ELISA RYOKA BABA

Diagnóstico de carcinoma superficial esofágico de células escamosas em pacientes com câncer de cabeça e pescoço com auxílio da endomicroscopia confocal

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título
de Doutor em Ciências

Programa de Ciências em Gastroenterologia

Orientadora: Profa. Dra. Adriana Vaz Safatle Ribeiro

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018/11, de 13 de outubro de 2011. A versão original está disponível na Biblioteca da FMUSP)

**São Paulo
2021**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Baba, Elisa Ryoka

Diagnóstico de carcinoma superficial esofágico de
células escamosas em pacientes com câncer de cabeça e
pescoço com auxílio da endomicroscopia confocal /
Elisa Ryoka Baba. -- São Paulo, 2021.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.

Programa de Ciências em Gastroenterologia.
Orientadora: Adriana Vaz Safatle Ribeiro.

Descritores: 1.Neoplasias esofágicas
2.Neoplasias de cabeça e pescoço 3.Diagnóstico precoce
4.Endoscopia 5.Biópsia 6.Microscopia confocal

USP/FM/DBD-046/21

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

“O que importa na vida não é o ponto de partida, mas a caminhada.

Caminhando e semeando, no fim terás o que colher!”

Cora Coralina, pseudônimo de Anna Lins dos Guimarães Peixoto Bretas (1889-1985).

Apesar de escrever seus versos desde a adolescência, publicou seu primeiro livro quando já tinha quase 76 anos de idade.

Ao meu pai Ryoji e à minha mãe Teruko, imigrantes japoneses que recomeçaram suas vidas no Brasil, com muito sacrifício, luta, resiliência e amor;

Ao meu esposo Cláudio, minha filha Emily e meu filho Eric, grandes amores que me deram significado pleno à minha vida e principais razões da minha existência; e

Às minhas irmãs Celina e Elaine, minhas grandes parceiras e companheiras de vida.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao Prof. Dr. Kiyoshi Iriya, pelo privilégio de tê-lo como mestre e tutor desde os tempos de estudante da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Agradeço, sobretudo, pelos seus ensinamentos, conselhos, incentivo, apoio e amizade. Seu entusiasmo, sua atuação profissional e seu constante espírito educador dos jovens estudantes, residentes e médicos, são grandes exemplos da minha vida e que foram fundamentais para meu crescimento profissional e pessoal. Lembro-me como hoje, quando me incentivou a fazer endoscopia e colonoscopia, ao término da residência em Patologia e início do estágio em Endoscopia Digestiva. Ao querido professor, todo meu respeito, gratidão e admiração eternos.

À Profa. Dra. Maria Claudia Nogueira Zerbini, minha grande inspiração feminina desde os tempos de estudante da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Pessoa maravilhosa, íntegra e humana, exemplo de doação à profissão, de espírito educador, foi fundamental para meu crescimento profissional e pessoal. À querida professora, minha eterna gratidão, admiração e respeito.

Dedico esta Tese a todos os pacientes do Instituto do Câncer do Estado de São Paulo Octavio Frias de Oliveira, que, em prol da ciência, se prontificaram a participar anonimamente deste estudo e ajudaram a impulsionar nossa busca pelo conhecimento.

Apoio à Pesquisa

O desenvolvimento deste estudo contou com o suporte financeiro parcial oferecido pela Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), do Ministério da Saúde do Brasil.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Adriana Vaz Safatle-Ribeiro, orientadora deste estudo, meu profundo agradecimento pela confiança depositada, amizade, apoio e oportunidade concedida.

Ao Prof. Dr. Fauze Maluf Filho, exemplo de profissional, agradeço profundamente pelo apoio, amizade e confiança concedida.

Ao Prof. Dr. Ulysses Ribeiro Junior, meu profundo agradecimento pelo apoio, acolhimento, amizade e confiança concedida.

A todos os colegas do Serviço de Endoscopia do Instituto do Câncer do Estado de São Paulo Octavio Frias de Oliveira, meus amigos e amigas: Dr. Luciano Henrique Lenz Tolentino, Dr. Marcelo Simas de Lima, Dr. Sebastian Nashold Geiger, Dr. Bruno da Costa Martins, Dra. Caterina Maria Pia Simoni Pennacchi, Dra. Renata Nobre Moura, Dr. Fabio Shigehissa Kawaguti, Dra. Carla Cristina Gusmon de Oliveira, Dr. Gustavo Andrade de Paulo e Dr Ricardo Sato Uemura. Meu profundo agradecimento pela amizade, companheirismo, apoio e incentivo para realização deste projeto.

A todos os médicos residentes do Serviço de Endoscopia do Instituto do Câncer do Estado de São Paulo Octavio Frias de Oliveira, que me auxiliaram nesta pesquisa. Agradecimento especial à Dra. Juliana Trazzi Rios, pela contribuição durante a realização deste estudo e dedicada participação nos exames e coleta de dados.

Às enfermeiras e ex-enfermeiras do Serviço de Endoscopia do Instituto do Câncer do Estado de São Paulo Octavio Frias de Oliveira: Monica Aparecida dos Santos, Patrícia Kaori Tamae, Meire Hellen Ribeiro Correa; aos técnicos de enfermagem: Adamirt Gomes da Silva Miyata, Adriana Cavalcanti Mendes Gomes, Marcos Antônio Leandro, Lucilia Lopes dos Santos, Laudilene de Souza Oliveira,

Milene Soares dos Santos, Otilia Maria da Costa Borba, Renata Kely Santana de Oliveira e Sandra Rodrigues Vieira Martins, agradeço imensamente pelo apoio, dedicação e colaboração ao atendimento dos pacientes. À Sra. Pamela Thier Ribeiro, oficial administrativo, pela colaboração e apoio logístico deste projeto.

Ao Prof. Dr. Evandro Sobroza de Melo e Dra. Sheila Friedrich Faraj, do Serviço de Anatomia Patológica do Instituto do Câncer do Estado de São Paulo Octavio Frias de Oliveira, pela dedicação e colaboração na realização dos estudos histológicos.

À Sra. Evelise Pelegrinelli Zanidan, da Pesquisa Clínica do Instituto do Câncer do Estado de São Paulo Octavio Frias de Oliveira, pela orientação e auxílio nas documentações do projeto de pesquisa.

Ao Prof. José Jukemura, pelo apoio, incentivo, amizade e contribuições inestimáveis à Pós-Graduação de Ciências em Gastroenterologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

À Sra. Vilma de Jesus Liberio, secretária da Pós-Graduação de Ciências em Gastroenterologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, e às secretárias do Serviço de Gastrocirurgia do Departamento de Cirurgia do Aparelho Digestivo, Mariza Ochner e Fabiana Soares Bispo, sempre prestativas, pela dedicação, conselhos, disponibilidade e paciência.

À Sra. Luciana América de Souza, do Departamento de Anatomia Patológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, sempre solícita, competente e simpática, pelo escaneamento das lâminas histológicas.

Ao Prof. Dr. Paulo Sakai, meu grande professor, exemplo de amor e doação à profissão e que sempre continua me ensinando a arte de ser médico, meu profundo agradecimento pelo apoio, amizade e principalmente, pela confiança concedida.

Ao Dr. Shinichi Ishioka, meu grande mestre, exemplo de médico, honestidade, liderança e ser humano, agradeço profundamente pelo apoio e confiança concedidos desde antes de iniciar o aperfeiçoamento em Endoscopia Digestiva.

Ao Prof. Dr. Eduardo Guimarães Hourneaux Moura, pelo apoio, amizade, acolhimento e confiança concedida.

Ao Dr. Humberto Setsuo Kishi, pela amizade, companheirismo, paciência e apoio. Sua ajuda foi fundamental nas interpretações iniciais das imagens do confocal.

À Dra. Sheila Aparecida Coelho Siqueira e Dra. Rosely Patzina, pela amizade, incentivo e apoio, desde os tempos de residente da Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Aos médicos assistentes e ex-assistentes do Serviço de Endoscopia Gastrointestinal do HCFMUSP, em especial, Dr. Sergio Eiji Matuguma, Dr. Edson Ide, Dr. Christiano Makoto Sakai, Dr. Sérgio Shiguetoshi Ueda, Dra. Jeane Martins Melo, Dr. Rogério Kuga, Dr. Carlos Kiyoshi Furuya Júnior, Dr. Dalton Marques Chaves, Dr. Renato Baracat, Dra. Eunice Komo Chiba e Dr. Toshiro Tomishigue, pela amizade, incentivo e apoio. Às queridas secretárias Sra. Maria José Ferreira e Srta. Maria do Carmo Silva, exemplos de relevante dedicação ao Serviço.

Aos médicos assistentes do Serviço de Gastrocirurgia do Departamento de Cirurgia do Aparelho Digestivo do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Prof. Dr. Ivan Cecconello, Prof. Dr. Bruno Zilberstein, Prof. Dr. Fabio Pinatel Lopasso, Prof. Dr. Osmar Kenji Yagi, Prof. Dr. Rubens Antonio Aissar Sallum, Dr. Julio Rafael Mariano da Rocha, Dr. Donato Roberto Mucerino e Dr. Marcelo Mester, pelo acolhimento, apoio e confiança concedida.

A Sra. Valdirene Rocha Costa, minha secretária e meu braço direito do lar, que se dedica, com muito esmero, a cuidar dos meus pais, dos meus filhos desde pequenos e da casa. Como mulher, minha carreira profissional não seria tão plena sem a sua ajuda por tantos anos. Agradeço imensamente, de todo o coração.

Aos Professores membros da banca de qualificação: Profa. Dra. Maria Claudia Nogueira Zerbini, Dr. Ary Nasi e Dr. Dalton Marques Chaves, agradeço profundamente pelas valiosas sugestões e comentários. Para sempre me lembrarei do imenso carinho com que fui acolhida durante o exame de qualificação.

Aos Professores membros da banca de defesa: Profa. Dra. Maria Claudia Nogueira Zerbini, Prof. José Celso Ardengh, Prof. Osmar Kenji Yagi, meus respeitosos agradecimentos pelo carinho e esmero, além dos pertinentes comentários, e contribuições. Foi momento marcante da minha trajetória acadêmica, que será sempre lembrado com grande afeição.

À Dra. Luciana Rodrigues de Meirelles (*in memoriam*), amiga querida que partiu tão repentinamente, inesperadamente e prematuramente! Patologista brilhante, apaixonada pela endomicroscopia confocal e que nos ajudou a entender seus princípios. Nossas memoráveis reuniões eram tão ricas, intensas e animadas! Deixou-nos um vazio imensurável! Mas também, muitos ensinamentos, lindas recordações e, principalmente, muitas saudades.

E a todos que, de uma maneira ou de outra, colaboraram ou me apoiaram para a realização desta tese, meus mais sinceros agradecimentos e apreço.

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*.

Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentações; 2011.

Abreviatura dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas

Lista de figuras

Lista de tabelas

Resumo

Abstract

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	OBJETIVO	5
3	REVISÃO DA LITERATURA	7
3.1	Epidemiologia de Câncer de Esôfago (CE)	8
3.2	Tabaco, Álcool e Cancerização de Campo (<i>Field Cancerization</i>)	9
3.3	Rastreamento e Vigilância Endoscópica de CE em Pacientes com CCP	13
3.4	Câncer Superficial de Esôfago.....	15
3.4.1	Diagnóstico Histológico.....	17
3.4.1.1	Displasia de Baixo Grau (BG) e de Alto Grau (AG)	18
3.4.1.2	Classificação de Vienna	19
3.4.1.3	Classificação da OMS	20
3.4.2	Diagnóstico Endoscópico.....	22
3.4.2.1	Cromoscopia com Solução de Lugol (CL).....	23
3.4.2.2	<i>Narrow-Band Imaging (NBI)</i> e Magnificação	28
3.4.2.3	CL <i>versus</i> NBI	30
3.4.3	Diagnóstico Virtual.....	33
3.4.3.1	Endocitoscopia	34
3.4.3.2	Endomicroscopia Confocal a Laser (<i>CLE</i>).....	39
4	MÉTODOS.....	56
4.1	Endoscopia com CL.....	58
4.2	Procedimento com <i>pCLE</i>	59
4.3	Sistema de Classificação de <i>pCLE</i>	63
4.4	Análise Estatística.....	65
5	RESULTADOS.....	66
5.1	Achados Endoscópicos	70
5.2	Achados Endomicroscópicos.....	71
6	DISCUSSÃO.....	82
6.1	Caracterização da Casuística Utilizada.....	84
6.2	Limitações do Estudo	91
7	CONCLUSÃO.....	92

8	PERSPECTIVAS.....	94
8.1	Visualização do Núcleo	95
8.2	Aplicação Tópica de Fluoresceína.....	95
8.3	Utilização de <i>pCLE</i> em outros órgãos	96
8.4	Aperfeiçoamento Tecnológico.....	96
8.5	Inteligência artificial na <i>pCLE</i>	97
8.6	<i>pCLE</i> na Imaginologia Molecular	98
8.7	<i>pCLE</i> na Ciência Translacional	101
9	ANEXOS	102
10	REFERÊNCIAS	116
	APÊNDICES.....	131

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADS	- Arcada dentária superior
AG	- Alto grau
ALDH2	- Enzima aldeído desidrogenase (<i>Enzyme aldehyde dehydrogenase 2</i>)
AP	- Resultado anatomopatológico
BG	- Baixo grau
CCP	- Câncer de cabeça e pescoço
CE	- Câncer de esôfago
CEC	- Carcinoma escamocelular ou de células escamosas
CL	- Cromoscopia com solução de Lugol
CLE	- Endomicroscopia confocal a laser (<i>Confocal laser endomicroscopy</i>)
DNA	- Ácido desoxirribonucleico (<i>Deoxyribonucleic acid</i>)
eCLE	- Endomicroscopia confocal a laser integrada ao endoscópio (<i>Endoscope-based confocal laser endomicroscopy</i>)
EDA	- Endoscopia digestiva alta
EMR	- Mucosectomia (<i>Endoscopic mucosal resection</i>)
EMS	- Escore de maturação superficial
ESD	- Dissecção endoscópica de submucosa (<i>Endoscopic submucosal dissection</i>)
FDA	- <i>Food and Drug Administration</i>
IARC	- Agência Internacional para Pesquisa em Câncer (<i>International Agency for Research on Cancer</i>)
ICESP	- Instituto do Câncer do Estado de São Paulo
IPCL	- Alças capilares intrapapilares (<i>Intrapapillary capillary loops</i>)
JES	- Sociedade Japonesa de Esôfago (<i>Japanese Esophageal Society</i>)
LB	- Luz branca
mCLE	- Imaginologia molecular na endomicroscopia confocal a laser (<i>Molecular confocal laser endomicroscopy</i>)
NBI	- <i>Narrow-band imaging</i>

NIE	- Neoplasia intraepitelial
OMS	- Organização Mundial da Saúde
<i>pCLE</i>	- Endomicroscopia confocal a laser com sonda (<i>Probe-based confocal laser endomicroscopy</i>)
QRT	- Quimiorradioterapia
TGI	- Trato gastrointestinal

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Esquema de microambiente inflamatório tumoral	12
Figura 2 -	A, Aspecto endoscópico de lesão superficial esofágica 0-IIb+IIa de acordo com a Classificação de Paris. A, À luz branca, observa-se leve rugosidade e hiperemia da mucosa (setas). B, À cromoscopia com <i>narrow-band imaging</i> , nota-se realce dos vasos atípicos da lesão (setas)	15
Figura 3 -	Corte transversal e camadas histológicas da mucosa escamosa esofágica normal. HE, 60x	17
Figura 4 -	Foto histológica de displasia de baixo grau (displasia leve e moderada): as alterações citológicas acometem até 25% basal do epitélio (seta). A, HE, 150x; B, HE, 300x.....	18
Figura 5 -	Foto histológica de displasia de alto grau (displasia intensa): as alterações citológicas estendem-se além da metade do epitélio (seta). A, HE, 150x; B, HE, 300x.....	19
Figura 6 -	Foto histológica de carcinoma espinocelular <i>in situ</i> : as alterações citológicas prolongam-se até a superfície apical (seta). A, HE, 150x; B, HE, 300x.....	19
Figura 7 -	Foto histológica de carcinoma intramucoso com componente <i>in situ</i> -m1 (a), intramucoso-m2 (b) e intramucoso-m3 (c), com seus respectivos riscos percentuais de metástase linfonodal. Nota-se presença de pérola córnea na interface entre epitélio e lâmina própria. HE, 20x	21
Figura 8 -	Foto histológica de carcinoma superficial de esôfago com invasão de submucosa (delineada em azul). Na submucosa adjacente, nota-se presença de glândulas serosas normais (seta amarela). HE, 150x.....	21
Figura 9 -	Histologia da mucosa esofágica normal, com células escamosas da camada superficial apresentando citoplasma amplo preenchido por glicogênio (setas). HE, 180x; HE, 800x.....	24

Figura 10 - Fotos endoscópicas de neoplasia superficial de esôfago 0-IIb+IIa. A, À luz branca, nota-se área com granularidade, hiperemia e limites imprecisos (setas). B, Após solução de Lugol, visualiza-se extensa lesão iodo negativa (área demarcada com seta amarela).....	24
Figura 11 - Aspecto endoscópico de esôfago com inúmeras lesões Lugol negativas não neoplásicas do tipo difuso ou padrão em “estampa de leopardo”	26
Figura 12 - A, Aspecto endoscópico de lesão esofágica Lugol negativa. B, Sinal da cor rosa (setas)	27
Figura 13 - Corte histológico transversal da camada epitelial e lâmina própria de esôfago. Notam-se alças capilares intrapapilares (IPCLs) (setas) provenientes da lâmina própria. HE, 150x.....	29
Figura 14 - A, Foto endoscópica de magnificação com <i>narrow-band imaging</i> de neoplasia superficial esofágica: presença de capilares dilatados e atípicos (seta). B, Foto microscópica correspondente demonstrando alças capilares intrapapilares (IPCLs) dilatadas (setas) de carcinoma espinocelular <i>in situ</i> . HE, 280x	30
Figura 15 - Aspecto endoscópico de neoplasia superficial esofágica 0-IIb. A, Lesão plana avermelhada à luz branca. B, Realce da lesão à cromoscopia com <i>narrow-band imaging</i> . C, Sinal da cor rosa após solução de Lugol (seta). D, Sinal da cor prata-metálica evidenciado após Lugol e <i>narrow-band imaging</i> (seta).....	31
Figura 16 - Princípios de observação de epitélio escamoso à endocitoscopia. A, Desenho ilustrativo de corte transversal de epitélio escamoso (perpendicular à superfície) à endocitoscopia. B, Cortes histológicos de epitélio escamoso normal de esôfago. As células epiteliais da camada mais superficial são mais delgadas e planas, lembrando discos; seus núcleos são pequenos e condensados. Assim, no corte histológico paralelo à membrana basal, células superficiais apresentam citoplasma muito mais amplo. C, Corte histológico transversal de carcinoma espinocelular (0-IIc): o epitélio é completamente substituído por células intensamente atípicas, além da presença de alças capilares intrapapilares irregulares e dilatadas.....	37

Figura 17 - Imagens de endocitoscopia da mucosa esofágica (1125x, pós-cromoscopia com azul de metileno). A, B, C, D, Imagens das células escamosas epiteliais normais observadas à endocitoscopia. Os núcleos são pequenos, regulares e uniformes, com relação núcleo/citoplasma baixa. E, F, G, H, Imagens de carcinoma espinocelular de esôfago. Observam-se núcleos irregulares com densidade nuclear muito maior do que os observados nas células normais.....	38
Figura 18 - Sondas de endomicroscopia confocal usadas no trato gastrointestinal, com diâmetros distintos para cada indicação (mm).....	42
Figura 19 - Montagem fotográfica que compara a máxima profundidade estimada do feixe de laser (em azul) na mucosa esofágica pelas duas plataformas de endomicroscopia confocal, em micrômetros (µm). A, <i>pCLE</i> (com sonda) da Mauna Kea. B, <i>eCLE</i> (integrada ao endoscópio) da Pentax	43
Figura 20 - Montagem microfotográfica da mucosa esofágica que ilustra profundidade máxima estimada do laser (em azul) pelas duas plataformas de endomicroscopia confocal. A. <i>pCLE</i> (55 µm a 65 µm); B. <i>eCLE</i> (250 µm). HE, 200x.....	44
Figura 21 - Imagem de <i>pCLE</i> na fase capilar gástrica da fluoresceína, com destaque do espaço intravascular e das hemácias que seguem em “fila indiana” (seta)	47
Figura 22 - Imagem de <i>pCLE</i> que mostra delimitação das células epiteliais (setas vermelhas) por difusão da fluoresceína pela lâmina própria, contrastando com espaços escuros da luz glandular (setas amarelas)	47
Figura 23 - Imagem de <i>pCLE</i> na fase extramucosa. Há depósitos de fluoresceína dentro da luz das criptas e eliminação gradativa intraluminal do corante. As células epiteliais aparecem mais escuras (setas vermelhas) e as luzes das criptas ficam brilhantes (setas amarelas); isso proporcionou aumento do contraste, embora com perda considerável das informações das estruturas epiteliais	48

Figura 24 - Ilustração das quatro características de maturação (halo, gradiente, polaridade e efeito de bússola) utilizadas para o cálculo do escore de maturação superficial do epitélio escamoso esofágico por <i>eCLE</i>	54
Figura 25 - Fotos endoscópicas de lesão esofágica suspeita para neoplasia em paciente com câncer de cabeça e pescoço sob vigilância endoscópica. A, Lesão plana observada à luz branca (seta). B, A mesma lesão não corada à cromoscopia com Lugol (seta)	58
Figura 26 - Frasco de 100 mL de soro fisiológico com 4,9 mL de fluoresceína a 10% acoplado ao equipo	60
Figura 27 - Procedimento de endomicroscopia confocal guiada por <i>narrow-band imaging</i> da lesão descrita na Figura 25 (seta)	61
Figura 28 - Procedimento de endomicroscopia confocal com sonda. A, Sonda de endomicroscopia confocal usada na mucosa gastrointestinal. B, C, Introdução da sonda pelo canal de trabalho do endoscópio. D, Realização do exame endoscópico (à esquerda) com visualização endomicroscópica em tempo real (à direita)	62
Figura 29 - Fluxograma dos pacientes estudados	68
Figura 30 - A, Foto endoscópica de lesão suspeita Lugol negativa duas semanas antes de <i>pCLE</i> (seta); B, Foto endoscópica à luz branca do mesmo local, após esofagite química descamativa intensa secundária à solução de Lugol (seta).....	69
Figura 31 - Imagens iniciais de capilar intrapapilar com fluxo de hemácias (seta amarela) à endomicroscopia confocal, com delimitação gradativa do halo (seta vermelha) por difusão do fluoróforo.....	72
Figura 32 - Aspecto endomicroscópico das células escamosas normais, em formato de “escama”, com núcleos centrais redondos, pequenos e regulares (seta)	72

Figura 33 - Fotos de *pCLE* e achados histopatológicos correspondentes. A, Epitélio escamoso esofágico normal visualizado por *pCLE*: presença de grandes células poligonais, capilar intrapapilar normal (seta) e espaço intersticial adjacente (tênue camada intrapapilar) quase inexistente. B, Aspecto histológico de epitélio escamoso estratificado não queratinizado normal, com capilares intrapapilares normais (setas) (HE, 400x). C, Imagem de esofagite por *pCLE*: presença de aumento intersticial identificado pela borda brilhante densa intrapapilar (setas). D, Corte histológico de esofagite com alongamento das papilas (seta vermelha) e espongiose (edema intercelular) (seta preta) (HE, 400x). E, Imagem de neoplasia intraepitelial de alto grau por *pCLE*: presença de células pequenas de tamanho e formato irregulares, além do realce e alargamento do interstício. F, Corte histológico de carcinoma espinocelular *in situ*, com aumento da relação núcleo/citoplasma, hipercromasia nuclear ocupando metade inferior e superior do epitélio (HE, 400x). G, Imagem de carcinoma invasivo por *pCLE*: presença de pequenas células com tamanho e formato irregulares, além do aumento do interstício. H, Corte histológico de carcinoma invasivo, com infiltração de blocos de células tumorais pouco diferenciadas (HE, 400x) 74

Figura 34 - Imagens de lesão esofágica benigna (A, B, C) e lesão maligna (D, E, F) por *pCLE*. A, Epitélio normal, com grandes células poligonais (seta). B, Alça capilar intrapapilar (IPCL) normal (seta), com espessura preservada do interstício, além de halo, gradiente e polaridade preservados. C, *IPCLs* com efeito de bússola (setas). D, Irregularidade celular intensa (setas), com realce e alargamento intersticial. E, *IPCLs* dilatados (seta), com ausência de gradiente, polaridade e efeito de bússola. F, *IPCLs* com ausência de todas as características de maturação superficial do epitélio escamoso esofágico (seta), caracterizando carcinoma espinocelular..... 75

Figura 35 - A, Foto endoscópica de neoplasia maligna Lugol negativa em esôfago cervical. B, Imagem correspondente de *pCLE*, demonstrando irregularidade celular e arquitetural. C, Foto endoscópica após ressecção endoscópica da mucosa, cujo anatomopatológico confirmou carcinoma espinocelular..... 77

- Figura 36 - Fotos endoscópicas de lesão maligna 0-IIb (A, B, C, E). A, Imagem à luz branca (seta). B, Imagem com *narrow-band imaging* (seta). C, Foto após solução de Lugol (seta). D, Imagem correspondente de *pCLE* demonstrando irregularidade celular intensa (seta). E, Foto pós-ressecção endoscópica da lesão, cujo resultado anatomopatológico confirmou carcinoma espinocelular..... 78
- Figura 37 - Foto endoscópica de lesão maligna esofágica 0-IIb+IIc (A, B). A, Imagem à luz branca (setas). B, Imagem à cromoendoscopia com solução de Lugol (setas). C, Foto correspondente de *pCLE* demonstrando ausência de halos e presença de vaso intensamente dilatado (seta vermelha), associada à irregularidade celular (seta amarela). D, Foto de espécime após dissecação endoscópica de submucosa, que confirmou carcinoma espinocelular..... 78
- Figura 38 - A, Foto endoscópica de lesão benigna Lugol negativa. B, Devido às alterações inflamatórias moderadas decorrentes de processo actínico (seta), a lesão foi erroneamente interpretada como maligna por *pCLE* 79
- Figura 39 - A, Foto endoscópica de lesão Lugol negativa maligna extensa 0-IIb-IIc (setas), cujas biópsias prévias resultaram em esofagite. B, Imagem de *pCLE* que demonstra vasos grandes e tortuosos (seta vermelha), além de irregularidade celular (seta amarela), o que possibilitou biópsia direcionada da área suspeita de malignidade. C, Foto endoscópica após dissecação endoscópica circunferencial da submucosa 80
- Figura 40 - Princípio de imaginologia molecular em câncer. A, Células cancerosas expressam marcadores moleculares específicos da membrana celular. B, C, Aplicação tópica ou sistêmica de sonda molecular (por exemplo, anticorpo) marcada com fluorescência liga-se seletivamente aos alvos específicos da célula cancerosa. Com auxílio de técnicas avançadas de imagem, como por exemplo, endomicroscopia confocal, célula-alvo pode ser identificada. D, E, Por outro lado, células preservadas que não possuem características moleculares anormais, não apresentam fluorescência..... 98
- Figura 41 - Ilustração de possíveis alvos moleculares em imaginologia molecular do microambiente inflamatório e tumoral 100

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Dados dos pacientes, consumo de tabaco/álcool e localizações do CCP	69
Tabela 2 -	Características macroscópicas das lesões benignas e malignas, Classificação de Paris e tratamento do CEC	71
Tabela 3 -	Resultados dos achados de <i>pCLE</i>	76
Tabela 4 -	Resultados estatísticos de acordo com Classificações de Liu <i>et al.</i> ⁵⁶ e de Li <i>et al.</i> ⁵⁹	81

RESUMO

Baba ER. *Diagnóstico de carcinoma superficial esofágico de células escamosas em pacientes com câncer de cabeça e pescoço com auxílio da endomicroscopia confocal* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2021.

