. The prognostic role of the NLR in several cancers is well established [32–36]; recently, it has shown to be an accurate predictor of cancer in premalignant pancreatic cysts [38].

## **METHODS**

Data from medical records of an academic institution from south of Brazil was collected in a retrospective, cross-sectional fashion. The primary outcome of the study was the correlation of the NLR with the different stages of BE progression.

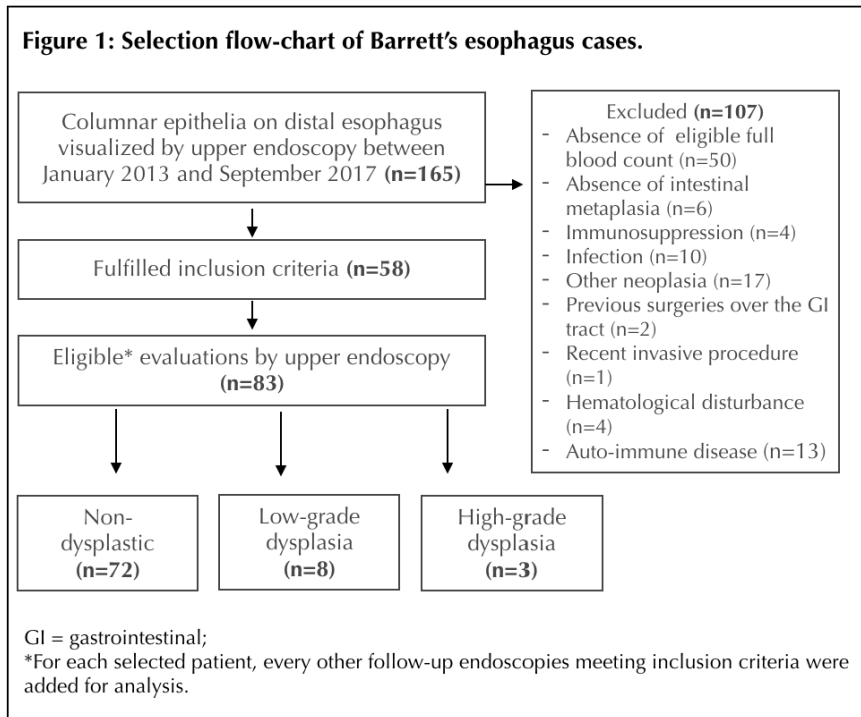
Data from consecutive patients undergoing endoscopy between January 2013 and September 2017 were analyzed; one hundred and sixty patients with columnar epithelium visualized in the distal esophagus were separated for selection; of these, 107 were excluded on the basis of following criteria: absence of at least one endoscopy associated with an eligible complete blood count (CBC), absence of intestinal metaplasia on histology, immunosuppression by drugs or chronic diseases, infectious diseases, cancer, hematological disorders, autoimmune disease and previous surgery in the gastrointestinal tract except fundoplication for GERD. To be considered eligible, the CBC should have been collected inside an interval between 6 months before and 6 months after the endoscopy in question and not in a context of infection or other invasive procedures (such as surgery or esophageal dilatation). In the presence of more than one eligible CBC, the nearest of endoscopy date was selected.

For each selected patient, were included all endoscopic examinations on the record where biopsies of the columnar epithelium were performed and that were associated with an eligible CBC; From the 58 remaining patients after the application of exclusion criteria, 83 endoscopic examinations were included for analysis (one patient with 5 tests, one patient with 4, 4 patients with 3 tests and 10 patients with 2).

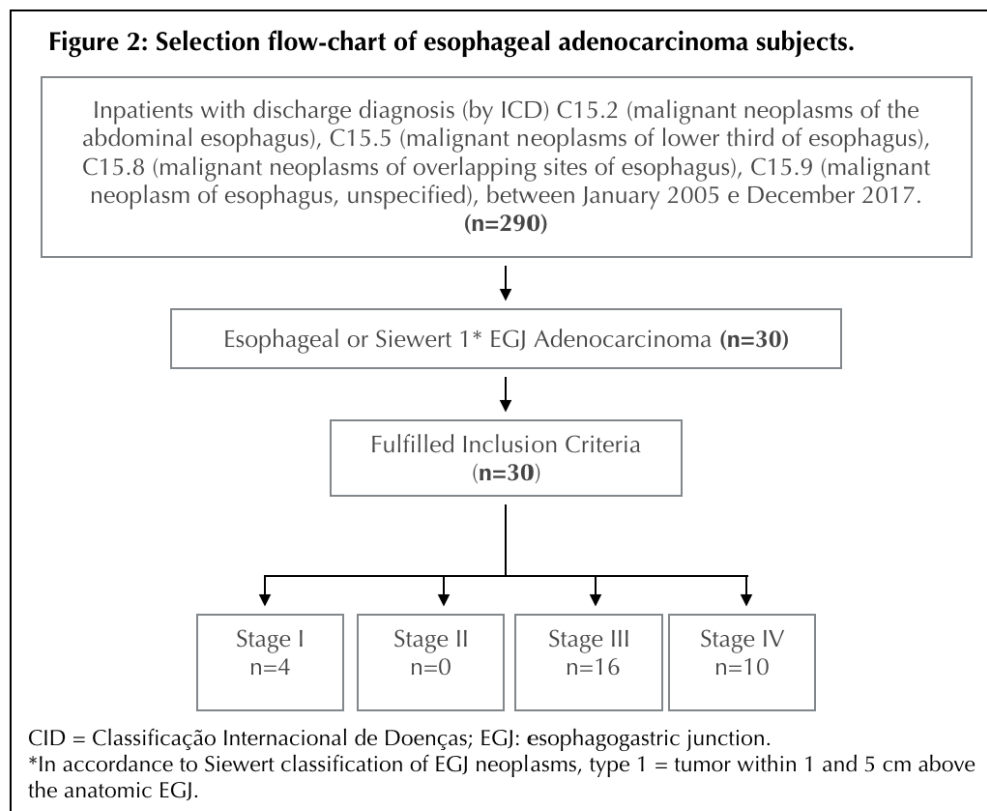
Patients with ACE were selected from hospital discharge diagnostic records between January 2005 and December 2017 which contained the following codes, according to the international classification of diseases (ICD): C15.2 (malignant neoplasm of abdominal esophagus), C15 .5 (malignant neoplasm of the lower third of the esophagus), C15.8 (malignant neoplasms of overlapping sites of esophagus), C15.9 (malignant neoplasm of esophagus, unspecified), totaling 290 cases. Of these, 30 corresponded to adenocarcinoma of esophagus or gastroesophageal junction (GEJ) type 1 of Siewert classification [37] (tumor between 1 and 5 cm cranial to the anatomical GEJ); the same exclusion criteria for BE cases were applied, except the need for confirmed intestinal metaplasia; all 30 patients were eligible.

**Figures 1 and 2** summarize the selection process.

**Figure 1: Selection flow-chart of Barrett's esophagus cases.**



**Figure 2: Selection flow-chart of esophageal adenocarcinoma subjects.**



Relevant demographics and clinical data were collected: gender, age, race, smoking habit, alcohol consumption, body mass index (BMI), comorbidities, non-steroid anti-inflammatory drugs (NSAIDs), proton pump inhibitors (PPIs) and statins, as well as data from endoscopic

(extension of columnar epithelium, hiatal hernia) and histopathological (histologic diagnosis, number of biopsies) reports .

Columnar epithelia of 3 cm or more of maximum length was classified as long BE, or as short BE when less than 3 cm. Hiatal hernia was defined as distance greater than or equal to 2 cm from the hiatal clamping to the Z line; small if up to 3 cm, medium-sized if > 3 and up to 5 cm, and large if > 5 cm.

Division of ACE patients between stages was based on the TNM classification according to the *American Joint Committee on Cancer* (2010).

The neutrophil-lymphocyte ratio (NLR) was calculated as total count of neutrophils divided by total lymphocyte count, in cells per cubic millimeters. Histopathological diagnosis of intestinal metaplasia, dysplasia and adenocarcinoma were carried out by experts of our institution.

Cases were classified into three different groups, based on the main stages of BE progression: non-dysplastic BE (ndBE), BE with low or high grade dysplasia (dBE) and adenocarcinoma (ACE). Primary endpoint was the correlation of an increasing NLR with progression across the groups. Subsequently, the same analysis was performed after subdivision of ACE patients according to clinical staging.

## **STATISTICAL ANALYSIS**

Comparisons between two continuous variables were performed through Student's t test (means) and Mann-Whitney (asymmetric data); between two categorical variables, chi-square or Fisher's exact were used. For comparisons between three means, the one-way ANOVA was used followed by Tukey post-hoc test. In comparing three categories, we used chi-square or Fisher's exact test, followed by post-hoc by Bonferroni's method. To analyze the correlation of NLR with different study groups, the nonparametric correlation coefficient of Spearman ( $r_s$ ) was used. An ordinal logistic regression was performed to model the outcome diagnosis between three levels. A receiver operating characteristics (ROC) curve was modeled to calculate area under the curve (AUC), sensitivity, specificity and likelihood ratio for the diagnosis of ACE.

The significance level (alpha) was 0.05. The SPSS version 22.0 was used.

## **RESULTS**

The mean age of the ndBE group was  $59.6 \pm 14.7$  years, with significant difference to the ACE group (mean  $68.7 \pm 13.0$ ;  $p = .015$ ), while the dBE group (mean  $57.1 \pm 17.5$ ) showed no significant difference with other groups ( $p > .05$ ). The proportion of male patients in the ndBE group also was significantly lower compared to ACE group (43.1% and 73.3% respectively,  $p = .009$ ), while dBE group (72.7%) showed no difference with the other two ( $p > .05$ ). The study subjects were mostly caucasians.

The body mass index (BMI) was significantly higher in ndBE group ( $31.5 \pm 1.14$ ) compared with the ACE group ( $24.9 \pm 1.84$ ;  $p = .006$ ). History of alcohol abuse was significantly more prevalent in dBE (27.3%,  $n = 3$ ) than in other two groups ( $p = .011$ ), which did not differ statistically between each other despite the higher prevalence in the ACE group (21.4%,  $n = 6$ , compared with 5.6%,  $n = 4$  in ndBE;  $p > .05$ ).

Use of PPI was significantly lower in the ACE group (27.3%,  $n = 6$ ) compared to the other two groups (95.8%,  $n = 68$  in ndBE group and 90.9%,  $n = 10$  in dBE group,  $p < .001$ ) that did not differ between each other ( $p > .05$ ). No significant differences in statins or NSAIDs use was observed between the three groups ( $p > .05$ )

There was a high proportion of long BE in both BE groups: 54.2 % ( $n = 39$ ) in ndBE and 70% ( $n = 7$ ) in dBE. Seventy-eight percent of endoscopic examinations performed in patients with EB followed Seattle Protocol (01 biopsies in each quadrant for each 2 cm of visible columnar epithelium) . Seventy-two percent of cases ndBE group and 80% of dBE group showed hiatal hernia ( $p = .719$ ). Twenty-two and twenty-seven percent of patients in ndBE and dBE groups, respectively, had a history of antireflux surgery ( $p = .708$ ).

Among those in ACE group, 13.3% ( $n = 4$ ) belonged to stage I, 53.3% ( $n = 16$ ) to stage III and 33.3% ( $n = 10$ ) to stage IV. There were no cases in stage II.

The above data are summarized in **Table 1**.

