

MARIANNY NAZARETH SULBARÁN NAVA

**Perfil imuno-histoquímico duodenal na
polipose adenomatosa familiar**

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

Programa de Ciências em Gastroenterologia

Orientadora: Profa. Dra. Adriana Vaz Safatle-
Ribeiro

Coorientador: Prof. Dr. Fábio Guilherme
Caserta Maryssael de Campos

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

Sulbarán Nava, Marianny Nazareth

Perfil imuno-histoquímico duodenal na polipose
adenomatosa familiar / Marianny Nazareth Sulbarán
Nava. -- São Paulo, 2021.

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

Programa de Ciências em Gastroenterologia.

Orientadora: Adriana Vaz Safatle Ribeiro.

Coorientador: Fábio Guilherme Caserta Maryssael
de Campos.

Descritores: 1.Polipose adenomatosa do colo
2.Genes APC 3.Imuno-histoquímica 4.Adenoma 5.Duodeno
6.Intestino delgado

USP/FM/DBD-304/21

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

DEDICATÓRIA

*Aos meus filhos **Leonardo David** e **Gabriela**,*

*ao meu esposo **Leonardo**.*

*Aos meus pais **Mery** e **Tulio**.*

AGRADECIMENTOS

Ao Deus todo poderoso

A minha família, meus filhos Leonardo David, Gabriela e meu marido, apoio incondicional e fonte contínua de fortaleza e inspiração. Aos meus pais por tanto amor e sólida educação.

Ao Prof. Dr. Fábio Guilherme Caserta Maryssael Campos, por ter me dado o privilégio de cuidar dos pacientes com Polipose Adenomatosa Familiar, agradeço a confiança e a sua indispensável contribuição no desenvolvimento deste projeto. Agradeço o apoio intelectual, acadêmico e humano que fizeram destes anos de trabalho um aprendizado contínuo e marcante na minha trajetória como médica, endoscopista e cientista.

À Profa. Dra. Adriana Vaz Safatle-Ribeiro quem muito me ensinou e apoiou contribuindo no meu crescimento científico e profissional durante o processo de orientação. Agradeço o importante aprendizado tanto científico como técnico na área de enteroscopia e intestino delgado que acrescentou muito na minha trajetória como médica e endoscopista. Agradeço a contínua busca pela excelência, a incansável dedicação tanto nos grandes conceitos quanto nos detalhes.

Ao serviço de Endoscopia Gastrointestinal HCFMUSP e o Dr. Eduardo Guimarães Horneaux de Moura, por facilitar o atendimento e realização dos procedimentos endoscópicos dos pacientes com PAF envolvidos nesta tese. Agradeço a esse lar de portas abertas que tem facilitado o meu crescimento profissional, aos assistentes que acompanharam o desenvolvimento deste projeto, sempre acrescentando a discussão da melhor conduta para os nossos doentes junto aos meus orientadores Profa. Dra. Adriana Vaz Safatle-Ribeiro e Prof. Dr. Fábio Guilherme Caserta Maryssael de Campos. As enfermeiras, e pessoal técnico do serviço de Endoscopia Gastrointestinal e do serviço de Coloproctologia HCFMUSP que fizeram possível cumprir cada detalhe técnico proposto na metodologia desta tese.

Ao Prof. Dr. Sérgio Carlos Nahas e ao Prof. Dr. Ulysses Ribeiro Jr. pela incansável luta na obtenção dos recursos necessários para o desenvolvimento desta pesquisa; pela importante contribuição intelectual, científica e dedicação no transcorrer dos anos.

Agradeço aos integrantes de banca de qualificação, tanto de Mestrado, quanto de Doutorado, especialmente o Prof. Dr. Caio Sérgio Nahas e o Prof. Dr. Fauze Maluf Filho. O privilégio de contar com a cuidadosa avaliação de profissionais de reconhecida trajetória e excelência profissional e humana muito enriqueceram a qualidade científica do estudo e o meu crescimento acadêmico.

Aos patologistas, Vitor Páes, Humberto Kishi, Dra. Alda Wakamatsu, Venâncio Alves, e ao Serviço de Patologia do HCFMUSP pelo apoio recebido e trabalho em equipe realizado.

Aos meus colegas de turma, especialmente à Dra. Cíntia Moraes Lima dos Santos Latorre, quem muito me apoiou ao longo destes anos de trabalho, sendo maravilhoso exemplo de excelência acadêmica, profissional, e nobre amiga.

À meu país, Venezuela; a Universidad del Zulia, a minha casa de excelente formação.

À Universidade de São Paulo, pela oportunidade de realização do curso de Doutorado.

Normatização adotada

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. Divisão 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 Documentação; 2011.

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

SUMÁRIO

SUMÁRIO

| | |
|---|------|
| Lista de siglas | xiii |
| Lista de figuras | xiv |
| Lista de tabelas..... | xvi |
| Resumo | xvii |
| Abstract | xx |
| 1 INTRODUÇÃO | 1 |
| 2 REVISÃO DA LITERATURA..... | 7 |
| 2.1 Bases moleculares da polipose adenomatosa familiar | 8 |
| 2.1.1 Gene APC | 8 |
| 2.1.2 Fenótipos na PAF: PAF clássico e atenuado | 9 |
| 2.1.3 Associação genótipo-fenótipo | 10 |
| 2.1.4 Função de algumas proteínas no processo de carcinogênese..... | 12 |
| 2.1.4.1 Proteínas envolvidas nas vias celulares ligadas ao gene APC/ moléculas de adesão celular | 12 |
| 2.1.4.2 Mediador inflamatório | 13 |
| 2.1.4.3 Proteína codificada por gene supressor de tumor | 14 |
| 2.1.4.4 Proteínas envolvidas na apoptose..... | 15 |
| 2.1.4.5 Marcador de proliferação celular | 19 |
| 2.1.4.6 Proteínas envolvidas no controle imunológico | 20 |
| 3 OBJETIVOS..... | 22 |
| 4 PACIENTES E MÉTODOS | 24 |
| 4.1 Caracterização da casuística | 25 |
| 4.2 Avaliação prospectiva dos pacientes | 26 |
| 4.2.1 Análise através de duodenoscopia | 26 |
| 4.2.2 Análise histopatológica | 28 |
| 4.2.3 Análise imuno-histoquímica | 29 |
| 4.3 Análise estatística | 35 |
| 5 RESULTADOS | 36 |
| 5.1 Características gerais dos pacientes estudados | 37 |
| 5.2 Descrição fenotípica no duodeno..... | 38 |

| | |
|--|----|
| 5.3 Perfil de imuno-histoquímica..... | 45 |
| 5.3.1 Imunoexpressão de Ki-67 | 46 |
| 5.3.2 Imunoexpressão de marcadores da via de sinalização da Wnt/ β -catenina; COX-2 e PD-L1 | 49 |
| 5.3.3 Imunoexpressão de marcadores de apoptose | 52 |
| 6 DISCUSSÃO..... | 54 |
| 6.1 Imunoexpressão de Ki-67 | 55 |
| 6.2 Aplicabilidade clínica da imunoexpressão de Ki-67 no trato gastrointestinal | 56 |
| 6.3 Estudos que sugerem potencial aplicabilidade clínica da imunoexpressão de Ki-67 na doença não ampular de pacientes com PAF | 57 |
| 6.4 Considerações morfológicas dos adenomas e possível relação com marcadores moleculares..... | 59 |
| 6.5 Considerações dos marcadores β -catenina e e-caderina | 60 |
| 6.6 Considerações dos marcadores de apoptose | 61 |
| 6.7 Limitações | 62 |
| 7 CONCLUSÕES..... | 64 |
| 8 ANEXOS..... | 66 |
| 9 REFERÊNCIAS | 76 |
| APÊNDICES | 91 |

LISTAS

Lista de Siglas

| | |
|---------|---|
| ADC | Adenocarcinoma |
| CAPPesq | Comissão de Ética para análise de projetos de pesquisa |
| CCR | Câncer colorretal |
| cm | Centímetro |
| DP | Desvio padrão |
| SPSS | Pacote estatístico de ciências sociais (<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>) |
| INCA | Instituto Nacional de Câncer |
| APC | Gene Adenomatous Polyposis Coli |
| PAF | Polipose Adenomatosa Familiar |
| MAP | Polipose associada ao gene MUTYH |
| CAPPesq | Comissão de ética para análise de projetos de pesquisa |
| HCEPR | Hipertrofia congênita do epitélio pigmentado da retina |
| HC-Med | Prontuário eletrônico do Hospital Das Clínicas |
| NBI | Narrow band imaging |

Lista de Figuras

| | | |
|--------------------|--|----|
| Figura 1 - | Fluxo do protocolo seguido para coleta de amostras durante a duodenoscopia..... | 27 |
| Figura 2 - | Marcações realizadas pelo patologista nas regiões de interesse, tanto na lâmina corada com hematoxilina e eosina, como nos respectivos blocos de parafina para análise imuno-histoquímica..... | 30 |
| Figura 3 - | Planilha contendo os números correspondentes dos blocos, realizada com espaçamento horizontal / vertical de igual medida e a conferência e organização dos blocos doadores..... | 30 |
| Figura 4- | Planilha para leitura de casos, identificando o número de amostras de cada paciente , e agrupadas segundo a classificação de Spigelman | 31 |
| Figura 5- | Lesões plano-elevadas esbranquiçadas menores que 10 mm presentes em 37 pacientes com PAF | 39 |
| Figura 6- | Lesão plano-elevada esbranquiçada maior que 10 mm em paciente estágio III de Spigelman | 41 |
| Figura 7- | Lesões plano-elevadas esbranquiçadas com área de depressão central avermelhada, medindo de 3 a 10 mm presentes em paciente Spigelman III | 42 |
| Figura 8- | Lesão plano-elevada com área de depressão central, medindo aproximadamente 50 mm e localizada no bulbo duodenal em paciente Spigelman IV, avaliada com luz branca e com NBI | 43 |
| Figura 9 - | Lesão polipoide séssil medindo 4 cm em paciente masculino de 27 anos, Spigelman IV | 44 |
| Figura 10 - | Boxplot representando a distribuição da expressão de porcentagem de Ki-67 de acordo com os grupos pré-determinados segundo a Classificação de Spigelman | 47 |
| Figura 11- | Imunoexpressão duodenal de Ki-67 | 47 |
| Figura 12- | Imunoexpressão duodenal de β -catenina | 49 |
| Figura 13- | Imunoexpressão duodenal de E-caderina | 50 |
| Figura 14 - | Imunoexpressão duodenal de COX-2 | 50 |

| | |
|---|----|
| Figura 15 - Imunoexpressão duodenal de PD-L1 | 51 |
| Figura 16 - Imunoexpressão duodenal de p-53 | 52 |
| Figura 17 - Imunoexpressão duodenal de Bcl-2 | 52 |
| Figura 15 - Imunoexpressão duodenal de Caspase-3 | 53 |

Lista de Tabelas

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Classificação de Spigelman modificada para estadiamento da polipose duodenal na PAF | 27 |
| Tabela 2 - Características gerais da casuística de pacientes com diagnóstico de PAF | 37 |
| Tabela 3 - Características endoscópicas das lesões duodenais não ampulares | 40 |
| Tabela 4 - Distribuição dos diferentes marcadores de acordo com agrupamentos pré-determinados da classificação de Spigelman..... | 46 |
| Tabela 5 - Associação das diferentes variáveis de acordo com agrupamentos da classificação de Spigelman | 48 |

RESUMO

Resumo

Sulbarán Nava MN. *Perfil imuno-histoquímico duodenal na polipose adenomatosa familiar* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2021.