Introdução: Os programas de vigilância endoscópica de pacientes com câncer de cabeça e pescoço são capazes de detectar carcinoma escamocelular sincrônico ou metacrônico em até 15% de pacientes. Tanto a cromoendoscopia com solução de Lugol, quanto a cromoscopia digital com *narrow-band imaging* popularizaram-se como ferramentas endoscópicas para aprimoramento diagnóstico da mucosa esofágica. Entretanto, são identificadas, frequentemente, múltiplas lesões não neoplásicas secundárias ao intenso processo inflamatório crônico, fundamentado no conceito de “cancerização de campo”, particularmente naqueles pacientes com histórico de consumo prolongado e excessivo de álcool. Sendo assim, lesões suspeitas à cromoendoscopia não correspondem necessariamente à neoplasia, o que explica a alta incidência de lesões falso-positivas. Consequentemente, são métodos que ainda requerem biópsias tradicionais para confirmação histológica. O cenário ideal para a vigilância endoscópica desses pacientes seria a possibilidade de visualizar *in vivo* a estrutura celular da mucosa esofágica, com imagens microscópicas em tempo real, além de auxiliar nas biópsias direcionadas e orientar ressecção endoscópica, otimizando-se, assim, o atendimento ao paciente. A técnica da endomicroscopia confocal a laser com sonda pode proporcionar esses recursos, pois permite a aquisição de imagens ultramagnificadas de 1.000 vezes, em tempo real, *in vivo*, a nível celular e microvascular. **Objetivo:** Avaliar acurácia da endomicroscopia confocal no diagnóstico diferencial de lesões esofágicas não neoplásicas e neoplásicas Lugol negativas em pacientes com câncer de cabeça e pescoço sob vigilância endoscópica. **Pacientes e métodos:** Foram incluídos, prospectivamente, 27 pacientes com câncer de cabeça e pescoço tratados que apresentaram lesões esofágicas Lugol negativas durante a vigilância endoscópica. Após investigação com auxílio da endomicroscopia confocal, foram realizadas biópsias ou ressecção endoscópica das lesões estudadas, para confirmação histológica. As biópsias foram examinadas por um patologista sênior que desconhecia os resultados da endomicroscopia confocal (com cegamento). **Resultados:** A média de idade dos pacientes foi de 59 anos (DP 8,8) e 70,4% eram do sexo masculino. Todos os pacientes eram tabagistas, 22 deles (81,5%) com histórico de consumo de álcool. As localizações de câncer de cabeça e pescoço foram: cavidade oral (n = 13), laringe (n = 10) e faringe (n = 4). Trinta e sete lesões esofágicas Lugol negativas detectadas em 27 pacientes foram analisadas. Os diagnósticos finais foram carcinoma escamocelular em 17 pacientes e lesões benignas em 20 pacientes. A sensibilidade, especificidade e acurácia da endomicroscopia confocal para diagnóstico histológico de carcinoma escamocelular

esofágico em pacientes com câncer de cabeça e pescoço prévio corresponderam a 94,1%, 90,0% e 91,9%, respectivamente. **Conclusão:** A endomicroscopia confocal apresentou elevada acurácia diagnóstica no exame histológico em tempo real de lesões esofágicas Lugol negativas em pacientes com câncer de cabeça e pescoço.

Descritores: Neoplasias esofágicas; Neoplasias de cabeça e pescoço; Diagnóstico precoce; Endoscopia; Biópsia; Microscopia confocal.

ABSTRACT

Baba ER. *Diagnosis of superficial esophageal squamous cell carcinoma in patients with head and neck cancer by probe-based confocal laser endomicroscopy* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2021.

Background and Aims: The endoscopic surveillance programs of patients with head and neck cancer detect synchronous or metachronous esophageal squamous cell carcinoma in up to 15% of patients. Both chromoendoscopy with Lugol’s solution and narrow-band imaging have been popularized as endoscopic tools for the diagnostic improvement of the esophageal mucosa. However, multiple non-neoplastic lesions are frequently identified secondary to the intense chronic inflammatory process, based on the field cancerization concept, especially in patients with a history of chronic and excessive alcohol consumption. Therefore, all suspicious lesions detected by chromoendoscopy do not necessarily correspond to neoplasia, which explains the high incidence of false-positive lesions. For that reason, these are methods that still require traditional biopsies to confirm the diagnosis. The ideal scenario for endoscopic surveillance of these patients would be able to visualize *in vivo* the cellular structure of the esophageal mucosa, with microscopic images in real-time, in addition to getting guidance for targeted biopsies and endoscopic resection, thereby optimizing patient care. The probe-based confocal laser endomicroscopy technique may provide these features, as it allows the acquisition of *in vivo* real-time 1.000-fold ultra-magnifying imaging at the cellular and microvascular level. **Aim:** This study aims to evaluate the accuracy of confocal endomicroscopy for the differential diagnosis of non-neoplastic and neoplastic Lugol-unstained esophageal lesions in patients with head and neck cancer. **Methods:** Twenty-seven patients with head and neck cancer who presented Lugol-unstained esophageal lesions at endoscopic surveillance were prospectively included. After an investigation by confocal endomicroscopy, subsequent biopsy or endoscopic resection of the lesions was performed for histological confirmation. The biopsies were examined by a senior pathologist who was unaware of the confocal endomicroscopy findings (blinded). **Results:** The patients' mean age was 59 years (SD 8.8) and 70.4% were men. All patients were smokers, 22 of them (81.5%) had a history of alcohol consumption. The locations of head and neck cancer were oral cavity (n= 13), larynx (n= 10), and pharynx (n= 4). Thirty-seven esophageal lesions detected in 27 patients were studied. The final diagnoses were squamous cell carcinoma in 17 patients, and benign lesions in 20 patients. The sensitivity, specificity, and accuracy of confocal endomicroscopy for the histologic diagnosis of esophageal squamous cell carcinoma in patients with head and neck cancer were 94.1%, 90.0%, and 91.9%, respectively. **Conclusion:** The confocal endomicroscopy was highly accurate for the real-time histology of Lugol-unstained esophageal lesions in patients with head and neck cancer.

Descriptors: Esophageal neoplasms; Head and neck neoplasms; Early diagnosis; Endoscopy; Biopsy; Microscopy, confocal.

1 INTRODUÇÃO

A ocorrência mundial de câncer de cabeça e pescoço (CCP) é estimada em 600.000 novos casos ao ano, sendo 90% dele representado pelo carcinoma escamocelular ou de células escamosas (CEC)¹. Pelo menos, 75% dos CCP são atribuíveis à combinação de consumo de tabaco e álcool, substâncias cancerígenas que atuam substancialmente para desenvolvimento de CEC primário de trato aerodigestório superior e pulmões¹⁻⁵. Essas substâncias podem contribuir para teoria da “cancerização do campo” e carcinogênese multifocal⁶, causando, conseqüentemente, o desenvolvimento de múltiplos tumores sincrônicos (que ocorrem dentro de 6 meses) ou metacrônicos (mais de 6 meses) de esôfago, região de cabeça e pescoço, além de pulmões^{3-5,7-9}.

A sobrevida em longo prazo de pacientes com CCP está aumentando globalmente, o que pode corresponder a 3-5 milhões de pessoas com risco de desenvolverem segundo tumor primário, principalmente o câncer de esôfago (CE)¹. Infelizmente, o prognóstico de pacientes que desenvolvem CE é ruim porque, frequentemente, o diagnóstico é realizado em estágio avançado e com doença metastática. O risco de metástase linfonodal está diretamente relacionado à sua profundidade de invasão^{10,11}. Quando CE infiltra camada submucosa, a probabilidade de metástases ganglionares aumenta significativamente. Apenas cerca de 20% de pacientes com CE sobrevivem 3 anos após o diagnóstico, o que enfatiza a importância da vigilância endoscópica sistemática de sua detecção precoce, estágio passível de tratamento minimamente invasivo e com sobrevida melhor¹².

A cromoscopia com solução de Lugol (CL) e cromoscopia digital com *narrow-band imaging* (NBI) permitem diagnóstico endoscópico de CE em até 15% de pacientes assintomáticos com CCP^{3,13,14} e popularizaram-se como ferramentas cruciais para o aprimoramento diagnóstico da mucosa esofágica. A CL apresenta alta sensibilidade, em torno de 80% a 96%, porém a especificidade é insatisfatória entre 40% a 63%¹⁵. Da mesma forma, o NBI apresenta alta sensibilidade para diagnóstico de CEC superficial em região de cabeça/pescoço e esôfago, de 100% e 97,2%, respectivamente; contudo, sua especificidade também está limitada a cerca de 50%¹⁶. Essas grandes variações diagnósticas são decorrentes da existência de múltiplas lesões não neoplásicas secundárias ao intenso processo inflamatório crônico nesses pacientes, fundamentado no conceito de “cancerização de campo”. Sendo assim, lesões suspeitas à CL e NBI não correspondem necessariamente à neoplasia, o que explica a alta incidência de lesões falso-positivas, particularmente naqueles pacientes com histórico de consumo excessivo e prolongado de álcool¹⁷. Consequentemente, são métodos endoscópicos que ainda requerem biópsias tradicionais para confirmação histológica, que deve ser aguardada antes do tratamento endoscópico proposto.

A histologia sempre foi padrão-ouro no diagnóstico das lesões gastrointestinais na endoscopia convencional. Contudo, existem alguns inconvenientes: além do custo, as biópsias não são avaliáveis em tempo real, pois o processamento histotécnico dos fragmentos demanda tempo. Além disso, pode haver dificuldade de realizar biópsias certas nos diminutos focos de carcinoma existentes em lesões extensas com muitas alterações da mucosa. E, por fim, causar dano cicatricial e fibrose da camada submucosa resultante do uso de fórceps, o que pode comprometer a ressecção endoscópica futura.

Assim, o cenário ideal para a vigilância endoscópica desses pacientes seria a possibilidade de visualizar *in vivo* a estrutura celular da mucosa esofágica, com obtenção de imagens microscópicas e em tempo real, permitindo o diagnóstico histológico imediato. A técnica da endomicroscopia confocal a laser com sonda [*probe-based confocal laser endomicroscopy (pCLE)*] pode proporcionar essas vantagens, pois possibilita aquisição *in vivo* de imagens de alta resolução em níveis celular e microvascular da mucosa, com ultramagnificação aproximada de 1.000 vezes. Essa tecnologia é única nas suas propriedades de imagem em comparação com biópsia convencional, pois possibilita, não apenas o estudo da histologia, mas também, dos detalhes subcelulares mais aprimoradas e dinâmicas em seu ambiente natural, *in loco*, virtualmente livre de artefatos histotécnicos por fixação, corte ou coloração¹⁸, o que pode evitar biópsias indevidas.

Em síntese, considerando o cenário de vigilância endoscópica sistemática de pacientes com CCP, a detecção precoce do segundo primário esofágico é fundamental para melhora da sobrevida. Entretanto, nem todas as lesões esofágicas suspeitas à cromoendoscopia são neoplásicas; o intenso processo inflamatório crônico, principalmente naqueles pacientes com histórico de dependência alcoólica¹⁷, pode resultar em múltiplas lesões secundárias não neoplásicas e na necessidade de biópsias tradicionais para confirmação histológica.

2 OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi avaliar acurácia de *pCLE* para diferenciação diagnóstica de lesões esofágicas Lugol negativas não neoplásicas e neoplásicas em pacientes com CCP, sob vigilância endoscópica de segundo primário de CE.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Epidemiologia de Câncer de Esôfago (CE)

O CE apresenta alta mortalidade¹⁹, sendo oitavo câncer mais comum em todo mundo, com aproximadamente 456.000 novos casos ao ano¹, sendo incidência duas vezes maior em homens do que em mulheres²⁰. A incidência mundial de CEC notadamente supera a de adenocarcinoma esofágico; contudo, há diferenças epidemiológicas marcantes entre países Ocidentais comparados com Ásia Central e China¹.

A estimativa de novos casos de CE no Brasil para triênio 2020-2022, conforme o INCA, é de 11.390 casos (8.690 homens e 2.700 mulheres). Em relação à mortalidade de CE no Brasil em 2017, de acordo com o Sistema de Informações sobre Mortalidade, ocorreram 6.647 óbitos em homens, com taxa bruta de mortalidade de 6,58/cem mil e 1.907 óbitos em mulheres com taxa bruta de mortalidade de 1,84/cem mil²⁰.

No Brasil, sem considerar tumores de pele não melanoma, o CE entre homens é a quinta neoplasia maligna mais frequente em Região Sul (14,48/cem mil), a sexta mais incidente em Regiões Centro-Oeste (6,64/cem mil) e Nordeste (5,58/cem mil), tem a sétima colocação em Região Sudeste (9,53/cem mil) e a oitava posição em Região Norte (2,69/cem mil). Para mulheres, é a décima neoplasia maligna mais frequente em Regiões Sul (4,52/cem mil) e Nordeste (2,30/cem mil), a décima quarta mais incidente em Região Norte (0,73/cem mil) e, por fim, ocupa a décima quinta posição em Regiões Centro-Oeste (1,96/cem mil) e Sudeste (2,39/cem mil). O tipo histológico mais frequente é CEC, responsável por 96% dos casos²⁰.

Os principais fatores de risco para CE incluem dependência de álcool e tabaco. Além de CCP, outros fatores de risco para seu desenvolvimento são: acalásia, esôfago de Barrett, lesão cáustica, radioterapia prévia para câncer de mama, síndrome de tilose hereditária, síndrome de Plummer-Vinson, ingestão de bebidas excessivamente quentes como chimarrão, chá e café acima de 65°C (principalmente na América do Sul) e exposição a hidrocarbonetos aromáticos policíclicos²⁰. Citam-se outros fatores de risco também relevantes como obesidade, baixa ingestão de frutas, vegetais e fibras, alto consumo de carne vermelha processada, além da associação com exposição ocupacional a poeiras da construção civil, carvão, metal, combustíveis fósseis e a outras substâncias nocivas ao organismo^{1,2,4,8,20}.

3.2 Tabaco, Álcool e Cancerização de Campo (*Field Cancerization*)

A fumaça do cigarro é mistura extremamente complexa que contém mais de 5.300 compostos incluindo vários toxicantes e carcinógenos. Existem mais de 70 agentes cancerígenos que foram avaliados pelo programa de Monografias do Agência Internacional para Pesquisa em Câncer [*International Agency for Research on Cancer (IARC)*] com evidência suficiente para a carcinogenicidade em animais de laboratório ou humanos (*IARC 4004a*)²¹.

O álcool é metabolizado primeiramente pela desidrogenase alcoólica (ADH) para acetaldeído, derivado da própria bebida e formado de forma endógena. O acetaldeído é composto mutagênico e carcinógeno animal que causa dano ao ácido desoxirribonucleico [*Deoxyribonucleic acid (DNA)*] e outros efeitos promotores do câncer. Ele é metabolizado, subsequentemente, para acetato, principalmente pela enzima

aldeído desidrogenase [*Enzyme aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2)*]. Entretanto, indivíduos que apresentam deficiência herdada da ALDH2 codificam enzima inativa, e, por consequência, acumulam acetaldeído no organismo, desenvolvendo *flushing* facial, náusea e taquicardia. Estima-se que haja cerca de 8% de indivíduos com deficiência da enzima, sendo, a maioria, constituída pela população originária do Leste Asiático¹². Esses portadores apresentam maiores riscos relativos de desenvolverem CE e CCP relacionados ao álcool em comparação com indivíduos que metabolizam acetaldeído. Em tempo, o IARC declarou em 2009, que acetaldeído derivado de bebidas alcoólicas, é causador de câncer, ou seja, o etanol foi classificado como carcinógeno do grupo 1¹.

Tabaco e álcool são substâncias cancerígenas que atuam sinergicamente para desenvolvimento de CEC primário de trato aerodigestório superior e pulmões¹⁻⁵. Essas substâncias podem contribuir para teoria da “cancerização do campo” e carcinogênese multifocal, originando, conseqüentemente, o desenvolvimento de múltiplos tumores sincrônicos (que ocorrem dentro de 6 meses) ou metacrônicos (mais de 6 meses) de esôfago, região de cabeça e pescoço, além de pulmões^{3-5,7-9}. Portanto, são considerados fatores de risco importantes para aparecimento de segunda neoplasia primária esofágica em pacientes com câncer de cabeça e pescoço³⁻⁵.

A teoria da “cancerização do campo”, proposta em 1956 por Slaughter *et al.*⁶, derivou do princípio de que indivíduos potencialmente predispostos, quando expostos a carcinógenos comuns, poderiam iniciar processo de inflamação crônica do trato aerodigestório. Isso promoveria o desenvolvimento de múltiplos CEC primários e alterações oncogênicas epiteliais difusas, incluindo carcinoma *in situ*, neoplasia intraepitelial (NIE) e hiperqueratose. Por consequência, poderia originar múltiplos cânceres sincrônicos e/ou metacrônicos de esôfago, pulmões e região de cabeça e pescoço (ou seja, cavidade oral, orofaringe, hipofaringe ou laringe)^{1,2,22}.

Sabe-se que tumores malignos se desenvolvem em microambiente complexo e dinâmico, onde a inflamação é uma das características melhor estabelecidas na carcinogênese. Condições inflamatórias crônicas aumentam o risco de neoplasia maligna e aceleram seu desenvolvimento e progressão. À medida que o câncer progride, as células estromais e neoplásicas, ambas recrutadas aos sítios tumorais, estimulam a cascata inflamatória do microambiente tumoral, resultando em complexas interações celulares²³.

Alterações inflamatórias, que abrangem infiltração de fibroblastos associados ao tumor e leucócitos inflamatórios, contribuem para aquisição das características malignas, como aumento da proliferação de células tumorais, invasividade, metástase, angiogênese e inibição da imunidade adaptativa. As células neoplásicas recebem sinais do microambiente tumoral e comunicam-se bilateralmente com as células estromais do hospedeiro. Essas comunicações intercelulares alteram, intensamente, a composição celular e molecular do microambiente tumoral²³.

Portanto, o microambiente do tumor sólido é composto não somente de elementos celulares, mas também de substâncias bioativas, que incluem citocinas, fatores de crescimento e matriz extracelular. Esta última, pode atuar como “andaime estrutural” para migração ativa das células inflamatórias, reservatório para citocinas e fatores de crescimento, além de atuar como sinalizador por intermédio de ligações aos receptores locais. Durante o processo inflamatório, componentes da matriz extracelular e de seus fragmentos degradados atuam de forma direta e indireta como estímulos inflamatórios em algumas situações e regulam funções das células inflamatórias e células imunes²³ (Figura 1).

Células inflamatórias produzem mediadores inflamatórios, incluindo citocinas, quimiocinas e enzimas de remodelação de tecidos, que por sua vez ampliam e perpetuam a cascata inflamatória. Componentes da matriz extracelular servem como “andaime” estrutural para infiltração das células inflamatórias, bem como reservatório para citocinas e fatores de crescimento. Degradação enzimática dos componentes da matriz extracelular gera fragmentos bioativos, tais como tenascina-C, biglicano, versicano e hialuronano, que desempenham papéis fundamentais no controle de processos inflamatórios, iniciando resposta imune inata imediata.

TRL: *Toll-like receptor* (receptor do tipo Toll); TAM: *Tumor-associated macrophages* (macrófagos associados ao tumor); SHAP: *Serum-derived hyaluronan-associated protein* (proteína associada ao hialuronano sérico).

Figura 1 - Esquema de microambiente inflamatório tumoral [Fonte: Adaptado de Iijima *et al.*²³]

3.3 Rastreamento e Vigilância Endoscópica de CE em Pacientes com CCP

Visto que pacientes com tumores de trato aerodigestório superior e pulmão têm maior risco de desenvolverem múltiplos cânceres sincrônicos e metacrônicos, o rastreamento e vigilância endoscópica de pacientes com CCP desempenha papel fundamental na detecção das lesões superficiais esofágicas passíveis de ressecção endoscópica^{3,7,11,14,16,24,25}. Uma vez que o risco de metástase linfonodal está diretamente relacionado à profundidade de invasão^{10,11}, o diagnóstico precoce das lesões iniciais é crucial para orientação e conduta mediante tratamento minimamente invasivo. Em contrapartida, quando tumor infiltra camada submucosa, a probabilidade de metástases ganglionares aumenta significativamente.

Frequentemente, em estágio avançado e com doença metastática, tratamentos paliativos como radioterapia e/ou quimioterapia, ou palições endoscópicas com auxílio de *stents* podem representar única alternativa. A esofagectomia pode indicar prognóstico desfavorável quando são detectadas metástases linfonodais. Ademais, ressecção esofágica radical pode implicar na diminuição de qualidade de vida e em alta taxa de mortalidade, chegando a 5% em centros especializados e até 20% em centros menos experientes²⁶.

Os programas de rastreamento e vigilância endoscópica de pacientes com CCP, com auxílio de CL e *NBI* possibilitaram diagnóstico endoscópico de CE em até 15% de pacientes assintomáticos com CCP^{3,13,14}. No Japão, cujo CEC de esôfago é o tipo histológico predominante, a ocorrência sincrônica e metacrônica de CE e de outros sítios de CCP, é de 14% e 28%, respectivamente^{27,28}. Assim, esses métodos popularizaram-se como ferramentas cruciais para o aprimoramento diagnóstico da mucosa esofágica.

Em 2005, Hashimoto *et al.*³ publicaram o primeiro estudo brasileiro observacional prospectivo de detecção de CE em pacientes com CCP primário, realizado no Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo. Foram avaliados, consecutivamente, 326 pacientes adultos com CCP submetidos a endoscopias de rastreamento com CL a 2%. Nesse estudo, foram detectados 24 pacientes com CE (*in situ*, invasivo e neoplasia intraepitelial de alto grau), resultando na prevalência de 7,36%.

Outro estudo brasileiro, de Arantes *et al.*²⁹, publicado em 2012, avaliou a prevalência de CE em pacientes com CCP, com auxílio de endoscópio transnasal sem sedação, à luz branca (LB) e com cromoscopia digital. Dos 106 pacientes recrutados, foram detectados 13 CE (12,3%), sendo 10 no estágio precoce (77%). Eles concluíram que exame endoscópico transnasal sem sedação foi ferramenta diagnóstica viável, com aceitação boa e eficiente para rastreamento de CE.

Sabe-se que o desenvolvimento de CE em pacientes com CCP está associado a baixo desempenho do controle da doença e taxas de sobrevida²⁸. Cohn *et al.*³⁰, em 1980, demonstraram que a taxa de mortalidade desses pacientes com segundo câncer, especialmente de pulmão ou esôfago, era de 90% após 2 anos de diagnóstico. Portanto, a detecção precoce e prevenção de CE é fundamental para tratamento eficaz ou cura dos pacientes com CCP.

3.4 Câncer Superficial de Esôfago

De acordo com a Classificação de Paris³¹, as lesões neoplásicas de trato digestório (esôfago, estômago e cólon) são chamadas de “superficiais” quando o aspecto endoscópico sugere câncer de pequena dimensão ou lesão neoplásica não invasiva (displasia/adenoma). Se for invasivo, os tumores superficiais correspondem ao estágio T1 da Classificação TNM, cuja invasão é limitada à mucosa e à submucosa. Portanto, os cânceres superficiais não são obstrutivos, geralmente assintomáticos e, frequentemente, detectados incidentalmente ou durante o rastreamento³¹ (Figura 2).

Figura 2 - A, Aspecto endoscópico de lesão superficial esofágica 0-IIb+IIa de acordo com a Classificação de Paris. A, À luz branca, observa-se leve rugosidade e hiperemia da mucosa (setas). B, À cromoscopia com *narrow-band imaging*, nota-se realce dos vasos atípicos da lesão (setas)

De acordo com a Classificação Japonesa de Câncer de Esôfago, da Sociedade Japonesa de Esôfago [*Japanese Esophageal Society (JES)*], o câncer precoce de esôfago é todo tumor T1a (da camada mucosa), independentemente da presença ou não de metástase linfonodal ou a órgãos distantes, ou seja, pT1aNxMx (“p” de patologia). Já, o câncer superficial de esôfago abrange tumor que acomete mucosa e submucosa, ou seja, T1a e T1b, de maneira independentemente da

existência de metástase linfonodal ou a órgãos distantes, pT1NxMx. Portanto, tumores são superficiais quando a invasão é limitada até a camada submucosa, enquanto que aqueles que invadem além da muscular própria, são classificados em avançados³². Essas definições diferem daquelas dos cânceres precoces de estômago e do colorreto, porque os CE são mais agressivos em comparação aos adenocarcinomas.