	<b>ndBE N = 72</b>	<b>dBE N = 11</b>	<b>ACE N = 30</b>	<b>p</b>
Age, years	$59.6 \pm 14.7^a$	$57.1 \pm 17.5^{a,b}$	$68.7 \pm 13.9^b$	.11
Male, N(%)	31(43.1) <sup>a</sup>	8(72.7) <sup>a,b</sup>	22(73.3) <sup>b</sup>	.9
Race, N(%)				
White	68(94.4) <sup>a</sup>	11(100.0) <sup>a</sup>	28(93.3) <sup>a</sup>	.499
Black	1(1.4) <sup>a</sup>	0(0) <sup>a</sup>	2(6.7) <sup>a</sup>	



Brown	3(4.2) <sup>a</sup>	0(0) <sup>a</sup>	0(0) <sup>a</sup>	
Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )	N = 22 31.5±1.14 <sup>a</sup>	N=4 28.4±1.37 <sup>a,b</sup>	N=12 24.9±1.84 <sup>b</sup>	.008
Tobacco use, N(%)	N = 69 24(34.8) <sup>a</sup>	N = 11 8(72.7) <sup>a</sup>	N = 29 16(55.2) <sup>a</sup>	.020
Alcoholism, N(%)	N = 72 4(5.6) <sup>a</sup>	N = 11 3(27.3) <sup>b</sup>	N = 28 6(21.4) <sup>a,b</sup>	.011
Type 2 diabetes mellitus, N(%)	N = 69 15(21.7)	N = 10 1(10)	N = 27 3(11.1)	.490
PPI use*, N(%)	N = 71 68(95.8) <sup>a</sup>	N = 11 10(90.9) <sup>a</sup>	N = 28 6(27.3) <sup>b</sup>	< .001
Aspirin use, N(%)	N = 71 22(31.0) <sup>a</sup>	N = 10 3(30.0) <sup>a</sup>	N = 26 5(19.2) <sup>a</sup>	.526
Another NSAID use, N(%)	N=70 1(1.4) <sup>a</sup>	N=10 0(0) <sup>a</sup>	N=26 0(0) <sup>a</sup>	>.999
Statin use, N(%)	N = 71 28(39.4) <sup>a</sup>	N = 10 1(10.0) <sup>a</sup>	N = 26 5(19.2) <sup>a</sup>	.056
Prague C, cm median minimum-maximum	N= 48 1 0-9	N= 7 2 0-10		.339
Prague M, cm median minimum-maximum	N=48 3 1-9	N=7 4 0-6		.980
BE maximum length, mm median minimum-maximum	N=65 30 5-100	N=8 45 10-60		.528
Long BE <sup>§</sup> , N(%)	N=72 39(54.2)	N=10 7(70)		.603
Hiatal hernia, N(%) 1-3 cm > 3 and ≤ 5 cm > 5 cm	N=71 32(45.1) 13(18.3) 6(8.5)	N=10 2(20.0) 5(50.0) 0(0)		.719
BE sampling by Seattle Protocol, N(%)	57(79.1)	8(72.7)		.697
Esophagitis, N(%)	11(15.2)	0(0)		> .999

Previous antireflux surgery, N(%)	16(22.2)	3(27.2)	.708
Neoadjuvant treatment, N(%)		2(6.6)	
Esophagectomy, N(%)		6(20.0)	
Staging <sup>∞</sup> , N(%)			
Stage I		4(13.3)	
Stage II		0(0)	
Stage III		16(53.3)	
Stage IV		10(33.3)	

BE = Barrett's esophagus; ndBE = non-dysplastic Barrett's esophagus; dBE = dysplastic Barrett's esophagus; ACE = adenocarcinoma of the esophagus; PPI = proton-pump inhibitor; NSAID = non-steroidal anti-inflammatory drug; Prague C and M = BE maximum circumferential length and maximum length, respectively, according to Prague Classification.

<sup>a, b, c</sup> = same letter groups didn't show statistic difference after post-hoc test.

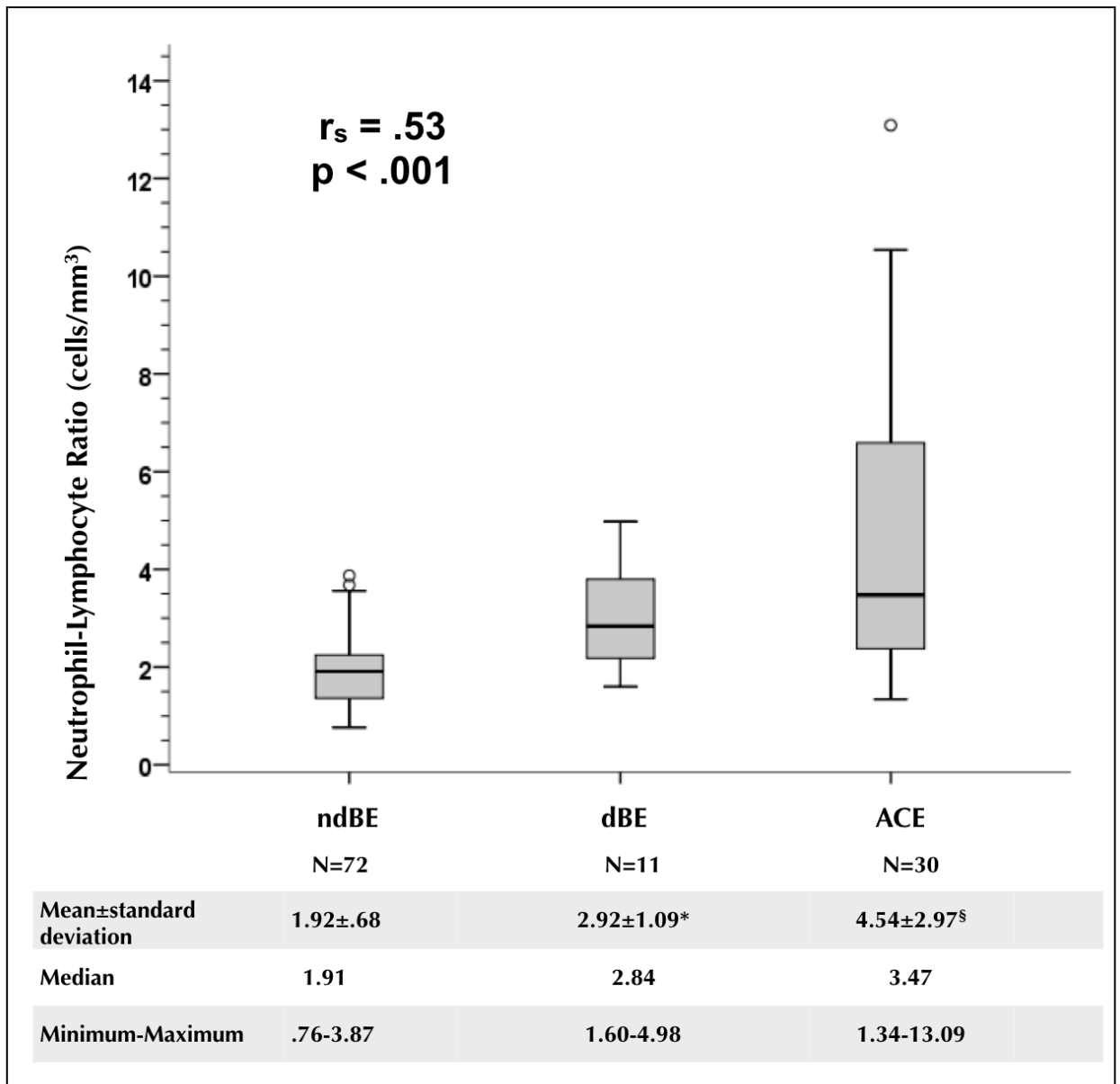
\*Daily dosage expressed by number of pills of 20 mg omeprazole or equivalent dose of other PPI.

<sup>§</sup>Long-segment BE = columnar epithelia ≥ 3 cm of maximum length.

<sup>∞</sup>According to *American Joint Committee on Cancer, 2010* (TNM 7<sup>th</sup> edition).

There was no significant difference between the mean of NLR in the ndBE and dBE groups ( $1.92 \pm 0.68$  and  $2.92 \pm 1.09$ , respectively,  $p = .154$ ); both groups, however, differed significantly from the ACE group (mean  $4.54 \pm 2.97$ ,  $p < .001$  and  $p < .05$ , respectively). There was a positive correlation – of moderate strength – between a increasing NLR and progression through the three groups:  $r_s = .53$ ,  $p < .001$  (**Figure 3**). The strength of this correlation persisted after subdivision of ACE patients in two groups: stage I and stage III/IV ( $r_s = .51$ ,  $p < .001$ ; **Figure 4**).

**Figure 3: Descriptive data and correlation between the three main groups.**

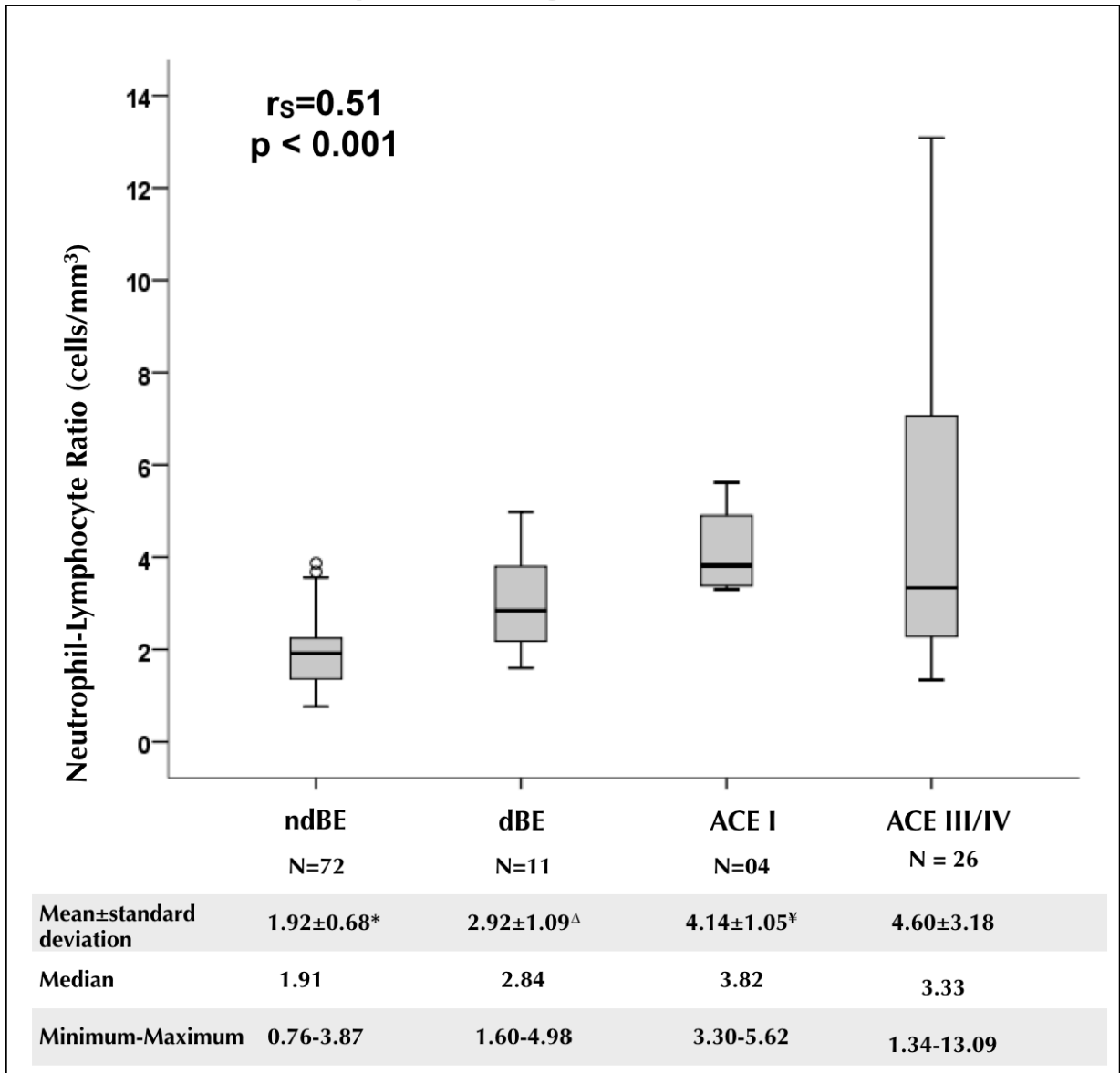


ndBE = non-dysplastic Barrett's esophagus; dBE = dysplastic Barrett's esophagus; ACE = esophageal adenocarcinoma;  $r_s$  = Spearman's correlation coefficient.

\* $p = .154$  in comparison with group ndBE.

<sup>§</sup> $p < .001$  in comparison with group ndBE,  $p < .05$  in comparison with group dBE.

**Figure 4. Descriptive data and correlation between groups; esophageal adenocarcinomas divided per clinical stage.**



ndBE = non-dysplastic Barrett's esophagus; dBE = dysplastic Barrett's esophagus; ACE = adenocarcinoma of the esophagus; Stages I and III/IV in reference to TNM classification by the American Joint Committee on Cancer, 2010. There were no cases of EAC stage II.  $r_s$  = Spearman's correlation coefficient.