Introdução: A Polipose Adenomatosa Familiar constitui doença autossômica dominante, caracterizada pelo desenvolvimento de centenas a milhares de pólipos no cólon e reto, com evolução para câncer colorretal na terceira a quarta década da vida em pacientes não submetidos à proctocolectomia profilática. Pacientes com Polipose Adenomatosa Familiar tem 100-330 vezes maior risco de desenvolvimento de carcinoma duodenal em comparação à população em geral, sendo o adenocarcinoma duodenal a principal causa de morte por câncer em pacientes colectomizados. No entanto, os mecanismos moleculares e fisiopatológicos envolvidos na carcinogênese duodenal em pacientes com Polipose Adenomatosa Familiar não foram ainda devidamente estudados. **Objetivo:** Correlacionar a expressão de E-caderina, β -catenina, p-53, Caspase-3, Bcl-2, COX-2, Ki-67 e PD-L1 com a gravidade da adenomatose duodenal não ampular em pacientes com Polipose Adenomatosa Familiar. **Métodos:** Foram estudados, prospectivamente, 62 pacientes com diagnóstico de PAF, atendidos no Ambulatório de Poliposes Intestinais do Departamento de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo. Os pacientes foram submetidos à duodenoscopia com biópsias de áreas com suspeita de adenomas, e de áreas normais adjacentes usadas como controle; e classificados segundo os critérios de Spigelman. O material coletado foi submetido às análises anatomopatológica e imuno-histoquímica pela técnica de Arranjo em Matriz Tecidual. Os marcadores: E-caderina, β -catenina, p-53, Bcl-2, Caspase-3, COX-2, Ki-67 e PD-L1 foram comparados entre grupos pré-determinados de Spigelman, sendo representado o grupo 1 por pacientes Spigelman 0, I e II, e o grupo 2 por pacientes com doença duodenal avançada, Spigelman III e IV. **Resultados:** 62 pacientes foram

submetidos à avaliação endoscópica e histológica, com média de idade de 36,1 anos, sendo 32 (51,6%) do sexo feminino. Destes, 50 foram incluídos para análise imuno-histoquímica. Polipose duodenal avançada (Spigelman III e IV) foi identificada em 13/62 (21%) pacientes, 9 (69,2%) homens, com média de idade de $37,61 \pm 13,9$ anos. Os adenomas de pacientes com doença duodenal avançada (Spigelman III e IV) apresentaram elevada expressão de Ki-67 em maior proporção (85,71% vs 14,29%) quando comparados aos adenomas de pacientes do grupo 1 ($p=0,021$). A análise qualitativa demonstrou que os adenomas de pacientes com doença duodenal avançada (grupo 2) apresentaram expressão apical de Ki-67 em maior proporção (75% vs 25% $p=0,005$) quando comparados aos adenomas de pacientes do grupo 1. Não se observou aumento da expressão de E-caderina, β -catenina, COX-2, p53, Bcl-2, Caspase 3, e PD-L1 em pacientes com doença duodenal avançada ($p>0.05$). **Conclusões:** A elevada proliferação celular, expressa pelo Ki-67, poderia ser utilizada como marcador de agressividade na polipose duodenal não ampular em pacientes com Polipose Adenomatosa Familiar. E-caderina, β -catenina, p-53, Caspase-3, Bcl-2, COX-2 e PD-L1 não tiveram associação com a gravidade da polipose duodenal.

Descritores: Polipose adenomatosa do colo; Genes APC; Imuno-histoquímica; Adenoma; Duodeno; Intestino delgado.

ABSTRACT

Abstract

Sulbarán Nava MN. *Duodenal immunohistochemical profile of familial adenomatous polyposis* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2021.

Introduction: Familial Adenomatous Polyposis is an autosomal dominant disease, characterized by the development of hundreds to thousands of polyps in the colon and rectum, with progression to colorectal cancer in the third to fourth decade of life in patients not undergoing prophylactic proctocolectomy. Familial Adenomatous Polyposis patients have a 100-330 times greater risk of developing duodenal carcinoma compared to the general population, with duodenal adenocarcinoma being the leading cause of cancer death in colectomized patients. However, the molecular and pathophysiological mechanisms involved in duodenal carcinogenesis in patients with Familial Adenomatous Polyposis have not yet been well understood. **Objective:** To correlate the expression of E-cadherin, β -catenin, p-53, Caspase-3, Bcl-2, COX-2, Ki-67 and PD-L1 with the severity of non-ampullary duodenal adenomatosis in patients with Familial Adenomatous Polyposis. **Methods:** We prospectively studied 62 patients diagnosed with Familial Adenomatous Polyposis, followed at the Intestinal Polyposis Clinic of the Department of Gastroenterology, Hospital das Clínicas, University of São Paulo. Patients underwent duodenoscopy with biopsies from areas suspected of having adenomas, and from adjacent normal areas used as controls; and classified according to Spigelman's criteria. The collected material was subjected to anatomopathological and immunohistochemical analysis using the Tissue Microarray technique. The markers: E-cadherin, β -catenin, p-53, Bcl-2, Caspase-3, COX-2, Ki-67 and PD-L1 were compared between predetermined Spigelman groups, with group 1 being represented by Spigelman patients 0, I and II, and group 2 for patients with advanced duodenal disease, Spigelman III and IV. **Results:** 62 patients underwent endoscopic and histological evaluation, with a mean age of 36.1 years, 32 (51.6%) of whom were female. Among these, 50 were included for

immunohistochemical analysis. Advanced duodenal polyposis (Spigelman III and IV) was identified in 13/62 (21%) patients, 9 (69.2%) men, with a mean age of 37.61 ± 13.9 years. The adenomas of patients with advanced duodenal disease (Spigelman III and IV) showed high expression of Ki-67 in a greater proportion (85.71% vs 14.29% $p = 0.021$) when compared with the adenomas of patients in group 1. The qualitative analysis showed that adenomas of patients with advanced duodenal disease (group 2) showed apical expression of Ki-67 in a greater proportion (75% vs 25% $p = 0.005$) when compared to the adenomas of patients in group 1. There was no increase in expression of E-cadherin, β -catenin, COX-2, p53, Bcl-2, Caspase 3, and PD-L1 in patients with advanced duodenal disease ($p > 0.05$).

Conclusion: The high cellular proliferation, expressed by Ki-67, could be used as a marker of aggressiveness in non-ampullary duodenal polyposis in patients with Familial Adenomatous Polyposis. E-cadherin, β -catenine, p-53, Caspase-3, Bcl-2, COX-2 and PD-L1 were not associated with duodenal adenomatosis severity.

Descriptors: Adenomatous polyposis coli; Genes; APC; Immunohistochemistry; Adenoma; Duodenum; Intestine, small.

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O câncer colorretal (CCR) representa a neoplasia maligna mais comum do trato gastrointestinal, com registros de aumento da sua incidência nos últimos anos, principalmente em áreas consideradas de baixo risco como os países em desenvolvimento. No Brasil, a estimativa do INCA de novos casos em 2020, foi de aproximadamente 40.990, (20.520 homens e 20.470 mulheres), com 19.603 mortes, das quais 9.608 foram homens e 9.995 mulheres. Além disso, é o terceiro câncer mais frequente no mundo, sendo o segundo tanto em homens como nas mulheres no Brasil ⁽¹⁾. Estes números correspondem a um risco estimado de 16,8 casos novos a cada 100 mil homens e 17,9 para cada 100 mil mulheres ⁽¹⁾.

Do ponto de vista fisiopatológico, o CCR resulta da interação entre fatores genéticos e ambientais. A contribuição dos primeiros baseia-se em duas observações indicativas de maior risco de câncer: incidência elevada de CCR entre pessoas com história familiar e a presença de famílias com muitos membros acometidos pela doença ⁽²⁾.

As alterações genéticas que contribuem para o surgimento de CCR podem ser adquiridas (câncer esporádico) ou hereditárias. O CCR associado a síndromes hereditárias representa menos de 5% dos casos diagnosticados. Este grupo de pacientes é classificado em subgrupos de acordo com a presença (poliposes colônicas) ou ausência de polipose colorretal (HNPPC, do inglês *hereditary non-polyposis colorectal cancer*) ^(3, 4).

Dentre as síndromes de poliposes colônicas hereditárias, a Polipose Adenomatosa Familiar (PAF) é a mais comum, representando aproximadamente 1% de todos os casos de câncer colorretal ^(3, 4). A PAF é uma síndrome hereditária complexa e apresenta algumas variantes como a PAF atenuada e a polipose associada ao gene mutY homólogo (MUTYH). A PAF constitui doença autossômica dominante, causada por mutações germinativas no gene APC, que está situado no braço longo do cromossomo 5q21 ⁽⁵⁻⁷⁾. A doença é caracterizada pelo desenvolvimento de centenas a milhares de pólipos no cólon e reto. Aproximadamente 50% dos doentes desenvolvem pólipos aos 15 anos de idade e 95% até os 35 anos. Nestes pacientes, a transformação de um ou mais adenomas em adenocarcinoma colorretal apresenta um risco de 100% até a quarta década em pacientes não colectomizados ^(2, 5, 6).

O CCR representa a principal causa de morte em pacientes com PAF ^(8, 9). Contudo, o maior reconhecimento da importância do diagnóstico precoce e da proctocolectomia profilática reduziram a mortalidade por CCR neste grupo de pacientes ^(5, 10). Por outro lado, pacientes com PAF submetidos à colectomia profilática podem evoluir para óbito pelo desenvolvimento de carcinoma duodenal, tumores desmóides e complicações pós-operatórias^(5, 11).

O reconhecimento das diversas manifestações extra-colônicas permite afirmar que a PAF é doença sistêmica que afeta tecidos das três camadas germinativas: ectoderme (cistos de pele; lesões de retina, tais qual a hipertrofia do epitélio pigmentado da retina - HCEPR e tumores endócrinos

e do sistema nervoso), endoderme (tumores hepáticos, adenomas e adenocarcinomas do estômago, intestino delgado e árvore biliar) e mesoderme (anormalidades dentárias, tumores desmoides e osteomas) (3, 7).

Em pacientes com PAF, o adenocarcinoma duodenal representa a segunda causa de morte por câncer nestes pacientes. Os adenomas do duodeno podem se desenvolver em grande proporção dos pacientes com PAF, com estimativas de risco variando de 50-100% (11-15). Esses pólipos têm uma predileção pela segunda e terceira porção do duodeno, especialmente a região periampular. Pacientes com PAF tem cerca de até 330 vezes maior risco de desenvolvimento de carcinoma duodenal em comparação à população geral (5, 16-19). Aos 50 anos de idade, o risco de displasia de alto grau ou carcinoma duodenal em pacientes com PAF é estimada em aproximadamente 15,2% (15).

Tais dados ressaltam a necessidade de vigilância endoscópica, além de estratégias de prevenção e tratamento para estes pacientes (3, 5, 17, 18).

Em 1989, Spigelman et al. publicaram um estudo no qual a adenomatose duodenal em doentes com PAF foi dividida em cinco categorias, desde 0 até IV, considerando o número, tamanho e histologia do pólipo (20) (Tabela 1). Estádio 0 significa ausência de lesões duodenais; I e II polipose duodenal leve; III e IV representam doença duodenal avançada. Essa classificação permite que a polipose duodenal seja comparada ao longo do tempo para um mesmo paciente e entre observadores, além de oferecer uma estimativa do risco de degeneração maligna duodenal. O risco de câncer de duodeno é de 2,3%, 2,4% e 36% para estádios II, III e IV,

respectivamente (15, 20, 21). Baseado nestes dados, recomenda-se acompanhamento com intervalo de quatro em quatro anos no estágio 0, dois a três anos em estágio I e II, e seis a doze meses em estágio avançado III, onde se deve considerar a cirurgia de forma individualizada, e naqueles com estágio IV que devem ser tratados cirurgicamente (5).