No Japão, convencionou-se denominar neoplasias superficiais de tipo 0, em referência à Classificação de Borrmann (1 a 4) para tumores gástricos avançados³². Existem três subtipos de lesões superficiais: protusa (tipo 0-I), plana (tipo 0-II) e escavada (tipo 0-III). As lesões protusas são subclassificadas em pediculada (0-Ip), subpediculada (0-Isp) e séssil (0-Is). Em esôfago, neoplasias superficiais planas são as mais frequentes, subdivididas em superficialmente elevadas em relação à mucosa adjacente (IIa), planas (IIb) e deprimidas (IIc), sendo raras as formas protusa e escavada. Assim, a neoplasia superficial é representada pelo prefixo “0” e classificada em 0-I, 0-II ou 0-III. Essa Classificação Japonesa foi divulgada e consagrada mundialmente no Consenso Internacional de Paris em 2002³¹.

3.4.1 Diagnóstico Histológico

A mucosa esofágica é a única do trato gastrointestinal (TGI) que apresenta lâmina própria (tecido conjuntivo frouxo ricamente vascularizado) dissociada do epitélio. As células epiteliais são do tipo estratificado pavimentoso não queratinizado, que são originárias da zona basal, considerada região proliferativa, com duas a três camadas de células cuboides basais. À medida que elas migram para camadas mais superficiais, tornam-se poligonais até apresentarem aspecto pavimentoso. Exibem, em intervalos regulares ao longo da base epitelial, projeções da lâmina própria, denominadas de papilas epiteliais, que se estendem até metade da sua espessura. Na camada submucosa apresenta outra particularidade: a presença de glândulas serosas, característica que compartilha somente com a mucosa duodenal (Figura 3).

Figura 3 - Corte transversal e camadas histológicas da mucosa escamosa esofágica normal. HE, 60x

3.4.1.1 Displasia de Baixo Grau (BG) e de Alto Grau (AG)

Na antiga classificação de tumores esofágicos da Organização Mundial da Saúde (OMS), a displasia do epitélio escamoso foi descrita como lesão pré-neoplásica com alterações citológicas, categorizada em três graus: (1) displasia leve, acometendo 25% basal do epitélio; (2) displasia moderada, ocupando menos que 50% do epitélio, com maturação até metade superior do epitélio; e (3) displasia intensa, afetando mais que 50% do epitélio³³.

Todavia, em virtude da melhor concordância interobservador, a maioria dos patologistas preferiu denominar displasia de BG os casos de displasia leve e moderada (Figura 4), e de AG, os de displasia intensa (Figura 5)³³. O termo carcinoma *in situ* de células escamosas foi englobado dentro do espectro da displasia de AG (Figura 6). Nessa categoria, mesmo com aumento da intensidade da displasia, as células neoplásicas ainda permanecem confinadas na membrana basal. Metástases linfonodais não são observadas nas lesões displásicas. Sendo assim, denomina-se carcinoma invasivo quando ocorre invasão de células neoplásicas na lâmina própria subjacente.

Figura 4 - Foto histológica de displasia de baixo grau (displasia leve e moderada): as alterações citológicas acometem até metade inferior do epitélio (seta). A, HE, 150x; B, HE, 300x

Figura 5 - Foto histológica de displasia de alto grau (displasia intensa): as alterações citológicas estendem-se além da metade do epitélio (seta). A, HE, 150x; B, HE, 300x

Figura 6 - Foto histológica de carcinoma espinocelular *in situ*: as alterações citológicas prolongam-se até a superfície apical (seta). A, HE, 150x; B, HE, 300x

3.4.1.2 Classificação de Vienna

Em 2000, a Classificação Histológica de Vienna³⁴ surgiu a partir do consenso internacional de patologistas para avaliação do grau da profundidade de invasão das neoplasias do TGI. Nela, foi sugerida a exclusão de terminologias vagas como displasia, adenoma, câncer precoce e câncer avançado. Conforme essa normatização, displasia leve e moderada foi substituída por NIE de BG, e displasia intensa e carcinoma *in situ*, por NIE de AG. A Classificação de Vienna foi revisitada em 2002³⁵, onde foram eliminadas as discrepâncias diagnósticas entre patologistas do Oriente e Ocidente; cada categoria foi seguida por recomendação terapêutica a ser seguida, conforme exposta no Quadro 1.

Quadro 1 - Classificação de Vienna Revisitada e condutas clínicas para cada categoria

Categoria	Diagnóstico	Conduta Clínica
1	Negativo para neoplasia	Seguimento Opcional
2	Indefinido para neoplasia	Seguimento
3	Neoplasia intraepitelial de baixo grau (Adenoma/Displasia de baixo grau)	Ressecção Endoscópica ou Seguimento
4	Neoplasia intraepitelial de alto grau 4.1 Adenoma/Displasia de alto grau 4.2 Carcinoma não invasivo (carcinoma <i>in situ</i>) 4.3 Suspeito para carcinoma invasivo 4.4 Carcinoma intramucoso (invasão da lâmina própria)	Ressecção Endoscópica ou Cirúrgica
5	Neoplasia com invasão de submucosa	Ressecção Cirúrgica

Fonte: Dixon³⁵

3.4.1.3 Classificação da OMS

A Classificação da OMS de 2010 também destacou o termo “NIE” como o mais indicado em relação ao vocábulo “displasia”. A NIE de AG é sinônimo de displasia de AG (carcinoma *in situ* ou m1), porque essas duas condições apresentam a mesma implicação clínica³³.

Quando há invasão da lâmina própria, a neoplasia é denominada de carcinoma intramucoso ou microinvasivo, sendo m2 (terço médio da mucosa), quando invade lâmina própria ou córion, e m3 (terço inferior da mucosa) quando acomete muscular da mucosa sem ultrapassá-la (Figura 7). Esses tumores que acometem camada mucosa são classificados em T1a. No caso de acometimento m1 e m2, o risco de disseminação linfonodal é entre 0% a 3,3%, com indicação de ressecção endoscópica suficiente para cura²⁶. Se invadir a muscular da mucosa (m3), o risco fica entre 0% a 12,2%; ao passo que, nos casos de invasão de sm1 (invasão até 200 µm ou terzo superior), o risco pode atingir, conceitualmente, 8% a 26,5%²⁶.

Figura 7 - Foto histológica de carcinoma intramucoso com componente *in situ*-m1 (a), intramucoso-m2 (b) e intramucoso-m3 (c), com seus respectivos riscos percentuais de metástase linfonodal. Nota-se presença de pérola córnea na interface entre epitélio e lâmina própria. HE, 20x

Denominam-se T1b, os tumores que infiltram camada submucosa (Figura 8), que são subdivididos em sm1 (invasão até 200 μ m ou terço superior), sm2 (terço médio) e sm3 (terço inferior)³².

Figura 8 - Foto histológica de carcinoma superficial de esôfago com invasão de submucosa (delineada em azul). Na submucosa adjacente, nota-se presença de glândulas serosas normais (seta amarela). HE, 150x

A importância dessas subdivisões advém do fato de que o risco de metástase linfonodal das neoplasias superficiais tem íntima relação com profundidade de invasão na parede do órgão. Portanto, a estimativa da profundidade de invasão tumoral é fundamental na tomada de decisões estratégicas do tratamento de CE, em particular, quanto à indicação de ressecção endoscópica com fins curativos.

À medida que invade além de 200 μm (sm2), o risco de metástase linfonodal pode chegar a 61%²⁶. Assim, nas lesões submetidas a tratamento endoscópico, é fundamental observar, minuciosamente, os parâmetros histológicos de cura, como ausência de invasão linfovascular, margens horizontais e verticais livres de neoplasia e mensuração da extensão vertical da invasão a partir da camada muscular da mucosa (em micrômetros)³⁶.

3.4.2 Diagnóstico Endoscópico

Endoscopicamente, o CE em pacientes portadores de CCP em estágio precoce caracteriza-se, frequentemente, por ser de difícil detecção e de aspecto multifocal. Sua identificação representa grande desafio, principalmente quando os pacientes são assintomáticos e os achados endoscópicos à LB apresentam alterações mínimas da mucosa, tais como coloração (hiperemia ou palidez), granularidade, rugosidade, discreta depressão ou elevação da superfície, que podem ser sutis e despercebidas por grande parte dos endoscopistas iniciantes e/ou sem treinamento adequado.

3.4.2.1 Cromoscopia com Solução de Lugol (CL)

A partir da década de 1990, com o uso da solução de Lugol em pacientes de alto risco para CE, houve melhora significativa na detecção endoscópica das lesões superficiais. A solução de Lugol, nome dado em homenagem ao seu inventor, médico francês Jean Guillaume Auguste Lugol, foi usada pela primeira vez por Schiller em 1933, na detecção de carcinoma de colo uterino. Somente em 1971, Brodmerkel *et al.*³⁷ foram os pioneiros a publicarem na literatura inglesa, os resultados da cromoscopia com iodo durante exame endoscópico e propuseram sua utilidade no diagnóstico de CE.

Embora várias técnicas de diagnóstico endoscópico tenham sido desenvolvidas durante as últimas quatro décadas, a CL só começou a ser usada mais amplamente a partir do final da década de 1980²⁵, e é, atualmente, o método de rastreamento mais difundido de detecção de carcinoma precoce de esôfago.

A solução de Lugol, corante de absorção contendo iodo, apresenta alta afinidade com glicogênio produzido pelas células de epitélio escamoso esofágico normal. Camadas superficiais acima da zona basal possuem células escamosas ricas em glicogênio que se achatam e amadurecem à medida que se aproximam da superfície^{33,38} (Figura 9). Sabe-se que o conteúdo de glicogênio tissular está relacionado com grau de queratinização, ou seja, ele é inversamente proporcional à formação de queratina, desempenhando papel fundamental no amadurecimento celular. Consequentemente, quando há perda da diferenciação celular e glicólise aumentada das células neoplásicas, a reação iodo-amido fica impossibilitada³⁸.

Figura 9 - Histologia da mucosa esofágica normal, com células escamosas da camada superficial apresentando citoplasma amplo preenchido por glicogênio (setas). HE, 180x; HE, 800x

O iodo interage com glicogênio e, conseqüentemente, a mucosa escamosa normal é tingida de cor marrom-escura. Portanto, lesões que apresentam a perda do glicogênio são Lugol negativas (Figura 10). Apesar da alta sensibilidade para identificar lesões escamosas neoplásicas (80% a 96%), a especificidade é baixa, que varia entre 40% a 63%¹⁵. Isso se deve ao fato que outras lesões com perda do glicogênio, como atrofia, cicatriz, esofagite, processos infecciosos, metaplasia colunar de Barrett, também não reagem com iodo, permanecendo amarelo-esbranquiçada à endoscopia^{33,39}. Sendo assim, nem todas as lesões Lugol negativas representam tecido neoplásico, e, em muitos casos, a análise histopatológica deve ser aguardada antes do tratamento endoscópico ser realizado³³.

Figura 10 - Fotos endoscópicas de neoplasia superficial de esôfago 0-IIb+IIa. A, À luz branca, nota-se área com granularidade, hiperemia e limites imprecisos (setas). B, Após solução de Lugol, visualiza-se extensa lesão iodo negativa (área demarcada com seta amarela)

Durante a CL, o padrão das lesões iodo negativas pode ser variável. Muto *et al.*²⁸ verificaram que pacientes portadores de CCP com alto risco de CE, possuíam frequentemente múltiplas lesões iodo negativas, de vários formatos irregulares, e que 55% desses pacientes tinham segundo primário de CE. Da mesma forma, Shimizu *et al.*³⁹ descreveram a presença constante de inúmeras pequenas lesões Lugol negativas não neoplásicas do tipo difuso na mucosa adjacente de pacientes com CE. Esses autores observaram que carcinomas metacrônicos múltiplos surgiram mais frequentemente nesses pacientes com lesões Lugol negativas do tipo difuso, em comparação com aqueles que tinham coloração uniforme de iodo, no período de seguimento após dissecação endoscópica de submucosa [*endoscopic submucosal dissection (ESD)*] de esôfago. Essa particularidade também foi descrita por Inoue *et al.*¹⁷ que a denominaram de padrão em “estampa de leopardo” (Figura 11), encontrado geralmente em pacientes com histórico de alcoolismo, baseado no conceito de “cancerização de campo” secundária à inflamação crônica¹. Portanto, os exames endoscópicos periódicos com CL são fundamentais para pacientes com CCP, que apresentam múltiplas lesões iodo negativas esofágicas.

Figura 11 - Aspecto endoscópico de esôfago com inúmeras lesões Lugol negativas não neoplásicas do tipo difuso ou padrão em “estampa de leopardo”

Lesões com NIE de BG, que mantém preservada a metade superior do epitélio, reagem parcialmente com iodo em decorrência da presença de células remanescentes contendo glicogênio, sendo identificadas endoscopicamente como lesões Lugol negativas amarelo-esbranquiçadas. Em contrapartida, lesões com NIE de AG e CEC *in situ*, que apresentam alteração da espessura total da mucosa, raramente reagem com iodo, como resultado do número mínimo de células contendo glicogênio. Essas lesões são, portanto, identificadas como áreas completamente iodo negativas, que se tornam rosadas após cerca de dois ou três minutos da aspersão do corante. Esse sinal da cor rosa, denominado de *pink sign* (PS), descrito inicialmente por Shimizu *et al.*³⁹, apresentou sensibilidade de 91,9% e especificidade de 94% para NIE escamosa de AG e CEC (Figura 12).

Figura 12 - A, Aspecto endoscópico de lesão esofágica Lugol negativa. B, Sinal da cor rosa (setas)

A distinção entre NIE de AG e BG sem o auxílio de biópsias endoscópicas não é fácil. As biópsias, além de serem múltiplas, podem ser trabalhosas, consumir tempo e provocar sangramento da mucosa, dificultando assim, a identificação de outras lesões adjacentes. Pode haver, ainda, a necessidade de nova aspersão de solução de Lugol pois ocorre sua depuração após alguns minutos. Portanto, o sinal da cor rosa facilitou, em parte, identificação das lesões suspeitas e realização de biópsias direcionadas³⁹.

Apesar da presença de *PS*, o diagnóstico endoscópico de NIE de AG e carcinoma intramucoso ainda permanece difícil somente com CL. Embora seja método barato, a CL não é realizada rotineiramente, pois demanda maior tempo de exame, disponibilidade da solução de iodo e do cateter aspersório. O seu uso não é isento de complicações, pois pode causar reações desagradáveis como náusea, dor torácica e desconforto, além de, ocasionalmente, causar quadros de hipersensibilidade como *flushing*, asma e choque anafilático, e, sobretudo, risco de aspiração, com laringite e pneumonite²⁵. A solução de hipossulfito de sódio é útil na diminuição desses sintomas adversos, devendo ser administrada logo após avaliação com solução de Lugol. Administração de esteroides antes do exame também pode ser efetiva na prevenção de reações alérgicas⁴⁰.

3.4.2.2 *Narrow-Band Imaging (NBI)* e Magnificação

Nos últimos anos, tanto o diagnóstico endoscópico, quanto o tratamento de CE evoluíram em decorrência de grandes melhorias de métodos de imagem, de endoscópios de alta definição e de desenvolvimento de ressecções endoscópicas como mucosectomia [*endoscopic mucosal resection (EMR)*] e *ESD*.

A tecnologia de imagem de banda estreita ou *NBI* foi idealizada e desenvolvida em 1999 por Gono *et al.*⁴¹. O sistema *NBI* usa filtros que restringem o feixe eletromagnético da luz, para duas bandas de 415 nm e 450 nm, correspondentes aos picos de absorção da hemoglobina. Isso possibilita a variação de penetração do feixe luminoso na profundidade da mucosa gastrointestinal, causando efeito de realce dos capilares^{40,42}. Com *NBI*, a maioria dos cânceres superficiais podem ser vistos como área acastanhada. Com associação de *NBI* e magnificação, a irregularidade dos vasos pode ser melhor estudada em detalhes. Assim, essa tecnologia facilita o diagnóstico de neoplasias esofágicas superficiais (NIE, CEC e esôfago de Barrett) mediante maior contraste entre superfície epitelial e trama vascular subjacente³³, com vantagem de ser mais rápida (ao comando de um botão) e prática (sem o uso de corantes, efeitos adversos e necessidade de uso de antagonista).

De acordo com observações endoscópicas com magnificação de 150 vezes da mucosa esofágica normal humana, Inoue *et al.*⁴³ relataram a presença de vasos capilares em alça (*loop*) dentro das papilas epiteliais (Figura 13), que foram denominados de alças capilares intrapapilares [*intrapapillary capillary loops (IPCL)*]⁴³. Conforme os autores, os vasos submucosos ramificam-se horizontalmente pela camada muscular da mucosa e lâmina própria, sob forma de trama arteriolar subepitelial arborescente. Essa trama, por sua vez, dá origem a único vaso capilar para cada papila, denominado também de capilar terminal do epitélio escamoso, que

posteriormente drena para as vênulas. Os *IPCLs* são, portanto, unidades básicas da microvascularização do epitélio escamoso⁴³.

Figura 13 - Corte histológico transversal da camada epitelial e lâmina própria de esôfago. Notam-se alças capilares intrapapilares (*IPCLs*) (setas) provenientes da lâmina própria. HE, 150x

Em outro estudo⁴⁴, agora com lesões neoplásicas, o mesmo grupo de Inoue demonstrou que *IPCL* de CEC *in situ* apresentavam características alteradas como dilatação, tortuosidade, mudança de calibre e formato, comparados com os da mucosa normal. Mais estudos posteriores mostraram a estreita relação entre padrão microvascular de *IPCL*, identificado de imediato à endoscopia com *NBI* e magnificação, com profundidade de invasão de CEC superficial^{26,40,42} (Figura 14). Assim, o esôfago é único órgão digestório onde alterações morfológicas de microvascularização identificadas pela endoscopia com magnificação e *NBI* podem caracterizar diversas fases de infiltração de câncer superficial²⁴. Sendo assim, a Sociedade Japonesa de Esôfago estabeleceu a classificação simplificada de endoscopia com magnificação para estimar a profundidade de invasão de CE superficial (*The JES classification*)²⁶.

Figura 14 - A, Foto endoscópica de magnificação com *narrow-band imaging* de neoplasia superficial esofágica: presença de capilares dilatados e atípicos (seta). B, Foto microscópica correspondente demonstrando alças capilares intrapapilares (IPCLs) dilatadas (setas) de carcinoma espinocelular *in situ*. HE, 280x

3.4.2.3 CL versus NBI

A vigilância endoscópica de esôfago mediante o uso de CL e de *NBI* permite diagnóstico de CE em até 15% de pacientes assintomáticos, alterando o prognóstico e melhorando a sobrevida^{3,13,14}. No entanto, como já descrito anteriormente, a aplicação da solução de Lugol demanda tempo e pode ser de difícil precisão diagnóstica, visto que seu padrão de coloração mostra grandes variações. Tal fato aumenta a incidência de lesões falso-positivas, podendo acarretar em biópsias desnecessárias.

Em contraste, o *NBI* é considerado método ideal para detectar efetivamente CE superficial, pois tem fácil manejo após tempo mínimo de experiência, com curva de aprendizado rápido, podendo reduzir o número de biópsias desnecessárias e encurtar o tempo de exame. Muto *et al.*¹⁶, em estudo controlado randomizado, demonstrou que a sensibilidade de *NBI* para diagnóstico de CEC superficial em região de cabeça/pescoço e esôfago foi de 100% e 97,2%, respectivamente. Contudo, a especificidade foi limitada a 50%.

No estudo publicado por Takenaka *et al.*⁴⁵, foi constatado que a especificidade de *NBI* resultou ser significativamente superior ao exame convencional com LB (95,4% vs. 84,7%, $p < 0,001$), enquanto que a sensibilidade de *NBI* e Lugol foi equivalente (90,9% vs. 100%, não estatisticamente significativa). Além disso, a maioria das lesões Lugol negativas que não foram valorizadas após *NBI* eram NIE de BG ou lesões com achados atípicos. Esses resultados indicam que *NBI* é método útil e menos invasivo de rastreamento para CE.

O sinal da cor rosa, como foi descrito anteriormente, é critério endoscópico útil para detectar NIE de AG ou câncer intramucoso na CL. Ao *NBI*, lesões Lugol negativas com sinal da cor rosa mudam para coloração prata-brilhante; esse achado foi denominado de *metallic silver sign* ou sinal da cor prata-metálica¹⁷ (Figura 15).

Figura 15 - Aspecto endoscópico de neoplasia superficial esofágica 0-IIb. A, Lesão plana avermelhada à luz branca. B, Realce da lesão à cromoscopia com *narrow-band imaging*. C, Sinal da cor rosa após solução de Lugol (seta). D, Sinal da cor prata-metálica evidenciado após Lugol e *narrow-band imaging* (seta)

Goda *et al.*⁴⁶, em estudo randomizado de não inferioridade, compararam precisão do diagnóstico de *NBI*-magnificação *versus* CL-*PS* em CEC superficial de esôfago em pacientes com CCP ou CE (147 indivíduos em cada grupo). Eles foram aleatoriamente distribuídos para cada técnica. As lesões suspeitas por *NBI* ou Lugol negativas, maiores que 5 mm de diâmetro, foram analisadas com base nos achados da magnificação ou *PS*, respectivamente. Não houve diferença significativa em todos os valores diagnósticos entre duas técnicas. Comparado com grupo CL-*PS*, grupo *NBI*-magnificação mostrou tempo de exame significativamente menor; no entanto, foi menos confiável, com maior número de lesões falso-positivas ou negativas, especialmente em pacientes com muitas lesões Lugol negativas de vários formatos irregulares.

Quando *NBI* foi usado sem magnificação, a taxa de lesões falso-positivas foi alta, com resultado semelhante à CL⁸. Contudo, no estudo realizado no Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, Ide *et al.*²⁵ compararam *NBI* sem magnificação *versus* CL na detecção de NIE de AG e CEC intramucoso de esôfago em pacientes com CCP. Verificou-se que o desempenho de *NBI* foi semelhante ao obtido com CL. A sensibilidade e valor preditivo negativo foram de 100% para ambos os métodos, e especificidade foi de 86,7% para *NBI* e 72,5% para solução de Lugol, concluindo que *NBI* sem magnificação poderia ser usado como método de vigilância endoscópica dos pacientes de risco para neoplasia escamosa esofágica²⁵.

De fato, a esofagite também poderia apresentar aspecto endoscópico de lesão Lugol negativa. Em estudo prospectivo de 202 pacientes consecutivos de alto risco para CE, a acurácia, sensibilidade e especificidade de *NBI* sem magnificação foram, respectivamente, 77,0%, 88,3% e 75,2%, e para lesões Lugol negativas foram 68,0%, 94,2% e 64,0%, respectivamente⁴⁷. Esses dados podem ratificar o fato de que

biópsias endoscópicas ainda são necessárias para confirmação diagnóstica. Sendo assim, o método endoscópico ideal seria possibilidade de obter diagnóstico histológico *in vivo* e em tempo real.

3.4.3 Diagnóstico Virtual

Para diagnóstico de lesões do TGI identificadas endoscopicamente, a histologia sempre foi padrão-ouro. Entretanto, existem alguns inconvenientes: além do custo, ela não é avaliável em tempo real, pode haver dificuldade na realização de biópsias direcionadas, e, por fim, causar fibrose cicatricial da camada submucosa, podendo comprometer ressecção endoscópica posterior.

Nos últimos anos, houve grande desenvolvimento da aquisição de imagens histológicas virtuais em tempo real e de maneira minimamente invasiva. São conhecidas como biópsia óptica, ou seja, a partir de dispositivos tecnologicamente avançados como endocitoscopia e endomicroscopia confocal a laser [*confocal laser endomicroscopy (CLE)*], são obtidos cortes histológicos digitais diretamente dos tecidos *in vivo*. Essas tecnologias fornecem aos endoscopistas, aspectos microscópicos dinâmicos da mucosa gastrointestinal, permitindo diagnóstico em tempo real. Tais métodos apresentam potencial de transformar, consideravelmente, o papel das biópsias endoscópicas convencionais, visto que permitem estudo instantâneo e aprimorado de estruturas celulares e subcelulares, tissulares e de microvascularização com ultramagnificação aproximada de 1.000 vezes. O *CLE* é único nas suas propriedades de imagem, pois não apenas possibilita estudar histologia, mas também possui o privilégio de estar em seu ambiente natural, *in loco*, detectando detalhes subcelulares mais aprimorados, virtualmente livres de artefatos histotécnicos por fixação, corte ou coloração¹⁸.

Visto que lesões pré-malignas em estadios precoces não são visíveis macroscopicamente na sua grande maioria (sem sinais ou irregularidades à luz branca em superfície mucosa plana), as técnicas endoscópicas de aprimoramento de imagem (p. ex., cromoendoscopia), são determinantes para identificá-las antes do diagnóstico virtual. Portanto, tecnologias de biópsias ópticas não podem ser usadas como método de rastreamento, mas de complementação e/ou confirmação diagnóstica.

3.4.3.1 Endocitoscopia

A endocitoscopia, com capacidade de ampliação de 450 a 1125 vezes, foi desenvolvido pela *Olympus Medical Systems Corporation* (Tóquio, Japão). O endocitoscópio é fundamentado na tecnologia de microscopia de luz de contato, que usa lente objetiva de foco fixo de alta potência e exige uso de corantes vitais. Pode estar incorporado no endoscópio ou baseado nas sondas que são introduzidas por dentro do canal de trabalho do endoscópio.