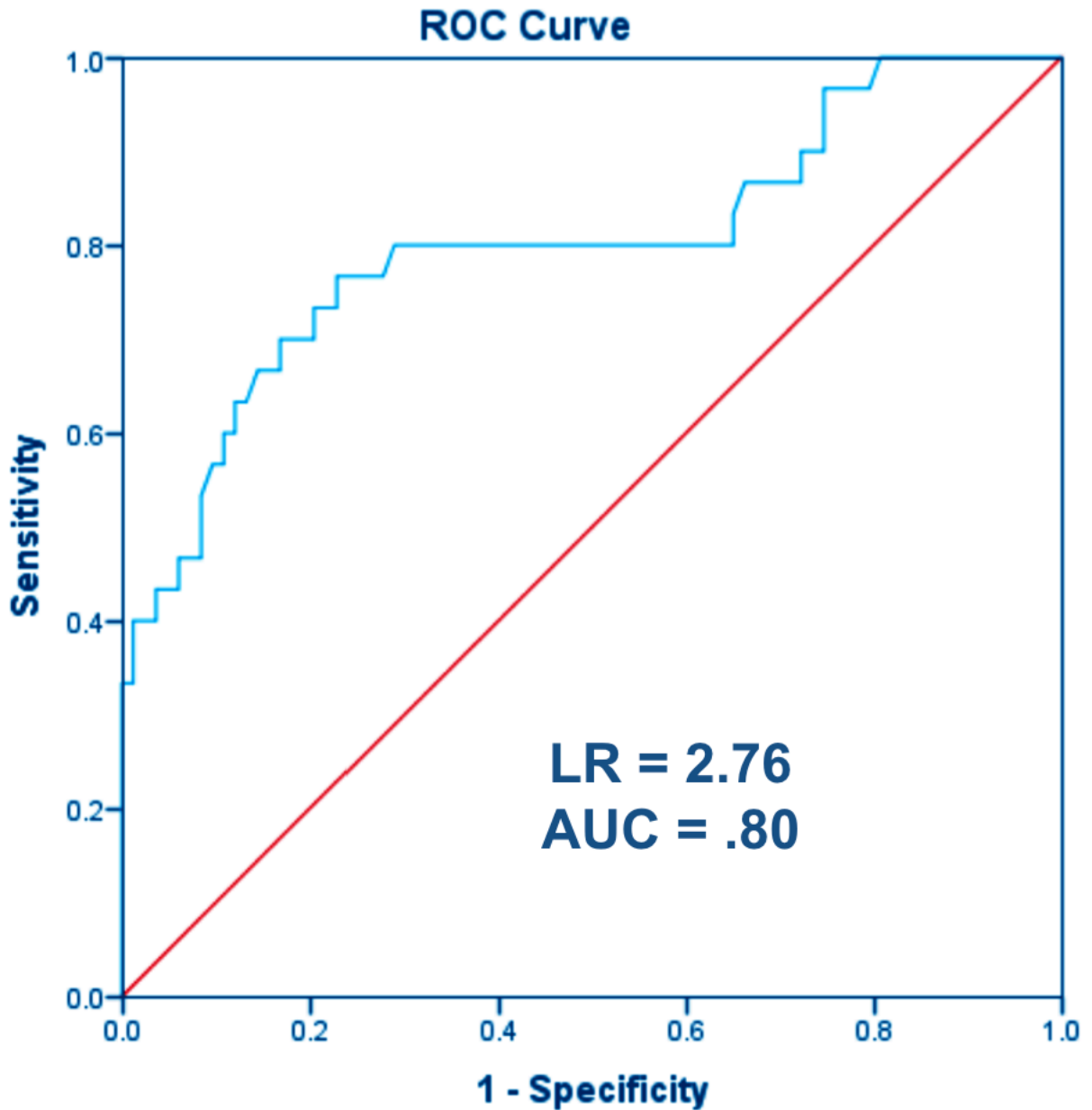
\* $p < 0.0001$  in comparison with EAC III/IV, no significance in comparison with the other groups.

<sup>Δ</sup> $p = 0.030$  in comparison with EAC III/IV, no significance in comparison with the other groups.

<sup>‡</sup> $p$  non significant in comparison with the other groups.

NLR > 2.27 had a sensitivity of 80.0% and specificity of 71.1% for the diagnosis of cancer (likelihood ratio = 2.76, AUC = 0.8; **figure 5**).

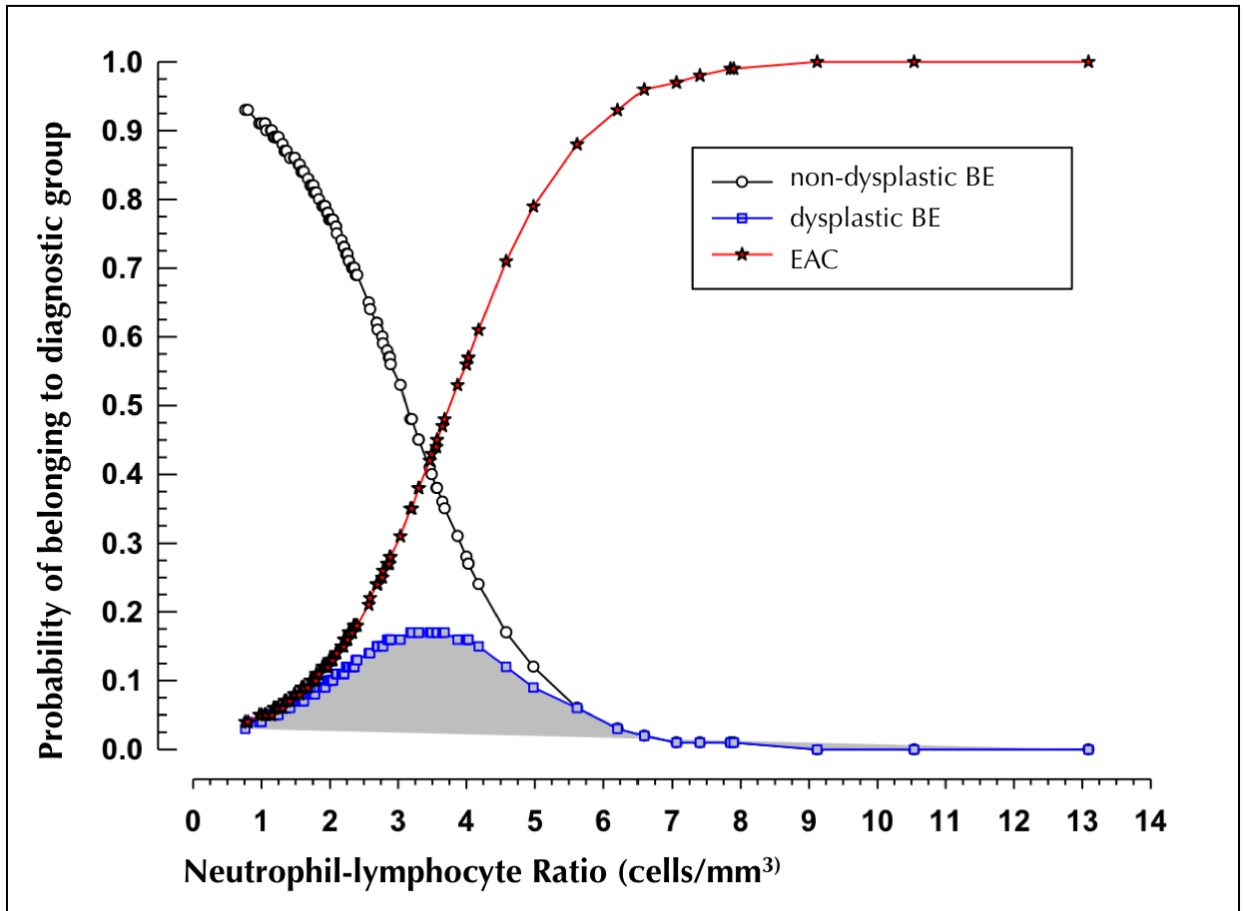
**Figure 5: Receiver-operating characteristics curve.**



LR = likelihood ratio. AUC = area under the curve

**Figure 6** shows the likelihood of outcome diagnosis according to the level of NLR. The results of this model, however, are linked to pretest probability of the sample, which, in this case (ndBE = 73.4%, dBE = 9.7% and ACE = 26.5%), does not reflect the prevalence observed in the general population.

**Figure 6: Ordinal logistic regression.**



BE = Barrett's esophagus; EAC = esophageal adenocarcinoma.

## DISCUSSION

The use of dysplasia as the sole marker of risk of BE progression to neoplasia binds current surveillance protocols to the need for sampling columnar epithelium endoscopically, under sedation. Besides the cost and morbidity associated, this approach is limited by the low representation (<5%) of the samples - even if carried out properly - in relation to the entire epithelium at risk [39]. Moreover, there is low interobserver agreement for the diagnosis of dysplasia, with reported *kappa* values being as low as 0.11 even among specialized pathologists [40]. Another important aspect is that the incidence of ACE in BE patients is very low: 0.33% per year, and maybe even lower, close to 0.1% per year according to recent population-based studies [9,38,39]. An example of the low impact of ACE – a highly lethal cancer – in BE population taken as a whole is the fact that 93% of these patients die of other causes [10]. Recent advances in endoscopic therapy for HGD and early-stage ACE [4–7,40–45] have provided

valuable tools to significantly change the natural history of ACE; however, their potential is ultimately shortened by the low efficacy of surveillance strategies, which are widely dispersed among a large group of patients where most are actually exposed to a very low risk of cancer, besides being based on invasive, high-cost and low-effective techniques. The path indicated by most experts in the field to overcome this deadlock is the development of non-invasive tools, inexpensive and easy to apply in clinical routine, with capacity to more accurately stratify BE patients at high risk of progression to cancer, making possible the adoption of more adequate diagnostic techniques and evaluation intervals for each subgroup, thus increasing the efficacy and cost-effectiveness of surveillance [8,39,42,46–53]. This way, high-risk would be subjected to more aggressive protocols for tracking dysplasia and early cancer, with a more rational use of the available technology. At the other extreme, a large number of patients with minimal risk of progression could be spared risky and expensive procedures.

Demographic and clinical data - as extension of columnar epithelium, sex, age and ethnicity - have been tested [54] as criterion for individualization of endoscopic follow-up intervals, but without enough strength for wide clinical recommendation [55,56]. The use of biomarkers related to BE progression, in turn, has been subject of increasing interest.

Most studies evaluating biomarkers of progression to dysplasia and cancer in BE [20,21,46,57–79] applied histopathology techniques, which, in many cases, lack standardization for clinical practice; moreover, this kind of marker rely on sampling biopsies, with all its known limitations. Peripheral biomarkers, on the other hand, provide the ability to select patients even before the indication of an invasive procedure.

The close relationship between molecular mechanisms of BE progression with inflammatory events generated by acid and biliary reflux in the distal esophagus [1,14,80] refers to the possibility that biomarkers that punctuate each step of this process can be used as predictors of risk for the development of dysplasia and neoplasia. Hardikkar et al. [21] analyzed the correlation of serum biomarkers of inflammation to the progression of the EB: C-reactive protein (CRP) and interleukin 6 (IL-6) elevated in peripheral blood were associated with a twofold higher risk of progression to neoplasia; in this study, however, there was loss of statistical significance after adjusting results for age, sex, waist-hip ratio and smoking (hazard ratio and 95% confidence interval, respectively, of 1.77 / .93 - 3.37 for CRP, and 1.79 / .93 - 3.43 for IL-6).

NLR is a systemic inflammation marker that correlates with survival and other prognostic outcomes in cancer patients [32]. One of the main advantages of this marker - besides being a wide available, highly reproducible and inexpensive clinical tool - is in its capacity to indirectly express the relation between the innate immune system (neutrophils) and the humoral immune

system (lymphocytes), whose imbalance is one key concept regarding inflammatory events in carcinogenesis. Several studies demonstrate that at early stages of tumor development, the innate immune system cells are kidnapped, promoted and controlled by the tumor, which preys on its ability to penetrate tissues and produce stroma to grow and become invasive. The humoral system – responsible for a long term, consistent and specific immune response – in turn, is inhibited by the neoplasia, which blocks the capacity of adaptive cells to present antigens, among other mechanisms [23]. This conceptual feature gives to NLR a theoretical advantage over less specific inflammatory markers, such as CRP and IL-6. Fang et al. analysed CRP and NLR in a series of 226 patients with squamous cell carcinoma of the oral cavity; although both markers correlated with prognosis independently, the NLR was able to identify subgroups of higher risk even among patients with high CRP [24].

Gemenetzi et al in a recent publication [81] examined the role of NLR as predictor of pancreatic ductal adenocarcinoma in patients with intraductal papillary mucinous neoplasm (IPMN);  $NLR > 4$  was associated with an odds ratio (OR) of 6.62, that was higher than the traditional criteria of resection of IPMN such as size of the tumor, pancreatic duct dilatation and solid component in the cyst.

This is the first study designed to evaluate the correlation of NLR with the progression of EB that we have knowledge of. The three groups of the study were divided according to the main stages of progression (intestinal metaplasia without dysplasia, dysplasia and adenocarcinoma); the choice to gather low and high-grade dysplasia in one group was due to the low number of cases of dysplasia (low grade,  $n = 8$ ; high-grade,  $n = 3$ ), a factor that may have also influenced the failure to obtain statistical difference in mean NLR of ndBE and dBE groups. Despite this limitations, there was a positive correlation between the increase in NLR value and the progression through the groups.