A classificação de Spigelman tem sido, portanto, adotada como método de estadiamento da adenomatose duodenal em doentes com PAF (5, 22). No entanto, esta sistematização não parece predizer, com efetividade, o risco de desenvolvimento de câncer ampular. Devido a este fato, recomenda-se que os adenomas ampulares devam ser classificados separadamente segundo o tamanho, grau de displasia e histologia (23).

Neste contexto, torna-se essencial o rastreamento do trato gastrointestinal alto através de endoscopia digestiva alta, tanto convencional como através de aparelhos de visão lateral (que permitem melhor avaliação da região periampular) (3, 5). Contudo, não existe consenso na literatura sobre tal conduta, embora existam algumas recomendações sobre este tema (3).

Tendo em vista que a PAF constitui uma pan-polipose gastrointestinal (3), pode ocorrer também o desenvolvimento de pólipos no jejuno e íleo. Estas lesões parecem ter pouca significância clínica, com raros relatos de casos de malignidade que não são superiores aos reportados na população geral (24). Até recentemente, o estudo morfológico do intestino delgado era extremamente limitado em função de poucos métodos diagnósticos (24). Com o desenvolvimento da enteroscopia assistida por *overtube*, seja por balão ou espiral, e da cápsula endoscópica, a avaliação endoscópica do intestino

delgado distal ao ligamento de Treitz tem sido possível, permitindo também a correlação histológica das lesões ^(25, 26).

Neste sentido, uma revisão sistemática que incluiu 821 pacientes com suspeita de doença de intestino delgado e submetidos à enteroscopia assistida por *overtube* e cápsula endoscópica demonstrou que ambos os testes são métodos com boa acurácia para a detecção de pólipos e tumores do intestino delgado. No entanto, o maior impacto terapêutico da enteroscopia foi observado em pacientes com PAF, devido à possibilidade de ressecção dos adenomas de delgado ⁽²⁷⁾.

Como o desenvolvimento de adenomas avançados duodenais (maiores do que 10 mm, com componente viloso ou com presença de displasia de alto grau); bem como a polipose duodenal avançada (Estádios III e IV de Spigelman) são eventos clínicos importantes em pacientes com PAF ⁽²⁸⁾, foi realizado um estudo prévio no Departamento de Gastroenterologia do HCFMUSP, dissertação de Mestrado ⁽²⁶⁾, parte de uma longa linha de pesquisa ^(3, 11, 29-31), com o objetivo de esclarecer quais fatores clínicos poderiam determinar tal risco aumentado, onde se concluiu que a intensidade da adenomatose duodenal pode ser previsível a partir da gravidade da adenomatose duodenal de algum parente de primeiro grau. Porém, ainda há controvérsia na literatura sobre as variáveis clínicas e moleculares que podem determinar aumento do risco para o desenvolvimento da doença duodenal avançada, tanto ampular como não ampular nestes pacientes ^(23, 28, 30, 32).

2 REVISÃO DA LITERATURA

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Bases moleculares da Polipose Adenomatosa Familiar

A PAF e a PAF atenuada são condições autossômicas dominantes causadas por mutações no APC, que ocorrem em 1 de 10.000 nascimentos⁽¹⁸⁾. No entanto, até 25% dos pacientes com PAF podem ter mutações germinativas *de novo*, com ausência de histórico familiar da doença^(20, 33). Estudos recentes indicaram a presença de mosaïcismo em aproximadamente 15% destes casos⁽¹⁸⁾.

Mutações germinativas do gene APC foram primeiramente descritas em 1991⁽³⁴⁾ como causadoras de PAF com padrão de herança autossômica dominante. Mutações ao longo do gene são responsáveis pela PAF, com maior frequência de mutações nas regiões 3' ou 5' associadas à PAF atenuada⁽³⁵⁾.

Em 2002, um novo gene associado à polipose foi identificado, no qual mutações bialélicas causam um padrão autossômico recessivo hereditário, atualmente referido como polipose associada ao MUTYH (MAP)⁽³⁶⁾.

2.1.1 Gene APC

O APC é um gene supressor de tumor localizado no cromossomo 5q21-q22. O gene tem 15 exons, com o exon 15 representando individualmente mais de 75% da sequência codificadora sendo o alvo mais

comum das mutações germinativa e somática. O gene APC codifica uma proteína de 2.843 aminoácidos (310 kDa) que desempenha um papel direto na via de sinalização Wnt. Essa proteína multifuncional ocorre em várias isoformas dentro das células, contendo vários domínios de aminoácidos que permitem oligomerizar, assim como interagir com numerosas outras moléculas ⁽³⁷⁾. A proteína APC funciona como um supressor de tumor regulando negativamente a oncoproteína β -catenina ⁽³⁸⁾. Além disso, o APC estabiliza os microtúbulos, levando à estabilidade cromossômica ⁽³⁹⁾. A inativação do APC pode levar à segregação cromossômica defeituosa e à mitose aberrante. Mutações germinativas no gene APC são amplamente reconhecidas nos casos de PAF. Indivíduos com mutação APC germinativa desenvolvem múltiplos adenomas como resultado da inativação do alelo remanescente no cólon e reto por mutações somáticas de APC ou perda de heterozigose neste local ⁽⁴⁰⁾.

Estudos demonstram que as mutações no APC foram localizadas em 80% (IC 95% 71% -87%) em pacientes com mais de 1.000 adenomas, 56% (IC 95% 54% -59%) em casos com 100 – 999 adenomas, 10% (95% IC 9% – 11%) com 20 – 99 adenomas e em 5% (95% CI 4% –7%) com 10 – 19 adenomas ⁽⁴¹⁾.

2.1.2 Fenótipos na PAF: PAF clássico e atenuado

De acordo com o número de pólipos no cólon e reto e com a idade de início, dois fenótipos principais são reconhecidos para a PAF:

PAF Clássica: caracteriza-se pela presença de centenas a milhares de pólipos adenomatosos ao longo do cólon e do reto. No momento da adolescência, os pólipos são geralmente identificados no retossigmoide como pequenos pólipos e, com o decorrer dos anos, aumentam de tamanho e número. Cerca da metade dos pacientes com PAF desenvolvem adenomas aos 15 anos de idade e 95% aos 35 anos ^(28, 29). O CCR ocorre inevitavelmente em idade mais precoce do que os CRC esporádicos (idade média de 35 anos), mas raramente antes dos 20 anos.

PAF Atenuada (PAF-A): É uma variante da PAF com um curso de doença menos agressivo, caracterizado por um menor número de pólipos (10–100), idade de início mais tardia, com frequente distribuição dos pólipos no lado direito do cólon e menor risco de CCR (até 70%). A definição clínica de PAF-A é controversa e deve ser considerada em qualquer paciente com 10-100 adenomas, embora um diagnóstico preciso seja frequentemente difícil em um único paciente ⁽²⁾. A PAF-A associada ao APC pode mimetizar MAP ou até mesmo o desenvolvimento de pólipos esporádicos. O exame de vários membros da família muitas vezes pode determinar o fenótipo.

2.1.3 Associação Genótipo – Fenótipo

A existência de um espectro de polipose causada por mutações localizadas em diferentes regiões do gene APC foi sugerida por Leppert et al., em 1990 ⁽⁴²⁾. Desde então, vários estudos observaram uma associação entre a manifestação clínica e a localização da mutação germinativa. Em linhas gerais, o fenótipo clássico de mais de 100 adenomas está associado a

mutações entre os códons 178 e 309 e entre os códons 409 e 1.580, correspondendo aos exons 5 a 8, 9 a 14 e à primeira metade do exon 15. A polipose profusa ou agressiva (caracterizada por um início mais precoce e maior número de pólipos) tem sido associada a mutações dos códons 1.250 a 1.464, principalmente no códon 1.309.

Manifestações extra-colônicas também foram associadas a mutações específicas de APC ^(11, 30, 43-45), especialmente aquelas localizadas além do códon 1.400. A presença de pólipos duodenais e gástricos tem sido relacionada a mutações no final 3', antes do códon 1.395, mas também do exon 4 e dos códons 564-1.493. Hipertrofia congênita do epitélio pigmentar da retina (CHRPE) está ligado a mutações localizadas entre os códons 311 e 1.465, e a presença de tumores desmoides está relacionada com mutações na extremidade 3' do gene APC, em geral, no códon a jusante 1400 (1.445-2.011). Outras correlações genótipo-fenótipo têm sido observadas com evidências limitadas. Quase 95% das mutações em pacientes com hepatoblastoma estão localizados na região 5' no meio do gene APC entre os códons 141 e 1.751. Os tumores da tireoide têm sido relacionados a mutações entre os códons 140 e 1.309 ⁽³⁷⁾.

Embora seja observada a associação genótipo – fenótipo, há considerável variabilidade entre os indivíduos, mesmo entre os membros da família, sugerindo a influência de fatores ambientais e / ou o efeito dos genes modificadores ^(40, 46).

2.1.4 Função de algumas proteínas no processo de carcinogênese

2.1.4.1 Proteínas envolvidas nas vias celulares ligadas ao gene APC/ moléculas de adesão celular

β -catenina/ E-caderina

A β -catenina é uma oncoproteína que apresenta uma ação central no equilíbrio proliferativo da mucosa intestinal no mecanismo da carcinogênese colorretal. Houve uma mudança em relação à impressão inicial de que a função da β -catenina se restringia à adesão entre células, motivada por sua participação num complexo no qual representava um elemento de ligação com uma proteína transmembrana, a E-caderina. Os estudos têm demonstrado que além dessa forma relacionada à membrana, a β -catenina pode ser observada numa forma livre no citoplasma e no interior do núcleo (47, 48).

A sequência adenoma-carcinoma tem sido proposta como a principal via patogênica no adenocarcinoma colorretal e duodenal na PAF (49). Esta sequência postula que existe a perda germinativa ou somática de uma única cópia normal do gene APC, que codifica uma proteína supressora de tumor responsável pela degradação da β -catenina. Normalmente, a β -catenina está ligada à E-caderina, uma molécula de adesão intercelular localizada na superfície da membrana celular. Quando a β -catenina não está ligada à E-caderina, ela é rapidamente degradada por um complexo de proteínas, incluindo APC, proteína fosfatase 2A, proteínas quinases e axina. Este complexo de proteínas fosforila a β -catenina, sinalizando sua degradação

por um processo mediado por ubiquitina. Quando o APC sofre mutação, a β -catenina se acumula no núcleo e ativa a transcrição gênica, levando à alteração da expressão de proteínas regulatórias envolvidas na proliferação, diferenciação, migração, apoptose e progressão do ciclo celular. O “*second hit*” ou inativação do alelo APC normal restante leva à formação de lesão displásica dos adenomas, com acúmulo adicional de mutações genéticas que desencadeiam o desenvolvimento do câncer ^(50, 51).

2.1.4.2 Mediador Inflamatório

COX-2

Os metabólitos do ácido araquidônico parecem influenciar na carcinogênese. A ciclo-oxigenase-2 (COX-2) é a principal enzima na conversão do ácido araquidônico em prostaglandinas e afeta várias vias de transdução de sinal modulando a inflamação e a proliferação celular. COX-2 foi implicada na tumorigênese gastrointestinal, sendo demonstrada expressão aumentada na PAF ⁽⁵²⁾.