A obtenção de imagens *in vivo* é obtida mediante lentes objetivas de alta potência e foco fixo que projetam imagens em dispositivo de carga acoplada, mais conhecido como CCD. Como ambos os espectros de absorção e profundidade de penetração da luz da mucosa do TGI são dependentes da estrutura tissular (p. ex., epitélio escamoso ou cilíndrico) e da composição local (p. ex., presença de inflamação, hemoglobina), a profundidade de focalização da luz varia teoricamente de 0 μm a 50 μm ⁴⁸. Consequentemente, como é inviável alterá-la manualmente, é impossível determinar o nível exato da imagem endocitoscópica.

Kumagai *et al.*⁴⁹ avaliaram se a observação endocitoscópica de CE poderia substituir o exame histopatológico. Cinquenta e sete lesões iodo negativas em espécimes ressecados de esôfago de 28 pacientes foram examinados. Além disso, 71 lesões de CE foram analisadas *in vivo* usando endoscopia. Sensibilidade e especificidade da endocitoscopia para lesões malignas foi de 95% e 84%, respectivamente. Importante destacar que exames adicionais de biópsias endoscópicas foram considerados desnecessários pelo patologista em 94% das lesões carcinomatosas identificadas com o auxílio da endocitoscopia⁴⁹.

3.4.3.1.1 Mucosa Escamosa Versus Mucosa Colunar

O esôfago é estrutura mais adequada para biópsia óptica com auxílio da endocitoscopia em comparação com estômago e cólon, pelos seguintes aspectos:

- 1) Em relação à coloração vital, a mucosa esofágica pode ser diretamente corada com aspersão tópica do azul de metileno a 1%, enquanto que no epitélio colunar do estômago e cólon, é necessário remover previamente o muco superficial;
- 2) O diagnóstico de CEC pode ser facilmente realizado somente com a identificação de aumento da densidade e anormalidade nuclear. Essas características das células escamosas simplificam, sobremaneira, a interpretação das imagens, pois são completamente distintas dos estádios iniciais das neoplasias tubulares (gástricas e cólica), onde são necessários verificar, além da polaridade celular e pleomorfismo nuclear, o grau de destruição dos túbulos ou alteração morfoarquitetural, que são aspectos mais complexos aos endoscopistas pouco habituados⁴⁹.

A endoscopia fornece informações celulares e nucleares apenas da camada superficial da mucosa, paralela à membrana basal. Como o corante vital pode penetrar uma ou duas camadas celulares do epitélio escamoso, sua observação é limitada nas camadas superficiais. Nos cortes histológicos de epitélio normal, células epiteliais das camadas superiores são muito delgadas, semelhantes a discos, com núcleos centrais, pequenos e condensados. Assim, no corte histológico transversal, células da superfície mostram citoplasma muito mais amplo, ou seja, com baixa relação núcleo/citoplasma. Por outro lado, no carcinoma, essa relação se inverte e a endoscopia mostra clara diferença entre densidade nuclear das células cancerosas com células escamosas normais da superfície^{49,50}. As Figuras 16 e 17 mostram aspectos endoscópicos da mucosa escamosa esofágica.

Figura 16 - Princípios de observação de epitélio escamoso à endocitoscopia. **A**, Desenho ilustrativo de corte transversal de epitélio escamoso (perpendicular à superfície) à endocitoscopia. **B**, Cortes histológicos de epitélio escamoso normal de esôfago. As células epiteliais da camada mais superficial são mais delgadas e planas, lembrando discos; seus núcleos são pequenos e condensados. Assim, no corte histológico paralelo à membrana basal, células superficiais apresentam citoplasma muito mais amplo. **C**, Corte histológico transversal de carcinoma espinocelular (0-IIc): o epitélio é completamente substituído por células intensamente atípicas, além da presença de alças capilares intrapapilares irregulares e dilatadas [Fonte: Adaptado de Kumagai *et al.*⁵⁰]

Figura 17 - Imagens de endocitoscopia da mucosa esofágica (1125x, pós-cromoscopia com azul de metileno). A, B, C, D, Imagens das células escamosas epiteliais normais observadas à endocitoscopia. Os núcleos são pequenos, regulares e uniformes, com relação núcleo/citoplasma baixa. E, F, G, H, Imagens de carcinoma espinocelular de esôfago. Observam-se núcleos irregulares com densidade nuclear muito maior do que os observados nas células normais [Fonte: Adaptado de Kumagai *et al.*⁵⁰]

Assim, a característica mais evidente das lesões malignas é o aumento da densidade celular. Isso reflete o fato de que toda camada epitelial é substituída por células neoplásicas atípicas. Essa característica é visível mesmo na baixa magnificação, possibilitando distinguir facilmente lesões malignas de tecido normal. Além disso, a endocitoscopia de maior magnificação é capaz de captar detalhes das alterações nucleares. Combinação do aumento da densidade celular e presença de atipias nucleares fornece prova convincente de malignidade. Portanto, é mais fácil os endoscopistas diferenciarem as células malignas das normais com o auxílio da endocitoscopia, porque essas características endoscópicas estão sempre na mesma condição paralela à membrana basal⁴⁹.

3.4.3.2 Endomicroscopia Confocal a Laser (*CLE*)

É outra modalidade endoscópica desenvolvida para aquisição de imagens ampliadas e de alta resolução da camada mucosa do TGI. Enquanto que a endocitoscopia permite imagens ultramagnificadas de células e núcleos da camada superficial, o *CLE* não só é capaz de observar a superfície mucosa, mas também de mapear mais profundamente camada mucosa para estudo de capilares, sendo esta última, uma das suas principais vantagens. Isso é devido à utilização de meio de contraste sistêmico fluorescente: a fluoresceína sódica. Em particular, as alterações neovasculares tornaram-se critério importante para diagnóstico das lesões neoplásicas com auxílio do confocal¹⁵. Desse modo, a microscopia *in vivo* e em tempo real permite a captação de imagem das estruturas celulares e subcelulares, bem como dos capilares e do fluxo de células sanguíneas em “fileira indiana”, observada em tecidos normais⁵¹.

Assim, a endomicroscopia confocal apresenta potencial para diminuir ou, possivelmente, eliminar algumas biópsias desnecessárias e orientar, em tempo real, o tratamento das lesões superficiais. Numerosos estudos mostraram aplicações de *CLE* para detecção acurada das lesões gastrointestinais, como também para evitar biópsias, ou, se for necessária, direcioná-la de forma muito mais eficiente nas áreas de rendimento diagnóstico muito baixo. Além da padronização da prática e treinamento de *CLE*, sua aplicação foi bem estabelecida na Classificação de Miami, que incluiu o diagnóstico de esôfago de Barrett, metaplasia intestinal gástrica, doença celíaca e doenças inflamatórias de cólon, além de tumores biliares, nódulos e cistos pancreáticos^{52,53}.

Essa tecnologia integra microscópio de varredura confocal ao endoscópio flexível convencional e baseia-se na iluminação do tecido com laser de baixa potência. Simultaneamente, ocorre captura da fluorescência da luz refletida a partir do tecido através de um pinhole⁵⁴. O termo “confocal” é derivado do alinhamento da iluminação e sistema de coleta no mesmo plano focal. O feixe de laser é focado na profundidade selecionada no tecido de interesse. A luz refletida é, então, reorientada para sistema de detecção pela mesma lente. Apenas a luz de retorno focada novamente através do pinhole é detectada. A luz refletida e/ou dissipada em outros ângulos geométricos do objeto iluminado e/ou reorientada para fora do plano do pinhole é excluída da detecção. Cada imagem resultante é um corte óptico, representando aproximadamente um plano focal da mucosa. Isso aumenta a resolução espacial de *CLE*, permitindo imagem celular e estudo da arquitetura tecidual durante a endoscopia⁵².

Duas plataformas endoscópicas empregam essa tecnologia: *eCLE* integrada ao endoscópio (*endoscope-based confocal laser endomicroscopy*) e *pCLE* que usa sondas autônomas (*probe-based confocal laser endomicroscopy*). O *eCLE*, da Pentax – Tóquio, Japão, que atualmente não está mais comercialmente disponível, apresentava microscópio confocal integrado na ponta distal do aparelho convencional de 12,8 mm de diâmetro. Imagens confocais e endoscópicas eram geradas ao mesmo tempo. O controle da profundidade do plano da imagem tecidual era realizado usando-se dois botões do comando do endoscópio. Possuía espessura da faixa óptica de 7 μm com resolução lateral de 0,7 μm , campo visual de 475 μm por 475 μm e profundidade de infiltração de 0 μm a 250 μm .

O *pCLE*, da Mauna Kea Technologies – Paris, França, emprega sonda confocal flexível por onde percorre o feixe de laser. Contém uma lente na ponta distal, que faz varredura sequencial pelo conjunto de mais de 10.000 fibras ópticas. Imagens obtidas têm resolução lateral de 3,5 μm , resolução axial de 15 μm , com campo de visão total de 600 μm por 500 μm . Possui unidade proximal de varredura a laser (comprimento de onda de excitação de 488 nm), que combina funções de iluminação e varredura rápida a laser, permitindo detecção de sinal com taxa de até 12 imagens por segundo (*Laser Scanning Unit*, Cellvizio – GI; Mauna Kea Technologies). Há necessidade de *software* de controle e aquisição para reconstrução das imagens em tempo real, com exibição imediata das sequências, além das ferramentas de análise e edição pós-procedimento (*software* Cellvizio, Mauna Kea Technologies)⁵¹.

As sondas confocais possuem diâmetros que variam de 0,9 mm a 2,5 mm e têm vantagem e praticidade de serem introduzidas através dos distintos canais de trabalho dos endoscópios (Figura 18). Gastroflex ou Coloflex (Mauna Kea Technologies, Paris, França), sondas utilizadas para o estudo da superfície da mucosa gastrointestinal, possuem 2,5 mm de diâmetro que podem ser introduzidas pelo canal acessório do gastroscópio convencional e possuem profundidade média do plano confocal de 55 μm a 65 μm . A miniaturização da sonda também apresenta outras vantagens de uso, como introdução por dentro da agulha fina de 19 G guiada por ecoendoscopia para diagnóstico de tumores sólidos ou císticos do pâncreas. Outra aplicação é no estudo microscópico dinâmico de monitoramento e determinação do fluxo sanguíneo em várias condições clínicas⁵⁵.

Figura 18 - Sondas de endomicroscopia confocal usadas no trato gastrointestinal, com diâmetros distintos para cada indicação (mm) [Fonte: Adaptado de Optics*]

Uma das grandes limitações da tecnologia confocal é a baixa profundidade de penetração: *pCLE* pode atingir entre 55 μm a 65 μm , enquanto que *eCLE* alcança até 250 μm (Figura 19). Portanto, apenas a camada mucosa pode ser examinada pela imagem confocal, não sendo possível, portanto, a visualização de invasão tumoral da camada submucosa^{15,56}. A Figura 20 mostra as profundidades máximas de *pCLE* e *eCLE* nos cortes histológicos de esôfago.

* Disponível em: <https://optics.org/news/2/7/26/maunakeaprobes>.

Figura 19 - Montagem fotográfica que compara a máxima profundidade estimada do feixe de laser (em azul) na mucosa esofágica pelas duas plataformas de endomicroscopia confocal, em micrômetros (μm). A, *pCLE* (com sonda) da Mauna Kea. B, *eCLE* (integrada ao endoscópio) da Pentax [Fonte: Adaptado de Goetz¹⁸]

Figura 20 - Montagem microfotográfica da mucosa esofágica que ilustra profundidade máxima estimada do laser (em azul) pelas duas plataformas de endomicroscopia confocal. A. *pCLE* (55 μm a 65 μm); B. *eCLE* (250 μm). HE, 200x

3.4.3.2.1 Hemodinâmica da Fluoresceína no Organismo

Graças às propriedades fluorescentes e facilidade de uso, o agente de contraste mais frequentemente aplicado em *CLE* é fluoresceína sódica, onde há décadas é aplicada com segurança em seres humanos no campo da oftalmologia. Ela absorve a luz da faixa azul do espectro visível, com pico de absorção a 490 nm (azul) e pico de emissão a 530 nm (amarelo). Além disso, é de baixo custo, não mutagênica e permite imagens das camadas mais profundas do que agentes de contraste topicamente administrados. A vida média plasmática da fluoresceína é de 11 minutos. Sua excreção é predominantemente renal, que torna a urina intensamente amarelo-fluorescente, embora seja eliminada também pelo fígado e fezes. Uma dose administrada de fluoresceína é excretada quase que completamente dentro de 48 horas após administração.

Graças à sua forte ligação à albumina plasmática (cerca de 70% a 80%), a fluoresceína permanece predominantemente dentro dos vasos após injeção intravenosa. Distribui-se por toda mucosa, permitindo forte contraste da rede capilar. Apenas uma parte das moléculas de fluoresceína (20% - 30%) permanece livre. Essas moléculas podem se difundir dos capilares para o tecido e, assim, permitir a identificação da morfologia celular com detalhes subcelulares como, p. ex., o muco das células caliciformes. A fluoresceína não penetra nos núcleos das células epiteliais; no entanto, estes são visualizados de forma indireta por contraste do citoplasma adjacente⁵⁷.

Estudo em modelos experimentais de Beckel *et al.*⁵⁷ com auxílio de *pCLE* avaliou a hemodinâmica, permeabilidade e qualidade da imagem, de acordo com o tempo de administração da fluoresceína a 1%. Viu-se que havia mudança razoável da

qualidade da imagem no TGI superior ao longo do tempo. No modelo porcino, o melhor contraste e a qualidade da imagem ocorreram nos primeiros 8 minutos após injeção do fluoróforo. Avaliação às cegas de dois examinadores de vários níveis de experiência revelou melhor qualidade da imagem com maior nível do contraste nos primeiros minutos. Mesmo em concentrações menores do que se usa na prática, os autores concluíram que a hemodinâmica e permeabilidade da substância foram mais importantes do que a concentração de fluoresceína, sem haver prejuízo da qualidade da imagem ao longo do tempo⁵⁷. Estudos futuros poderão concentrar-se nessa questão.

Variações das qualidades de imagem e dinâmica do contraste ao longo do tempo foram descritas na angiografia da retina com fluoresceína, substância rotineiramente aplicada para avaliar vascularização ocular. Quatro fases (arterial, capilar, venosa e tardia) foram diferenciadas. As primeiras três fases (fase arterial à venosa) foram caracterizadas pelo trânsito da fluoresceína na microcirculação da retina. Isso levou aproximadamente 15 a 20 segundos. O nível mais alto do contraste para melhor observação de estruturas vasculares foi relatado durante esses períodos. Na fase tardia (após 10 a 15 minutos), o corante, que deixou vaso sanguíneo em direção às estruturas oculares, tornou-se visível. Após três fases iniciais, o nível do contraste diminui continuamente ao longo do tempo.

Ainda, conforme esse trabalho, os achados no TGI foram bastante semelhantes aos da angiografia da retina. O *pCLE* destacou rede capilar e lâmina própria em toda mucosa, com forte contraste nos primeiros minutos após administração intravenosa de fluoresceína. Os capilares do estroma tornaram-se visíveis (Figura 21) e as células epiteliais foram claramente delimitadas, contrastando-se com espaços escuros das glândulas⁵⁷ (Figura 22).

Figura 21 - Imagem de *pCLE* na fase capilar gástrica da fluoresceína, com destaque do espaço intravascular e das hemácias que seguem em “fila indiana” (seta)

Figura 22 - Imagem de *pCLE* que mostra delimitação das células epiteliais (setas vermelhas) por difusão da fluoresceína pela lâmina própria, contrastando com espaços escuros da luz glandular (setas amarelas)

Após 8 a 20 minutos, o nível do contraste diminui consideravelmente em decorrência do extravazamento extramucoso da fluoresceína, causando depósitos de fluoróforo na luz das criptas, bem como pela eliminação completa do corante intravascular.

Após 30 minutos, houve pequeno aumento do contraste em decorrência do progresso contínuo da eliminação da fluoresceína sanguínea e da difusão do corante restante no espaço extramucoso. Assim, as células epiteliais tornaram-se mais escuras e as luzes das criptas mais brilhantes; ambos proporcionaram aumento do contraste, mas com perda considerável das informações das estruturas epiteliais (Figura 23). Além disso, apesar do aumento tardio da captação da fluoresceína, os sinais recebidos foram consideravelmente menores, comparados aos obtidos nos primeiros 10 minutos após sua administração⁵⁷.

Figura 23 - Imagem de *pCLE* na fase extramucosa. Há depósitos de fluoresceína dentro da luz das criptas e eliminação gradativa intraluminal do corante. As células epiteliais aparecem mais escuras (setas vermelhas) e as luzes das criptas ficam brilhantes (setas amarelas); isso proporcionou aumento do contraste, embora com perda considerável das informações das estruturas epiteliais

Teoricamente, a reinjeção da fluoresceína em exames mais demorados, não alcançou, novamente, o ótimo nível de contraste inicial, embora os autores não tenham examinado especificamente esse assunto. Em princípio, os depósitos extramucosos de fluoresceína poderiam exceder o contraste entre estruturas celulares ou membranas e citoplasma. Por conseguinte, a análise das características dinâmicas de *pCLE*, como, p. ex., do extravasamento de fluoresceína intravascular típico das neoplasias, seria prejudicada.

A segurança da fluoresceína intravenosa está bem estabelecida na oftalmologia. O órgão americano *Food and Drug Administration (FDA)*, aprovou sua utilização para imagiologia oftalmológica dos vasos sanguíneos, em conjunto com oftalmoscópio de varredura a laser. Efeitos colaterais comuns para uso oftalmológico incluem hipotensão, síncope, náusea, vômito, hipersensibilidade, dor de cabeça e broncoespasmo. Efeitos colaterais graves e raros incluem isquemia arterial, choque, tromboflebite e convulsão em 0,05% dos casos. Reações alérgicas e anafilaxia são extremamente raras; estimadas em 1 a cada 222.000 pacientes. Enquanto a aplicação oftalmológica de fluoresceína intravascular demonstrou perfil de segurança excelente, deve-se ressaltar que a população de pacientes submetidos à endoscopia (p. ex., seguimento de esôfago de Barrett e de doença inflamatória dos cólons, colonoscopia de rastreamento) pode ser distinta daqueles submetidos à angiografia retiniana (diabetes de longa duração, degeneração macular), particularmente em relação à função renal de pacientes diabéticos crônicos⁵⁸.

Nenhum evento grave foi relatado em estudo com 2.272 procedimentos de *CLE* no TGI, onde foram administrados 2,5 mL a 5,0 mL de fluoresceína intravenosa a 10%. Todos os pacientes desenvolveram coloração amarelada transitória da pele com duração de 6 a 12 horas. Não foram descritos eventos adversos graves. Eventos

adversos leves ocorreram em 1,4% e incluíram náuseas (0,39%), raramente vômitos, hipotensão transitória sem choque (0,5%), eritema do local da injeção (0,35%), erupção cutânea difusa autolimitada (0,04) e dor epigástrica leve (0,09).

O extravasamento subcutâneo da fluoresceína durante injeção é raro (< 3% das injeções em estudos oftalmológicos), mas pode causar tromboflebite superficial. Na dependência da quantidade de fluoresceína extravasada, pode ocorrer celulite ou necrose tecidual. Injeção intra-arterial foi relatada, mas é rara e nenhuma sequela grave foi descrita.

Sendo assim, o diálogo com paciente sobre riscos e benefícios da realização de *CLE* com fluoresceína deve ser sempre realizado antes do procedimento. Instruções padronizadas e consentimento informado por escrito relacionados a *CLE* devem ser fornecidos pelo enfermeiro/médico antes do procedimento e entregues ao paciente no momento da sua alta.

Antes do exame, o paciente deve ser alertado de que a cor da pele ficará amarelo-alaranjada e, portanto, deverá evitar exposição à luz por 2 dias, pois poderá se tornar bronzeada e avermelhada. Também deve ser informado sobre a coloração amarelo-fluorescente da urina por 1 dia ou mais (24 a 36 horas). É importante certificar-se sobre o uso de lentes de contato, pois sua cor pode ficar alterada em contato com a fluoresceína, devendo ser removidas antes do procedimento.

O teste de alergia à fluoresceína deve ser sempre realizado antes de *CLE*, administrando-se endovenosamente 0,1 mL a 10%, no intuito de verificar o aparecimento de possíveis reações adversas como erupções no peito, costas e ombros (em até 10 minutos após dose de teste). Deve-se verificar parâmetros vitais antes da sedação e considerar necessidade do uso de anti-histamínico H1 difenidramina (Benadryl®, 25 mg a 50 mg) juntamente com sedativos, caso seja necessário⁵⁸.

3.4.3.2.2 CLE da Mucosa Escamosa Normal e de CEC

Em 2008, Pech *et al.*¹⁵ foram os primeiros a propor critérios celulares e vasculares de CEC precoce com auxílio de *eCLE* e fluoresceína. De acordo com esses autores, o epitélio escamoso regular caracteriza-se pelas células epiteliais escuras e homogêneas, com arquitetura regular e limites claramente visíveis. Outro critério de normalidade é a presença de capilares da lâmina própria dirigidos para ápice das papilas intraepiteliais, os *IPCL*, destacados pela fluoresceína intravascular¹⁵. Em contrapartida, as lesões neoplásicas foram descritas como células escuras com arquitetura irregular, de tamanhos variados e sem bordas nitidamente visíveis. Além disso, os sinais de neoangiogênese foram descritos como vasos distorcidos, irregulares, alongados e de diâmetro maior. Em todos os casos de malignidade demonstrados histologicamente, houve extravasamento de fluoresceína através das paredes capilares ao tecido intersticial circundante, resultando em maiores áreas de acúmulo difuso do contraste¹⁵. O estudo mostrou acurácia diagnóstica de *eCLE* durante endoscopia em tempo real de 95% e acurácia da avaliação das imagens do confocal de 89%. Sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo foram 100%, 87,5%, 93% e 100%, respectivamente. A concordância intraobservador foi quase perfeita ($\kappa = 0,95$), havendo também grau substancial de concordância interobservador (0,79). Esse estudo concluiu que *eCLE* permite ao endoscopista realizar exame histológico *in vivo* da mucosa gastrointestinal e distinguir entre tecido neoplásico e não neoplástico em tempo real. O presente estudo mostrou que epitélio escamoso normal e neoplásico de esôfago podem ser diferenciados de forma confiável usando *eCLE*. Como *eCLE* não é capaz de examinar estruturas nucleares, o diagnóstico de malignidade baseia-se, principalmente, nas mudanças da arquitetura celular e vascular¹⁵.

Liu *et al.*⁵⁶ estudaram características endomicroscópicas de células e *IPCLs* de pacientes com CE utilizando *eCLE* (Pentax EC-3870K, Pentax Corporation, Tokyo, Japan). Imagens confocais foram comparadas com histologia correspondente. Seus achados foram semelhantes ao estudo de Pech *et al.*¹⁵. No esôfago normal, os *IPCLs* percorriam perpendicularmente em direção ao epitélio por dentro da lâmina própria intrapapilar e foram destacados pela fluoresceína. O epitélio escamoso normal apresentou-se como agrupamento de células planas distribuídas homogeneamente, interrompidas pela presença de *IPCLs*. Por outro lado, o CEC foi caracterizado como células escuras de tamanhos diferentes com arquitetura irregular. A neoangiogênese tumoral de CEC foi identificada pela presença de *IPCLs* distorcidos e irregulares, capilares alongados, fluxo anômalo e extravasamento da fluoresceína no espaço intersticial intrapapilar. Já, na esofagite, havia células inflamatórias dispersas por entre as células escamosas normais e fluoresceína extravasada que expandiam o espaço intersticial, além da presença de *IPCLs* sem grandes alterações. As imagens confocais mostraram proporção significativamente maior das células epiteliais escamosas com arranjo irregular (79,4% *vs.* 10,0%, $p < 0,001$), aumento do diâmetro de *IPCLs* (26,0 μm *vs.* 19,2 μm , $p < 0,001$), e *IPCLs* irregulares (82,4% *vs.* 36,7%, $p = 0,0002$) no grupo com CE em comparação com controles. *IPCLs* amorfos com vasos tortuosos (44,1% *vs.* 0%, $p < 0,0001$) e *IPCLs* de ramificação longa (23,5% *vs.* 3,3%, $p = 0,0204$) foram frequentemente observados no grupo com CE.

3.4.3.2.3 Escore de Maturação Superficial

Como já discorrido anteriormente, o diagnóstico histopatológico padrão-ouro de NIE escamosa é determinado, principalmente, pela presença de atipia nuclear e perda de maturação normal da superfície. Essa maturação superficial é caracterizada pela transição gradual da morfologia celular cuboidal (a partir das camadas basais), para plana (das camadas superficiais), sendo uma das principais características existentes nas lesões não neoplásicas, que distingue das neoplásicas.

Li *et al.*⁵⁹ desenvolveram escore numérico de maturação superficial (EMS) para diferenciar lesões neoplásicas das não neoplásicas, baseado na reconstrução endomicroscópica tridimensional do epitélio escamoso esofágico. Foram utilizadas imagens obtidas de *eCLE* processadas posteriormente para reconstrução digital em 3D. Quatro principais características de maturação superficial das células escamosas (halo, gradiente, polaridade e efeito de bússola) foram descritas para o cálculo do EMS, conforme ilustrado na Figura 24.

Figura 24 - Ilustração das quatro características de maturação (halo, gradiente, polaridade e efeito de bússola) utilizadas para o cálculo do escore de maturação superficial do epitélio escamoso esofágico por *eCLE* [Fonte: Adaptado de Li *et al.*⁵⁹]

Em primeiro lugar, foi descrita a presença de estrutura oval em formato de halo correspondente ao espaço intercelular em torno do *IPCL*, cuja intensidade gradualmente diminui de dentro para fora.

A segunda característica de maturação superficial foi o gradiente, que corresponde ao adelgaçamento da espessura celular ao redor do *IPCL* de dentro para fora, ou seja, a partir da morfologia cuboidal das camadas basais, para plana das camadas mais externas.

Em terceiro lugar, em corte oblíquo, cada halo estendeu-se para a mesma direção da subida do *IPCL* correspondente. Essa característica foi denominada de polaridade.