The strength of this correlation was also expressed in high accuracy presented by marker for the diagnosis of ACE, even using a relatively low cutoff (2.27) compared with some similar studies. In a systematic review published in 2013 by Guthrie et al [32] on the role of NLR as predictor of prognosis in cancer patients, the cutoff most commonly used among 34 studies evaluating operable solid malignancies was 5.0 (16 studies); in 7 studies that included only gastric and esophageal cancer the cutoff point ranged from 2.0 to 5.0. In the work of Sato et al. [82]  $NLR > 2.2$  was an independent predictor of complete pathologic response after neoadjuvant therapy for esophageal cancer, and the study of Mohri et al. [29] the same cutoff predicted survival in the sample of patients that underwent surgery for gastric cancer. There is therefore a wide range of adopted cutting bridge. In the review of Guthrie et al., however, some studies with



gastric and esophageal cancer demonstrated a correlation between increasing NLR and the progression of T stage from its earliest phases, suggesting that for detection of early cancer lower cutoffs than the ones used for full-grown tumors apply.

Alcoholism - not an established risk factor for ACE or BE progression [2] - was more frequent in the dysplasia group; due to the low number of subjects in this group, it is possible that this finding should be random. Older age and male predominance in the ACE group, in turn, reflect the pattern of this disease: both factors are important demographic predictors of progression of EB, and this predominance is a pattern observed in population cohorts [9,39]. The low proportion of PPI use in the ACE group reflects the literature data that demonstrates the absence of a prior diagnosis of GERD or EB in most of these patients [2]. The use of statins and NSAIDs - drugs that have been linked to reduced risk of progression to neoplasia in EB patients [83,84] - was comparable between groups.

There was a high proportion (50%) of study subjects excluded for lack of complete blood count in the established period, which raises concerns about the possibility of selection bias related to the reasons why the CBC request for some and not for others. The analysis of records of the excluded subjects, however, suggests a random instead of systematic phenomena: it is common - but not a uniform conduct between care teams - the request of general laboratory tests for "preventive matters" for patients receiving outpatient follow-up, without a specific clinical suspicion. In the study Gemenetzis et al. [81] - also retrospective - the proportion of excluded patients for lacking of CBC was similar (>50%).

The prevalence of patients with ACE instage III or IV (86.6%) in our sample may have contributed to the positive correlation found and for the difference in mean NLR in this group compared to the rest, in view of the evidences correlating increasing NLR values with advancing tumor stage [32]. However, the correlation strength remained after the subdivision of the ACE group into two new groups according to the stage (Stage I / Stage III and IV). The proportion of each stage in our study partly reflects the current status of esophageal cancer in the world, where over 50% of patients have incurable disease at diagnosis, and this proportion is probably even higher in Brazilian centers [85]. On the other hand, only 20% of patients with ACE underwent esophagectomy, and only one patient underwent endoscopic ultrasound for staging, so that the most part of ACE group was staged just based on endoscopic and tomographic criteria; it is possible that this fact has generated an over-allocation of stage II cases to stage III, and maybe also of stage III to IV and vice-versa. The increased prevalence of obesity in ndBE group and the high proportion of long EB in both ndBE and dBE groups, in contrast, constitute a bias of opposite effect - with potential to lessen the differences between the groups - since numerous

studies describe increase in inflammatory markers (including NLR) in obese patients, and long EB – a well established predictor of progression [55] – also is associated with higher levels of inflammatory markers such as CRP and IL-6 [13]. These characteristics of the sample may have increased the average of NLR in the two EB groups, offsetting the effect of the predominance of patients with advanced stages in the ACE group.

Another aspect of our study that should be discussed is the absence of pathology reviews to confirm the diagnosis of dysplasia by a second expert pathologist – an issue of some debate in literature [75,86,87]. While some references reinforce the value of the diagnosis confirmed by expert pathologists in the field, including by demonstrating a significantly higher risk of progression to ACE for the reviewed cases, other evidences points to similar accuracy between reviewed and non-reviewed cases, probably due to a limitation inherent to the method itself. In the study by Montgomery et al. [88], for example, the *kappa* value before and after consensus by expert pathologists was 0.23 and 0.31, respectively. The same author found a greater correlation between the incidence of ACE and the diagnosis of dysplasia signed by a routine pathology report on clinical routine than with a diagnosis made by a majority of 12 blinded pathologists [86]. Sharma et al. [89] argues that there are no objective criteria to define a "expert" pathologist, and that this definition has limited applicability in the actual care setting. The last American consensus admits this controversy, but recommends the review of the diagnosis of dysplasia by a second pathologist [1]. By contrast, a very positive characteristic of the evaluation of dysplasia in our study was the high adherence to the Seattle Protocol[56,90] for sampling the metaplastic epithelium: 78% of the endoscopic evaluations, a proportion that overcomes by large the estimates found in the literature of less than 50% in the routine care in the United States [91]. It's important to point out that our study data were collected from an academic institution of high standard of quality in assistance, also accredited by the *Joint Commission International* [89].

The results of this study should be considered in light of some characteristics of the sample. The total number of patients in BE surveillance protocol in the endoscopy service of our institution proved insufficient to generate a greater number of dysplasia cases, which usually occurs in a small fraction of patients in follow-up. A phenomenon observed during the review of endoscopy records was a sharp decrease in new patients as the review went toward previous years, which was in part expected considering the fact that, once included in follow-up protocol, patients tend to stay for many years linked and accumulate over time. For this reason, it was decided not to proceed beyond the year 2013 in the search for patients with BE, as in this past year the number of new patients found was already low. In the case of adenocarcinomas, the systematic search for cases also presented several limitations; the main one is that the ICD does

not distinguish between tumor subtypes; in a population where the vast majority of cases of esophageal cancer correspond to the squamous subtype [92], selecting cases of adenocarcinoma based on this type of record can be quite time-consuming. For this reason, we chose to restrict our search to only ICD codes registered at the time of hospital discharge, on an attempt to increase the chance of diagnosis correction; the codes are less likely to correspond to adenocarcinomas (e.g., thoracic esophageal cancer and neoplasm of the middle third of the esophagus). This strategy, though necessary to enable a viable search, certainly led to losses; the amount of cases lost, however, is difficult to estimate.

## **CONCLUSION**

There was a positive correlation between the NLR and the evolutive phases of BE progression to dysplasia and adenocarcinoma, which suggests that this marker would be a potential tool for risk stratification.

## **PERSPECTIVES**

Considering that the wide availability, high reproducibility and low cost of this marker are advantages hardly surmountable by other methods and that its conceptual background has been reinforced by successive publications, we believe that NLR should be matter of prospective studies with sufficient power to evaluate its utility in surveillance protocols.

## **REFERENCES**

1. Morales CP, Souza RF, Spechler SJ. Hallmarks of cancer progression in Barrett's oesophagus. *Lancet*. 2002 Nov 16;360(9345):1587–9.
2. Runge TM, Abrams JA, Shaheen NJ. Epidemiology of Barrett's Esophagus and Esophageal Adenocarcinoma. *Gastroenterol Clin North Am*. 2015 Jun 1;44(2):203–31.
3. Edgren G, Adami H-O, Weiderpass E, Weiderpass Vainio E, Nyrén O. A global assessment of the oesophageal adenocarcinoma epidemic. *Gut*. 2013 Oct;62(10):1406–14.
4. Hamade N, Sharma P. Ablation Therapy for Barrett's Esophagus: New Rules for Changing Times.

- Curr Gastroenterol Rep. 2017 Aug 17;19(10):48.
5. Simić A, Skrobić O, Micev M, Gligorijević M, Velicković D, Ivanović N, et al. Radiofrequency ablation for Barrett's esophagus high-volume center initial results. *Acta Chir Iugosl.* 2012;59(1):19–24.
  6. Rees JR, Lao-Sirieix P, Wong A, Fitzgerald RC. Treatment for Barrett's oesophagus. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010 Jan 20;(1):CD004060.
  7. Bulsiewicz WJ, Kim HP, Dellon ES, Cotton CC, Pasricha S, Madanick RD, et al. Safety and efficacy of endoscopic mucosal therapy with radiofrequency ablation for patients with neoplastic Barrett's esophagus. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2013 Jun;11(6):636–42.
  8. Sami SS, Rangunath K, Iyer PG. Screening for Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma: rationale, recent progress, challenges, and future directions. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2015 Apr;13(4):623–34.
  9. Hvid-Jensen F, Pedersen L, Drewes AM, Sørensen HT, Funch-Jensen P. Incidence of adenocarcinoma among patients with Barrett's esophagus. *N Engl J Med.* 2011 Oct 13;365(15):1375–83.
  10. Sikkema M, de Jonge PJF, Steyerberg EW, Kuipers EJ. Risk of esophageal adenocarcinoma and mortality in patients with Barrett's esophagus: a systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2010 Mar;8(3):235–44; quiz e32.
  11. Kavanagh ME, O'Sullivan KE, O'Hanlon C, O'Sullivan JN, Lysaght J, Reynolds JV. The esophagitis to adenocarcinoma sequence; the role of inflammation. *Cancer Lett.* 2014 Apr 10;345(2):182–9.
  12. DeMeester SR, DeMeester TR. Columnar Mucosa and Intestinal Metaplasia of the Esophagus. *Ann Surg.* 2000;231(3):303–21.
  13. Ryan AM, Healy LA, Power DG, Byrne M, Murphy S, Byrne PJ, et al. Barrett esophagus: prevalence of central adiposity, metabolic syndrome, and a proinflammatory state. *Ann Surg.* 2008 Jun;247(6):909–15.
  14. Poehlmann A, Kuester D, Malferteiner P, Guenther T, Roessner A. Inflammation and Barrett's carcinogenesis. *Pathol Res Pract.* 2012 May 15;208(5):269–80.
  15. Quante M, Bhagat G, Abrams JA, Marache F, Good P, Lee MD, et al. Bile acid and inflammation activate gastric cardia stem cells in a mouse model of Barrett-like metaplasia. *Cancer Cell.* 2012 Jan

- 17;21(1):36–51.
16. Oberg S, Peters JH, De Meester TR. Inflammation and Specialized Intestinal Metaplasia of Cardiac Mucosa Is a Manifestation of Gastroesophageal Reflux Disease.
  17. Jürgens S, Meyer F, Spechler SJ, Souza R. The role of bile acids in the neoplastic progression of Barrett's esophagus - a short representative overview. *Z Gastroenterol.* 2012 Sep;50(9):1028–34.
  18. Triadafilopoulos G. Acid and bile reflux in Barrett's esophagus: a tale of two evils. *Gastroenterology.* 2001 Dec;121(6):1502–6.
  19. Fitzgerald RC, Abdalla S, Onwuegbusi BA, Sirieix P, Saeed IT, Burnham WR, et al. Inflammatory gradient in Barrett's oesophagus: implications for disease complications. *Gut.* 2002 Sep;51(3):316–22.
  20. Olliver JR, Hardie LJ, Dexter S, Chalmers D, Wild CP. DNA damage levels are raised in Barrett's oesophageal mucosa relative to the squamous epithelium of the oesophagus. *Biomarkers.* 2003 Nov;8(6):509–21.
  21. Hardikar S, Onstad L, Song X, Wilson AM, Montine TJ, Kratz M, et al. Inflammation and oxidative stress markers and esophageal adenocarcinoma incidence in a Barrett's esophagus cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2014 Nov;23(11):2393–403.
  22. Dvorakova K, Payne CM, Ramsey L, Holubec H, Sampliner R, Dominguez J, et al. Increased expression and secretion of interleukin-6 in patients with Barrett's esophagus. *Clin Cancer Res.* 2004 Mar 15;10(6):2020–8.
  23. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011 Mar 4;144(5):646–74.
  24. Fang H-Y, Huang XY, Chien H-T, Chang JT-C, Liao C-T, Huang J-J, et al. Refining the role of preoperative C-reactive protein by neutrophil/lymphocyte ratio in oral cavity squamous cell carcinoma. *Laryngoscope.* 2013 Nov;123(11):2690–9.
  25. Kantola T, Klintrup K, Väyrynen JP, Vornanen J, Bloigu R, Karhu T, et al. Stage-dependent alterations of the serum cytokine pattern in colorectal carcinoma. *Br J Cancer.* 2012 Nov 6;107(10):1729–36.
  26. Petrie HT, Klassen LW, Kay HD. Inhibition of human cytotoxic T lymphocyte activity in vitro by autologous peripheral blood granulocytes. *J Immunol.* 1985 Jan;134(1):230–4.
  27. Gooden MJM, de Bock GH, Leffers N, Daemen T, Nijman HW. The prognostic influence of tumour-