Embora alterações na via de sinalização Wnt estejam envolvidas na fase inicial do desenvolvimento tumoral ⁽⁵³⁾, a expressão anormal da COX-2 observada na maioria dos adenomas e carcinomas pode desempenhar um papel crucial na progressão do tumor, aumentando os níveis de prostaglandina E2 (PGE2) ⁽²⁸⁾. A hiperexpressão de COX-2 está ligada à redução da apoptose, aumento do crescimento celular, angiogênese tumoral e invasão de tecido e metástase ⁽⁵⁴⁾.

O envolvimento da via da COX-2 / PGE2 também pode explicar os efeitos quimiopreventivos dos anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) inibidores da COX, diminuindo a ocorrência de adenomas colorretais esporádicos ⁽⁵⁵⁾. Apesar de dados controversos na literatura, o tratamento com o inibidor seletivo da COX-2 celecoxibe associou-se à regressão dos adenomas colorretais em pacientes com PAF ⁽⁴⁰⁾. Redução significativa na densidade do pólipó duodenal em pacientes com PAF com doença clinicamente significativa foi alcançada com altas doses de celecoxibe. No entanto, doses altas de celecoxibe foram associados a efeitos adversos que prejudicam o papel deste no tratamento da adenomatose duodenal em pacientes com PAF.

2.1.4.3 Proteína codificada por gene supressor de tumor

p53

Trata-se de uma proteína codificada por um gene situado no cromossomo de número 17, o qual leva o mesmo nome (gene p53), em consequência de seu peso molecular de 53 Kda (quiloDalton), sendo seu gene codificador classificado como gene supressor de tumor.

Sua principal função está relacionada à preservação da integridade do código genético em cada célula, ou seja, a manutenção da mesma sequência de nucleotídeos ao longo de toda a molécula de DNA igualmente presente em cada célula do nosso corpo.

Durante o ciclo de divisão celular, a proteína p53 faz uma verificação quanto à eventual ocorrência de uma mutação na sequência do código

genético em consequência de uma duplicação defeituosa do DNA (erro de replicação). Caso seja verificada a existência de uma mutação, é função da proteína p53, através do desdobramento de uma cascata de reações, impedir que esta célula entre em processo de mitose e complete a divisão celular. Para isto, dois caminhos poderão ser seguidos: a correção da mutação através da ativação de proteínas de reparo ou a indução da morte celular através da apoptose ⁽⁵⁶⁾.

Dentre os mediadores da via apoptótica induzidos pelo p53, estão o gene *bax*, o qual acelera a apoptose através da ativação de caspases que alteram a estrutura da mitocôndria, estimulando a produção de espécies reativas de oxigênio altamente tóxicas ⁽⁵⁷⁾.

Por exercer esta função de detecção de alterações no DNA e consequente correção ou morte celular, a proteína p53 é considerada como uma guardiã do genoma, sendo importante elemento na prevenção do desenvolvimento de tumores.

A relação entre a proteína p53 e a carcinogênese tem sido amplamente comprovada através do elevado índice de mutações de seu gene em tumores malignos de diferentes tecidos do organismo. No entanto, a função do p53 na PAF, e, especificamente na evolução neoplásica no intestino delgado, não é bem conhecida ⁽⁵⁸⁾.

2.1.4.4 Proteínas envolvidas na apoptose

A apoptose é um mecanismo de morte celular programada envolvido em uma variedade de eventos biológicos, como o desenvolvimento, a

homeostase dos tecidos e a remoção de células indesejadas ⁽⁵⁹⁾. Alterações na regulação da apoptose pode resultar em várias doenças, incluindo o câncer. Os estudos biológicos moleculares da apoptose começaram no final da década de 1980 e tiveram rápido progresso. A via de transdução de sinal apoptótico funciona através de vários sinais pró-apoptóticos que inicialmente ativam vias de sinalização separadas, e, eventualmente se convertem em um mecanismo comum conduzido por uma família única de proteases de cisteína, chamadas caspases ⁽⁶⁰⁾. Este mecanismo é regulado negativamente por vários conjuntos de genes, sendo os mais bem caracterizados a família *bcl-2* ⁽⁶¹⁾.

Bcl-2

O *bcl-2* foi o primeiro gene contra a morte celular descoberto ⁽⁶²⁾. Foi originalmente identificado como um oncogene envolvido no linfoma folicular humano de origem da célula B ^(62, 63). Em 1988, foi descoberta sua atividade anti-apoptótica em um sistema onde a apoptose foi induzida por privação de IL-3 ⁽⁶⁴⁾. Logo depois, *bcl-2* mostrou-se prevenir a apoptose induzida por vários estímulos, incluindo agentes quimioterápicos, sugerindo sua capacidade de prevenir apoptose por meio de uma via comum ⁽⁶⁵⁾.

Ao contrário do crescimento celular e funções proliferativas de outras oncoproteínas conhecidas naquela época, o *bcl-2* demonstrou facilitar a oncogênese através da resistência à morte celular ^(64, 66). Nos anos seguintes, mais de 15 proteínas foram adicionadas a esta família, cada uma contendo um ou mais domínios de homologia *bcl-2*, sendo agrupadas em

classes: aquelas que atuam na prevenção da apoptose (anti-apoptótica) e aquelas que induzem a apoptose (pró-apoptose). Os membros da família *bcl-2* pró-apoptóticos podem ser ainda divididos em proteínas efetoras de múltiplos domínios BH (contendo domínios BH1, BH2 e BH3) e proteínas apenas BH3 (única região de homologia com *bcl-2* é BH3) ⁽⁶⁶⁾.

Os membros anti-apoptóticos desta família, como *bcl-2* e *bcl-xL*, evitam a apoptose por sequestro de caspases formando um complexo denominado apoptossoma; ou por impedir a liberação de fatores apoptogênicos mitocondriais, como o citocromo C, e fator de indução de apoptose (AIF) no citoplasma. Depois de entrar no citoplasma, o citocromo C e AIF ativam diretamente as caspases que clivam um conjunto de proteínas celulares para causar mudanças apoptóticas. Em contraste, os membros pró-apoptóticos desta família, como *bax* e *bak*, desencadeiam a liberação de caspases de antagonistas de morte via heterodimerização e induzem a liberação de fatores apoptogênicos mitocondriais no citoplasma, agindo no poro de transição de permeabilidade mitocondrial, levando, assim, à ativação de caspases. Desta maneira, a família de proteínas Bcl-2 atua como um ponto crítico de decisão de vida-morte dentro da via comum da apoptose ⁽⁶⁶⁾.

Caspases

As caspases são uma família de endoproteases que apresentam importantes funções nas ligações das vias de regulação celular que controlam a morte celular programada e a inflamação. A ativação dessas enzimas é rigidamente controlada por sua produção como zimógenos

inativos que ganham atividade catalítica após eventos de sinalização que promovem sua agregação em dímeros ou complexos macromoleculares. A ativação de caspases apoptóticas resulta na inativação ou ativação de substratos e na geração de uma cascata de eventos de sinalização que permitem a demolição controlada de componentes celulares. A desregulação das caspases está na base de doenças, incluindo câncer e distúrbios inflamatórios ⁽⁶⁷⁾.

As caspases envolvidas na apoptose foram subclassificadas por seu mecanismo de ação, ou seja, podem ser caspases iniciadoras (caspase-8 e -9) ou caspases executoras (caspase-3, -6 e -7). As caspases iniciadoras ativam as caspases executoras que, subsequentemente, coordenam suas atividades para demolir proteínas estruturais e ativar outras enzimas, desencadeando as características morfológicas do resultado de apoptose, incluindo fragmentação de DNA e lise de membrana ⁽⁶⁸⁾.

Os mecanismos apoptóticos se enquadram nas vias extrínsecas ou intrínsecas ^(67, 68). A via extrínseca da apoptose é ativada através da ligação de um ligante a um receptor de morte que, por sua vez, leva, com a ajuda das proteínas adaptadoras (FADD / TRADD), ao recrutamento, dimerização e ativação da caspase-8. A caspase-8 ativa inicia a apoptose diretamente por clivagem e ativa a caspase executora (-3, -6, -7) ou a via apoptótica intrínseca para induzir a morte celular eficiente. A via de apoptose intrínseca ou mitocondrial pode ser ativada por meio de vários estresses celulares que levam à liberação do citocromo C da mitocôndria e à formação do apoptossoma, composto por APAF1, citocromo C, ATP e caspase-9,

resultando na ativação da caspase-9. A caspase-9 ativa inicia a apoptose clivando e, assim, ativando as caspases executoras ^(67, 68).

Embora as caspases sejam mais frequentemente associadas à apoptose, há evidências persistentes de que algumas destas enzimas também podem influenciar a proliferação. A caspase-3 pode ter esse efeito, pois as células B sem caspase-3 mostraram aumento da proliferação *in vivo* e hiperproliferação após estimulação mitogênica *in vitro*. Este fenótipo de célula B hiperproliferativa foi resgatado em camundongos *double-knockout* sem caspase-3 e o inibidor da quinase dependente de ciclina p21 (codificado por Cdkn1a), que é um substrato da caspase-3 ^(69, 70).

Alguns estudos analisaram se alterações no gene CASP3, que codifica o executor crucial caspase-3, podem promover a tumorigênese humana. Um estudo examinou a região de codificação da caspase-3 em 944 tumores de 14 tipos diferentes em comparação com o tecido adjacente saudável. No entanto, apenas 14 tumores (1,48%) apresentaram mutações somáticas CASP3 ⁽⁷¹⁾. Assim, a evidência da função destas proteínas na carcinogênese duodenal é ainda limitada.

2.1.4.5 Marcador de proliferação celular

Ki-67

A proteína nuclear Ki-67 foi descrita pela primeira vez em células derivadas do linfoma de Hodgkin ⁽⁷²⁾. No ciclo celular, o Ki-67 é expresso ao longo da divisão celular (nas fases S, G2 e M), com degradação contínua em G1 e G0 ^(73, 74). A expressão de Ki-67 é amplamente utilizada na oncologia

como um índice de proliferação celular ^(75, 76). Embora o Ki-67 seja expresso em tumores benignos, seus níveis são muito baixos; no entanto, é encontrado em níveis elevados em múltiplas lesões malignas e está fortemente associado a metástases à distância, resultando em mau prognóstico do paciente. O valor prognóstico do índice do Ki-67 foi avaliado em vários tipos de tumores, como nos tumores cerebrais, tumores neuroendócrinos e neoplasias do tecido linfoide, sendo seus níveis comumente utilizados para classificá-los. De acordo com seu valor preditivo, a expressão de Ki-67 identifica subpopulações de pacientes com maior probabilidade de responder a uma determinada terapia ⁽⁷⁶⁾.

Assim, a proteína Ki-67 é amplamente utilizada como marcador prognóstico e preditivo para diagnóstico e tratamento oncológico. No entanto, não foi amplamente estudada na adenomatose duodenal da PAF.

2.1.4.6 Proteínas envolvidas no controle imunológico

PD-L1

O ligante de morte celular programada 1 (PD-L1) é uma glicoproteína transmembrana da superfamília de imunoglobulinas haplótipo tipo I, que está intimamente relacionado ao prognóstico de alguns cânceres humanos ⁽⁷⁷⁾. O PD-L1 é normalmente expresso na superfície de células saudáveis; liga-se a células T citotóxicas preparadas, inibindo assim o ataque mediado por células ⁽⁷⁸⁻⁸⁰⁾. Vários estudos relataram resultados piores em tumores que expressam PD-L1 ^(79, 81). A expressão desse ligante em células tumorais confere proteção a ataques imunomediados em células tumorais e pode ser

responsável por seu potencial particularmente maligno. PD-L1 é expresso em uma variedade de células cancerosas, como CCR, câncer de próstata, câncer gástrico, câncer de pulmão, melanoma, carcinoma de células renais, mieloma múltiplo e leucemia.