Em quarto lugar, no mesmo campo da imagem confocal, foi possível observar que diferentes halos em torno dos respectivos *IPCLs* indicavam para mesma direção. Esses halos polarizados assemelhavam-se a várias bússolas apontando para a mesma direção, sendo essa característica denominada de “efeito de bússola”.

Cada imagem confocal obtida foi classificada de acordo com essas quatro principais características, contabilizando 1 ponto para presença e 0, para ausência. Com a somatória das pontuações, que variou de 0 a 4, calculou-se o EMS final. A ausência completa de todas as quatro características (EMS = 0) foi considerada NIE. Tanto a sensibilidade (81,0%, IC 95% - 58,1% a 94,6%), quanto a especificidade (90,7%, IC 95% - 77,9% a 97,4%) de EMS foram superiores às abordagens confocais anteriores na distinção de NIE escamosa das outras lesões não invasivas⁵⁹.

Uma vez que a angiogênese é processo imprescindível durante a carcinogênese, a maioria dos métodos de rastreamento endoscópico descritos previamente, como endoscopia de magnificação, *NBI* e *eCLE*, concentra-se no valor diagnóstico das alterações microvasculares para predição de CEC precoce e NIE escamosa esofágica. Porém, o rendimento diagnóstico de NIE somente pelas alterações microvasculares parece ser limitado. Assim, de acordo com Li *et al*, as avaliações das quatro características de EMS, além da morfologia microvascular e celular, são fundamentais para determinação de maturação superficial do epitélio pela endomicroscopia confocal.

4 MÉTODOS

O estudo prospectivo foi aprovado pela Comissão de Ética do Departamento de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e do Instituto do Câncer do Estado de São Paulo (ICESP) (Anexo A). O protocolo foi registrado no ClinicalTrials.gov (identificador NCT02284802).

Foram incluídos pacientes consecutivos com CCP atendidos no ICESP, em vigilância endoscópica de segundo tumor primário de esôfago, que apresentaram um ou mais lesões superficiais Lugol negativas durante endoscopia digestiva alta (EDA) preventiva. Todos os pacientes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo B).

Os critérios de inclusão foram: pacientes com idade entre 18 a 75 anos, portadores de lesões Lugol negativas > 6 mm e sem histórico de tratamento prévio de neoplasia de esôfago. Os critérios de exclusão foram: alergia ao iodo, frutos do mar e fluoresceína, presença de comorbidades que contraindicassem o procedimento endoscópico sob sedação profunda.

4.1 Endoscopia com CL

Rotineiramente no ICESP, todos os pacientes com CCP são seguidos com rastreamento endoscópico de vigilância de segundo tumor primário de esôfago. Entre 2010 a 2018, foram realizadas no ICESP 32.723 EDAs, sendo 13,84% em pacientes com CCP (4531/32723). A CL foi realizada em 8% das EDAs (2620/32723)⁶⁰. É importante destacar que este dado decorreu pelo fato de que pacientes com CCP também podem ser submetidos a sessões de dilatação endoscópica (semanais a mensais), passagem de sonda nasoenteral ou próteses endoscópicas, e outros procedimentos além da CL.

Após endoscopia convencional com LB e utilização de *NBI* sem magnificação nesses pacientes, a CL é realizada na concentração de 1,25% a 2,5% naqueles sem histórico de alergia ao corante (Figura 25). As lesões suspeitas são submetidas a biópsias e/ou encaminhadas à ressecção endoscópica programada. Ao término do exame, 20 mL de solução de hipossulfito de sódio a 0,5% é aplicada na mucosa para inativação do Lugol e reduzir as reações adversas decorrentes da solução.

Figura 25 - Fotos endoscópicas de lesão esofágica suspeita para neoplasia em paciente com câncer de cabeça e pescoço sob vigilância endoscópica. A, Lesão plana observada à luz branca (seta). B, A mesma lesão não corada à cromoscopia com Lugol (seta)

Neste estudo, as lesões Lugol negativas foram precisamente delimitadas de acordo com a distância medida a partir da arcada dentária superior (ADS), juntamente com descrição minuciosa das características macroscópicas conforme Classificação de Paris³¹ e mensuração do seu tamanho.

Uma vez que a absorção intracelular da solução de Lugol pode interferir na captação da fluoresceína e, conseqüentemente, na obtenção das imagens de *pCLE*, foi agendado novo procedimento endoscópico para realização de *pCLE* após 2 a 4 semanas. No momento da cromoendoscopia diagnóstica, as biópsias não foram realizadas, para evitar prejuízo da análise das imagens de *pCLE*.

Deve-se ressaltar que, para utilização de *pCLE* nesses pacientes, foi realizado treinamento específico dos examinadores (ERB, AVSR) por cerca de um ano antes do início do estudo, em encontros nacionais e internacionais de endomicroscopia confocal, além da capacitação mediante análise de vídeos e artigos específicos.

4.2 Procedimento com *pCLE*

Antes da realização de *pCLE*, os pacientes foram submetidos a teste alérgico com injeção intravenosa de 0,1 mL de fluoresceína a 10%. Os 4,9 mL restantes foram diluídos em um frasco de 100 mL de solução salina, acoplado ao equipo conforme Figura 26.

Figura 26 - Frasco de 100 mL de soro fisiológico com 4,9 mL de fluoresceína a 10% acoplado ao equipo

Sob sedação profunda com propofol, fentanil e midazolam, todos os pacientes foram submetidos à nova EDA com LB, *NBI* e *pCLE*. Previamente ao estudo endoscópico, a mucosa esofágica foi lavada com 20 mL de solução de N-acetilcisteína a 10%, para retirada de muco e secreções aderidas. Foi realizada identificação da lesão suspeita mediante a descrição endoscópica prévia com *NBI* (Figura 27). Imagens e vídeos registrados da endoscopia prévia também contribuíram para identificação das lesões. Em seguida, na ausência de reações alérgicas, administrou-se intravenosamente e por gotejamento, a fluoresceína restante diluída em 100 mL de solução salina.

Figura 27 - Procedimento de endomicroscopia confocal guiada por *narrow-band imaging* da lesão descrita na Figura 25 (seta)

Utilizou-se endoscópio de calibre de 9,8 mm e canal de biópsia de 2,8 mm (GIF H180, Olympus - Tóquio, Japão) com colocação de *cap* transparente de 0,4 cm em sua ponta distal para facilitar a estabilidade da sonda durante o exame. Ao início da administração de fluoresceína, a sonda de endoscopia confocal foi introduzida através do canal de trabalho do endoscópio (Figura 28).

Figura 28 - Procedimento de endomicroscopia confocal com sonda. A, Sonda de endomicroscopia confocal usada na mucosa gastrointestinal. B, C, Introdução da sonda pelo canal de trabalho do endoscópio. D, Realização do exame endoscópico (à esquerda) com visualização endomicroscópica em tempo real (à direita)

A aquisição das imagens confocais sem artefatos de movimento foi essencial para diagnóstico. Evitou-se a utilização de escopolamina em todos os exames para reduzir a interferência da taquicardia decorrente da medicação. Qualquer movimento mínimo da mucosa esofágica, quer seja por batimentos cardíacos e/ou movimentos respiratórios, quer seja pela movimentação do endoscópio, foi causador de distorção das imagens.

A característica tubular esofágica dificultou o posicionamento adequado da sonda de *pCLE* de forma perpendicular à mucosa para obtenção adequada das imagens. Por isto, aplicou-se leve sucção da mucosa para dentro do *cap*, a fim de se alcançar posição ótima e estável do endoscópio e da sonda.

4.3 Sistema de Classificação de *pCLE*

Este estudo utilizou o sistema de classificação de *eCLE* descrito por Liu *et al.*⁵⁶ mediante análise da morfoarquitetura celular e dos vasos (*IPCL*). A neoangiogênese tumoral de CEC foi identificada mediante presença de *IPCLs* distorcidos e irregulares, capilares alongados, fluxo anômalo e extravasamento da fluoresceína no espaço intersticial intrapapilar. Na esofagite foram observadas células inflamatórias dispersas permeando células escamosas preservadas, extravasamento de fluoresceína e expansão do espaço intersticial, sem grandes alterações do *IPCL*^{15,56}.

O EMS proposto por Li *et al.*⁵⁹ também foi aplicado neste estudo. O escore final foi determinado pela análise dos halos ao redor de *IPCLs*, classificando-os de acordo com sua presença ou não, gradiente, polaridade e “efeito de bússola”. Conforme esse escore, foi considerada lesão maligna quando as quatro características estavam ausentes; por outro lado, considerou-se lesão benigna, quando pelo menos uma característica estava presente.

Assim, no presente estudo de *pCLE*, no intuito de empregar as classificações propostas de *eCLE* descritas acima, foram avaliadas: irregularidade celular e tamanho de *IPCL* [de Liu *et al.*⁵⁶], e características de maturação superficial [de Li *et al.*⁵⁹]. Portanto, quando os vasos estavam aumentados com irregularidade celular presente, de acordo com Classificação de Liu *et al.*⁵⁶, a lesão foi considerada maligna. Lesões que não apresentavam características de MS, sugerido por Li *et al.*⁵⁹, também foram consideradas malignas. Portanto, somente quando todos os padrões compatíveis com malignidade sugeridos por ambas as classificações não estavam presentes, lesão foi considerada benigna.

Analizou-se, ainda, o alargamento intersticial caracterizado pela presença de extravasamento de fluoresceína e de células inflamatórias, definidas por pequenas estruturas redondas e pretas, sugestivas de linfócitos. Cogitou-se a hipótese que a presença desses achados na ausência de características de malignidade descritas por Liu *et al.*⁵⁶ e de Li *et al.*⁵⁹, poderia dar mais embasamento para diagnóstico das alterações inflamatórias benignas.

Imagens em tempo real e vídeos de *pCLE* foram analisados por dois investigadores sem cegamento. Durante o procedimento de *pCLE*, os examinadores interpretaram imagens *in loco*; todavia, em casos de incerteza diagnóstica, foram reproduzidos, consecutivamente, vídeos gravados em câmera lenta para se alcançar o diagnóstico de consenso.

Após diagnóstico por *pCLE*, todas as lesões suspeitas foram estudadas histologicamente, com auxílio de biópsia ou de ressecção endoscópica. Esta última foi escolhida para lesões pequenas, a fim de se evitar retração ou distorção cicatricial relacionadas à biópsia, que poderia interferir com procedimento endoscópico

adicional. Todos os espécimes histológicos foram obtidos imediatamente após *pCLE*; assim, os endoscopistas desconheciam esses resultados no momento do procedimento endoscópico. Espécimes de biópsias ou de ressecções endoscópicas foram fixados em solução de formalina a 10%. Um patologista sênior, que desconhecia os resultados de *pCLE*, realizou o estudo histopatológico com cegamento.

Deve-se ressaltar que, antes da ressecção endoscópica, seja por *ESD* ou por *EMR*, a CL foi utilizada para demarcação da lesão. Essa estratégia representou passo importante para identificação precisa das margens laterais do tumor.

Os resultados histológicos foram comparados com achados de *pCLE*. O diagnóstico histológico adotado foi a Classificação de Vienna³⁵. Pelo fato do nível de invasão neoplásica não ser avaliável por *pCLE*, denominações de NIE de AG, câncer intramucoso e câncer submucoso foram denominadas de CEC.

4.4 Análise Estatística

Acurácia, sensibilidade, especificidade, valores preditivos negativo e positivo, e razões de verossimilhança positiva e negativa com respectivos intervalos de confiança de *pCLE* para diagnóstico das lesões neoplásicas foram calculadas utilizando-se os achados histológicos como critério padrão.

O teste exato de Fisher ou χ^2 foram usados para associação entre variáveis categóricas, e teste t para variáveis contínuas. Todos os testes foram pareados e $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. Análises foram realizadas com software SPSS, versão 18.0 (SPSS Inc., Chicago, III).

5 RESULTADOS

De janeiro de 2014 a agosto de 2015, foram realizadas 615 EDAs em 497 pacientes com CCP para vigilância anual de CE com CL. Vinte e oito pacientes consecutivos que apresentaram lesões Lugol negativas foram reagendados para realização de *pCLE*. O fluxograma da sequência dos processos do estudo está representado na Figura 29. A planilha com os dados completos dos pacientes, consumo de tabaco/álcool, localizações do CCP, características das lesões Lugol negativas, achados de *pCLE*, resultados anatomopatológicos (AP) e tratamento do CEC encontram-se no Anexo C.

Figura 29 - Fluxograma dos pacientes estudados

Um paciente foi excluído do estudo durante o exame de *pCLE* por apresentar descamação intensa e difusa da mucosa, provavelmente secundária à esofagite química após ser submetido à CL duas semanas antes (Figura 30). Nesse exame anterior, foi identificada uma lesão Lugol negativa de 10 mm. Após a resolução do processo inflamatório, foram realizadas duas EDAs posteriores de controle e, no entanto, não foram detectadas lesões superficiais suspeitas ao exame com *NBI* e magnificação. Apesar disso, de acordo com a localização, foi realizada EMR da área suspeita, cujo AP foi de esofagite crônica inespecífica associada à fibroplasia da lâmina própria. Nos seguimentos endoscópicos desse paciente, no entanto, não foram identificadas outras lesões endoscopicamente suspeitas até o momento.

Figura 30 - A, Foto endoscópica de lesão suspeita Lugol negativa duas semanas antes de *pCLE* (seta); B, Foto endoscópica à luz branca do mesmo local, após esofagite química descamativa intensa secundária à solução de Lugol (seta)

A Tabela 1 resume os dados dos pacientes estudados, consumo de tabaco/álcool e localizações do CCP. A média de idade foi 59 anos (DP = 8,8), sendo 70,4% homens. Todos os 27 pacientes eram tabagistas, 22 deles (81,5%) com histórico de abuso de álcool. Vinte e três pacientes eram da etnia branca e quatro da etnia negra. As localizações dos CCP primários prévios foram: cavidade oral (n = 13), laringe (n = 10) e faringe (n = 4). Trinta sete lesões suspeitas de 27 pacientes foram detectadas e estudadas.

Tabela 1 - Dados dos pacientes, consumo de tabaco/álcool e localizações do CCP

Média de idade (variação)	59 anos (43 a 75)
Sexo (masculino)	70,4%
Tabagismo n (%)	27 (100%)
Alcoolismo n (%)	22 (81,5%)
Câncer de cabeça e pescoço (n)	
Cavidade oral	13
Laringe	10
Faringe	4

Todas as 37 lesões suspeitas foram diagnosticadas histologicamente após *pCLE*, sendo realizadas, no total, 36 biópsias e uma *EMR* (lesão de 10 mm suspeita para neoplasia). A histologia final resultou em 20 lesões não neoplásicas ou benignas (dezenove esofagites, uma acantose e uma hiperplasia) e 17 CEC (nove lesões com NIE de AG e oito com CEC invasivo). Diante do diagnóstico histológico final de CEC, foram realizadas 10 *ESD* (de sete pacientes) e três *EMR* (de dois pacientes). Três pacientes restantes, que tinham quatro CEC de esôfago, foram submetidos à QRT para CCP, mas evoluíram com progressão da doença primária e/ou eventos adversos resultantes do tratamento e foram à óbito durante o seguimento.

5.1 Achados Endoscópicos

O tamanho das lesões Lugol negativas variou de 6 mm a 80 mm (média: 19,9 mm, DP = 16,7); sendo que o tamanho médio das lesões malignas foi maior: 30,4 mm (variação, 10 mm - 80 mm, DP = 18,7) e o das benignas, menor: 11 mm (variação, 6 mm - 40 mm; DP = 7,29), com diferença estatisticamente significativa ($p = 0,0001$). No entanto, destacam-se quatro lesões que receberam diagnóstico de CEC (detectados em três pacientes) e que tinham tamanho igual ou menor de 15 mm. As características macroscópicas das lesões benignas e malignas, Classificação de Paris e tratamento estão pormenorizadas na Tabela 2. As medidas das lesões para cálculo estatístico encontram-se no Anexo D.

Tabela 2 - Características macroscópicas das lesões benignas e malignas, Classificação de Paris e tratamento do CEC

		Lesões benignas (n = 20)	Lesões malignas (n = 17)
Tamanho médio em mm (variação)		11,0 (6,0-4,0)	30,4 (10,0-80,0)
Localização em esôfago	Superior	1,0	5,0
	Médio	10,0	12,0
	Inferior	9,0	
Classificação macroscópica de Paris		0-IIb (n = 16)	0-IIb (n = 9)
		0-IIb + IIc (n = 2)	0-IIb + IIc (n = 3)
		0-IIc (n = 1)	0-IIb + IIa (n = 4)
		0-IIa (n = 1)	0-IIa + IIb (n = 1)
Tratamento			ESD (n = 10)
			EMR (n = 3)
			QRT / óbito (n = 4)*

ESD: Endoscopic Submucosal Dissection

EMR: Endoscopic Mucosal Resection

* QRT: Quimiorradioterapia para tratamento de câncer de cabeça e pescoço

De acordo com a Classificação de Paris³¹, a maioria do CEC correspondeu ao tipo 0-IIb (nove lesões), seguida de 0-IIb + IIa (quatro lesões), 0-IIb + IIc (três lesões) e 0-IIa + IIb (uma lesão). Quanto às lesões benignas, o tipo 0-IIb também foi o mais frequente (dezesseis lesões), seguido por 0-IIb + IIc (duas lesões), 0-IIc e 0-IIa (uma lesão cada). Não houve diferença significativa entre as classificações macroscópicas de CEC e de lesões benignas.

5.2 Achados Endomicroscópicos

A difusão da fluoresceína ocorreu através de *IPCLs*, com realce e delimitação gradativa do espaço intercelular adjacente, com formação de halo (Figura 31). Após alguns minutos, os citoplasmas das células escamosas normais ficaram claros e brilhantes, com evidência de núcleos centrais redondos, pequenos e regulares (Figura 32).

Figura 31 - Imagens iniciais de capilar intrapapilar com fluxo de hemácias (seta amarela) à endomicroscopia confocal, com delimitação gradativa do halo (seta vermelha) por difusão do fluoróforo

Figura 32 - Aspecto endomicroscópico das células escamosas normais, em formato de “escama”, com núcleos centrais redondos, pequenos e regulares (seta)

As imagens de *pCLE* demonstraram ausência ou leve irregularidade das células epiteliais escamosas em 90% das lesões benignas, e irregularidade celular moderada ou intensa em 76,5% das lesões malignas ($p < 0,0005$). A Figura 33 ilustra exemplos de imagens de *pCLE* da mucosa esofágica (normal, esofagite, NIE e CEC *in situ*), com seus achados histopatológicos correspondentes.

Figura 33 - Fotos de *pCLE* e achados histopatológicos correspondentes. A, Epitélio escamoso esofágico normal visualizado por *pCLE*: presença de grandes células poligonais, capilar intrapapilar normal (seta) e espaço intersticial adjacente (tênue camada intrapapilar) quase inexistente. B, Aspecto histológico de epitélio escamoso estratificado não queratinizado normal, com capilares intrapapilares normais (setas) (HE, 400x). C, Imagem de esofagite por *pCLE*: presença de aumento intersticial identificado pela borda brilhante densa intrapapilar (setas). D, Corte histológico de esofagite com alongamento das papilas (seta vermelha) e espongiose (edema intercelular) (seta preta) (HE, 400x). E, Imagem de neoplasia intraepitelial de alto grau por *pCLE*: presença de células pequenas de tamanho e formato irregulares, além do realce e alargamento do interstício. F, Corte histológico de carcinoma espinocelular *in situ*, com aumento da relação núcleo/citoplasma, hipercromasia nuclear ocupando metade inferior e superior do epitélio (HE, 400x). G, Imagem de carcinoma invasivo por *pCLE*: presença de pequenas células com tamanho e formato irregulares, além do aumento do interstício. H, Corte histológico de carcinoma invasivo, com infiltração de blocos de células tumorais pouco diferenciadas (HE, 400x)

O aumento do diâmetro de *IPCLs* ($> 20 \mu\text{m}$) foi observado em 12,5% das lesões benignas, em comparação com 94,1% das lesões malignas ($p < 0,0001$). Não houve diferença estatisticamente significativa entre lesões benignas e malignas em relação ao grau de inflamação. O alargamento intersticial foi considerado moderado ou intenso em 65% das lesões benignas e 23,5% das lesões malignas ($p < 0,02$). De acordo com EMS utilizando parâmetros de halos ao redor de *IPCLs*, gradiente, polaridade e efeito de bússola, houve diferença significativa entre lesões benignas e malignas ($p < 0,0001$). Exemplos de lesões benignas e malignas visualizadas por *pCLE* estão ilustradas na Figura 34. Os resultados dos achados de *pCLE* encontram-se na Tabela 3.

Figura 34 - Imagens de lesão esofágica benigna (A, B, C) e lesão maligna (D, E, F) por *pCLE*. A, Epitélio normal, com grandes células poligonais (seta). B, Alça capilar intrapapilar (*IPCL*) normal (seta), com espessura preservada do interstício, além de halo, gradiente e polaridade preservados. C, *IPCLs* com efeito de bússola (setas). D, Irregularidade celular intensa (setas), com realce e alargamento intersticial. E, *IPCLs* dilatados (seta), com ausência de gradiente, polaridade e efeito de bússola. F, *IPCLs* com ausência de todas as características de maturação superficial do epitélio escamoso esofágico (seta), caracterizando carcinoma espinocelular

Tabela 3 - Resultados dos achados de *pCLE*

	Lesão benigna	Lesão maligna	P	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	VPP (%)	VPN (%)	Acurácia (%)
Tamanho (mm)								
Médio	11	30,14	0,0001*					
IC 95%	±3,4 a ±4,66	±8,6 a 13,24						
DP	7,29	18,7						
Classificação de Liu et al. ⁵⁶								
Irregularidade celular								
Normal/Leve	18	4	0,0005*	76,5	90	86,7	81,8	83,8
Moderada/Intensa	2	13						
IPCL								
Normal	16	1	<0,0001‡	94,1	88,9	88,9	94,1	91,4
Anormal	2	16						
Não avaliável	2	0						
Classificação e Li et al. ⁵⁹								
Halo								
Presente	17	1	<0,0001‡	94,1	94,4	94,1	94,4	94,3
Ausente	1	16						
Não avaliável	2	0						
Gradiente								
Presente	15	0	<0,0001‡	100	93,7	94,4	100	97
Ausente	1	17						
Não avaliável	4	0						
Polaridade								
Presente	15	0	<0,0001‡	100	93,7	94,4	100	97
Ausente	1	17						
Não avaliável	4	0						
Efeito de bússola								
Presente	15	1	<0,0001‡	94,1	93,7	94,1	93,7	93,9
Ausente	1	16						
Não avaliável	4	0						
Parâmetros inflamatórios								
Grau de inflamação								
Normal/Leve	14	7	0,1*	70	30	33,3	37,5	35,1
Moderada/Intensa	6	10						
Alargamento intersticial								
Normal/Leve	7	7	0,02*	76,5	65	65	76,5	70,3
Moderada/Intensa	13	14						

* teste de Fisher; ‡ teste do χ^2 ; VPP: Valor Preditivo Positivo; VPN: Valor Preditivo Negativo; IPCL: *Intrapapillary capillary loops*

Comparando-se com resultado histológico final, o diagnóstico de *pCLE* foi correto em 91,9% das lesões (34/37 lesões). As Figuras 35 a 37 ilustram imagens endoscópicas e de *pCLE* de lesões malignas esofágicas do estudo.

Figura 35 - A, Foto endoscópica de neoplasia maligna Lugol negativa em esôfago cervical. B, Imagem correspondente de *pCLE*, demonstrando irregularidade celular e arquitetural. C, Foto endoscópica após ressecção endoscópica da mucosa, cujo anatomopatológico confirmou carcinoma espinocelular

Figura 36 - Fotos endoscópicas de lesão maligna 0-IIb (A, B, C, E). A, Imagem à luz branca (seta). B, Imagem com *narrow-band imaging* (seta). C, Foto após solução de Lugol (seta). D, Imagem correspondente de *pCLE* demonstrando irregularidade celular intensa (seta). E, Foto pós-ressecção endoscópica da lesão, cujo resultado anatomopatológico confirmou carcinoma espinocelular

Figura 37 - Foto endoscópica de lesão maligna esofágica 0-IIb+IIc (A, B). A, Imagem à luz branca (setas). B, Imagem à cromoendoscopia com solução de Lugol (setas). C, Foto correspondente de *pCLE* demonstrando ausência de halos e presença de vaso intensamente dilatado (seta vermelha), associada à irregularidade celular (seta amarela). D, Foto de espécime após dissecação endoscópica de submucosa, que confirmou carcinoma espinocelular

Das 19 lesões consideradas benignas, uma não recebeu o diagnóstico correto por *pCLE* (falso-negativo): era uma das lesões de uma paciente que tinha dois CEC *in situ* de 20 mm, sendo ambas tratadas por *EMR*. Das 18 lesões interpretadas como malignas, duas eram benignas (falso-positivas), que exibiam processo inflamatório moderado a intenso: uma decorrente de processo actínico pós-tratamento de CCP primário, de 8 mm (Figura 38) e outra, de 10 mm, com arquitetura polipoide por hiperplasia epitelial.

Figura 38 - A, Foto endoscópica de lesão benigna Lugol negativa. B, Devido às alterações inflamatórias moderadas decorrentes de processo actínico (seta), a lesão foi erroneamente interpretada como maligna por *pCLE*

Por outro lado, o *pCLE* conseguiu orientar adequadamente biópsias dirigidas de duas lesões sugestivas de malignidade à endoscopia, porém com diagnósticos histológicos prévios de esofagite. Ambas as lesões tiveram confirmação histológica de CEC após biópsias dirigidas, sendo submetidas, posteriormente, à ressecção endoscópica pela técnica de *ESD* (Figura 39).