- infiltrating lymphocytes in cancer: a systematic review with meta-analysis. *Br J Cancer*. 2011 Jun 28;105(1):93–103.
28. Talmadge JE, Donkor M, Scholar E. Inflammatory cell infiltration of tumors: Jekyll or Hyde. *Cancer Metastasis Rev*. 2007 Dec;26(3-4):373–400.
  29. Mohri Y, Tanaka K, Ohi M, Yokoe T, Miki C, Kusunoki M. Prognostic significance of host- and tumor-related factors in patients with gastric cancer. *World J Surg*. 2010 Feb;34(2):285–90.
  30. McCourt M, Wang JH, Sookhai S, Redmond HP. Proinflammatory mediators stimulate neutrophil-directed angiogenesis. *Arch Surg*. 1999 Dec;134(12):1325–31; discussion 1331–2.
  31. Jabłońska E, Kiluk M, Markiewicz W, Piotrowski L, Grabowska Z, Jabłoński J. TNF-alpha, IL-6 and their soluble receptor serum levels and secretion by neutrophils in cancer patients. *Arch Immunol Ther Exp*. 2001;49(1):63–9.
  32. Guthrie GJK, Charles KA, Roxburgh CSD, Horgan PG, McMillan DC, Clarke SJ. The systemic inflammation-based neutrophil-lymphocyte ratio: experience in patients with cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2013 Oct;88(1):218–30.
  33. Toh E, Wilson J, Sebag-Montefiore D, Botterill I. Neutrophil:lymphocyte ratio as a simple and novel biomarker for prediction of locoregional recurrence after chemoradiotherapy for squamous cell carcinoma of the anus. *Colorectal Dis*. 2014 Mar;16(3):O90–7.
  34. Ishizuka M, Oyama Y, Abe A, Kubota K. Combination of platelet count and neutrophil to lymphocyte ratio is a useful predictor of postoperative survival in patients undergoing surgery for gastric cancer. *J Surg Oncol*. 2014 Dec;110(8):935–41.
  35. Walsh SR, Cook EJ, Goulder F, Justin TA, Keeling NJ. Neutrophil-lymphocyte ratio as a prognostic factor in colorectal cancer. *J Surg Oncol*. 2005;91(3):181–4.
  36. Motomura T, Shirabe K, Mano Y, Muto J, Toshima T, Umemoto Y, et al. Neutrophil-lymphocyte ratio reflects hepatocellular carcinoma recurrence after liver transplantation via inflammatory microenvironment. *J Hepatol*. 2013 Jan;58(1):58–64.
  37. Siewert JR, Stein HJ. Carcinoma of the gastroesophageal junction - classification, pathology and extent of resection. *Dis Esophagus*. 1996 Jul 1;9(3):173–82.
  38. Desai TK, Krishnan K, Samala N, Singh J, Cluley J, Perla S, et al. The incidence of oesophageal adenocarcinoma in non-dysplastic Barrett's oesophagus: a meta-analysis. *Gut*. 2012 Jul;61(7):970–6.

39. Bhat S, Coleman HG, Yousef F, Johnston BT, McManus DT, Gavin AT, et al. Risk of malignant progression in Barrett's esophagus patients: results from a large population-based study. *J Natl Cancer Inst.* 2011 Jul 6;103(13):1049–57.
40. Peery AF, Shaheen NJ. Esophagus: Endoscopic therapy for flat, dysplastic Barrett esophagus. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2011 Apr;8(4):186–7.
41. Jagadeshram VP, Kelty CJ. Low grade dysplasia in Barrett's esophagus: Should we worry? *World J Gastrointest Pathophysiol.* 2014 May 15;5(2):91–9.
42. Thoguluva Chandrasekar V, Vennalaganti P, Sharma P. Management of Barrett's esophagus: From screening to newer treatments. *Rev Gastroenterol Mex.* 2016 Apr;81(2):91–102.
43. Riddell RH. Early detection of neoplasia of the esophagus and gastroesophageal junction. *Am J Gastroenterol.* 1996 May;91(5):853–63.
44. Haidry R, Lovat L, Sharma P. Radiofrequency ablation for Barrett's dysplasia: past, present and the future? *Curr Gastroenterol Rep.* 2015 Mar;17(3):13.
45. Sharma P. Endoscopic Mucosal Resection as the Primary Treatment for Barrett Esophagus With Dysplasia. *Gastroenterol Hepatol.* 2015 Oct;11(10):703–5.
46. 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 May;96(5):1355–62.
47. Sharma P. Low-grade dysplasia in Barrett's esophagus. *Gastroenterology.* 2004 Oct 1;127(4):1233–8.
48. Anaparthi R, Sharma P. Progression of Barrett oesophagus: role of endoscopic and histological predictors. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2014 Sep;11(9):525–34.
49. Katzka DA, Sharma P. Barrett's oesophagus: sharpening the view. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2015 Feb;29(1):1–2.
50. Spechler SJ, Souza RF. Barrett's esophagus. *N Engl J Med.* 2014 Aug 28;371(9):836–45.
51. Lao-Sirieix P, Fitzgerald R. Surveillance and screening of Barrett's oesophagus. *Br J Hosp Med.* 2006 Jul;67(7):355–9.
52. Varghese S, Lao-Sirieix P, Fitzgerald RC. Identification and clinical implementation of biomarkers for Barrett's esophagus. *Gastroenterology.* 2012 Mar;142(3):435–41.e2.

53. Bird-Lieberman EL, Dunn JM, Coleman HG, Lao-Sirieix P, Oukrif D, Moore CE, et al. Population-based study reveals new risk-stratification biomarker panel for Barrett's esophagus. *Gastroenterology*. 2012 Oct;143(4):927–35.e3.
54. Di Caro S, Cheung WH, Fini L, Keane MG, Theis B, Haidry R, et al. Role of body composition and metabolic profile in Barrett's oesophagus and progression to cancer. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2016 Mar;28(3):251–60.
55. Fitzgerald RC, di Pietro M, Ragunath K, Ang Y, Kang J-Y, Watson P, et al. British Society of Gastroenterology guidelines on the diagnosis and management of Barrett's oesophagus. *Gut*. 2014 Jan;63(1):7–42.
56. American Gastroenterological Association, Spechler SJ, Sharma P, Souza RF, Inadomi JM, Shaheen NJ. American Gastroenterological Association medical position statement on the management of Barrett's esophagus. *Gastroenterology*. 2011 Mar;140(3):1084–91.
57. Bratlie SO, Edebo A, Casselbrant A, Helander HF, Fändriks L. The renin-angiotensin system in Barrett's esophagus. *Scand J Gastroenterol*. 2016 Sep;51(9):1037–42.
58. di Pietro M, Boerwinkel DF, Shariff MK, Liu X, Telakis E, Lao-Sirieix P, et al. The combination of autofluorescence endoscopy and molecular biomarkers is a novel diagnostic tool for dysplasia in Barrett's oesophagus. *Gut*. 2015 Jan;64(1):49–56.
59. Karamchandani DM, Lehman HL, Ohanessian SE, Massé J, Welsh PA, Odze RD, et al. Increasing diagnostic accuracy to grade dysplasia in Barrett's esophagus using an immunohistochemical panel for CDX2, p120ctn, c-Myc and Jagged1. *Diagn Pathol*. 2016 Feb 29;11:23.
60. Thomas SJ, Almers L, Schneider J, Graham JE, Havel PJ, Corley DA. Ghrelin and Leptin Have a Complex Relationship with Risk of Barrett's Esophagus. *Dig Dis Sci*. 2016 Jan;61(1):70–9.
61. Wu X, Ajani JA, Gu J, Chang DW, Tan W, Hildebrandt MAT, et al. MicroRNA expression signatures during malignant progression from Barrett's esophagus to esophageal adenocarcinoma. *Cancer Prev Res*. 2013 Mar;6(3):196–205.
62. Duggan C, Onstad L, Hardikar S, Blount PL, Reid BJ, Vaughan TL. Association between markers of obesity and progression from Barrett's esophagus to esophageal adenocarcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2013 Aug;11(8):934–43.
63. Rizk NP, Servais EL, Tang LH, Sima CS, Gerdes H, Fleisher M, et al. Tissue and serum mesothelin are potential markers of neoplastic progression in Barrett's associated esophageal adenocarcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2012 Mar;21(3):482–6.



64. O'Doherty MG, Abnet CC, Murray LJ, Woodside JV, Anderson LA, Brockman JD, et al. Iron intake and markers of iron status and risk of Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma. *Cancer Causes Control*. 2010 Dec;21(12):2269–79.
65. Sikkema M, Kerkhof M, Steyerberg EW, Kusters JG, van Strien PMH, Looman CWN, et al. Aneuploidy and overexpression of Ki67 and p53 as markers for neoplastic progression in Barrett's esophagus: a case-control study. *Am J Gastroenterol*. 2009 Nov;104(11):2673–80.
66. Mokrowiecka A, Wierchniewska-Ławska A, Smolarz B, Romanowicz-Makowska H, Malecka-Panas E. [Polymorphism/loss of heterozygosity of APC gene in GERD-Barrett's metaplasia-dysplasia-adenocarcinoma sequence]. *Pol Merkur Lekarski*. 2009 May;26(155):385–9.
67. Abe Y, Iijima K, Koike T, Asanuma K, Imatani A, Ohara S, et al. Barrett's esophagus is characterized by the absence of *Helicobacter pylori* infection and high levels of serum pepsinogen I concentration in Japan. *J Gastroenterol Hepatol*. 2009 Jan;24(1):129–34.
68. Chatzopoulos D, Kyrgidis A, Kountouras J, Zavos C, Molyvas E, Venizelos I. Bax upregulation may provide a rationale for the low incidence of esophageal adenocarcinoma in a Greek cohort of patients with Barrett's esophagus. *Hepatogastroenterology*. 2007 Apr;54(75):705–9.
69. Di Martino E, Wild CP, Rotimi O, Darnton JS, Olliver RJ, Hardie LJ. IGFBP-3 and IGFBP-10 (CYR61) up-regulation during the development of Barrett's oesophagus and associated oesophageal adenocarcinoma: potential biomarkers of disease risk. *Biomarkers*. 2006 Nov;11(6):547–61.
70. Lomo LC, Blount PL, Sanchez CA, Li X, Galipeau PC, Cowan DS, et al. Crypt dysplasia with surface maturation: a clinical, pathologic, and molecular study of a Barrett's esophagus cohort. *Am J Surg Pathol*. 2006 Apr;30(4):423–35.
71. Streitz JM Jr, Madden MT, Marimanikkuppam SS, Krick TP, Salo WL, Aufderheide AC. Analysis of protein expression patterns in Barrett's esophagus using MALDI mass spectrometry, in search of malignancy biomarkers. *Dis Esophagus*. 2005;18(3):170–6.
72. Rudolph RE, Vaughan TL, Kristal AR, Blount PL, Levine DS, Galipeau PC, et al. Serum selenium levels in relation to markers of neoplastic progression among persons with Barrett's esophagus. *J Natl Cancer Inst*. 2003 May 21;95(10):750–7.
73. Hillman LC, Chiragakis L, Clarke AC, Kaushik SP, Kaye GL. Barrett's esophagus: Macroscopic markers and the prediction of dysplasia and adenocarcinoma. *J Gastroenterol Hepatol*. 2003 May;18(5):526–33.
74. Vaughan TL, Kristal AR, Blount PL, Levine DS, Galipeau PC, Prevo LJ, et al. Nonsteroidal anti-