Além de seu valor prognóstico em alguns cânceres, os inibidores do receptor de morte celular programada (PD-1) e seu ligante associado (PD-L1) ganharam atenção significativa na oncologia como imunoterapia potencial ⁽⁸⁰⁾.

No entanto, a expressão de PD-L1 em câncer duodenal na PAF não foi estudada.

3 OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

Tendo em vista as controvérsias existentes na literatura, o objetivo do presente trabalho foi:

Correlacionar a expressão de E-caderina, β -catenina, p-53, Caspase-3, Bcl-2, COX-2, Ki-67 e PD-L1 com a gravidade da adenomatose duodenal não ampular em pacientes com Polipose Adenomatosa Familiar.

4 PACIENTES E MÉTODOS

4 PACIENTES E MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (Departamento de Gastroenterologia), e registrado na plataforma do *Clinical trials* sob o código NCT02656134 (Anexos 1 e 2).

4.1 CARACTERIZAÇÃO DA CASUÍSTICA

A população deste estudo foi constituída por pacientes com diagnóstico de PAF acompanhados no Ambulatório de Poliposes Intestinais da Disciplina de Cirurgia do Aparelho Digestivo e Coloproctologia do Departamento de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Todos os pacientes assinaram o termo de consentimento prévio à inclusão no estudo (Anexo 3).

O diagnóstico destes pacientes se baseou na presença de pólipos adenomatosos colorretais encontrados no exame colonoscópico, acompanhados ou não de outras alterações clínicas já descritas da PAF. A caracterização diagnóstica pela principal manifestação fenotípica da doença deve-se ao fato de que ainda não se empregam no nosso meio, de rotina, testes genéticos que possam estabelecer o diagnóstico molecular desta doença, limitando também a pesquisa dos familiares dos pacientes.

Durante o período de julho de 2013 até abril de 2016, foram estudados, prospectivamente, 62 pacientes com diagnóstico de PAF, relacionados a 46 famílias, com idades variando entre 15 e 65 anos, os quais são acompanhados no ambulatório.

Os critérios de inclusão estão relacionados a seguir:

1. pacientes com polipose adenomatosa familiar já submetidos à colectomia.

Os critérios de exclusão foram:

1. gravidez ou fase de amamentação;
2. pacientes apresentando comorbidades com repercussão hemodinâmica;
3. pacientes que já foram submetidos à duodenectomia (gastroduodenopancreatectomia ou duodenopancreatectomia com preservação pilórica).

4.2 AVALIAÇÃO PROSPECTIVA DOS PACIENTES

A avaliação prospectiva dos 62 doentes da presente casuística consistiu nos exames detalhados a seguir.

4.2.1 Análise através de duodenoscopia

Após jejum de 8 horas e administração de simeticona 10cc via oral, os doentes foram submetidos à duodenoscopia sob sedação consciente, utilizando-se aparelhos de visão frontal e lateral. Em todos os casos, foram

realizadas quatro biópsias aleatórias na segunda porção duodenal de tecido endoscopicamente normal, as quais foram fixadas no formol para análise patológica. Foram coletadas outras quatro biópsias de áreas com suspeita de adenomas, para análise histopatológica (Figura 1). Cromoscopia convencional com índigo-carmim ou digital com *Narrow band imaging* (NBI) foram utilizadas em alguns casos para melhor identificação das lesões. Todos os pacientes foram classificados segundo os critérios de Spigelman *et al.* ⁽²⁰⁾ modificados (Tabela 1), e segundo a classificação de Viena modificada para neoplasia epitelial gastrointestinal ⁽⁸²⁾.

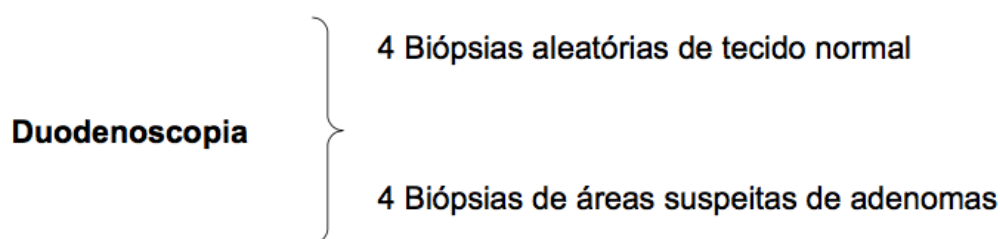


Figura 1 - Fluxo do protocolo seguido para coleta de amostras durante a duodenoscopia

Tabela 1 - Classificação de Spigelman modificada para estadiamento da polipose duodenal na PAF ⁽²⁸⁾

| Pontuação | 1 | 2 | 3 |
|--------------|------------|--------------|-----------|
| Número | 1-4 | 5-20 | >20 |
| Tamanho (mm) | 1-4 | 5-10 | >10 |
| Histologia | Tubular | Tubuloviloso | Viloso |
| Displasia | Baixo grau | | Alto grau |

Estádio 0 = 0 pontos; Estádio I = 1-4 pontos; Estádio II = 5-6 pontos; Estádio III = 7-8 pontos; Estádio IV = 9-12 pontos

Durante cada exame de duodenoscopia foram avaliadas as características macroscópicas das lesões, incluindo o número total de pólipos e o tamanho estimado do pólipo de maior dimensão, os quais fazem parte dos critérios da classificação de Spigelman. O tamanho dos pólipos foi estimado tendo como referência a medida da pinça de biópsia aberta (a qual apresenta 7 mm no maior eixo).

Posteriormente ao exame endoscópico, as lesões foram descritas de acordo com a classificação de Paris (Anexo 4), localização duodenal por ordem de frequência e estágio de Spigelman.

4.2.2 Análise histopatológica

A análise histopatológica foi realizada pela equipe da Divisão de Anatomia Patológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Todos os casos foram revistos por um patologista responsável pelo estudo.

Após análise macroscópica, o espécime foi submetido à rotina para preparo de cortes histológicos e coloração pela hematoxilina-eosina, onde era confirmada a presença de mucosa normal ou natureza adenomatosa do pólipo, determinado o tipo histológico e grau de displasia. Avaliou-se o resultado histológico das amostras coletadas nos exames endoscópicos para complementar os critérios da classificação de Spigelman (Tabela 1).

Quando os adenomas avançados foram ressecados, a análise da peça ressecada foi utilizada para complementar a avaliação histopatológica e facilitar a classificação de Spigelman.

4.2.3 Análise imuno-histoquímica

Nas amostras de tecidos coletados mediante endoscopia, foi realizada a seguinte metodologia para análise imuno-histoquímica:

A) Arranjo em matriz tecidual

O arranjo em matriz tecidual (do inglês, *tissue microarray*- TMA) constitui um método que redistribui numerosos fragmentos cilíndricos teciduais de blocos de parafina convencionais (blocos doadores) em um novo bloco (bloco receptor).

Este bloco compartimentalizado contém as várias amostras teciduais seguindo uma ordem pré-determinada, permitindo, assim, o estudo da expressão de marcadores moleculares em larga escala com grande aproveitamento do material arquivado, em tempo e custos.

Foram incluídas as biópsias coletadas de todos os pacientes, contendo, adenoma duodenal e área adjacente, demarcados em sequência conhecida. O preparo das lâminas de TMA foi realizado no Laboratório de Patologia (LIM-14) da FMUSP. Foram realizadas as marcações, pelo patologista, nas regiões de interesse, tanto na lâmina corada com hematoxilina e eosina, como nos respectivos blocos de parafina doadores de tecido (Figura 2). Foi elaborada a planilha contendo os números correspondentes dos blocos, realizada com espaçamento horizontal / vertical de igual medida e a conferência e organização dos blocos doadores (Figura 3). Para controle de leitura, foi elaborada outra planilha, identificando-se o

número de amostras de cada paciente, as quais foram agrupadas segundo a localização anatômica e a classificação de Spigelman (Figura 4).



Figura 2 - Marcações realizadas pelo patologista nas regiões de interesse, tanto na lâmina corada com hematoxilina e eosina, como nos respectivos blocos de parafina para análise imuno-histoquímica

| T0421 | | | | | | | | | | |
|-------|---------------|---------------|---------------|--------------|--------------|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
| 1 | CTRL LIM14 | CTRL LIM14 | CTRL LIM14 | CTRL LIM14 | 1512956-51N | 1512956-51N | 1436247-51N | 1436247-51N | 1501536-51N | 1500710-51N |
| 2 | 1500710-51N | 1434367-51N | 1434367-51N | 1438770-51N | 1438770-51N | 1500838-51N | 1500838-51N | 1501668-51N | 1501668-51N | 1501540-51N |
| 3 | 1501229-51N | 1501229-51N | 1436092-51N | 1436092-51N | 1439117-51N | 1439117-51N | 1500894-51N | 1500894-51N | 1501546-51N | 1501531-51N |
| 4 | 1501531-51N | 1502516-51N | 1502516-51N | 1501667-51N | 1501667-51N | 1519567-51N | 1519567-51N | 1437868-51N | 1437868-51N | 1538464-51N |
| 5 | 1531470-52N | 1531470-52N | 1531470-51N | 1531470-51N | 1515051-5N | 1515051-5N | 1605421-51 LN | 1605421-51 LN | 1605417-51 LN | 1605417-51 LN |
| 6 | 1520677-52L | 1520677-51N | 1520677-51N | 1518786-51L | 1518786-51L | 1518786-52N | 1518786-52N | 1437867-52L | 1437867-51N | 1509468-55L |
| 7 | 1509468-55L | 1509468-53N | 1509468-53N | 1519565-52L | 1519565-51 N | 1519565-51 N | 1502839-52L | 1502839-51N | 1502839-51N | 1501724-53L |
| 8 | 1501724-52N | 1501724-52N | 1500709-52N | 1500709-51N | 1500709-51N | 1515352-51L | 1515352-52N | 1515352-52N | 1537863-51L | 1537863-52N |
| 9 | 1606201-51L | 1606201-52N | 1606201-52N | 1530502-51L | 1530502-52N | 1524517-51L | 1524517-52N | 1524517-52N | 1524517-52N | 1500843-52L |
| 10 | 1500843-51N | 1500843-51N | 1526228-51L | 1526228-51L | 1526228-52N | 1526228-52N | | | | |
| T0422 | | | | | | | | | | |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
| 1 | CTRL LIM14 | CTRL LIM14 | CTRL LIM14 | 1437858-51L | 1437858-51L | 1437859-52N | 1437859-52N | 1435269-52L | 1435269-51N | 1435269-51N |
| 2 | 1437019-51L | 1437019-52N | 1437019-52N | 1524904-54L | 1524904-51N | 1524904-51N | 1500544-52L | 1500544-52L | 1500544-51L | 1500544-51L |
| 3 | 1500544-53 LN | 1500544-53 LN | 1500544-53 LN | 1505315-52L | 1505315-52L | 1505315-51N | 1512955-51L | 1512955-51L | 1512955-52L | 1512955-53N |
| 4 | 1526281-52L | 1526281-52L | 1526281-51N | 1526281-51N | 1602410-52L | 1602410-52L | 1602410-53N | 1602410-53N | 1620164-51N | 1620164-51N |
| 5 | 1521361-51L | 1521361-52L | 1521358-51L | 1521358-51L | 1521358-52L | 1521358-52L | 1521361-53N | 1521361-53N | 1527318-51N | 1527318-52N |
| 6 | 1515541-53 L | 1443004-51L | 1443004-51L | 1443004-52L | 1443004-52L | 1443004-52L | 1515541-54L | 1515365-51L | 1515365-52N | 1515365-51N |
| 7 | 1438777-53L | 1438777-51L | 1438777-51L | 1528127-51L | 1528127-51L | 1528127-51L | 1528127-54N | 1528127-54N | 1533221-51L | 1533221-52N |
| 8 | 1533221-52N | 1613853-51L | 1613853-51L | 1617619-53L | 1604134-52L | 1604134-52L | 1519586-53 LN | 1519586-53 LN | 1519586-51L | 1519586-51 L |
| 9 | 1604134-51L | 1604134-51L | 1529007-52 L | 1529007-51 N | 1529007-51 N | 1519337-3 L | 1519337-3 L | 1519337-3 L | 1519337-2 L | 1605189-1 L |
| 10 | 1606774-2 N | 1606774-2 N | 1606233-1 L | 1606233-1 L | 1606233-2 N | 1606233-2 N | | | | |

| | | |
|---|---------------|---|
| ■ | Spigelman 0 | L Lesao |
| ■ | Spigelman I | N Normal |
| ■ | Spigelman II | LN Lesão e normal no mesmo bloco |
| ■ | Spigelman III | 1500544-53 LN 2 p.vermelhos normais e 2p. Azuis lesao |
| ■ | Spigelman IV | |