Figura 39 - A, Foto endoscópica de lesão Lugol negativa maligna extensa 0-IIb-IIc (setas), cujas biópsias prévias resultaram em esofagite. B, Imagem de *pCLE* que demonstra vasos grandes e tortuosos (seta vermelha), além de irregularidade celular (seta amarela), o que possibilitou biópsia direcionada da área suspeita de malignidade. C, Foto endoscópica após dissecação endoscópica circunferencial da submucosa

A sensibilidade, especificidade, acurácia e valores preditivos positivos e negativos de *pCLE* para diagnóstico histológico de lesão maligna (CEC) em pacientes com CCP foram, respectivamente, 94,1% (95% CI: 0,73-0,98), 90% (95% CI: 0,69-0,97), 91,9%, 88,9%, e 94,7%. Razão de verossimilhança positiva foi 9,41 (95% CI: 2,51-35,23), razão de verossimilhança negativa foi 0,06 (95% CI: 0,01-0,44), e *odds ratio* do diagnóstico foi 144,00 (95% CI, 11,9-1742,26).

Efeitos adversos causados pela injeção de fluoresceína não foram observados neste estudo, embora alterações transitórias da cor da pele e urina foram relatadas em todos os pacientes, com duração de 6 a 12 horas.

Resultados estatísticos dos dois sistemas de Classificação de Liu *et al.*⁵⁶ e de Li *et al.*⁵⁹ estão demonstrados na Tabela 4. As planilhas com achados de *pCLE* encontram-se detalhados no Anexo E.

Tabela 4 - Resultados estatísticos de acordo com Classificações de Liu *et al.*⁵⁶ e de Li *et al.*⁵⁹

Classificação	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	VPP (%)	VPN (%)	Acurácia (%)
Liu <i>et al.</i> ⁵⁶	94,1	90	88,9	94,7	91,9
Li <i>et al.</i> ⁵⁹	94,1	95	94,1	95	94,6
Ambas	94,1	90	88,9	94,7	91,9

VPP: valor preditivo positivo; VPN: valor preditivo negativo

6 DISCUSSÃO

Nos últimos 20 anos, inovações tecnológicas de última geração mudaram drasticamente a área da endoscopia gastrointestinal. A evolução da fibra óptica para videoendoscopia forneceu novo formato de exibição com aprimoramento da resolução de imagens, aperfeiçoando, radicalmente, a prática endoscópica diária. Endoscópios e técnicas endoscópicas específicas para diagnóstico foram projetados para melhorar a detecção, especialmente das lesões pré-malignas em estádios precoces que não apresentavam sinais macroscopicamente visíveis. Técnicas como “mão ondulante” (*waving hand*) ou “bandeira vermelha” (*red flag*), que, mediante a utilização de corante (CL), cromoscopia digital (*NBI*), ou autofluorescência, possibilitaram a detecção de NIE oculta⁵¹⁻⁵³.

Dentre essas técnicas, a cromoscopia tornou-se popular como ferramenta endoscópica de aprimoramento diagnóstico, revelando a necessidade crescente da melhoria da definição de imagem, para real caracterização do tecido e das lesões.

A seguinte frase de Meining *et al.*⁵¹, publicada em 2007, descreveu o anseio de “cenário ideal” da endoscopia naquela época, mas que ainda permanece muito atual:

Mas qual é objetivo final do endoscopista? É adotar melhor decisão durante procedimento diagnóstico endoscópico e tratar a lesão de forma adequada, minimamente invasiva. O cenário ideal é examinar estrutura celular *in vivo*, com disponibilidade de se obter imagens microscópicas em tempo real, para realizar biópsias direcionadas e ressecção endoscópica, além de melhorar o atendimento ao paciente (tradução livre de Meining *et al.*⁵¹).

6.1 Caracterização da Casuística Utilizada

Os resultados deste presente estudo demonstraram que *pCLE* é capaz de diferenciar adequadamente 91,9% das lesões Lugol negativas (34/37 lesões). Histologicamente, 20 lesões esofágicas foram consideradas não neoplásicas ou benignas e 17 malignas, encontradas durante a vigilância endoscópica de pacientes com CCP. A sensibilidade e especificidade também foram altas, de 94,1% e 90%, respectivamente. Este estudo confirmou a importância de *pCLE*, especialmente com utilização de EMS e da avaliação das características vasculares, para diferenciação entre lesões superficiais esofágicas malignas e benignas em pacientes com CCP.

Todos os 27 pacientes do estudo eram tabagistas, 22 deles (81,5%) com história de abuso de álcool. Esses dados corroboram o fato de que tumores de trato aerodigestório superior têm os mesmos fatores etiológicos como consumo de tabaco e álcool^{2,4}. Também foi demonstrado em estudo metanalítico, a associação positiva entre consumo diário de álcool com mortalidade por câncer de trato aerodigestório superior, particularmente naqueles pacientes com ingesta moderada a abusiva⁷.

Como mencionado anteriormente, para detecção de CEC precoce de esôfago, a CL tem alta sensibilidade (80% a 96%), porém a especificidade é baixa (40% a 63%)¹⁵. A presença do sinal da cor rosa, que apresenta sensibilidade de 91,9%, pode aumentar a especificidade para 94% na NIE escamosa de AG e CEC^{33,39}. Assim, a endomicroscopia confocal seria boa indicação para distinguir lesões Lugol negativas neoplásicas das não neoplásicas, principalmente naquelas sem o típico sinal da cor rosa, ou naquelas sem alterações características a *NBI*.

Como mencionado anteriormente, a endomicroscopia confocal não permite estudar com detalhes o núcleo das células, sobretudo a cromatina e o nucléolo,

características essenciais na citopatologia. Comparando-se a endocitoscopia com endomicroscopia confocal, a primeira apresenta grande vantagem em acessar detalhes nucleares com auxílio do azul de metileno, o qual é aplicado topicamente como corante vital na lesão-alvo. No estudo de Kumagai *et al.*⁴⁹, a sensibilidade e especificidade da endocitoscopia para lesões malignas foi de 95% e 84%, respectivamente. Por outro lado, apesar da endomicroscopia confocal não ser capaz de estudar os detalhes nucleares, foi possível analisar, minuciosamente, a morfologia dos capilares e o fluxo sanguíneo, além da hemodinâmica e permeabilidade da fluoresceína. Em particular, a endomicroscopia confocal possibilitou o estudo das alterações neovasculares tumorais e extravasamento de fluoresceína, importantes critérios para diagnóstico das lesões neoplásicas malignas.

Liu *et al.*⁵⁶ compararam 34 CEC superficiais de esôfago com 30 áreas de esôfago normal com *eCLE*, em relação à disposição celular e alterações morfológicas de *IPCLs*, e observaram alterações significativas nos dois grupos. Imagens confocais de pacientes com CE superficial apresentaram arranjos irregulares das células escamosas epiteliais, além da morfologia anômala de *IPCLs*, tais como aumento do diâmetro, ramificação longa e morfologia amorfa com vasos tortuosos. Sensibilidade e especificidade do padrão celular irregular foram de 79,4% e 90%, respectivamente. Quanto ao calibre de *IPCL*, o diâmetro médio no grupo CEC superficial foi de 26,0 μm , enquanto que o do grupo controle foi de 19,2 μm , com diferença significativa entre dois grupos ($p < 0,001$). Posteriormente, a curva ROC foi plotada para diâmetro médio de pacientes com CEC e pacientes controles para determinar o valor de corte com maior sensibilidade e especificidade. O valor ótimo de corte entre os dois grupos foi avaliado como 21,2 μm . Vinte e sete das 34 lesões (79,4%) no grupo CEC

superficial apresentaram índice de *IPCL* superior a 21,2 μ m, em comparação com três das 30 amostras de controle (10,0%) ($p < 0,001$). Os *IPCLs* com formas irregulares apareceram mais frequentemente em pacientes com CEC (28/34, 82,4%) do que nos controles (11/30, 36,7%; $p = 0,0002$).

Outros estudos empregaram *eCLE* em epitélio escamoso e neoplasias escamosas com resultados de alta acurácia^{52,53}. De acordo com o estudo de Pech *et al.*¹⁵, na investigação de 43 lesões em 21 pacientes, *eCLE* foi capaz de fornecer histologia óptica de CEC precoce com alto grau de sensibilidade (100%) e especificidade (87%). Neste presente estudo de diagnóstico de CE com auxílio de *pCLE*, foram adotados os mesmos critérios descritos para *eCLE*. Lesões malignas foram diferenciadas das benignas pela presença de irregularidade celular moderada ou intensa ($p < 0,0005$), e diâmetro aumentado de *IPCLs* representando neoangiogênese tumoral ($p < 0,0001$). Por outro lado, o alargamento intersticial, que indica extravasamento de fluoresceína, foi mais intenso nas lesões benignas ($p < 0,02$). Células inflamatórias estavam presentes em ambas as lesões. Ausência de halos em torno de *IPCLs* foi também sinal de lesão maligna, com valor estatisticamente significativo ($p < 0,0001$).

No presente estudo, cogitou-se a hipótese de que a combinação de todos os critérios, com análise das características celulares, *IPCLs* e de maturação superficial, poderia melhorar a acurácia diagnóstica. Observou-se que a combinação de ambos os sistemas de classificação diminuiu a acurácia e especificidade, mas não alterou a sensibilidade. Isso pode ser explicado pelo fato de que lesões inflamatórias também podem apresentar vasos alargados e tortuosos, comprovando que os achados de *IPCL* não devem ser considerados independentes para diagnóstico de malignidade. No

estudo de Li *et al.*⁵⁹, os autores compararam desempenho de seus achados endomicroscópicos com sistema de Classificação de Liu *et al.*⁵⁶ e concluíram que seu método de categorização, baseado nas características de maturação superficial, apresentou maior sensibilidade para diagnóstico de CE. Os resultados neste estudo também corroboram as conclusões de Li *et al.*⁵⁹.

Alargamento intersticial e grau de inflamação foram examinados para melhor classificação das lesões benignas. Apesar dessas características estarem presentes nas lesões malignas, formulou-se a hipótese que elas poderiam também favorecer o diagnóstico de lesões benignas, na ausência de sinais de angiogênese ou de maturação superficial. No entanto, demonstrou-se baixa sensibilidade e acurácia das mesmas para diagnóstico de lesões inflamatórias, como caracterizada na Tabela 3. Os dados para análise estatística encontram-se no Anexo F.

Alguns autores comprovaram acurácia de *eCLE* (guiada pela CL para detecção de CE) equivalente ou superior à biópsia histológica⁶¹. No entanto, o anseio de substituir o exame histológico deve ser visto com cautela. Apesar da baixa curva de aprendizado de *pCLE*, além do fato de que a concordância interobservador entre dois especialistas treinados parece aceitável, aconselha-se ter sempre um patologista treinado participando nos estudos^{62,63}. Essa estratégia foi utilizada neste estudo e um endoscopista/patologista (ERB) auxiliou na realização e análise das imagens obtidas de *pCLE*. Assim, para o aprimoramento do *know-how* do examinador, o treinamento de *pCLE* deve incluir revisão de vídeos gravados, conhecimento de noções básicas sobre as principais características histopatológicas das lesões benignas e malignas, além do treinamento constante de correlação entre achados de *pCLE* e histologia.

No artigo de Prueksapanich *et al.*⁶⁴, 21 lesões precoces esofágicas de 12 pacientes com CCP foram estudadas, nas quais quatro eram NIE de AG e três de BG. Esses autores aplicaram solução de Lugol de baixa concentração (0,5%) antes de *NBI* e de *pCLE*. Eles relataram que o iodo influenciou negativamente na observação da estrutura dos *IPCLs*, prejudicando a avaliação com *NBI* e identificação do sinal da cor rosa. Apesar disso, esses autores mencionaram que solução de Lugol a 0,5% não impediu a análise com *pCLE*. A sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia de *pCLE* foram 83%, 92%, 83%, 92% e 89% *versus* 85%, 62%, 54%, 89% e 70% % de *NBI*, respectivamente.

No entanto, os resultados obtidos no presente estudo foram distintos dos dados de Prueksapanich *et al.*⁶⁴, ou seja, houve influência negativa da CL no *pCLE*, não sendo recomendada sua aplicação no mesmo dia. Também foi identificado um paciente que apresentou esofagite química descamativa mesmo após duas semanas de CL, o que inviabilizou análise adequada de *pCLE*, e causou, consequentemente, sua exclusão do estudo.

Considera-se que grandes lesões Lugol negativas poderiam ter maior chance de serem CEC. Contudo, no presente estudo, quatro lesões menores que 15 mm (sendo uma delas de 10 mm) receberam diagnóstico de CEC por *pCLE*. Isso reforçou a necessidade do exame histológico em tempo real, mediante biópsias ópticas ou espécime ressecado.

O EMS proposto por Li *et al.*⁵⁹ também foi aplicado neste estudo. O escore final foi realizado com análise da presença de halos ao redor de *IPCLs*, classificando-os de acordo com sua presença, gradiente, polaridade e “efeito de bússola”. De acordo com esse escore, as quatro características foram ausentes nas lesões malignas, enquanto que nas lesões benignas, uma delas, pelo menos, esteve presente.

No presente estudo, duas lesões que tinham diagnóstico histológico prévio de esofagite apresentaram características de malignidade com *pCLE*. Elas foram submetidas às biópsias histológicas guiadas por *pCLE* nos locais suspeitos, com diagnóstico final de CEC invasivo. Uma delas, de 50 mm, foi de um paciente submetido a duas biópsias endoscópicas prévias com diagnóstico histológico inconclusivo. Esses dois casos demonstraram o impacto do diagnóstico de *pCLE* na conduta terapêutica adicional. Ambas as lesões, de 50 mm e 20 mm, foram tratadas por *ESD*, com resultado final de CEC invasivo T1a, sem invasão angiolinfática e com margens livres.

Em contrapartida, duas lesões benignas de dois pacientes (8 mm e 10 mm, localizadas em esôfago distal e médio, respectivamente) receberam diagnóstico incorreto de CEC com *pCLE* (falso-positivas). O diagnóstico definitivo dessas duas lesões inflamatórias benignas foi confirmado após biópsia excisional da menor e *EMR* (diagnóstica) da maior. Quando os vídeos de *pCLE* desses dois casos foram reanalisados após confirmação de benignidade, foi possível demonstrar aumento dos vasos em ambos os casos. Um deles apresentava moderada irregularidade celular, com moderado grau de inflamação e intenso alargamento intersticial. As quatro características de maturação superficial estavam presentes e foram equivocadamente interpretadas como ausentes. Na outra lesão, foi confirmada a presença de células regulares, leve grau de inflamação e alargamento intersticial, além de todas as características de maturidade superficial mantidas.

Da mesma forma, o *pCLE* subestimou uma lesão de um paciente que tinha duas lesões Lugol negativas. Essa lesão, que media 20 mm, excepcionalmente não apresentava *IPCLs* anômalos ao *NBI* e *pCLE* mostrava somente leve irregularidade

celular, moderado grau de inflamação e aumento do interstício. Reavaliando os vídeos de *pCLE* dessa lesão após confirmação de malignidade, notou-se que halo e efeito de bússola foram interpretados incorretamente como presentes, embora gradiente e polaridade estivessem ausentes.

Portanto, o diagnóstico de CE com auxílio de *pCLE* deve ser baseado nos resultados combinados de EMS de acordo com as características vasculares e celulares, sendo possível adotar mesmos critérios descritos no *eCLE*. Lesões malignas foram diferenciadas das benignas principalmente pela presença de irregularidade celular moderada ou intensa e diâmetro aumentado de *IPCLs*, que representam a neoangiogênese tumoral.

Essa tecnologia de imagem pode modificar a conduta de pacientes sob vigilância endoscópica de carcinoma escamocelular de esôfago, devido à capacidade de realizar diagnóstico histológico *in vivo* e em tempo real, direcionar biópsias e ressecção endoscópica. Além disso, ela pode evitar investigação diagnóstica adicional ou prevenir tratamento desnecessário de lesões benignas. Após a biópsia óptica, os endoscopistas poderiam proceder imediatamente à ressecção endoscópica de lesões malignas ou à sua programação em segundo tempo. Evita-se, assim, biópsia e fibrose cicatricial da camada submucosa, sem interferir na terapêutica endoscópica subsequente.

6.2 Limitações do Estudo

Há algumas limitações deste estudo que estão citadas sem relação com ordem de importância.

1. A realização de CL e *pCLE* não foi possível no mesmo dia. A interferência de solução de iodo intracelular na difusão de fluoresceína nas células escamosas não permite obtenção adequada das imagens de *pCLE*. Assim, foi necessário reagendar nova EDA alguns dias depois. Essa metodologia pode acarretar algumas dificuldades para demarcação exata da lesão suspeita, especialmente daquelas menores, apesar da localização ser auxiliada por *NBI* e pela descrição endoscópica prévia.

2. O estudo foi realizado em único centro, com pequeno número de pacientes e não foram calculados variação intra e interobservador.

3. Custo. É um grande fator limitante para aplicação de *pCLE* na prática endoscópica no Brasil.

7 CONCLUSÃO

De acordo com resultados da presente pesquisa, pode-se concluir que o método de *pCLE* apresentou elevada acurácia diagnóstica no exame histológico em tempo real de lesões esofágicas Lugol negativas em pacientes com CCP.

8 PERSPECTIVAS

8.1 Visualização do Núcleo

Recentes estudos de *pCLE in vitro* aplicaram etacridina ou acrinol⁶⁵, versão melhorada da acriflavina, que possui capacidade de corar núcleos e auxiliar também na observação do citoplasma em menor grau. No entanto, preocupações teóricas foram levantadas quanto a sua aplicação, pois a coloração do núcleo poderia indicar interação bioquímica, o que acarretaria em potencial risco mutagênico⁴⁸. Assim, estudos de investigação de toxicidade aguda ou danos ao *DNA* serão necessários antes que acrinol ou outras substâncias vitais possam ser aplicados *in vivo*. Há também estudos com instilação de solução de curcumina ou açafrão-da-terra a 35% sobre mucosa esofágica, que resultou na coloração dos núcleos⁶⁶. Os autores desse estudo identificaram diferenças distintas entre tecido não neoplásico (núcleos homogêneos organizados regularmente) e neoplásico (núcleos heterogêneos dispostos irregularmente em maior densidade). O mecanismo de coloração nuclear do aditivo alimentar curcumina continua sendo investigado, e pode ser usado como alternativa à acriflavina para observação segura de *pCLE*.

8.2 Aplicação Tópica de Fluoresceína

Estudos recentes de *pCLE* descreveram método inovador com aplicação tópica de fluoresceína no estômago⁶⁷ e mucosa duodenal⁶⁸ para minimizar efeitos

sistêmicos da substância, como reação alérgica e anafilaxia⁵⁸, além de inibir coloração da pele e mucosas.

8.3 Utilização de *pCLE* em outros órgãos

Aplicações da endomicroscopia confocal em outros órgãos além da mucosa gastrointestinal, vias biliares e pâncreas estão expandindo-se rapidamente, com emprego em cavidade oral, sistema urinário/bexiga e em ginecologia. Recentemente, *FDA* aprovou sua utilização também na cirurgia laparoscópica (2016)⁶⁹, cirurgia robótica (2017)⁷⁰, neurocirurgia (2018)⁷¹ e pneumologia (2019)⁷².

8.4 Aperfeiçoamento Tecnológico

A melhoria da amplitude de penetração do laser, ainda limitada na atualidade, poderia fornecer maior capacidade no diagnóstico das lesões superficiais. Sabe-se que *NBI* emite feixe de luz com capacidade de penetração de, pelo menos, 170 nm da mucosa. Como *eCLE* tem maior capacidade de penetração (250 µm), teoricamente, poderia ultrapassar profundidade de penetração de *NBI*. Assim, Iguchi *et al.*⁷³ comparam aspectos microvasculares de CE superficial observados por *eCLE* com achados encontrados nas mesmas lesões ressecadas por endoscopia ou cirurgia, estudando os padrões microvasculares. Acurácias globais para identificação de tipos celulares e vasculares foram acima de 89% e 85%, respectivamente. Talvez estudos futuros sejam capazes de determinar a profundidade dos microvasos atípicos e calcular seu diâmetro, e, assim, correlacionar com invasão tumoral.

Outro estudo demonstrou que as estruturas microvasculares para diagnóstico de invasão neoplásica por *eCLE* eram mais evidentes em comparação com *NBI*⁵⁵. Além disso, foi factível determinar a profundidade da microvascularização irregular e calcular seu diâmetro. Esse estudo também demonstrou a possibilidade de quantificar o nível de invasão de CE superficial.

Ainda, em uso pré-clínico e experimental não em humanos, o Cellvizio Duas Bandas (Mauna Kea Technologies - Paris, França)⁷⁴ é outro sistema inovador de geração de imagens. Nesse sistema, são aplicadas duas fontes distintas de laser (488 nm e 660 nm) e duas substâncias fluorescentes (acriflavina e FITC-dextran) que são capazes de gerar imagens em duas cores, resultando em melhor contraste e delimitação das estruturas. Além disso, informações morfológicas e funcionais podem ser obtidas nitidamente e em tempo real.

8.5 Inteligência artificial na *pCLE*

Na área da imaginologia, com recentes avanços da inteligência artificial, a análise de imagens endoscópicas assistida por computador é terreno promissor de rápido crescimento. Os principais focos de pesquisa no TGI superior incluem identificação automatizada de displasia em esôfago de Barrett, detecção de câncer precoce de esôfago e estômago. Embora ainda seja experimental, com amostras maiores para treinamento e aprendizado de máquina (*machine learning*) e estudos prospectivos bem planejados, essa nova tecnologia da EDA poderá ser implementada futuramente na prática clínica⁷⁵. Futuramente, aparelhos endoscópicos com várias tecnologias acopladas e assistidos por inteligência artificial podem ser realidade promissora.

8.6 pCLE na Imaginologia Molecular

A utilização da imaginologia molecular na endomicroscopia confocal (*molecular confocal laser endomicroscopy*, ou *mCLE*) é campo inovador que está revolucionando estratégias de condutas na oncologia. Baseia-se na assinatura molecular das células, com finalidade de estudar o corpo humano tanto em condições normais, quanto na doença⁷⁶. Seu surgimento foi impulsionado pelas dificuldades associadas à detecção do câncer, particularmente das lesões pré-malignas em estádios precoces, quando os pacientes são assintomáticos e os achados endoscópicos à LB apresentam alterações mínimas ou nulas da mucosa, já mencionadas anteriormente.

A imaginologia molecular pode ser definida como monitoramento não invasivo e em tempo real da atividade bioquímica ao nível molecular, celular e de tecidos vivos. Com ajuda de instrumentação especializada e agentes de imagem, os médicos são capazes de caracterizar tecido-alvo de acordo com marcadores celulares (Figura 40)⁷⁶.

Figura 40 - Princípio de imaginologia molecular em câncer. A, Células cancerosas expressam marcadores moleculares específicos da membrana celular. B, C, Aplicação tópica ou sistêmica de sonda molecular (por exemplo, anticorpo) marcada com fluorescência liga-se seletivamente aos alvos específicos da célula cancerosa. Com auxílio de técnicas avançadas de imagem, como por exemplo, endomicroscopia confocal, célula-alvo pode ser identificada. D, E, Por outro lado, células preservadas que não possuem características moleculares anormais, não apresentam fluorescência [Fonte: Adaptado de Ahmed *et al.*⁷⁶]

Visto que uma das principais limitações da endomicroscopia confocal é a dificuldade de estudar lesões pré-malignas em estádios precoces não visíveis endoscopicamente, a combinação dessa técnica com moléculas fluorescentes específicas à lesão-alvo pode potencialmente resolver esse problema, além de ser capaz de permitir “imuno-histoquímica *in vivo*” do tecido.

Para estudo endoscópico por imaginologia molecular, vários pré-requisitos devem ser considerados, tais como⁷⁶:

1. Identificação de potencial marcador celular específico da doença;
2. Seleção de sondas moleculares específicas. O requisito principal da sonda é possuir alta afinidade com marcador celular. Além disso, deve ser menos imunogênica, prontamente disponível e com rápida capacidade de penetração. Atualmente, existem várias sondas disponíveis, que incluem anticorpos, fragmentos de anticorpos, peptídeos, nanopartículas, sondas ativáveis e lecitinas.
3. Presença de substância fluorescente (habitualmente corante) que precisa ser conjugada com sondas moleculares para produzir sinal fluorescente distinto.
4. Equipamento de alta resolução e em tempo real para detectar os marcadores.

Embora ainda não seja possível a aplicação da imaginologia molecular na endoscopia de rotina, estudos preliminares em humanos, bem como experimentais em animais, já mostraram potencial promissor da técnica. A imaginologia molecular endoscópica pode ser usada para rastreamento e vigilância de câncer, mas também fornecer informações importantes para decidir estratégias de tratamento, bem como prever a resposta terapêutica individual de cada paciente⁷⁷.

Ao contrário das lesões malignas endoscopicamente visíveis, as neoplasias intraepiteliais expressam níveis mais baixos de moléculas-alvo. Nanopartículas conjugadas podem fornecer incremento dos sinais e apresentam potencial para detecção de neoplasias em estádios iniciais. Assim, vários estudos endoscópicos estão sendo realizados para detectar cânceres gastrointestinais, usando diferentes tipos de nanopartículas⁷⁶.

Existem alguns alvos moleculares bem conhecidos para grande variedade das neoplasias malignas, que incluem receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e receptor do fator de crescimento epidérmico humano 2 (HER2/neu). Anticorpos específicos para esses alvos moleculares foram estabelecidos e aplicados com sucesso na clínica para terapia-alvo em câncer e processos inflamatórios (Figura 41). Alternativamente, esses anticorpos podem ser usados como sondas de imagem direcionadas. Há estudos promissores de utilização de *mCLE* em adenocarcinoma de Barrett, câncer gástrico e na doença de Crohn^{76,77}.

Figura 41 - Ilustração de possíveis alvos moleculares em imaginologia molecular do microambiente inflamatório e tumoral [Fonte: Adaptado de Sommen *et al.*⁷⁷]

8.7 *pCLE* na Ciência Translacional

A endomicroscopia confocal também está sendo usada, atualmente, como ferramenta de estudo para ciência translacional e está causando grande impacto na compreensão da fisiopatologia. Os primeiros resultados sugerem que imagem funcional pode até influenciar algoritmos clínicos e descobrir novas estruturas. Como exemplo recente, cita-se a detalhada descoberta da estrutura e distribuição do interstício, caracterizado por espaços cheios de líquido, espalhados por dentro e por entre os tecidos por todo corpo. Os achados estão sendo considerados tão surpreendentes, que alguns pesquisadores estão considerando interstício como novo órgão dos seres vivos⁷⁸.