- inflammatory drug use, body mass index, and anthropometry in relation to genetic and flow cytometric abnormalities in Barrett's esophagus. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002 Aug;11(8):745–52.
75. Montgomery E, Goldblum JR, Greenson JK, Haber MM, Lamps LW, Lauwers GY, et al. 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 Apr;32(4):379–88.
  76. Eisen GM, Montgomery EA, Azumi N, Hartmann DP, Bhargava P, Lippman M, et al. Qualitative mapping of Barrett's metaplasia: a prerequisite for intervention trials. *Gastrointest Endosc.* 1999 Dec;50(6):814–8.
  77. 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 Jul;95(7):1669–76.
  78. Giménez A, Minguela A, de Haro LM, Parrilla P, Bermejo J, Pérez D, et al. DNA ploidy status and proliferative activity as markers of malignant potential in Barrett's esophagus: flow cytometric study using routinely paraffin-embedded tissue. *World J Surg.* 2000 Jan;24(1):72–7.
  79. Chinyama CN, Marshall RE, Owen WJ, Mason RC, Kothari D, Wilkinson ML, et al. Expression of MUC1 and MUC2 mucin gene products in Barrett's metaplasia, dysplasia and adenocarcinoma: an immunopathological study with clinical correlation. *Histopathology.* 1999 Dec;35(6):517–24.
  80. Chandrasoma PT. Histologic definition of gastro-esophageal reflux disease. *Curr Opin Gastroenterol.* 2013 Jul;29(4):460–7.
  81. Gemenetzi G, Bagante F, Griffin JF, Rezaee N, Javed AA, Manos LL, et al. Neutrophil-to-lymphocyte Ratio is a Predictive Marker for Invasive Malignancy in Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms of the Pancreas. *Ann Surg.* 2017 Aug;266(2):339–45.
  82. Sato H, Tsubosa Y, Kawano T. Correlation between the pretherapeutic neutrophil to lymphocyte ratio and the pathologic response to neoadjuvant chemotherapy in patients with advanced esophageal cancer. *World J Surg.* 2012 Mar;36(3):617–22.
  83. Zhang S, Zhang X-Q, Ding X-W, Yang R-K, Huang S-L, Kastelein F, et al. Cyclooxygenase inhibitors use is associated with reduced risk of esophageal adenocarcinoma in patients with Barrett's esophagus: a meta-analysis. *Br J Cancer.* 2014 Apr 29;110(9):2378–88.
  84. Kantor ED, Onstad L, Blount PL, Reid BJ, Vaughan TL. Use of statin medications and risk of esophageal adenocarcinoma in persons with Barrett's esophagus. *Cancer Epidemiol Biomarkers*

- Prev. 2012 Mar;21(3):456–61.
85. Sharma P, Sampliner R, Ilson D. Esophageal Cancer and Barrett's Esophagus. John Wiley & Sons; 2015. 304 p.
  86. Curvers WL, ten Kate FJ, Krishnadath KK, Visser M, Elzer B, Baak LC, et al. Low-grade dysplasia in Barrett's esophagus: overdiagnosed and underestimated. *Am J Gastroenterol*. 2010 Jul;105(7):1523–30.
  87. Reid BJ, Haggitt RC, Rubin CE, Roth G, Surawicz CM, Van Belle G, et al. Observer variation in the diagnosis of dysplasia in Barrett's esophagus. *Hum Pathol*. 1988 Feb;19(2):166–78.
  88. Montgomery E, Bronner MP, Goldblum JR, Greenson JK, Haber MM, Hart J, et al. Reproducibility of the diagnosis of dysplasia in Barrett esophagus: a reaffirmation. *Hum Pathol*. 2001 Apr;32(4):368–78.
  89. Sharma P, Falk G, Sampliner R. Reply. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2006 Nov 1;4(11):1420.
  90. Brown J, Sharma P. From Prague to Seattle: Improved Endoscopic Technique and Reporting Improves Outcomes in Patients with Barrett's Esophagus. *Dig Dis Sci*. 2016 Jan;61(1):4–5.
  91. Peters FP, Curvers WL, Rosmolen WD, de Vries CE, Ten Kate FJW, Krishnadath KK, et al. Surveillance history of endoscopically treated patients with early Barrett's neoplasia: nonadherence to the Seattle biopsy protocol leads to sampling error. *Dis Esophagus*. 2008 Apr 22;21(6):475–9.
  92. da Silva IN de CJAG. INCA: Estimativa 2016. Incidência de câncer no Brasil. MINISTÉRIO DA SAÚDE INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA) [Internet]. 2015; Available from: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/>

## 10. TABELAS E FIGURAS DO TRABALHO.

### 10.1. Revisão da literatura

**Tabela 1.**

**Estudos sobre biomarcadores na progressão do esôfago de Barrett [8-34].**

<b>Estudo</b>	<b>País</b>	<b>Biomarcador</b>	<b>Principais resultados e comentários</b>
<b>Bratlie et al. 2016</b>	Suécia	Sistema renina-angiotensina	Expressão de marcadores do sistema renina-angiotensina por IHQ mais elevada no EB que no epitélio escamoso de controles, e também mais elevada na displasia.
<b>Karamchandani et al. 2016</b>	EUA	CDX2, p120ctn, c-Myc and Jagged1	Painel de marcadores IHQ, sem diferença entre EBsD e DBG, porém diferença significativa entre ambos e DAG/ACE.
<b>Di Caro et al. 2016</b>	Reino Unido	Obesidade e síndrome metabólica	Dados clínicos e de bioimpedância relacionados a obesidade e síndrome mostraram-se associados a EB e a displasia em relação a controles.
<b>Thomas et al. 2016</b>	EUA	Grelina e leptina sérica	Aumento da grelina associada a diagnóstico de EB, aumento da leptina associada a sintomas frequentes de DRGE porém inversamente relacionada a diagnóstico de EB.
<b>di Pietro et al. 2015</b>	Reino Unido	p53 e outros	p53 e outros marcadores de IHQ após biópsias guiadas por autofluorescência. Painel de marcadores deu boa acurácia ao método de biópsias seletivas para diagnóstico DAG e ACE.
<b>Hardikar et al. 2014</b>	EUA	PCR, IL-6, TNF solúvel e F2-isoprostanos	Estudo com biomarcadores séricos de inflamação em estudo de coorte com 397 pacientes com EB, dos quais 45 evoluíram para ACE. PCR e IL-6 elevadas PCR e IL-6 elevadas no sangue periférico correlacionaram-se com progressão para a neoplasia, porém houve perda da significância estatística após controle para idade, sexo, relação cintura-quadril e tabagismo.

<b>Wu et al. 2013</b>	EUA	microRNA	Estudo descritivo sobre expressão de microRNAs teciduais em EB e ACE.
<b>Duggan et al. 2013</b>	EUA	Glicose, insulina, leptina e adiponectina séricas	Leptina e resistência a insulina associada a progressão do EB para ACE (HR 2,45 e 2,51 respectivamente). Adiponectina inversamente relacionada.
<b>Rizk et al 2012</b>	EUA	Mesotelina	Marcador histológico expresso em DAG e ACE, porém não em pacientes sem EB ou em EB sem displasia ou DBG.
<b>O'Doherty et al. 2010</b>	Reino Unido	Transferrina e ferritina séricas e ingestão de ferro	Estudo de casos e controles. Ferritina e transferrina inversamente associada a EB (OR 0,47 e 0,41); alta ingestão de ferro inversamente relacionada a ACE (OR 0,50).
<b>Sikkema et al. 2009</b>	Holanda	p53 e ki67	Retrospectivo. Marcadores histológicos p53 e, em menor grau, ki67, associados a progressão do EB para ACE.
<b>Mokrowiecka et al. 2009</b>	Polônia	mutação no gene APC	Comparação de mutação no gene APC entre pacientes com DRGE, EB, EBcD e ACE, sem diferença entre os grupos.
<b>Abe et al. 2009</b>	Japão	H. pylori. Pepsinogênio sérico.	Estudo descritivo, pacientes com EB mais frequentemente com H. pylori negativo e altos níveis de Pepsinogênio.
<b>Chatzopoulos et. al 2007</b>	Grécia	Bax e Ki-67	Marcadores histológicos de apoptose (Bax) e proliferação (Ki67) elevados no EB em comparação com pacientes com DRGE.
<b>Di Martino et al. 2006</b>	Reino Unido	Fatores de crescimento semelhantes a insulina (IGFs)	Marcadores histológicos IGFs detectados por PCR e IHQ mais frequentes em epitélios de pacientes com ACE do que em pacientes com EB.
<b>Lomo et al. 2006</b>	EUA	BCDA	“basal crypt displasia-like atypia”. Marcador histológico associado a positividade do p53 e a displasia e ACE.
<b>Streitz et al. 2005</b>	EUA	Proteínas teciduais	Descritivo, padrões de expressão proteica em tecidos de pacientes com EB com e sem ACE associado, utilizando espectrofotometria.
<b>Olliver et al., 2005</b>	Reino Unido	Dano ao DNA tecidual	Análise histológica de dano ao DNA, associação com EB e com ACE.

<b>Rudolph et al. 2003</b>	EUA	Selênio	Estudo transversal, níveis séricos de selênio inversamente associados a DAG (OR 0,5, IC 95% 0,3-0,9).
<b>Hillman et al. 2003</b>	Austrália	Marcadores endoscópicos	Esofagite, nodularidade, úlcera, estenose associada a DAG e ACE (HR 6,7)
<b>Vaughan et al 2002</b>	EUA	Relação cintura-quadril	Relação com marcadores genéticos e de citometria de fluxo (aneuploidia e outros)
<b>Weston et al. 2001</b>	EUA	p53	hiper-expressão histológica de p53 dividiu os pacientes com DBG em um subgrupo com maior risco de progressão.
<b>Montgomery et al. 2001</b>	EUA	Displasia	Avaliação da displasia como marcador comparando diagnóstico inicial com diagnósticos após revisão por grupo de patologistas cegados. Diagnóstico inicial com melhor correlação com a progressão.
<b>Bhargava et al. 2000</b>	EUA	Mapeamento endoscópico, p53	Método de mapeamento bidimensional das biópsias esofágicas associadas a p53 e outros marcadores, efetivo para localização de sítios de maior risco para novas biópsias no local.
<b>Reid et al. 2000</b>	EUA	Aneuploidia, 4N	Dados histológicos obtidos por citometria de fluxo identificaram subgrupos de pacientes com displasia expostos a maior risco de progressão.
<b>Giménez et al. 2000</b>	Espanha	Aneuploidia, índice proliferativo	Dados histológicos obtidos por citometria de fluxo identificaram subgrupos de pacientes com displasia expostos a maior risco de progressão.
<b>Chinyama, 1999.</b>	Reino Unido	produtos do gene da mucina	Expressão aberrante de MUC 1 relacionada a displasia no EB e perda da expressão da MUC 2 a ACE.
EB = esôfago de Barrett; EBsD = esôfago de Barrett sem displasia; EBcD = esôfago de Barrett com displasia; ACE = adenocarcinoma de esôfago; DBG = esôfago de Barrett com displasia de baixo grau, DAG = esôfago de Barrett com displasia de alto grau, IHQ: imuno-histoquímica, HR = <i>hazard ratio</i> , OR = <i>odds ratio</i> .			

**10.2. Tabela 1 – características dos sujeitos do estudo.**

<b>TABELA 1: Características dos sujeitos incluídos no estudo.</b>				
<b>CARACTERÍSTICAS</b>	<b>EBsD N = 72</b>	<b>EBcD N = 11</b>	<b>ACE N = 30</b>	<b>p</b>
Idade, anos	59,6±14,7 <sup>a</sup>	57,1±17,5 <sup>a,b</sup>	68,7±13,9 <sup>b</sup>	0,011
Sexo masculino, N(%)	31(43,1) <sup>a</sup>	8(72,7) <sup>a,b</sup>	22(73,3) <sup>b</sup>	0,009
Raça, N(%)				
branca	68(94,4) <sup>a</sup>	11(100,0) <sup>a</sup>	28(93,3) <sup>a</sup>	0,499
preta	1(1,4) <sup>a</sup>	0(0,0) <sup>a</sup>	2(6,7) <sup>a</sup>	
parda	3(4,2) <sup>a</sup>	0(0,0) <sup>a</sup>	0(0,0) <sup>a</sup>	
IMC	N = 22 31,5±1,14 <sup>a</sup>	N=4 28,4±1,37 <sup>a,b</sup>	N=12 24,9±1,84 <sup>b</sup>	0,008
Tabagismo, N(%)	N = 69 24(34,8) <sup>a</sup>	N = 11 8(72,7) <sup>a</sup>	N = 29 16(55,2) <sup>a</sup>	0,020
Etilismo, N(%)	N = 72 4(5,6) <sup>a</sup>	N = 11 3(27,3) <sup>b</sup>	N = 28 6(21,4) <sup>a,b</sup>	0,011
DM tipo 2, N(%)	N = 69 15(21,7)	N = 10 1(10)	N = 27 3(11,1)	0,490

Uso de IBP, N(%)	N = 71 68(95,8) <sup>a</sup>	N = 11 10(90,9) <sup>a</sup>	N = 28 6(27,3) <sup>b</sup>	<0,001
Uso de AAS, N(%)	N = 71 22(31,0) <sup>a</sup>	N = 10 3(30,0) <sup>a</sup>	N = 26 5(19,2) <sup>a</sup>	0,526
Uso de outros AINE, N(%)	N=70 1(1,4) <sup>a</sup>	N=10 0(0,0) <sup>a</sup>	N=26 0(0,0) <sup>a</sup>	>0,999
Uso de estatinas, N(%)	N = 71 28(39,4) <sup>a</sup>	N = 10 1(10) <sup>a</sup>	N = 26 5(19,2) <sup>a</sup>	0,056
Praga C, cm	N= 48	N= 7		
mediana	1	2		0,339
mínimo-máximo	0-9	0-10		
Praga M, cm	N=48	N=7		
mediana	3	4		0,980
mínimo-máximo	1-9	0-6		
Comprimento máximo do EB	N=65	N=8		0,528
mediana	30	45		
mínimo-máximo	5-100	10-60		
EB longo <sup>s</sup> , N(%)	N=72 39(54,2)	N=10 7(70)		0,603
Hérnia hiatal, N(%)	N=71	N=10		
1 a 3 cm	32(45,1)	2(20,0)		0,719
> 3 e ≤ 5 cm	13(18,3)	5(50,0)		
> 5 cm	6(8,5)	0(0,0)		
Adoção do Protocolo de Seattle, N(%)	57(79,1)	8(72,7)		0,697
Esofagite, N(%)	11(15,27)	0(0,0)		>0,999
Cirurgia antirrefluxo prévia N(%)	16(22,2)	3(27,2)		0,708
Neoadjuvância, n(%)			2(6,6)	
Esofagectomia, n(%)			6(20,0)	
Estadiamento <sup>o</sup> , n(%)				
Estágio I			4(13,3)	
Estágio II			0(0,0)	
Estágio III			16(53,3)	
Estágio IV			10(33,3)	



EB = esôfago de Barrett; EBsD = esôfago de Barrett sem displasia; EBcD = esôfago de Barrett com displasia; ACE = adenocarcinoma de esôfago; IMC = índice de massa corporal em kg/m<sup>2</sup>; HAS = hipertensão arterial sistêmica; DM = diabetes mellitus; IBP = inibidor da bomba de prótons; AAS = ácido acetil salicílico; AINE = anti-inflamatório não-esteróide; Praga C e M = comprimento circunferencial e comprimento máximo do epitélio colunar, respectivamente, conforme a classificação de Praga.