Figura 3 - Planilha contendo os números correspondentes dos blocos, realizada com espaçamento horizontal / vertical de igual medida e a conferência e organização dos blocos doadores

| | t21 | | | | | | | | | | |
|----|-----|-----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
| 1 | | | | | | | | | | | |
| 2 | 1 | | | | | | | | | | |
| 3 | | 0 | | | | | | | | | |
| 4 | 2 | 4 | p | 5 | p | 6 | p | 7 | p | 8 | p |
| 5 | 3 | | 10 | p | 11 | p | 12 | p | 13 | p | 14 |
| 6 | 4 | | 15 | p | 16 | p | 17 | p | 18 | p | 19 |
| 7 | 5 | p | 21 | ip | 22 | p | 23 | p | 24 | m | 25 |
| 8 | 6 | p | m | 26 | p | 27 | p | 28 | p29 | p | 30 |
| 9 | 7 | | 31 | p | 32 | p33 | p | 34 | p35 | p | 36 |
| 10 | 8 | p | 39 | p40 | p | 41 | p42 | p | 43 | p44 | p |
| 11 | 9 | p46 | p | 47 | p48 | p | 49 | p50 | p | 51 | p |
| 12 | 10 | p | 53 | p | 54 | p | 55 | | | | |
| 13 | | | | | | | | | | | |
| 14 | | | | | | | | | | | |
| 15 | | | | | | | | | | | |
| 16 | | | | | | | | | | | |
| 17 | | | | | | | | | | | |
| 18 | | | | | | | | | | | |
| 19 | | | | | | | | | | | |
| 20 | 1 | | | | m | 1 | m | 2 | m3 | m | 4 |
| 21 | 2 | 5 | m | | 6 | m7 | m | 8 | m | 9 | m10 |
| 22 | 3 | | 11 | | 11 | m | | 12 | m13 | m | 14 |
| 23 | 4 | m | | 17 | m | | 18 | m | | 19 | m |
| 24 | 5 | | 22 | m23 | m | | 24 | m | | 25 | m |
| 25 | 6 | m29 | m | | 30 | m | | 31 | m32 | m33 | m |
| 26 | 7 | | 35 | m | | 36 | m | | 37 | m | 38 |
| 27 | 8 | | 40 | m | | 41 | m42 | m | | 43 | m |
| 28 | 9 | m | | 46 | m47 | m | | 48 | m | | 49 |
| 29 | 10 | m | | 53 | m | | 54 | m | | 55 | m52 |

Figura 4 - Planilha para leitura de casos, identificando o número de amostras de cada paciente , e agrupadas segundo a classificação de Spigelman

B) Técnica Imuno-histoquímica

Através da imuno-histoquímica, foram analisados os seguintes marcadores: proliferação celular, Ki-67; gene supressor de tumor, p53; apoptose, caspase 3, Bcl-2; mediador da inflamação, COX-2; moléculas de adesão, E-caderina, β - catenina; e PD-L1.

B1) Preparação dos Blocos Receptores

- Os blocos receptores de TMA foram feitos a 56°C com parafina de elevada pureza, garantindo a execução de cortes histológicos delgados e homogêneos, além de evitar possíveis rachaduras no ato da perfuração das agulhas, contendo polímero em molde com cassete comum.

- O recipiente foi mantido na estufa a 60°C durante a noite, para retirada de possíveis bolhas e estabilização da parafina.
- Foram retirados da estufa e imediatamente levados à geladeira para solidificação rápida.
- Após a solidificação da parafina, o bloco recebeu acabamento em micrótomo rotativo para garantir a superfície completamente reta e lisa.
- Determinada a profundidade entre 0,8 e 0,9 cm, o “bloco receptor” estava preparado para receber os cilindros de até 0,6 cm de profundidade.

B2) Execução da Técnica

Após realização das marcações da casuística e elaboração da planilha do TMA:

- Foi definida a profundidade de 0,6 cm a fim de evitar diferenças nos níveis de cilindros de um bloco TMA para outro;
- O bloco receptor foi fixado na base do aparelho,
- O eixo X e Y do aparelho foram ajustados para que o TMA ficasse centralizado no bloco receptor;
- Perfuração do bloco receptor com agulha azul e desprezada a parafina extraída;
- Realizado o posicionamento do bloco doador e perfuração exata da região marcada pelo patologista com agulha vermelha;
- Transferência do material para o bloco receptor;
- Quando da introdução do cilindro, foi realizada pressão leve para baixo, evitando-se extrapolação do nível superficial;

- Limpeza dos resíduos das agulhas com gaze seca;
- Após a execução de todos os *spots*, o bloco foi colocado na estufa a 60°C, para amolecer a parafina e realizar o nivelamento dos *spots*, pressionando-se a superfície do bloco em superfície lisa;
- O bloco recebeu um número sequencial do LIM14;
- A seguir, foi feita a secção dos blocos de TMA por micrótomo;
- Análise do intervalo com menor perda e, por fim,
- Banhos de parafina para preservação da imunorreatividade.

O estudo imuno-histoquímico foi realizado no Laboratório de Patologia (LIM-14), da FMUSP, sendo avaliada por dois observadores, sem conhecimento prévio dos dados clínicos dos pacientes na lâmina de TMA.

B3) Graduação das reações imuno-histoquímicas

- Todos os cortes histológicos foram examinados, usando-se sistema pré-definido de graduação. A reatividade específica para o anticorpo foi classificada separadamente para cada marcador: proliferação celular, Ki-67; gene supressor de tumor, p53; apoptose, caspase 3, Bcl-2; mediador de inflamação, COX-2; moléculas de adesão, E-caderina, β -catenina e PD-L1.
- **β -catenina:**
Porcentagem de células epiteliais com perda de expressão da β -catenina em membrana (não foi considerada expressão citoplasmática)

- **E-caderina:**
Porcentagem de células epiteliais com perda de expressão da E-caderina em membrana
- **COX-2:**
Marcação do citoplasma
0: Negativo; 0.5: Positivo focal; 1: Positivo forte.
- **Caspase 3:**
Marcação do citoplasma
Número total de células positivas na amostra analisada.
- **Bcl-2:**
Marcação do citoplasma
0: Negativo; 1: Positivo.
- **p53:**
Marcação nuclear
0: Negativo; 1: Positivo (Positividade fraca ou forte).
- **Ki-67:**
Marcação nuclear
Intensidade: Porcentagem de células epiteliais positivas
- Padrão de distribuição: a ou b
ascensão de células até a superfície (favorece displasia)
positividade em células basais, sem ascensão (favorece tecido normal ou reativo).

- **PD-L1:**

Marcação de membrana, citoplasma e linfócitos

0: Negativo; 1: Positivo.

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foram estabelecidos dois grupos pré determinados de amostras, relacionadas à gravidade da adenomatose duodenal dos pacientes estudados, segundo a classificação de Spigelman. O Grupo 1 incluiu as amostras dos pacientes Spigelman 0, I e II; e o grupo 2 foi representado pelas amostras dos pacientes Spigelman III e IV.

A análise foi baseada na comparação da expressão dos diferentes marcadores nas amostras dos pacientes do grupo 1 e do grupo 2.

O processo de análise de dados da presente pesquisa iniciou-se com uma exploração descritiva, incluindo mediana, percentil 25 (P25) e 75 (P75). O teste de hipótese para avaliar a diferença das distribuições entre os grupos de Spigelman foi realizado com o Mann-Whitney para as variáveis quantitativas e teste exato de Fischer para as qualitativas. Todos estes testes levaram em consideração um α bidirecional de 0,05 e intervalo de confiança (IC) de 95%, sendo realizados com apoio computacional dos softwares IBM SPSS 25 (Statistical Package for the Social Sciences) e Excel 2016® (Microsoft Office).

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS PACIENTES ESTUDADOS

Foram estudados 62 pacientes com diagnóstico clínico e/ou genético de PAF, colectomizados e relacionados a 46 famílias diferentes, durante o período de julho de 2013 a abril de 2016, sendo 30 do sexo masculino e 32 do sexo feminino, com média de idade de $36,14 \pm 14,22$ anos (15 a 65 anos). Desta casuística, 56 pacientes tinham história familiar positiva de PAF (Tabela 2).

Tabela 2 - Características gerais da casuística de pacientes com diagnóstico de PAF

| Variável | | |
|-------------------|-----------|------------|
| Idade | Média | DP |
| | 36,14 | $\pm 14,2$ |
| Sexo | Masculino | Feminino |
| | 30 (48,4) | 32 (51,6) |
| História Familiar | Sim | Não |
| | 55 (88,7) | 7 (11,3) |
| Sintomas | Sim | Não |
| | 3 (4,8) | 59 (95,2) |

5.2 DESCRIÇÃO FENOTÍPICA NO DUODENO

POLIPOSE DUODENAL: CARACTERÍSTICAS ENDOSCÓPICAS DOS ADENOMAS NÃO AMPULARES

Vinte e cinco pacientes foram classificados como Spigelman 0, 5 Spigelman I, 19 Spigelman II, 6 Spigelman III, e 7 Spigelman IV. Quando agrupados, 49 pacientes foram Spigelman 0, I e II, e 13 pacientes apresentavam estágio III e IV. A prevalência da adenomatose duodenal foi de 59,67% e da polipose avançada de 20,96%.

Trinta e sete pacientes, classificados como Spigelman I, II, III ou IV apresentaram lesões plano-elevadas, esbranquiçadas, de bordas bem delimitadas, menores que 10 mm, principalmente localizadas na segunda e terceira porção duodenal (Figura 5). Histologicamente, estas lesões corresponderam a adenomas tubulares com displasia de baixo grau (Tabela 3).