Futuramente, esses estudos da endomicroscopia confocal em andamento provavelmente irão possibilitar maior compreensão de estruturas e tecidos vivos, juntamente com interpretação mais facilitada das imagens, principalmente com a utilização da inteligência artificial.

9 ANEXOS

Anexo A - Aprovação da Comissão de Ética e Pesquisa

USP - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - FMUSP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Detecção precoce de tumores do trato digestório pela Endomicroscopia Confocal e Subprojeto: Diagnóstico de carcinoma superficial esofágico de células escamosas em pacientes com câncer de cabeça e pescoço através da endomicroscopia confocal.

Pesquisador: Adriana Vaz Safatle Ribeiro

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 60843316.5.0000.0065

Instituição Proponente: FUNDACAO FACULDADE DE MEDICINA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.938.248

Apresentação do Projeto:

Detecção precoce de tumores do trato digestório pela Endomicroscopia Confocal. Subprojeto: Diagnóstico de carcinoma superficial esofágico de células escamosas em pacientes com câncer de cabeça e pescoço e outras situações de risco para câncer esofágico, através da endomicroscopia confocal.

Objetivo da Pesquisa:

Através da endomicroscopia confocal detectar a presença de carcinoma superficial esofágico de células escamosas em pacientes com câncer de cabeça e pescoço.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os benefícios parecem superar os riscos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Este estudo poderá trazer avanços importantes na proposta de detecção precoce de câncer de esôfago.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Emenda para inclusão da Pesquisadora Executante ELISA RYOKA BABA

Endereço: DOUTOR ARNALDO 251 21º andar sala 36

Bairro: PACAEMBU

CEP: 01.246-903

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3893-4401

E-mail: cep.fm@usp.br

**USP - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - FMUSP**

Continuação do Parecer: 1.938.248

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Encaminhar o CV da pesquisadora executante.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_863223 E1.pdf	08/02/2017 12:22:38		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	JustAus_TCLE.pdf	08/02/2017 12:21:24	Evelise Pelegrinelli Zaidan	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	JustAus_ProjetoPesquisa.pdf	08/02/2017 12:21:17	Evelise Pelegrinelli Zaidan	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	16/09/2016 11:06:15	Adriana Vaz Safatle Ribeiro	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 22 de Fevereiro de 2017

Assinado por:
Maria Aparecida Azevedo Koike Folgueira
(Coordenador)

Endereço: DOUTOR ARNALDO 251 21º andar sala 36
Bairro: PACAEMBU **CEP:** 01.246-903
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3893-4401 **E-mail:** cep.fm@usp.br

Anexo B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

INSTITUTO DO CANCER DO ESTADO DE SÃO PAULO
Octávio Frias de Oliveira
Secretaria de Estado da Saúde

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO: M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO: Nº: APTO:
BAIRRO: CIDADE:
CEP: TELEFONE: DDD (.....)
2. RESPONSÁVEL LEGAL
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
DOCUMENTO DE IDENTIDADE: SEXO: M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO: Nº: APTO:
BAIRRO: CIDADE:
CEP: TELEFONE: DDD (.....)

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: "Detecção precoce de tumores do trato digestório pela Endomicroscopia Confocal"

PESQUISADOR: Dr. Fauze Maluf-Filho

CARGO/FUNÇÃO: Coordenador do Serviço de Endoscopia Digestiva Diagnóstica e Intervencionista - ICESP
INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº CRM: 60.036

UNIDADE: Instituto do Câncer do Estado de São Paulo "Octavio Frias de Oliveira" – ICESP

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO ☒ RISCO MÉDIO ☐
RISCO BAIXO ☐ RISCO MAIOR ☐

4. DURAÇÃO DA PESQUISA: 18 meses.

INSTITUTO DO CANCER DO ESTADO DE SÃO PAULO
Octávio Frias de Oliveira
Secretaria de Estado da Saúde

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

1 – Desenho do estudo e objetivo(s)

O objetivo desta pesquisa é verificar se o exame de endoscopia, associado uma técnica chamada de Endomicroscopia Confocal, pode ser melhor para detectar e acompanhar diversas doenças, quando comparada à endoscopia e à biópsia já realizadas na rotina aqui do ICESP. A endomicroscopia confocal é um exame que utiliza um aparelho (mini sonda de fibra ótica) acoplado ao equipamento de endoscopia, que permite aumentar a imagem para visualizar com maior precisão pequenas estruturas dos tratos gastrointestinal e respiratório.

Você está sendo convidado a participar deste estudo porque faz acompanhamento no Instituto do Câncer, devido a alguma condição a seguir:

1. Displasia de alto grau ou adenocarcinoma esofágico superficial associado ao esôfago de Barrett
2. Câncer de cabeça e pescoço
3. Já realizou a cirurgia de gastrectomia parcial
4. Possui história familiar de câncer gástrico
5. Estenoses biliares
6. Neoplasias císticas do pâncreas
7. Pólipos colorretais

2 – Descrição dos procedimentos que serão realizados, com seus propósitos e identificação dos que forem experimentais e não rotineiros:

Durante o exame de endoscopia do órgão que está sendo examinado por solicitação do seu médico, será colocada uma sonda bem fina através do canal de biópsia do aparelho. Esta sonda bem fina ficará em contato com a parede interna do órgão e produzirá imagens numa televisão. O contato desta sonda não queima, não dói, não perfura e não traumatiza. Para as imagens ficarem mais nítidas, será injetada na sua veia uma substância chamada fluoresceína que não dói. A veia já terá sido puncionada para injetar a sedação do exame endoscópico.

3 – Relação dos procedimentos rotineiros e como são realizados – coleta de sangue por punção periférica da veia do antebraço; exames radiológicos:

Se o seu médico solicitou exame de endoscopia digestiva alta, você receberá uma sedação através da injeção de medicamentos na sua veia. Enquanto você estiver dormindo, passaremos um aparelho de endoscopia pela sua boca e examinaremos seu tubo digestivo mais alto. Se houver alguma área alterada, realizaremos a retirada de material com pinça de biópsia.

Se o seu médico solicitou exame de endoscopia digestiva baixa, ou colonoscopia, você receberá uma sedação através da injeção de medicamentos na sua veia. Enquanto você estiver dormindo, passaremos um aparelho de endoscopia pelo seu reto e examinaremos seu tubo digestivo mais baixo.

Se houver alguma área alterada, realizaremos a retirada de material com pinça de biópsia.

INSTITUTO DO CANCER DO ESTADO DE SÃO PAULO
Octávio Frias de Oliveira
Secretaria de Estado da Saúde

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Se o seu médico solicitou exame de endoscopia das vias biliares, você receberá uma sedação através da injeção de medicamentos na sua veia. Enquanto você estiver dormindo, passaremos um aparelho de endoscopia pela sua boca e examinaremos seu tubo digestivo mais alto. Identificaremos o orifício por onde sai a bile e o suco do pâncreas. Introduziremos ou cateter de plástico neste orifício e injetaremos contraste e realizaremos chapas de raio x para estudar sua via biliar. Se houver alguma área alterada, realizaremos a retirada de material com pinça de biópsia ou escovado citológico. Se necessários colocaremos tubos plásticos ou metálicos para drenar sua via biliar.

Se o seu médico solicitou exame de endoscopia do pâncreas, você receberá uma sedação através da injeção de medicamentos na sua veia. Enquanto você estiver dormindo, passaremos um aparelho de endoscopia com ultrassom pela sua boca e examinaremos seu pâncreas. Se houver alguma área alterada, realizaremos a retirada de material com agulha para punção de pâncreas.

4 – Descrição dos desconfortos e riscos esperados nos procedimentos dos itens 2 e 3.

Os procedimentos Endoscopia Digestiva com biópsia e Endoscopia Digestiva com Endomicroscopia confocal podem causar dor ou desconforto, para isso, medicamentos para aliviar estes sintomas serão administrados antes dos exames. Em casos muito raros, poderá ocorrer perfuração do esôfago ou alguma reação alérgica, para isso, tais procedimentos serão realizados apenas por médicos habilitados e especializados, utilizando equipamentos adequados em locais com todo o suporte necessário para qualquer assistência ao sujeito de pesquisa.

A administração do contraste (fluoresceína) será realizada após avaliação clínica detalhada do médico para evitar potenciais riscos de reação alérgica (queda da pressão arterial, alteração respiratória, manchas vermelhas na pele), provável escurecimento da pele, cor alaranjada da urina por um ou dois dias e enjoo leve. Uma pequena dose teste será administrada para observar riscos de alergias. O contraste é administrado por uma veia no braço, o que pode causar um pequeno desconforto na introdução da agulha. Para evitar potenciais riscos, este procedimento será realizado apenas pelos médicos que participam desta pesquisa.

A todos participantes será garantida assistência para qualquer problema decorrente da realização de qualquer intervenção neste estudo. Todos os procedimentos deste protocolo serão realizados por profissionais treinados, experientes e habilitados para cada atividade específica.

5 – Benefícios para o participante

Os participantes deste estudo poderão ter o benefício de realizar um exame capaz avaliar melhor alterações do sistema digestivo e respiratório, bem como fazer acompanhamento mais detalhados da doença.

INSTITUTO DO CANCER DO ESTADO DE SÃO PAULO
Octávio Frias de Oliveira
Secretaria de Estado da Saúde

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

6 – Relação de procedimentos alternativos que possam ser vantajosos, pelos quais o paciente pode optar

Esta pesquisa não altera o seu tratamento ou os exames já realizados na rotina deste hospital. O exame de Endomicroscopia confocal será realizado durante a endoscopia digestiva de rotina. Caso verifique a necessidade de exames complementares, não previstos neste protocolo, o participante desta pesquisa será encaminhado para realizar tais procedimentos e ser submetido ao tratamento mais adequado.

7 – Garantia de acesso:

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas.

O principal investigador é o **Dr. Fauze Maluf-Filho** que pode ser encontrado no endereço Av. Dr. Arnaldo, 251 – 2º andar - Cerqueira César - São Paulo Telefone(s) 3893-2296. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o **Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da USP (CEP-FMUSP)** – Av. Dr. Arnaldo, 455 – Instituto Oscar Freire – 1º andar – tel: 30618004– E-mail: cep.fm@usp.br;

8 – Liberdade da retirada de consentimento

É garantida a liberdade de retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição.

09 – Direito de confidencialidade

As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente.

10 – Direito de ser mantido atualizado

Você terá o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados dos exames, ou qualquer outro procedimento desta pesquisa que sejam do conhecimento dos pesquisadores.

11 – Despesas e compensações:

Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

12 - Compromisso do pesquisador de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

As informações, resultados de exames e dados gerados nesta pesquisa serão utilizadas apenas para este protocolo.

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Eu discuti com o **Dr. Fauze Maluf-Filho** sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do responsável pelo estudo Data / /

Anexo C - Dados completos dos pacientes, consumo de tabaco/álcool, localizações do CCP, características das lesões Lugol negativas, achados de *pCLE*, AP e tratamento do CEC

N	IDADE	SEXO	ETNIA	TABAGISMO	ETILISMO	CCP	PARIS
1	67	F	Branca	Sim	Não	Laringe	IIb
2	55	M	Branca	Sim	Sim	Laringe	IIb + IIc
3	74	F	Branca	Sim	Não	Laringe	IIb
4	62	M	Branca	Sim	Sim	Laringe	IIb + IIc
5	57	M	Branca	Sim	Sim	Laringe	IIb
6	58	M	Branca	Sim	Sim	Cavidade oral	IIb + IIc
7	52	F	Branca	Sim	Não	Faringe	IIb
8	59	M	Branca	Sim	Sim	Faringe	IIb + IIc
9	67	M	Branca	Sim	Sim	Faringe	IIb
11	66	M	Branca	Sim	Sim	Laringe	IIc
12	52	M	Branca	Sim	Sim	Cavidade oral	IIb + IIa
13	47	F	Negra	Sim	Sim	Cavidade oral	IIb + IIa
14	67	M	Branca	Sim	Sim	Faringe	IIb
15	62	M	Branca	Sim	Sim	Laringe	IIa + IIb
16	43	F	Branca	Sim	Sim	Cavidade oral	IIb + IIa
17	49	M	Branca	Sim	Sim	Laringe	IIb
18	68	M	Branca	Sim	Sim	Cavidade oral	IIb
19	46	M	Branca	Sim	Sim	Cavidade oral	IIb
20	69	F	Branca	Sim	Sim	Laringe	IIb
21	49	M	Negra	Sim	Sim	Cavidade oral	IIb + IIc
22	55	M	Negra	Sim	Não	Cavidade oral	IIb
23	61	M	Branca	Sim	Sim	Laringe	IIa
24	68	M	Branca	Sim	Sim	Cavidade oral	IIb
25	54	F	Negra	Sim	Não	Cavidade oral	IIb
26	59	F	Branca	Sim	Sim	Cavidade oral	IIb
27	75	M	Branca	Sim	Sim	Cavidade oral	IIb
28	51	M	Branca	Sim	Sim	Cavidade oral	IIb + IIa
<i>Excluído</i>							
10	57	M	Branca	Sim	Sim	Cavidade oral	IIb

Erro diagnóstico

AP: resultado anatomopatológico

N	TAMANHO	AP DAS BIÓPSIAS ANTES DA PCLE	PCLE	AP DAS BIÓPSIAS PÓS-PCLE
1	08 mm		Benigna	Esofagite crônica leve inespecífica (27 cm ADS)
	06 mm		Benigna	Fragmento superficial epitélio escamoso sem atipias (23 cm ADS)
2	10 mm		Benigna	Esofagite crônica erosiva com exocitose de neutrófilos e formação de tecido de granulação
3	08 mm		Benigna	Esofagite crônica leve
	08 mm		Benigna	Esofagite crônica leve
4	20 mm	Esofagite	Maligna	Esofagite crônica com focos de ulceração e de displasia de baixo grau
5	10 mm		Benigna	Esofagite crônica leve
6	50 mm		Maligna	CEC moderadamente diferenciado, invasivo
	15 mm		Maligna	CEC moderadamente diferenciado, invasivo
7	06 mm		Benigna	Esofagite crônica inespecífica
	08 mm		Benigna	Esofagite crônica inespecífica
8	50 mm	Esofagite	Maligna	CEC moderadamente diferenciado invasivo
9	12 mm		Maligna	CEC <i>in situ</i>
	15 mm		Maligna	CEC <i>in situ</i>
11	08 mm		Benigna	Esofagite crônica intensa e inespecífica
12	80 mm		Maligna	CEC moderadamente diferenciado, invasivo
13	20 mm		Benigna	NIE de alto grau
	20 mm		Maligna	CEC
14	12 mm		Benigna	Acantose
15	20 mm		Maligna	CEC pouco dif, padrão sólido, invasivo, c/ áreas de necrose
16	40 mm		Maligna	CEC bem diferenciado invasivo
17	08 mm		Maligna	Esofagite crônica inespecífica (actínica) - biópsia excisional
18	12 mm		Benigna	Esofagite crônica moderada
19	10 mm		Maligna	NIE moderada/alto grau
20	10 mm		Benigna	Esofagite crônica moderada inativa e inespecífica
21	18 mm		Benigna	Esofagite crônica erosiva
22	10 mm		Benigna	Esofagite crônica leve inespecífica
23	10 mm		Maligna	EMR – fragmento de mucosa escamosa com arquitetura polipoide por hiperplasia epitelial e fibrose da lâmina própria, sem atipias
24	10 mm		Benigna	Esofagite crônica leve inespecífica
	10 mm		Benigna	Esofagite crônica leve inespecífica
25	20 mm		Maligna	Esofagite crônica leve inespecífica
	40 mm		Benigna	Esofagite crônica miderada inespecífica
26	08 mm		Benigna	Esofagite crônica moderada inespecífica
27	30 mm		Maligna	Esofagite crônica inespecífica com focos de NIE moderada
	40 mm		Maligna	Esofagite crônica inespecífica com focos de NIE moderada
28	50 mm		Maligna	CEC <i>in situ</i>
	25 mm		Maligna	CEC <i>in situ</i>
Excluído				
10	15 mm		Maligna	Sem biópsia (EMR)

N	AP PÓS-EMR ou ESD	QRT
1		
2		
3		
4	ESD - CEC moderadamente diferenciado, invasivo, margens livres	
5		
6		QRT - progressão da doença primária
7		
8	ESD - CEC invasivo precoce do esôfago - pT1a, margens livres	
9	ESD - CEC - ca <i>in situ</i> - margem comprometida ESD circunferencial (necessidade de dilatações)	
11	ESD - CEC <i>in situ</i> , margens livres	
12		QRT - progressão da doença - tratamento paliativo
13	EMR - CEC <i>in situ</i> , margens livres	
14	EMR - CEC <i>in situ</i> , margens livres	
15		QRT - recidiva pulmonar/ toxicidade à QT- óbito
16	ESD - CEC invasivo em lâmina própria, margens livres	
17	(biópsia excisional)	
18		
19	EMR - CEC <i>in situ</i> , margens livres	
20		
21		
22		
23	(EMR diagnóstica)	
24		
25	ESD - NIE alto grau, margens livres	
26		
27	ESD - CEC invasivo, margens livres (necessidade de dilatações)	
	ESD - CEC <i>in situ</i> , margens livres	
	ESD - CEC <i>in situ</i> com área de invasão da lâmina própria - moderadamente diferenciado (necessidade de dilatações)	
28	ESD - CEC <i>in situ</i> , margens livres	
Excluído		
10	EMR - Esofagite crônica inespecífica, associada à fibroplasia da lâmina própria	

Anexo D - Medidas das lesões benignas e malignas (mm)

BENIGNA (n= 20)	MALIGNA (n=17)
8	20
6	50
10	15
8	50
8	12
10	15
6	80
8	20
8	20
12	20
8	40
12	10
10	20
18	30
10	40
10	50
10	25
10	Média (Maligna) = 30,41176
40	DP = 18,7018
8	
Média (Benigna) = 11,0	Média (Global) = 19,9
DP = 7,298161	DP = 16,7

Anexo E - Achados obtidos por *pCLE*

	HISTOLOGIA	IPCL	IRREGULARIDADE CELULAR	HALO	GRADIENT	POLARIDADE	EFEITO DE BÚSSOL	GRAU DE INFLAMAÇÃO	ALARGAMENTO INTERSTICIAL
1	Esofagite	Normal(0)	Normal	Presente	Presente	Presente	Presente	Leve	Sem
	Esofagite	Normal(0)	Normal	Presente	Presente	Presente	Presente	Leve	Sem
2	Esofagite	Normal(0)	Moderado	Presente	N/A	N/A	N/A	Intenso	Moderado
	Esofagite	N/A	Normal	N/A	N/A	N/A	N/A	Leve	Leve
3	Esofagite	N/A	Normal	N/A	N/A	N/A	N/A	Leve	Leve
	CEC	Aumentado	Moderado	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Moderado	Moderado
5	Esofagite	Normal(0)	Normal	Presente	Presente	Presente	Presente	Leve	Sem
	CEC	Aumentado	Intenso	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Leve	Ausente
6	CEC	Aumentado	Moderado	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Moderado	Moderado
	Esofagite	Normal(0)	Leve	Presente	Presente	Presente	Presente	Leve	Moderado
7	Esofagite	Normal(0)	Normal	Presente	Presente	Presente	Presente	Leve	Leve
	CEC	Aumentado	Intensa	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Moderado	Intenso
8	CEC	Aumentado	Moderada	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Moderado	Leve
	CEC	Aumentado	Intensa	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Leve	Moderado
9	Esofagite	Normal(0)	Normal	Presente	Presente	Presente	Presente	Moderado	Leve
	CEC	Aumentado	Intensa	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Moderado	Intenso
11	CEC	Aumentado	Leve	Presente	Ausente	Ausente	Presente	Moderado	Moderado
	CEC	Aumentado	Intensa	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Leve	Moderado
12	Esofagite	Normal(0)	Leve	Presente	Presente	Presente	Presente	Leve	Leve
	CEC	Aumentado	Moderada	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Moderado	Moderado
13	Esofagite	Normal(0)	Leve	Presente	Presente	Presente	Presente	Leve	Leve
	CEC	Aumentado	Intensa	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Moderado	Moderado
14	Esofagite	Normal(0)	Leve	Presente	Presente	Presente	Presente	Leve	Leve
	CEC	Aumentado	Moderada	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Moderado	Moderado
15	CEC	Aumentado	Moderada	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Moderado	Moderado
	Esofagite	Aumentado	Moderada	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Intenso	Moderado
16	Esofagite	Normal(0)	Leve	Presente	Presente	Presente	Presente	Leve	Leve
	CEC	Aumentado	Intenso	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Moderado	Moderado
17	Esofagite	Normal(0)	Normal	Presente	Presente	Presente	Presente	Leve	Leve
	Esofagite	Normal(0)	Leve	Presente	Presente	Presente	Presente	Moderado	Leve
18	Esofagite	Normal(0)	Normal	Presente	Presente	Presente	Presente	Leve	Leve
	Esofagite	Normal(0)	Normal	Presente	Presente	Presente	Presente	Leve	Leve
19	Esofagite	Aumentado	Normal	Presente	Presente	Presente	Presente	Leve	Leve
	Esofagite	Normal(0)	Normal	Presente	Presente	Presente	Presente	Leve	Leve
20	Esofagite	Normal(0)	Normal	Presente	Presente	Presente	Presente	Leve	Leve
	CEC	Aumentado	Leve	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Leve	Moderado
21	Esofagite	Normal(0)	Leve	Presente	Presente	Presente	Presente	Leve	Leve
	CEC	Aumentado	Moderada	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Moderado	Moderado
22	Esofagite	Normal(0)	Normal	Presente	Presente	Presente	Presente	Leve	Leve
	CEC	Aumentado	Leve	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Leve	Moderado
23	Esofagite	Normal(0)	Normal	Presente	Presente	Presente	Presente	Leve	Leve
	CEC	Aumentado	Leve	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Leve	Moderado
24	Esofagite	Normal(0)	Normal	Presente	Presente	Presente	Presente	Leve	Leve
	CEC	Aumentado	Leve	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Leve	Moderado
25	Esofagite	Normal(0)	Leve	Presente	Presente	Presente	Presente	Moderado	Moderado
	CEC	Aumentado	Moderada	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Leve	Moderado
26	CEC	Aumentado	Leve	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Leve	Leve
	CEC	Aumentado	Moderada	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Moderado	Moderado
27	Esofagite	Normal(0)	Leve	Presente	N/A	N/A	N/A	Moderado	Moderado
	CEC	Aumentado	Leve	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Leve	Moderado
28	CEC	Aumentado	Moderada	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Moderado	Moderado
	CEC	Aumentado	Leve	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Leve	Moderado

N/A não avaliável

Anexo F - Dados para análise estatística dos achados obtidos por *pCLE*

Classificação de Liu *et al.*⁵⁶

HISTOLOGIA		IRREGULARIDADE CELULAR		BENIGNA	MALIGNA	IPCL		BENIGNA	MALIGNA
ESOFAGITE	20	Normal	12	12	0	Normal (0)	17	16	1
CEC	17	Leve	10	6	4	N/A	2	2	0
Soma	37	Moderada	9	2	7	Aumentado	18	2	16
		Intensa	6	0	6	Soma	37	20	17
		Soma	37	20	17				

Classificação de Li *et al.*⁵⁹

HALO		BENIGNA	MALIGNA	GRADIENTE		BENIGNA	MALIGNA	POLARIDADE		BENIGNA	MALIGNA	EFEITO DE BÚSSOLA		BENIGNA	MALIGNA
Presente	18	17	1	Presente	15	15	0	Presente	15	15	0	Presente	16	15	1
N/A	2	2	0	N/A	4	4	0	N/A	4	4	0	N/A	4	4	0
Ausente	17	1	16	Ausente	18	1	17	Ausente	18	1	17	Ausente	17	1	16
Soma	37	20	17	Soma	37	20	17	Soma	37	20	17	Soma	37	20	17

Parâmetros inflamatórios

GRAU DE INFLAMAÇÃO		BENIGNA	MALIGNA	ALARGAMENTO INTERSTICIAL		BENIGNA	MALIGNA
Leve	21	14	7	Sem	4	3	1
Moderado	15	5	10	Moderado	16	4	12
Intenso	1	1	0	Leve	14	12	2
Soma	37	20	17	Intenso	3	1	2
				Soma	37	20	17

10 REFERÊNCIAS

1. Scherübl H, Cataldegirmen G, Eick J, Ring W, Schwertner C, Steinberg J, Herbst H. Field cancerisation of the upper aerodigestive tract: screening for second primary cancers of the oesophagus in cancer survivors. *EMJ Oncol.* 2015;3(1):21-8.
2. Ribeiro Jr U, Posner MC, Safatle-Ribeiro AV, Reynolds JC. Risk factors for squamous cell carcinoma of the oesophagus. *Br J Surg.* 1996;83(9):1174-85.
3. Hashimoto CL, Iriya K, Baba ER, Navarro-Rodriguez T, Zerbini MC, Eisig JN, Barbuti R, Chinzon D, Moraes-Filho JP. Lugol's dye spray chromoendoscopy establishes early diagnosis of esophageal cancer in patients with primary head and neck cancer. *Am J Gastroenterol.* 2005;100:275-82.
4. Hsu WL, Chien YC, Chiang CJ, Yang HI, Lou PJ, Wang CP, Yu KJ, You SL, Wang LY, Chen SY, Yang CS, Chen CJ. Lifetime risk of distinct upper aerodigestive tract cancers and consumption of alcohol, betel and cigarette. *Int J Cancer.* 2014;135(6):1480-6.
5. Rossini ARAL, Hashimoto CL, Iriya K, Zerbini C, Baba ER, Moraes-Filho JPP. Dietary habits, ethanol and tobacco consumption as predictive factors in the development of esophageal carcinoma in patients with head and neck neoplasms. *Dis Esophagus.* 2008;21(4):316-21.