<sup>a, b, c</sup> = grupos com a mesma letra sobrescrita não apresentaram diferença significativa ao teste de post-hoc.

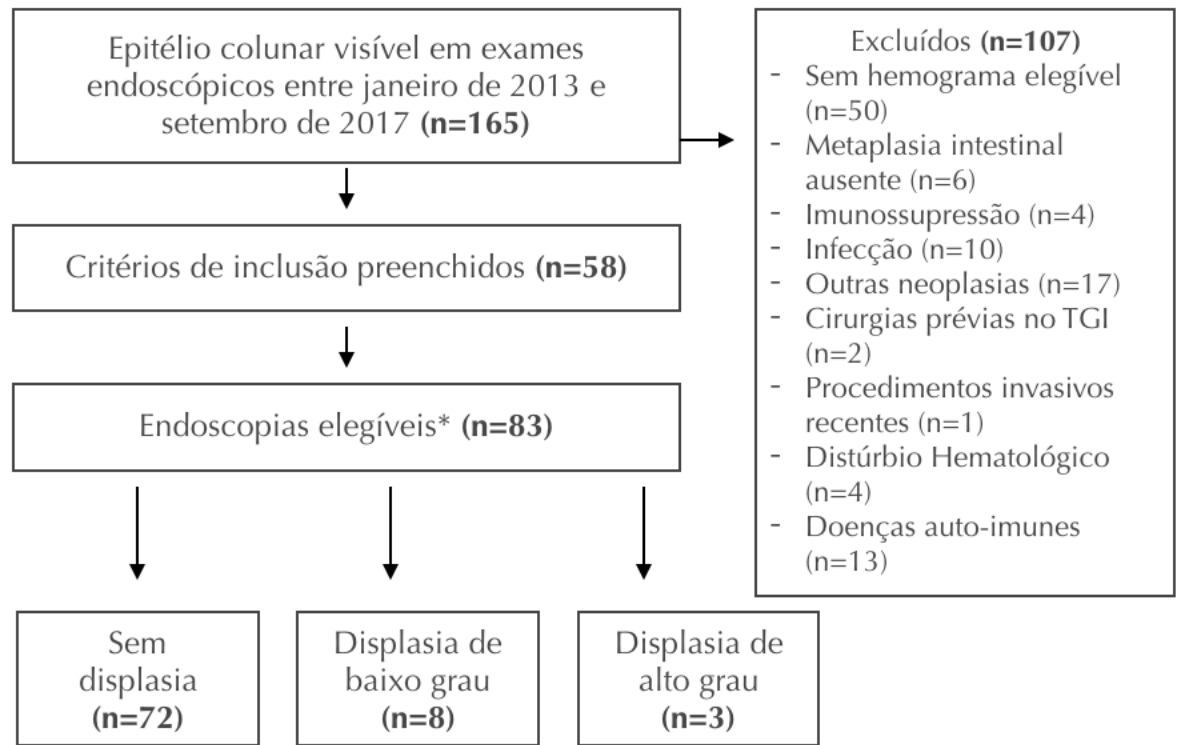
\*dose diária expressa em número de comprimidos de 20 mg de omeprazol ou dose equivalente de outros IBPs.

§ Seguimento longo = epitélio colunar  $\geq$  3 cm de comprimento máximo.

<sup>∞</sup> Conforme classificação da *American Joint Committee on Cancer*, 2010.

### 10.3. Figura 1 – seleção dos pacientes com esôfago de Barrett

**Figura 1: Fluxograma do processo de seleção dos casos de esôfago de Barrett.**

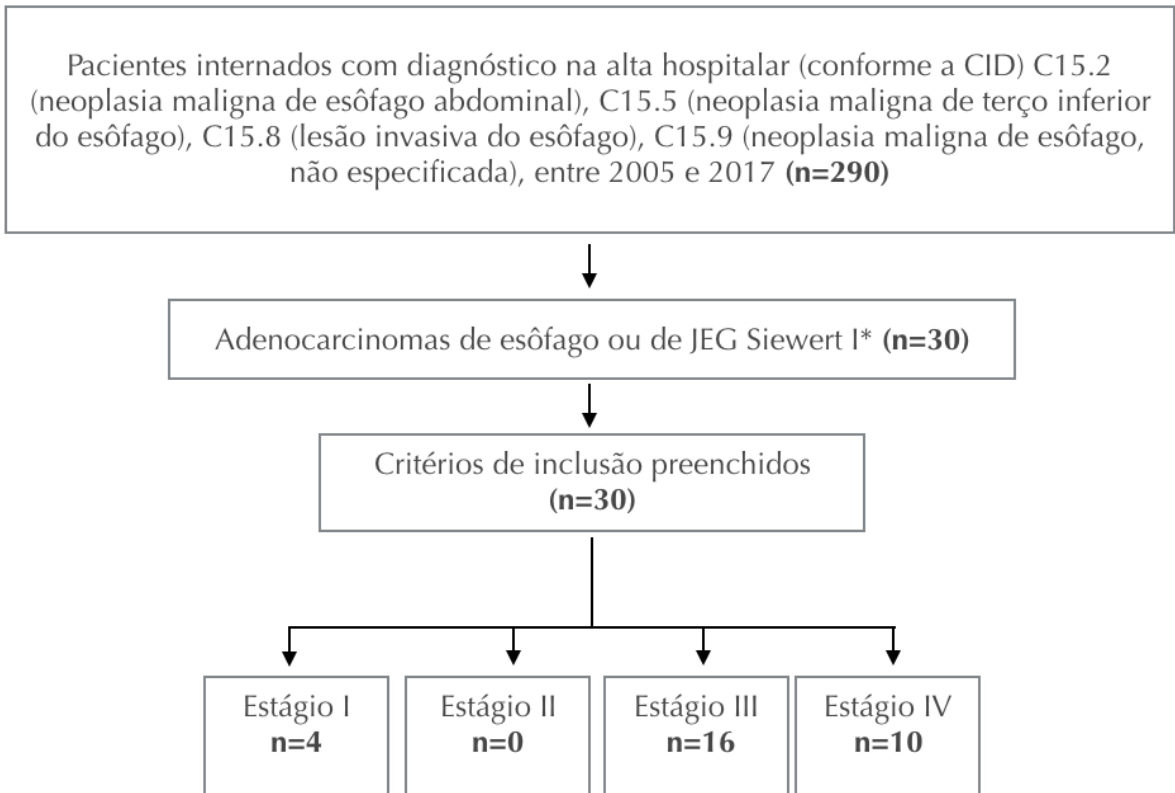


TGI: trato gastrointestinal.

\*Para cada paciente selecionado, todas as outras avaliações endoscópicas que preencheram os critérios de inclusão foram acrescentadas no estudo.

10.4. Figura 2 – seleção dos pacientes com adenocarcinoma de esôfago.

**Figura 2: Fluxograma da seleção dos pacientes com adenocarcinoma de esôfago.**

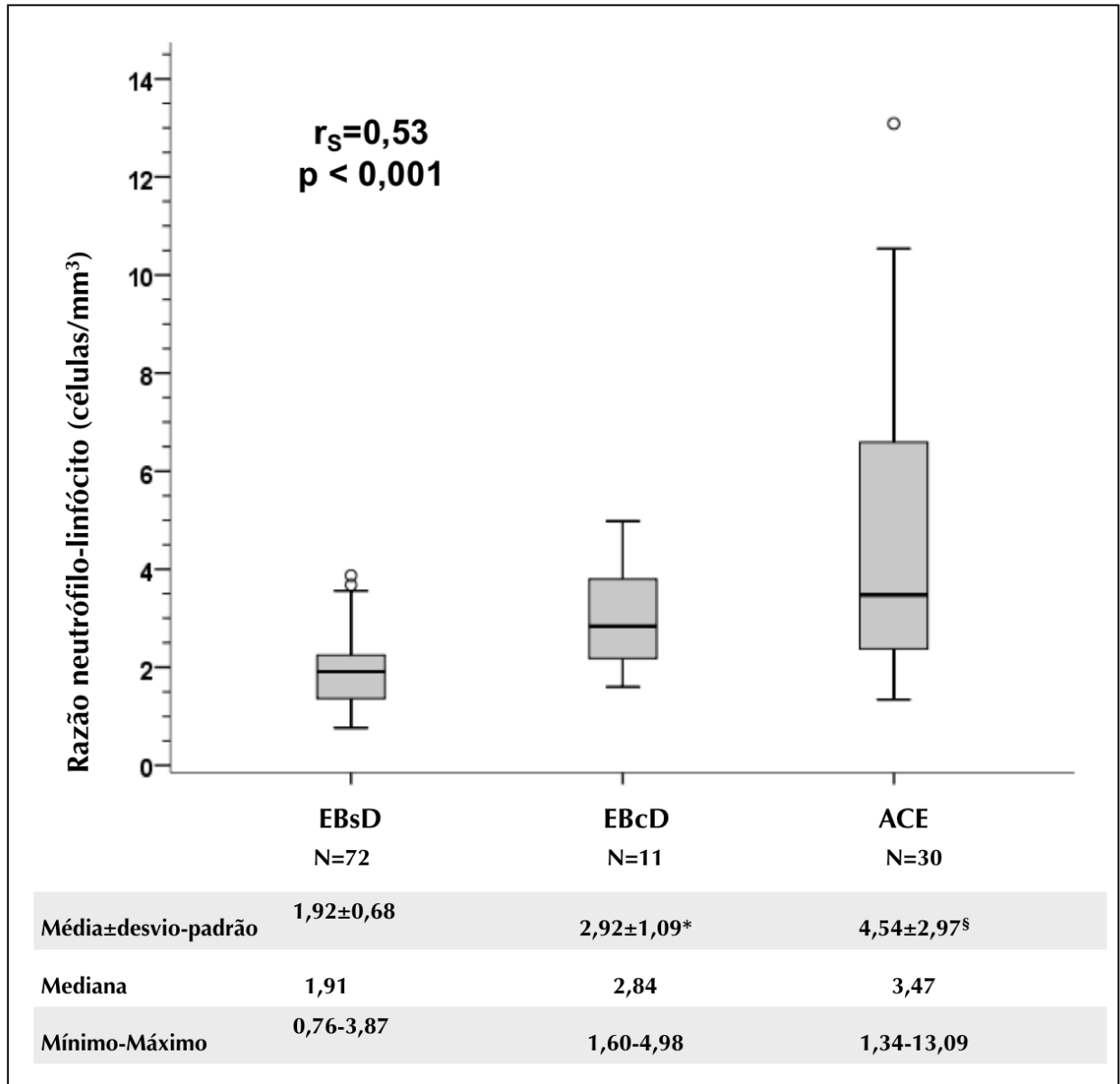


CID = Classificação Internacional de Doenças; JEG = junção esofagogástrica.

\*De acordo com a classificação de Siewert, tipo 1 = tumores entre 1 e 5 cm acima da JEG.

10.5. Figura 3 – dados descritivos e correlação entre os três principais grupos.

Figura 3: Dados descritivos e correlação entre os três principais grupos.