Figura 5 - Lesões plano-elevadas esbranquiçadas menores que 10 mm presentes em 37 pacientes com PAF

Tabela 3 - Características endoscópicas das lesões duodenais não ampulares

| Descrição endoscópica dos adenomas | Localização no duodeno por ordem de frequência | Classificação de Paris | N de pacientes (%) | Estádio de Spigelman | Histologia |
|---|--|------------------------|--------------------|----------------------|--|
| Lesões plano-elevadas, esbranquiçadas menores que 10mm | 2 ^a , 3 ^a porção e bulbo | 0-IIa | 37/62 (59,67%) | I, II, III, IV | Adenomas tubulares com displasia de baixo grau |
| Lesões plano-elevadas, esbranquiçadas, maiores que 10mm | 2 ^a , 3 ^a porção e bulbo | 0-IIa | 7/13 (53,84%) | III, IV | Adenomas tubulares ou tubulovilosos com displasia de baixo grau |
| Lesões plano-elevadas, esbranquiçadas com área de depressão central avermelhada, medindo 3-10mm | 2 ^a e 3 ^a porção | 0-IIa + 0-IIc | 4/13 (30,76%) | III, IV | Adenomas tubulares ou tubulovilosos com displasia de baixo grau, adenomas tubulares com displasia de alto grau |
| Lesões plano-elevadas, com área de depressão central avermelhada, medindo 10-50mm | 2 ^a porção e bulbo | 0-IIa + 0-IIc | 3/13 (23,07%) | III, IV | Adenomas tubulovilosos com displasia de baixo grau ou alto grau |
| Lesões polipoides sésseis, medindo até 4cm | 2 ^a porção e bulbo | 0-Is | 1/13 (7,69%) | IV | Adenomas tubulovilosos com displasia de alto grau |

Adenomas avançados estiveram presentes em 13 pacientes Spigelman III ou IV. Endoscopicamente, essas lesões apresentavam diferentes características (Tabela 3):

- Lesões plano-elevadas, esbranquiçadas, de bordas regulares, maiores do que 10 mm, (0-IIa segundo a classificação de Paris) distribuídas por ordem de frequência na segunda, terceira porção e bulbo duodenal (Figura 6). Tais lesões se encontraram em 7 pacientes e corresponderam a adenomas tubulares ou tubulovilosos com displasia de baixo grau.



Figura 6 - Lesão plano-elevada esbranquiçada maior que 10 mm em paciente estágio III de Spigelman

- Lesões plano-elevadas, esbranquiçadas, com bordas definidas e área de depressão central avermelhada, medindo de 3 a 10 mm (0-IIa + IIc segundo a classificação de Paris), distribuídas em segunda e terceira porção duodenal em 4 pacientes, as quais corresponderam a adenomas tubulares ou tubulovilosos com displasia de baixo grau, e adenomas tubulares com displasia de alto grau (Figura 7) (Tabela 3).



Figura 7 - Lesões plano-elevadas esbranquiçadas com área de depressão central avermelhada, medindo de 3 a 10 mm presentes em paciente Spigelman III

- Lesões plano-elevadas, com área de depressão central avermelhada, medindo de 10 a 50 mm (0-IIa + 0-IIc segundo a classificação de Paris), localizadas em segunda porção e bulbo duodenal em 3 pacientes, e corresponderam a adenomas tubulovilosos com displasia de baixo ou alto grau na análise histológica (Figura 8) (Tabela 3).



Figura 8 - Lesão plano-elevada com área de depressão central, medindo aproximadamente 50 mm e localizada no bulbo duodenal em paciente Spigelman IV, avaliada com luz branca e com NBI

- Lesões polipoides sésseis, medindo até 4 cm (0-Is segundo a classificação de Paris), presentes em segunda porção duodenal em 1 paciente Spigelman IV (Figura 9). Na análise histológica, estas lesões foram adenomas tubulovilosos com displasia de alto grau (Tabela 3).

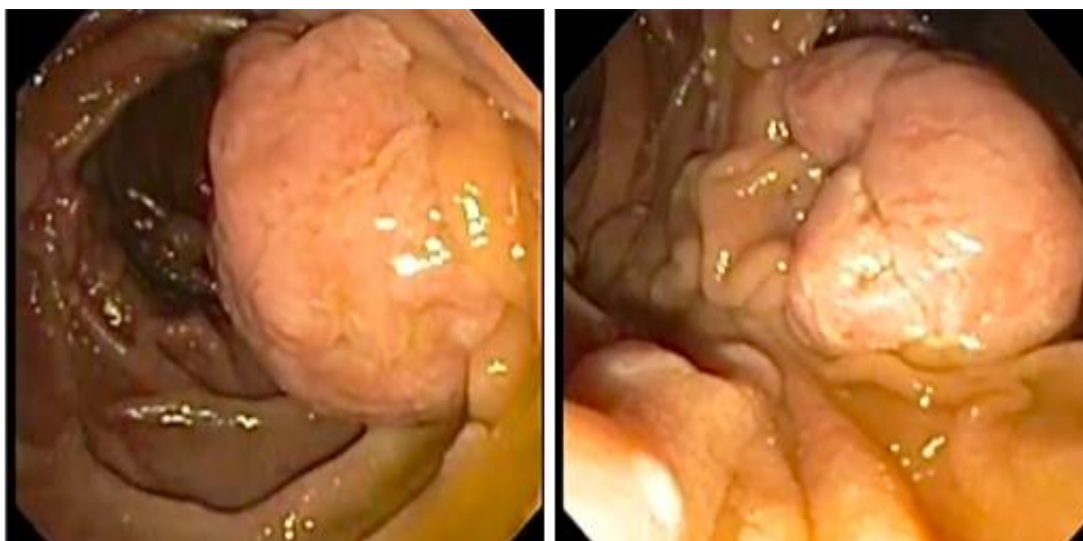


Figura 9 - Lesão polipoide séssil medindo 4 cm em paciente masculino de 27 anos, Spigelman IV

5.3 PERFIL DE IMUNO-HISTOQUÍMICA

No total, 176 amostras de mucosa duodenal foram avaliadas. As amostras estudadas foram relacionadas a 50/62 pacientes. O material coletado de dois pacientes Spigelman I foi excluído da análise devido à presença de tecido normal e adenoma na mesma lâmina. Adicionalmente, optou-se por não incluir o material coletado de 10 pacientes Spigelman 0 para priorizar a análise imuno-histoquímica em pacientes que apresentaram adenomas duodenais.

Das 176 amostras avaliadas, 89 (50,57%) foram coletadas em pacientes Spigelman 0, I ou II. Destas, 73 (82%) corresponderam a tecido normal e 16 (18%) representaram adenomas duodenais com displasia de baixo grau. Em pacientes com polipose duodenal avançada, Spigelman III ou IV, foram avaliadas 87 (49,4%) amostras. Destas, 51 (58,6%) corresponderam a adenomas e 36 (41,4%) a tecido endoscopicamente normal. Das 51 amostras de tecido adenomatoso deste grupo, 4 apresentaram displasia de alto grau e 6 tiveram componente viloso na histologia.

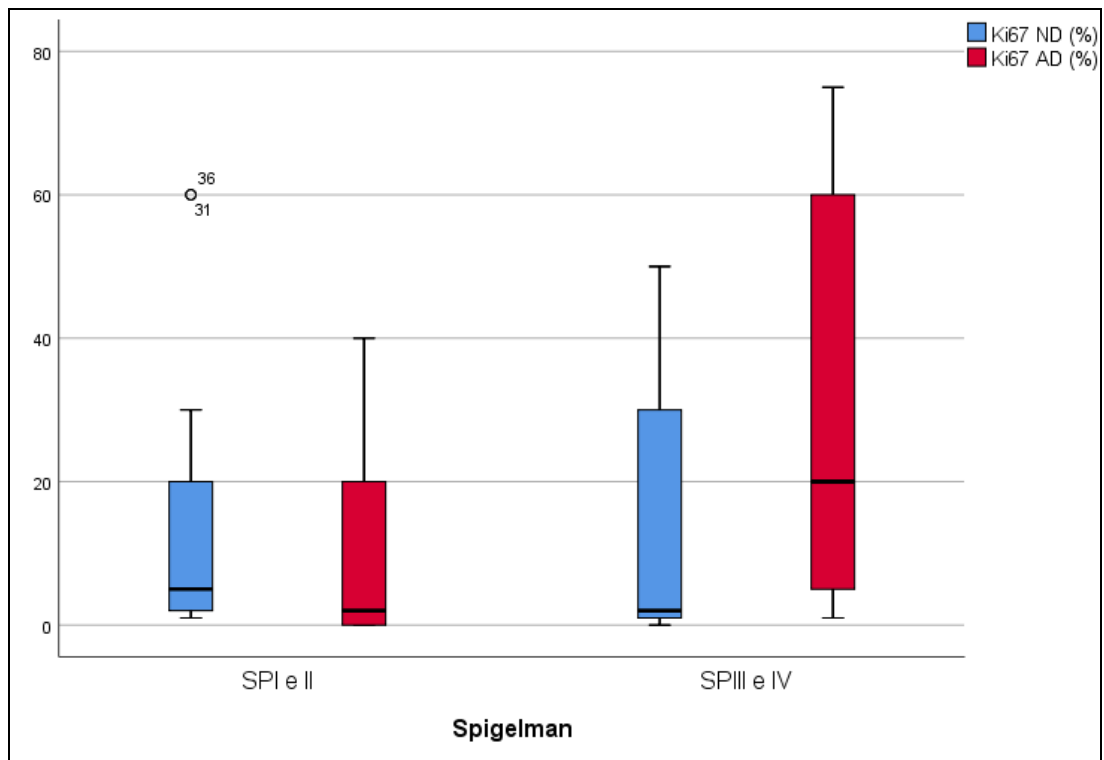
5.3.1 Imunoexpressão de Ki-67

Os adenomas do grupo 2 (Spigelman III e IV), apresentaram maior expressão do Ki-67, quando comparados aos adenomas do grupo 1 (Spigelman 0, I, e II) (Mediana 20% vs 2% p 0,007) (Tabela 4, Figuras 10 e 11). Na análise quantitativa, uma proporção maior de pacientes com doença duodenal avançada apresentou expressão elevada (25% ou mais) de Ki-67, quando comparados ao grupo 1 (85,71% vs 14,29% p=0,021). Dentre os adenomas dos pacientes do grupo 2, nenhum teve expressão negativa de Ki-67 (Tabela 2). Na análise qualitativa, os adenomas do grupo 2 apresentaram expressão apical de Ki-67 em maior proporção, em comparação aos adenomas do grupo 1 (75% vs 25% p=0,005). A expressão por imuno-histoquímica do tecido normal do grupo 1 e 2 não apresentou diferença significativa (Tabelas 4 e 5).