6. Slaughter DP, Southwick HW. "Field cancerization" in oral stratified squamous epithelium. *Cancer*. 1953;6:1963-8.
7. Li Y, Mao Y, Zhang Y, Cai S, Chen G, Ding Y, Guo J, Chen K, Jin M. Alcohol drinking and upper aerodigestive tract cancer mortality: A systematic review and meta-analysis. *Oral Oncol*. 2014;50(4):269-75.
8. Lopes AB, Fagundes RB. Esophageal squamous cell carcinoma - precursor lesions and early diagnosis. *World J Gastrointest Endosc*. 2012;4(1):9-16.
9. Ribeiro U, Safatle-Ribeiro AV, Posner MC, Rosendale B, Bakker A, Swalsky PA, Kim R, Reynolds JC, Finkelstein SD. Comparative p53 mutational analysis of multiple primary cancers of the upper aerodigestive tract. *Surgery*. 1996;120(1):45-53.
10. Endo M, Yoshino K, Kawano T, Nagai K, Inoue H. Clinicopathologic analysis of lymph node metastasis in surgically resected superficial cancer of the thoracic esophagus. *Dis Esophagus*. 2000;13(2):125-9.
11. Ohashi K, Momma K, Yamada Y, Yoshida M, Horiguchi S, Matsubayashi J, Shimizu S, Moriyama S, Hishima T, Funata N, Takizawa T, Koike M. Vertical and horizontal growth features of superficial esophageal squamous cell carcinomas: Histopathological evaluation of endoscopically resected specimens. *Virchows Arch*. 2002;441(4):350-7.
12. Brooks PJ, Enoch MA, Goldman D, Li TK, Yokoyama A. The alcohol flushing response: An unrecognized risk factor for esophageal cancer from alcohol consumption. *PLoS Med*. 2009;6(3):258-63.

13. Freitag CP, Barros SG, Kruel CD, Putten AC, Dietz J, Gruber AC, Diehl AS, Meurer L, Breyer HP, Wolff F, Vidal R, Arruda CA, Luz LP, Fagundes RB, Prolla JC. Esophageal dysplasias are detected by endoscopy with Lugol in patients at risk for squamous cell carcinoma in southern Brazil. *Dis Esophagus*. 1999;12(3):191-5.
14. Chung C-SS, Liao L-JJ, Lo W-CC, Chou Y-HH, Chang Y-CC, Lin Y-CC, Hsu WF, Shueng PW, Lee TH. Risk factors for second primary neoplasia of esophagus in newly diagnosed head and neck cancer patients: a case-control study. *BMC Gastroenterol*. 2013;13(1):154.
15. Pech O, Rabenstein T, Manner H, Petrone MC, Pohl J, Vieth M, Stolte M, Ell C. Confocal laser endomicroscopy for in vivo diagnosis of early squamous cell carcinoma in the esophagus. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2008;6(1):89-94.
16. Muto M, Minashi K, Yano T, Saito Y, Oda I, Nonaka S, Omori T, Sugiura H, Goda K, Kaise M, Inoue H, Ishikawa H, Ochiai A, Shimoda T, Watanabe H, Tajiri H, Saito D. Early detection of superficial squamous cell carcinoma in the head and neck region and esophagus by narrow band imaging: A multicenter randomized controlled trial. *J Clin Oncol*. 2010;28(9):1566-72.
17. Inoue H, Kaga M, Ikeda H, Sato C, Sato H, Minami H, Santi EG, Hayee B, Eleftheriadis N. Magnification endoscopy in esophageal squamous cell carcinoma: A review of the intrapapillary capillary loop classification. *Ann Gastroenterol*. 2015;28(1):41-8.

18. Goetz M, Watson A, Kiesslich R. Confocal laser endomicroscopy in gastrointestinal diseases. *J. Biophotonics*. 2011;4(7-8):498-508.
19. Baxi SS, Pinheiro LC, Patil SM, Pfister DG, Oeffinger KC, Elkin EB. Causes of death in long-term survivors of head and neck cancer. *Cancer*. 2014;120(10):1507-13.
20. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). Estimativa 2020 - Incidência de câncer no Brasil [Internet]. 2020. p. 1-229. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//estimativa-2020-incidencia-de-cancer-no-brasil.pdf>.
21. IARC Working group. Tobacco Smoking. *Monographs*. 2010;2002:43-211.
22. Sabharwal R, Mahendra A, Moon N j, Gupta P, Jain A, Gupta S. Genetically altered fields in head and neck cancer and second field tumor. *South Asian J Cancer*. 2014;3(3):151-3.
23. Iijima J, Konno K, Itano N. Inflammatory alterations of the extracellular matrix in the tumor microenvironment. *Cancers (Basel)*. 2011;3(3):3189-205.
24. Kumagai Y, Toi M, Kawada K, Kawano T. Angiogenesis in superficial esophageal squamous cell carcinoma: Magnifying endoscopic observation and molecular analysis. *Dig Endosc*. 2010;22(4):259-67.
25. Ide E, Maluf-Filho F, Chaves DM, Matuguma SE, Sakai P. Narrow-band imaging without magnification for detecting early esophageal squamous cell carcinoma. *World J Gastroenterol*. 2011;17(39):4408-13.

26. Oyama T, Inoue H, Arima M, Momma K, Omori T, Ishihara R, Hirasawa D, Takeuchi M, Tomori A, Goda K. Prediction of the invasion depth of superficial squamous cell carcinoma based on microvessel morphology: magnifying endoscopic classification of the Japan Esophageal Society. *Esophagus*. 2017;14(2):105-12.
27. Nakamura H, Yano T, Fujii S, Kadota T, Tomioka T, Shinozaki T, Hayashi R, Kaneko K. Natural history of superficial head and neck squamous cell carcinoma under scheduled follow-up endoscopic observation with narrow band imaging: retrospective cohort study. *BMC Cancer*. 2016;16(743):1-8.
28. Muto M, Hironaka S, Nakane M, Boku N, Ohtsu A, Yoshida S. Association of multiple Lugol-voiding lesions with synchronous and metachronous esophageal squamous cell carcinoma in patients with head and neck cancer. *Gastrointest Endosc*. 2002;56(4):517-21.
29. Arantes V, Albuquerque W, Salles JMP, Dias CAF, Alberti LR, Kahaleh M, Ferrari TC, Coelho LG. Effectiveness of unsedated transnasal endoscopy with white-light, flexible spectral imaging color enhancement, and Lugol staining for esophageal cancer screening in high-risk patients. *J Clin Gastroenterol*. 2012;47(4):314-21.
30. Cohn AM, Peppard SB. Multiple primary malignant tumors of the head and neck. *Am J Otolaryngol Neck Med Surg*. 1980;1(5):411-7.

31. The Paris endoscopic classification of superficial neoplastic lesions: Esophagus, stomach, and colon. *Gastrointest Endosc.* 2003;58(6 Suppl):S3-43.
32. Japan Esophageal Society. Japanese classification of esophageal cancer. 11th Edition: part II and III. Esophagus. 2017;14:1-36.
33. Shimizu M, Ban S, Odze RD. Squamous dysplasia and other precursor lesions related to esophageal squamous cell carcinoma. *Gastroenterol Clin North Am.* 2007;36(4):797-811.
34. Schlemper RJ, Riddell RH, Kato Y, Borchard F, Cooper HS, Dawsey SM, Dixon MF, Fenoglio-Preiser CM, Fléjou JF, Geboes K, Hattori T, Hirota T, Itabashi M, Iwafuchi M, Iwashita A, Kim YI, Kirchner T, Klimpfinger M, Koike M, Lauwers GY, Lewin KJ, Oberhuber G, Offner F, Price AB, Rubio CA, Shimizu M, Shimoda T, Sipponen P, Solcia E, Stolte M, Watanabe H, Yamabe H. The Vienna classification of gastrointestinal epithelial neoplasia. *Gut.* 2000;47(2):251-5.
35. Dixon MF. Gastrointestinal epithelial neoplasia: Vienna revisited. *Gut.* 2002;1;51(1):130-1.
36. Arantes V, Forero Piñeros EA, Yoshimura K, Toyonaga T, Resumo RR, Resumo R. Advances in the management of early esophageal carcinoma. *Rev Col Bras Cir.* 2012;39(6):534-43.
37. Brodmerkel Jr. GJ. Schiller's test: an aid in esophagoscopy diagnosis. *Gastroenterology.* 1971;60:813-8.

38. Petruzzi M, Lucchese A, Baldoni E, Grassi FR, Serpico R. Use of Lugol's iodine in oral cancer diagnosis: An overview. *Oral Oncol.* 2010;46(11):811-3.
39. Shimizu Y, Omori T, Yokoyama A, Yoshida T, Hirota J, Ono Y, Yamamoto J, Kato M, Asaka M. Endoscopic diagnosis of early squamous neoplasia of the esophagus with iodine staining: high-grade intra-epithelial neoplasia turns pink within a few minutes. *J Gastroenterol Hepatol.* 2008;23(4):546-50.
40. Muto M. Endoscopic diagnostic strategy of superficial esophageal squamous cell carcinoma. *Dig Endosc.* 2013;25(Supp.1):1-6.
41. Gono K, Obi T, Yamaguchi M, Ohyama N, Machida H, Sano Y, Yoshida S, Hamamoto Y, Endo T. Appearance of enhanced tissue features in narrow-band endoscopic imaging. *J Biomed Opt.* 2004;9(3):568-77.
42. Yoshida T, Inoue H, Usui S, Satodate H, Fukami N, Kudo SE. Narrow-band imaging system with magnifying endoscopy for superficial esophageal lesions. *Gastrointest Endosc.* 2004;59(2):288-95.
43. Inoue H, Honda T, Yoshida T, Nishikage T, Nagahama T, Yano K, Kawano T, Yoshino K, Tani M, Takeshita K, Endo M. Ultra-high Magnification Endoscopy of the Normal Esophageal Mucosa. *Dig Endosc.* 1996;8(2):134-8.
44. Inoue H, Honda T, Nagai K, Kawano T, Yoshino K, Takeshita K, Tani M, Endo M. Ultra-high magnification endoscopic observation of carcinoma in situ of the esophagus. *Dig Endosc.* 1997;9(1):16-8.

45. Takenaka R, Kawahara Y, Okada H, Hori K, Inoue M, Kawano S, Tanioka D, Tsuzuki T, Uemura M, Ohara N, Tominaga S, Onoda T, Yamamoto K. Narrow-band imaging provides reliable screening for esophageal malignancy in patients with head and neck cancers. *Am J Gastroenterol*. 2009;104(12):2942-8.
46. Goda K, Dobashi A, Yoshimura N, Kato M, Aihara H, Sumiyama K, Toyozumi H, Kato T, Ikegami M, Tajiri H. Narrow-band imaging magnifying endoscopy versus Lugol chromoendoscopy with pink-color sign assessment in the diagnosis of superficial esophageal squamous neoplasms: a randomised noninferiority trial. *Gastroenterol Res Pract*. 2015;2015(Lv1):1-10.
47. Nagami Y, Tominaga K, Machida H, Nakatani M, Kameda N, Sugimori S, Okazaki H, Tanigawa T, Yamagami H, Kubo N, Shiba M, Watanabe K, Watanabe T, Iguchi H, Fujiwara Y, Ohira M, Hirakawa K, Arakawa T. Usefulness of non-magnifying narrow-band imaging in screening of early esophageal squamous cell carcinoma: a prospective comparative study using propensity score matching. *Am J Gastroenterol*. 2014;109(6):845-54.
48. Neumann H, Fuchs FS, Vieth M, Atreya R, Siebler J, Kiesslich R, Neurath MF. Review article: In vivo imaging by endocytoscopy. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011;33(11):1183-93.
49. Kumagai Y, Kawada K, Yamazaki S, Iida M, Momma K, Odajima H, Kawachi H, Nemoto T, Kawano T, Takubo K. Endocytoscopic observation for esophageal squamous cell carcinoma: can biopsy histology be omitted? *Dis Esophagus*. 2009;22(6):505-12.

50. Kumagai Y, Kawada K, Yamazaki S, Iida M, Ochiai T, Momma K, Odajima H, Kawachi H, Nemoto T, Kawano T, Takubo K. Endocytoscopic observation of esophageal squamous cell carcinoma. *Dig Endosc*. 2010;22(1):1-16.
51. Meining A, Saur D, Bajbouj M, Becker V, Peltier E, Höfler H, von Weyhern CH, Schmid RM, Prinz C. In vivo histopathology for detection of gastrointestinal neoplasia with a portable, confocal miniprobe: an examiner blinded analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007;5(11):1261-7.
52. Wallace M, Lauwers GY, Chen Y, Dekker E, Fockens P, Sharma P, Meining A. Miami classification for probe-based confocal laser endomicroscopy. *Endoscopy*. 2011;43(10):882-91.
53. Wang KK, Carr-Locke DL, Singh SK, Neumann H, Bertani H, Galmiche J-P, Arsenescu RI, Caillol F, Chang KJ, Chaussade S, Coron E, Costamagna G, Dlugosz A, Ian Gan S, Giovannini M, Gress FG, Haluszka O, Ho KY, Kahaleh M, Konda VJ, Prat F, Shah RJ, Sharma P, Slivka A, Wolfsen HC, Zfass A. Use of probe-based confocal laser endomicroscopy (pCLE) in gastrointestinal applications. A consensus report based on clinical evidence. *United Eur Gastroenterol J*. 2015;3(3):230-54.
54. Chauhan SS, Abu Dayyeh BK, Bhat YM, Gottlieb KT, Hwang JH, Komanduri S, Konda V, Lo SK, Manfredi MA, Maple JT, Murad FM, Siddiqui UD, Banerjee S, Wallace MB. Confocal laser endomicroscopy. *Gastrointest Endosc*. 2014;80(6):928-38.

-
55. Liu H, Li YQ, Yu T, Zhao YA, Zhang JNP, Zhang JNP, Guo YT, Xie XJ, Zhang TG, Desmond PV. Confocal endomicroscopy for in vivo detection of microvascular architecture in normal and malignant lesions of upper gastrointestinal tract. *J Gastroenterol Hepatol*. 2008;23(1):56-61.
 56. Liu H, Li YQ, Yu T, Zhao YA, Zhang JNP, Zuo XL, Li CQ, Zhang JN, Guo YT, Zhang TG. Confocal laser endomicroscopy for superficial esophageal squamous cell carcinoma. *Endoscopy*. 2009;41(2):99-106.
 57. Becker V, von Delius S, Bajbouj M, Karagianni A, Schmid RM, Meining A. Intravenous application of fluorescein for confocal laser scanning microscopy: evaluation of contrast dynamics and image quality with increasing injection-to-imaging time. *Gastrointest Endosc*. 2008;68(2):319-23.
 58. Wallace MB, Meining A, Canto MI, Fockens P, Miehke S, Roesch T, Lightdale CJ, Pohl H, Carr-Locke D, Löhr M, Coron E, Filoche B, Giovannini M, Moreau J, Schmidt C, Kiesslich R. The safety of intravenous fluorescein for confocal laser endomicroscopy in the gastrointestinal tract. *Aliment Pharmacol Ther*. 2010;31(5):548-52.
 59. Li M, Zuo X-L, Yu T, Gu X-M, Zhou C-J, Li Z, Liu H, Ji R, Dong YY, Li CQ, Li YQ. Surface maturation scoring for oesophageal squamous intraepithelial neoplasia: a novel diagnostic approach inspired by first endomicroscopic 3-dimensional reconstruction. *Gut*. 2013;62(11):1547-55.

60. Moura RN, Arantes VN, Ribeiro TML, Guimarães RG, Oliveira JF, Kulcsar MAV, Sallum RAA, Ribeiro-Junior U, Maluf-Filho F. Does a history of head and neck cancer affect outcome of endoscopic submucosal dissection for superficial esophageal squamous cell carcinoma? *Endoscopy International Open*. 2020;8(7):E900-E910.
61. Huang J, Yang YS, Lu ZS, Wang SF, Yang J, Yuan J. Detection of superficial esophageal squamous cell neoplasia by chromoendoscopy-guided confocal laser endomicroscopy. *World J Gastroenterol*. 2015;21(22):6974-81.
62. Liu J, Li M, Li Z, Zuo XL, Li CQ, Dong YY, Zhou CJ, Li YQ. Learning curve and interobserver agreement of confocal laser endomicroscopy for detecting precancerous or early-stage esophageal squamous cancer. *PLoS One*. 2014;9(6):e99089.
63. Moore C, Mehta V, Ma X, Chaudhery S, Shi R, Moore-Medlin T, Lian T, Nathan CA. Interobserver agreement of confocal laser endomicroscopy for detection of head and neck neoplasia. *Laryngoscope*. 2016;126(3):632-7.
64. Prueksapanich P, Pittayanon R, Rerknimitr R, Wisedopas N, Kullavanijaya P, Rerknimitr R. Value of probe-based confocal laser endomicroscopy (pCLE) and dual focus narrow-band imaging (dNBI) in diagnosing early squamous cell neoplasms in esophageal Lugol' s voiding lesions. *Endosc Int Open*. 2015;03:281-8.
65. Kumagai Y, Takubo K, Ishida H. Acrinol: Dye with potential for nuclear staining in confocal laser endomicroscopy. *Dig Endosc*. 2017;29(7):811-2.

66. Kurumi H, Nonaka K, Ryozaawa S. Use of curcumin solution for probe-based confocal laser endomicroscopy of squamous cell carcinoma of the esophagus. *Dig Endosc.* 2019;31(1):105.
67. Nonaka K, Ohata K, Ban S, Ichihara S, Takasugi R, Minato Y, Tashima T, Matsuyama Y, Takita M, Matsuhashi N, Neumann H. Histopathological confirmation of similar intramucosal distribution of fluorescein in both intravenous administration and local mucosal application for probe-based confocal laser endomicroscopy of the normal stomach. *World J Clin Cases.* 2015;3(12):993-9.
68. Nonaka K, Ohata K, Nakai Y. Probe-based confocal laser endomicroscopy of the duodenal mucosa with fluorescein dispersion. *Dig Endosc.* 2014;26(4):604.
69. Image-guided Surgery/Laser Endomicroscopy: FDA approves laser endomicroscopy system for intraoperative use [internet]. 2016 fev 1 [acesso em 2019 mar 29]. Disponível em: <https://www.bioopticsworld.com/articles/print/volume-9/issue-1/biooptics-news-and-breakthroughs/image-guided-surgery-laser-endomicroscopy-fda-approves-laser-endomicroscopy-system-for-intraoperative-use.html>.
70. New FDA Clearance Validates In Vivo, Real-Time Identification of Cellular and Vascular Organization and Architecture Using Cellvizio® [internet]. 2017 dez 18 [acesso em 2019 mar 2019]. Disponível em: <https://www.mauna-keatech.com/en/news-events/90-new-fda-clearance-validates-in-vivo-real-time-identification-of-cellular-and-vascular-organization-and-architecture-using-cellvizio>.

71. Mauna Kea Technologies obtains first ever FDA clearance for applications of Cellvizio® Confocal Laser Endomicroscopy in Neurosurgery [internet]. 2018 mai 24 [acesso em: 2019 mar 29]. Disponível em: <https://www.maunakeatech.com/en/news-events/106-mauna-kea-technologies-obtains-first-ever-fda-clearance-for-applications-of-cellvizio-confocal-laser-endomicroscopy-in-neurosurgery>.
72. Mauna Kea receives new FDA approval for confocal laser endomicroscopy system [internet]. 2019 fev 27. Disponível em: <https://www.laserfocusworld.com/biooptics/bioimaging/microscopy/article/14194245/mauna-kea-receives-new-fda-approval-for-confocal-laser-endomicroscopy-system>.
73. Iguchi Y, Niwa Y, Miyahara R, Nakamura M, Banno K, Nagaya T, Nagasaka T, Watanabe O, Ando T, Kawashima H, Ohmiya N, Itoh A, Hirooka Y, Goto H. Pilot study on confocal endomicroscopy for determination of the depth of squamous cell esophageal cancer in vivo. *J Gastroenterol Hepatol*. 2009;24(11):1733-9.
74. Mauna Kea Technologies. Cellvizio Dual Band [internet]. 2019 [acesso em 2019 mar 29]. Disponível em: <https://www.maunakeatech.com/en/research/19-cellvizio-dual-band>.
75. Mori Y, Kudo S, Mohamed HEN, Misawa M, Ogata N, Itoh H, Oda M, Mori K. Artificial intelligence and upper gastrointestinal endoscopy: Current status and future perspective. *Dig Endosc*. 2019;31(4):378-88.

76. Ahmed S, Strand S, Weinmann-Menke J, Urbansky L, Galle PR, Neumann H. Molecular endoscopic imaging in cancer. *Dig Endosc*. 2018;30(6):719-29.
77. van der Sommen F, Curvers WL, Nagengast WB. Novel Developments in Endoscopic Mucosal Imaging. *Gastroenterology*. 2018;154(7):1876-86.
78. Benias PC, Wells RG, Sackey-Aboagye B, Klavan H, Reidy J, Buonocore D, Miranda M, Kornacki S, Wayne M, Carr-Locke DL, Theise ND. Structure and distribution of an unrecognized interstitium in human tissues. *Sci Rep*. 2018;8(1):1-8.

APÊNDICES

Apêndice A - Prêmio Melhor Tema Livre Oral da Semana Brasileira do Aparelho Digestivo (SBAD) de 2014

PREMIAÇÃO DOS MELHORES TRABALHOS CIENTÍFICOS

26/11/2014 • VIVACOM

A SOBED realizou hoje (26/11), no Riocentro - Exhibition & Convention Center, a premiação dos melhores trabalhos científicos inscritos na XIII SBAD. O trabalho ***Técnica Híbrida na Ressecção Endoscópica de Lesão Gástrica Precoce*** - de autoria de Livia dos Reis Pandolfi; Clarissa Santos Souza; Lila Graziella Martins Ferreira Bicalho; Briane Andrea Vertuan Ferreira; Ricardo Sato Uemura; Gustavo de Oliveira Luz; Paulo Sakai; e Shinichi Ishioka, foi eleito o melhor na categoria vídeo.

Já o trabalho ***Endomicroscopia Confocal no Diagnóstico de Lesões Esofágicas em Pacientes com Neoplasia de Cabeça e Pescoço*** - de autoria de Adriana Vaz Safatle Ribeiro; Elisa Rioka Baba; Marcelo Martins; Matheus Franco; Fabio Kawaguti; Ullisses Ribeiro Jr.; e Fauze Maluf Filho, foi o eleito o melhor da categoria tema livre oral.

Disponível em: <<http://www.sobed.org.br/Publicacoes/noticia/detalhes/1302>>.

Apêndice B - Prêmio Octavio Frias de Oliveira de 2017, na modalidade Inovação Tecnológica em Oncologia

Disponível em: <<http://www.icesp.org.br/sala-de-imprensa/aconteceu-no-icesp/289-premio-octavio-frias-de-oliveira-chega-a-sua-oitava-edicao>>.

Apêndice C - Artigo publicado

[Advanced](#)
[User Guide](#)

► [Gastrointest Endosc.](#) 2017 Jun;85(6):1195-1207. doi: 10.1016/j.gie.2016.09.031. Epub 2016 Sep 30.

Diagnostic accuracy of probe-based confocal laser endomicroscopy in Lugol-unstained esophageal superficial lesions of patients with head and neck cancer

Adriana Vaz Safatle-Ribeiro ¹, Elisa Ryoka Baba ¹, Sheila Friedrich Faraj ², Juliana Trazzi Rios ¹, Marcelo Simas de Lima ¹, Bruno Costa Martins ¹, Sebastian Naschold Geiger ¹, Caterina Pennacchi ¹, Carla Gusman ¹, Fábio Shiguehissa Kawaguti ¹, Ricardo Sato Uemura ¹, Evandro Sobroza de Melo ², Ulysses Ribeiro Jr ¹, Fauze Maluf-Filho ¹

Affiliations + expand

PMID: 27697445 DOI: [10.1016/j.gie.2016.09.031](https://doi.org/10.1016/j.gie.2016.09.031)

Abstract

Background and aims: Surveillance programs of patients with head and neck cancer (HNC) detect synchronous or metachronous esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) in up to 15% of patients. Noninvasive, probe-based confocal laser endomicroscopy (pCLE) technique may improve the diagnosis allowing acquisition of high-resolution in vivo images at the cellular and microvascular levels. The aim of this study was to evaluate the accuracy of pCLE for the differential diagnosis of nonneoplastic and neoplastic Lugol-unstained esophageal lesions in patients with HNC.

Methods: Twenty-seven patients with HNC who exhibited Lugol-unstained esophageal lesions at surveillance endoscopy were prospectively included for pCLE. Diagnostic pCLE was followed by subsequent biopsies or endoscopic resection of suspected lesions. A senior pathologist was blinded to the pCLE results.

Results: Patients mean age was 59 years (SD = 8.8) and 70.4% were men. All patients were smokers, and 22 patients (81.5%) had a history of alcohol consumption. The locations of HNC were oral cavity (n = 13), larynx (n = 10), and pharynx (n = 4). Thirty-seven lesions in 27 patients were studied. The final diagnoses were ESCC in 17 patients and benign lesions in 20 patients. Sensitivity, specificity, and accuracy of pCLE for the histologic diagnosis of ESCC in patients with HNC were 94.1%, 90.0%, and 91.9%, respectively.

Conclusions: First, pCLE is highly accurate for real-time histology of Lugol-unstained esophageal lesions in patients with HNC. Second, pCLE may alter the management of patients under surveillance for ESCC, guiding biopsies and endoscopic resection, avoiding further diagnostic workup or therapy of benign lesions.

Copyright © 2017 American Society for Gastrointestinal Endoscopy. Published by Elsevier Inc. All rights reserved.

Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27697445>>.

FULL TEXT LINKS

ACTIONS

SHARE

PAGE NAVIGATION

< Title & authors

Abstract

Similar articles

Cited by

MeSH terms

Related information

LinkOut - more resources