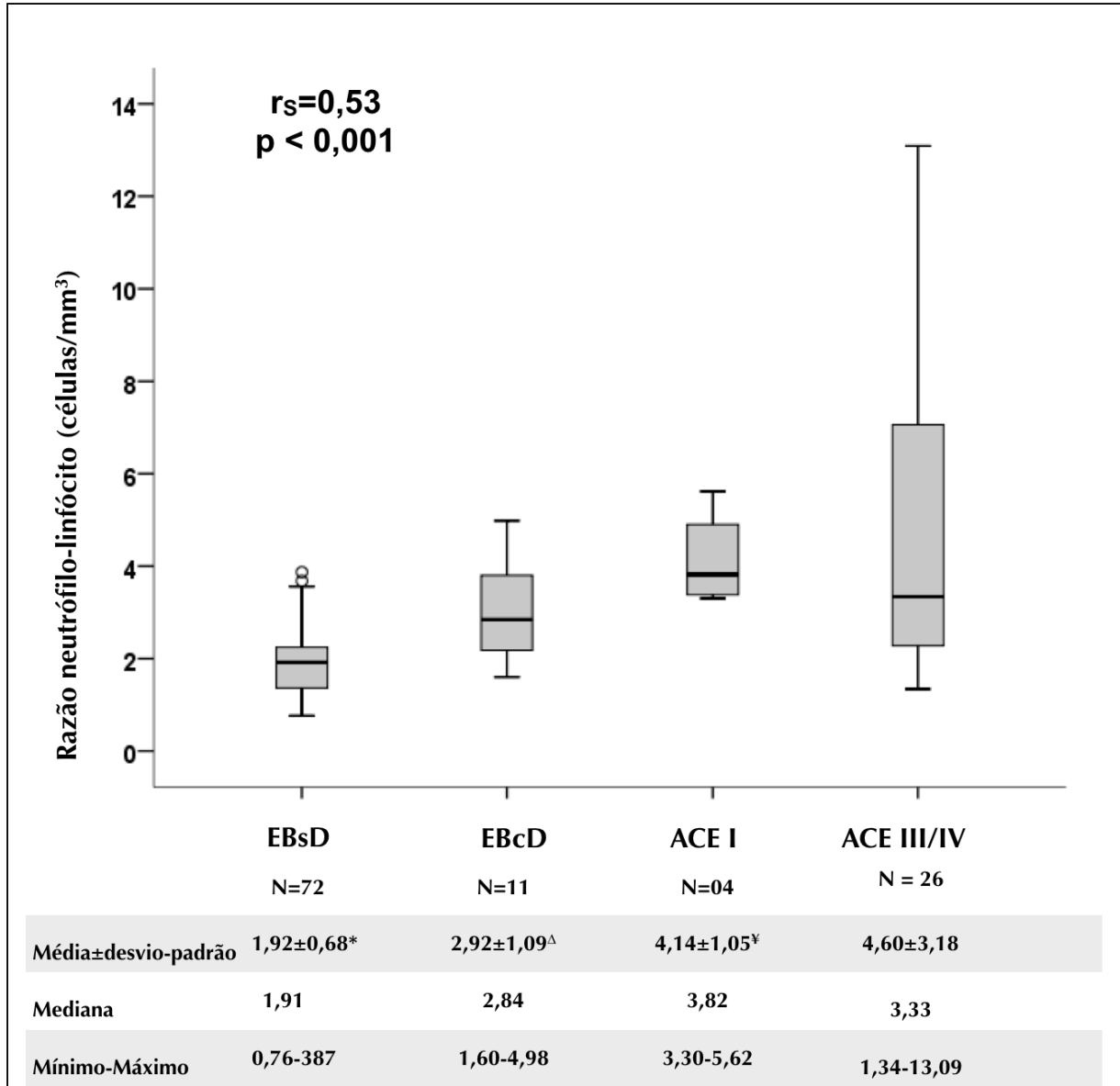
EBsD = esôfago de Barrett sem displasia; EBcD = esôfago de Barrett com displasia; ACE = adenocarcinoma de esôfago;  $r_s$  = coeficiente de correlação de Spearman;  $p$  = significância estatística.

\* $p = 0,154$  comparado a EBsD.

<sup>§</sup> $p < 0,001$  comparado a EBsD,  $p < 0,05$  comparado a EBcD.

10.6. Figura 4 – dados descritivos e correlação

Figura 4: dados descritivos e correlação entre os grupos, adenocarcinomas divididos por estágio clínico.



EBsD = esôfago de Barrett sem displasia, EBcD = esôfago de Barrett com displasia, ACE1 = adenocarcinoma de esôfago estágio I, conforme classificação do *American Joint Committee on Cancer, 2010*.

$r_s$  = correlação de Spearman,  $p$  = significância estatística.

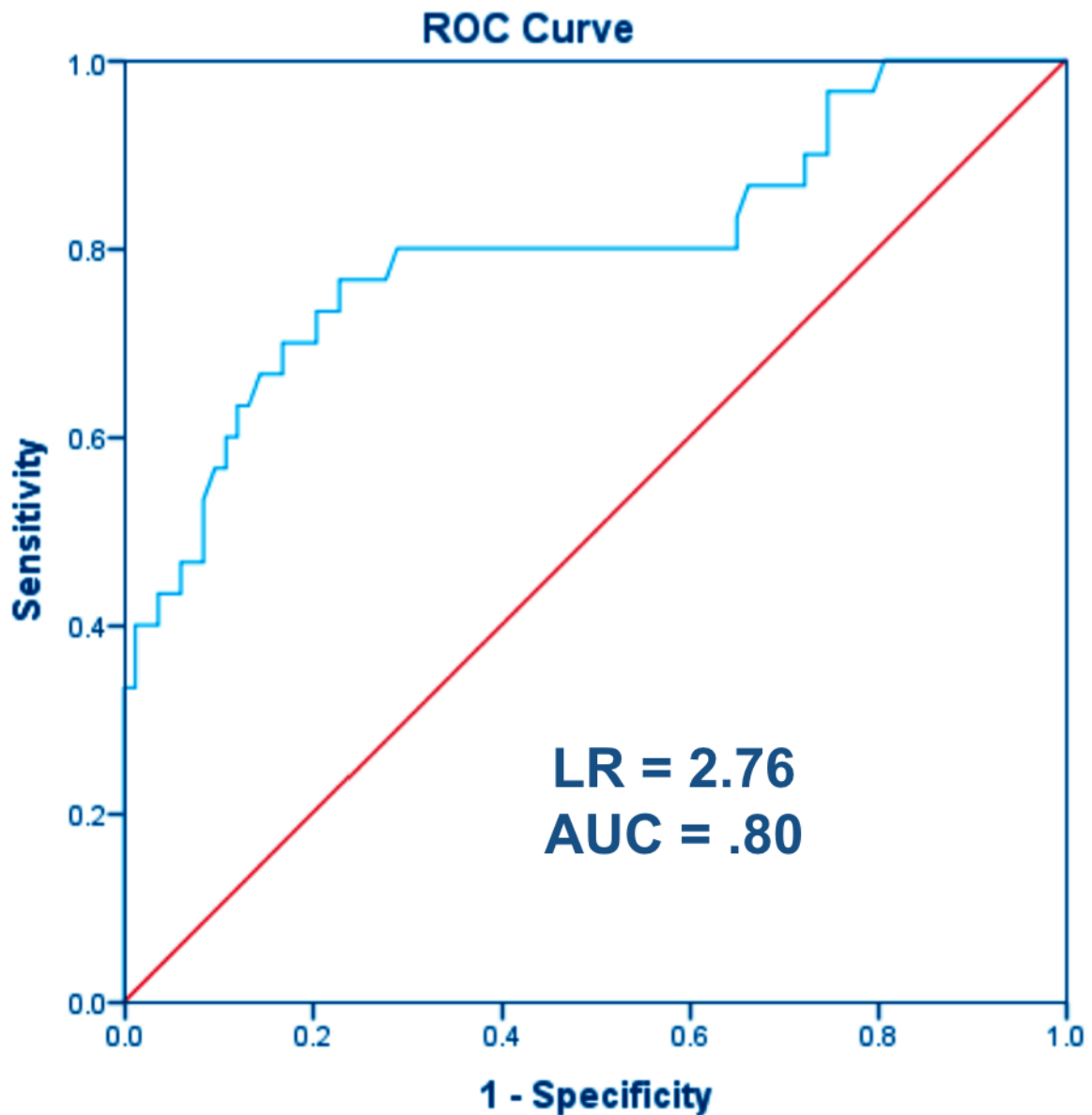
\* $p < 0.0001$  em comparação com ACE III/IV;  $p$  não significativo na comparação com outros grupos.

<sup>Δ</sup> $p = 0.030$  em comparação com ACE III/IV;  $p$  não significativo na comparação com outros grupos.

<sup>¥</sup> $p$  não significativo na comparação com outros grupos.

10.7. Figura 5 – curva *receiver operating characteristics*.

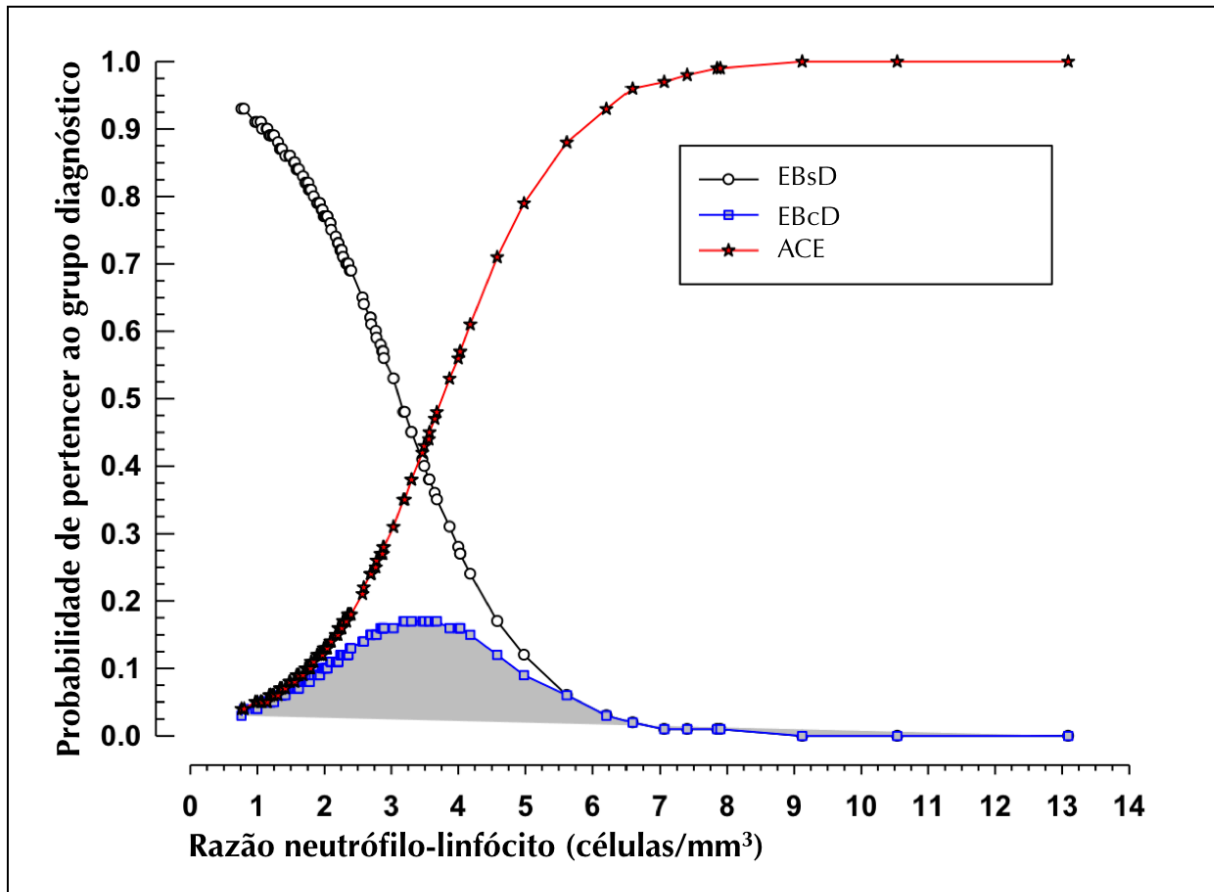
Figura 5: Curva *receiver-operating characteristics*.



LR = *likelihood ratio* ou razão de verossimilhança.  
AUC = área sob a curva

10.8. Figura 6 - regressão logística ordinal.

Figura 6: Regressão logística ordinal.



EBsD = esôfago de Barrett sem displasia; EBcD = esôfago de Barrett com displasia;  
ACE = adenocarcinoma de esôfago.