Tabela 4 - Distribuição dos diferentes marcadores de acordo com agrupamentos pré-determinados da classificação de Spigelman

| | SPI e II | | | SPIII e IV | | | p-valor* |
|-------------------|----------|--------------|--------------|------------|--------------|--------------|----------|
| | Mediana | Percentil 25 | Percentil 75 | Mediana | Percentil 25 | Percentil 75 | |
| β catenina ND (%) | 0,0% | 0,0% | 0,0% | 2,5% | 0,0% | 27,5% | 0,186 |
| β catenina AD (%) | 0,0% | 0,0% | 0,0% | 1,0% | 0,0% | 20,0% | 0,088 |
| e-caderina ND (%) | 30,0% | 15,0% | 60,0% | 25,0% | 15,0% | 40,0% | 0,762 |
| e-caderina AD (%) | 40,0% | 5,0% | 50,0% | 60,0% | 15,0% | 70,0% | 0,170 |
| COX-2 ND (%) | 1,0% | 1,0% | 1,0% | 1,0% | 1,0% | 1,0% | 1,000 |
| COX-2 AD (%) | 1,0% | 1,0% | 1,0% | 1,0% | 1,0% | 1,0% | 1,000 |
| Caspase 3 ND | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1,000 |
| Caspase 3 AD | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,786 |
| Ki-67 ND (%) | 5,0% | 2,0% | 20,0% | 2,0% | 1,0% | 30,0% | 0,576 |
| Ki67 AD (%) | 2,0% | 0,0% | 20,0% | 20,0% | 5,0% | 60,0% | 0,007 |

*Teste de Mann-Whitney



Ki-67 ND: Expressão de Ki-67 em mucosa duodenal normal

Ki-67 AD: Expressão de Ki-67 em adenomas duodenais

Figura 10 - Boxplot representando a distribuição da expressão de porcentagem de Ki-67 de acordo com os grupos pré-determinados segundo a Classificação de Spigelman

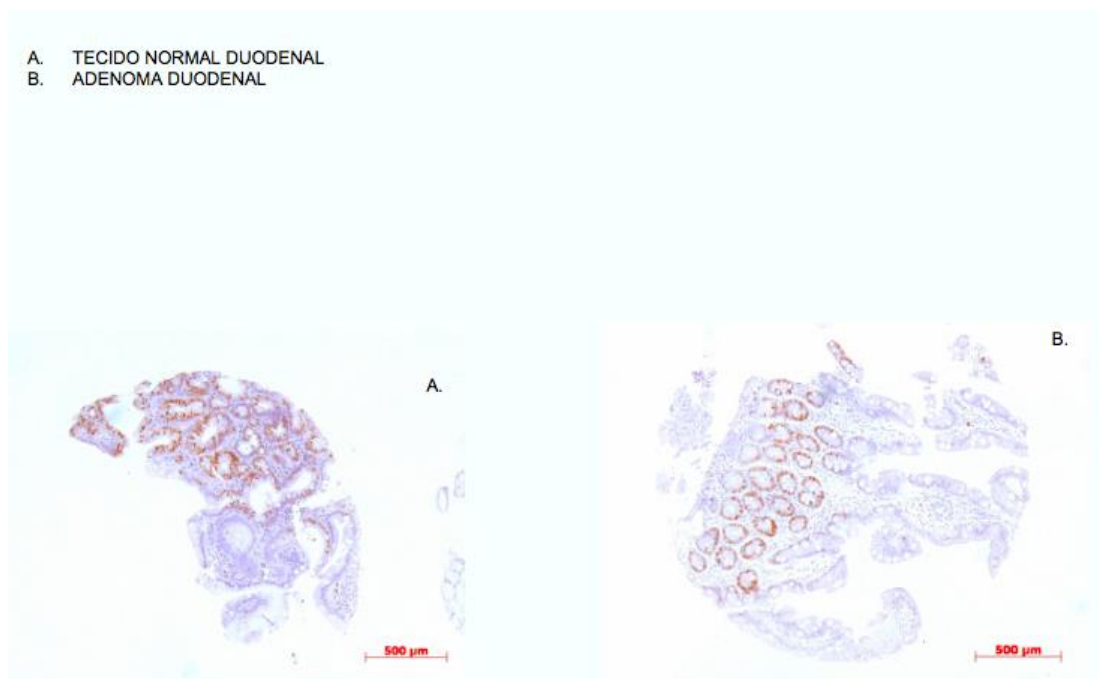


Figura 11 - Imunoexpressão duodenal de Ki-67

Tabela 5 - Associação das diferentes variáveis de acordo com agrupamentos da classificação de Spigelman

| | SPI e II | % | SPIII e IV | % | Total | p-valor* |
|-----------------------------------|----------|-------|------------|-------|-------|----------|
| p53 ND | | | | | | |
| <i>Negativo</i> | 2 | 100,0 | 0 | 0,0 | 2 | 0,240 |
| <i>Positivo</i> | 35 | 72,9 | 13 | 27,1 | 48 | |
| p53 AD | | | | | | |
| <i>Negativo</i> | 5 | 83,3 | 1 | 16,7 | 6 | 0,056 |
| <i>Positivo</i> | 8 | 40,0 | 12 | 60,0 | 20 | |
| Bcl-2 ND | | | | | | |
| <i>Negativo</i> | 37 | 74,0 | 13 | 26,0 | 50 | - |
| <i>Positivo</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Bcl-2 AD | | | | | | |
| <i>Negativo</i> | 13 | 50,0 | 13 | 50,0 | 26 | - |
| <i>Positivo</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Ki-67 ND | | | | | | |
| <i>Negativo</i> | 3 | 75,0 | 1 | 25,0 | 4 | 0,236 |
| <i>Baixo (maior 0 e < 25%)</i> | 22 | 75,86 | 7 | 24,14 | 29 | |
| <i>Alto (maior ou igual 25%)</i> | 12 | 70,59 | 5 | 29,41 | 17 | |
| Ki-67 ND | | | | | | |
| <i>Negativo</i> | 3 | 75 | 1 | 25,0 | 4 | 0,511 |
| <i>Padrão basal</i> | 34 | 79,07 | 9 | 20,93 | 43 | |
| <i>Padrão ápice</i> | 0 | 0 | 3 | 100,0 | 3 | |
| Ki-67 AD | | | | | | |
| <i>Negativo</i> | 3 | 100,0 | 0 | 0,0 | 3 | 0,021 |
| <i>Baixo (maior 0 e < 25%)</i> | 9 | 56,25 | 7 | 43,75 | 16 | |
| <i>Alto (maior ou igual 25%)</i> | 1 | 14,29 | 6 | 85,71 | 7 | |
| Ki-67 AD | | | | | | |
| <i>Negativo</i> | 4 | 100,0 | 0 | 0,0 | 4 | 0,005 |
| <i>Padrão basal</i> | 5 | 83,33 | 1 | 16,67 | 6 | |
| <i>Padrão ápice</i> | 4 | 25,0 | 12 | 75,0 | 16 | |
| PD-L1 ND | | | | | | |
| <i>Negativo</i> | 37 | 74,0 | 13 | 26,0 | 50 | - |
| <i>Positivo</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| PD-L1 AD | | | | | | |
| <i>Negativo</i> | 13 | 54,1 | 11 | 45,9 | 24 | 0,278 |
| <i>Positivo</i> | 0 | 0,0 | 2 | 100,0 | 2 | |

*Teste Exato de Fischer
 ND Mucosa duodenal normal
 AD Adenomas duodenais

5.3.2 Imunoexpressão de marcadores da via de sinalização da Wnt/ β -catenina; COX-2 e PD-L1

Não se observou diferença significativa entre a expressão de β -catenina e de E-caderina no tecido normal (β -catenina: 0% vs 2,5% $p=0,186$; E-caderina: 30% vs 25% $p=0,762$) ou adenomas (β -catenina: 0% vs 1% $p=0,088$; E-caderina: 40% vs 60% $p=0,170$) dentre os pacientes com doença duodenal leve e avançada (Figura 12 e 13). Igualmente, a expressão imunohistoquímica de COX-2 e PD-L1 foi similar tanto em tecido normal quanto em adenomas dos grupos 1 e 2, respectivamente (Tabelas 4 e 5) (Figura 14 e 15).

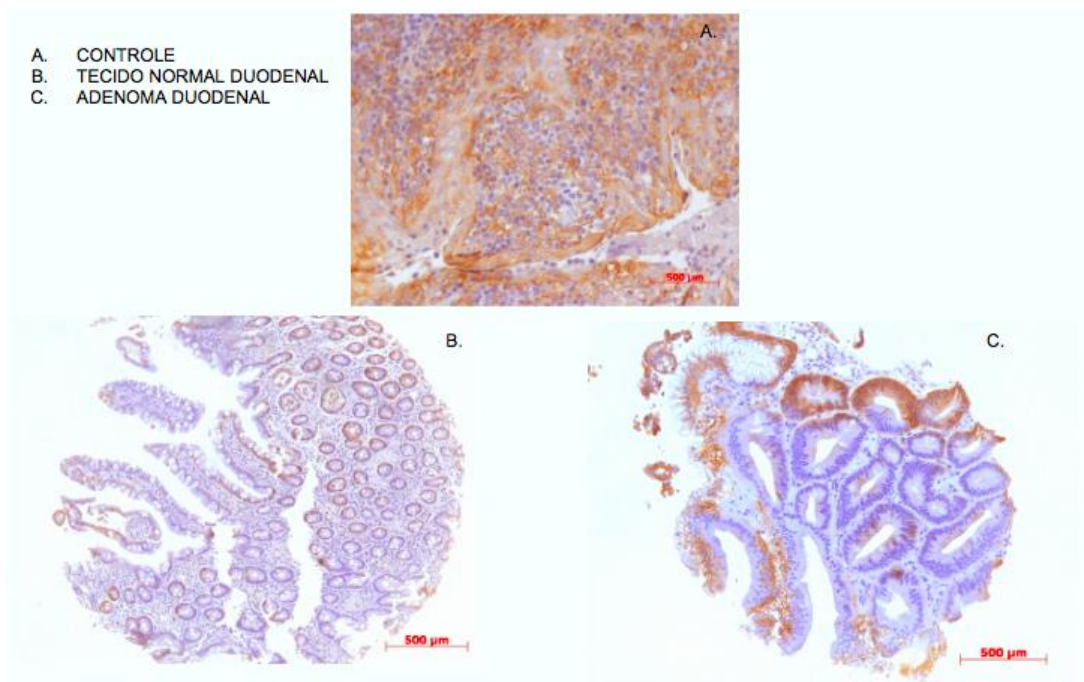


Figura 12 - Imunoexpressão duodenal de β -catenina

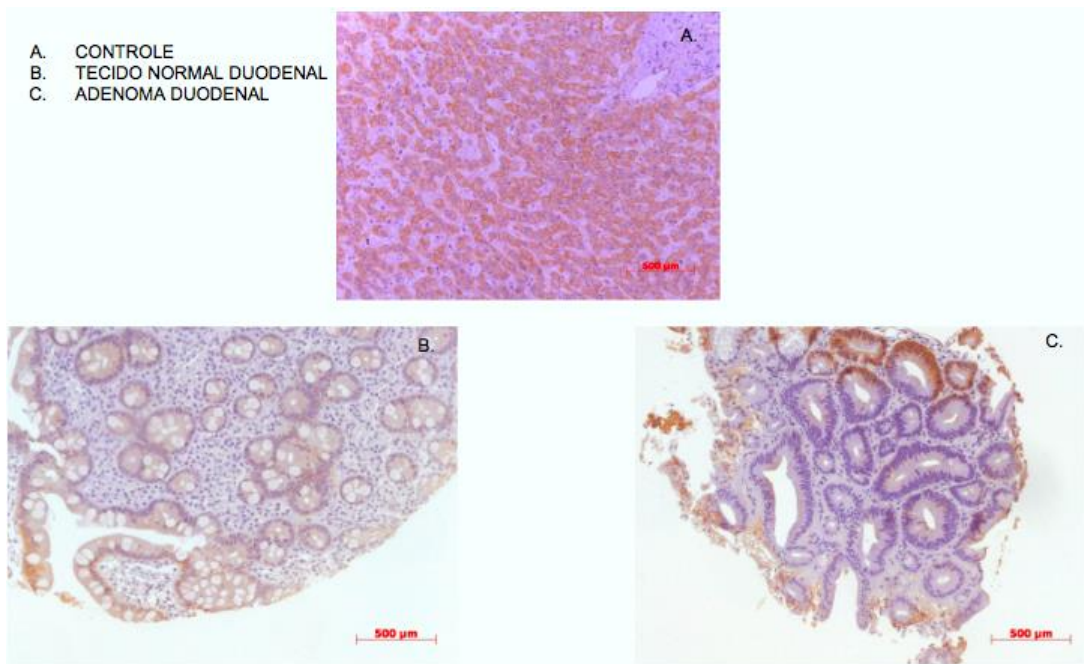


Figura 13 - Imunoexpressão duodenal de E-caderina

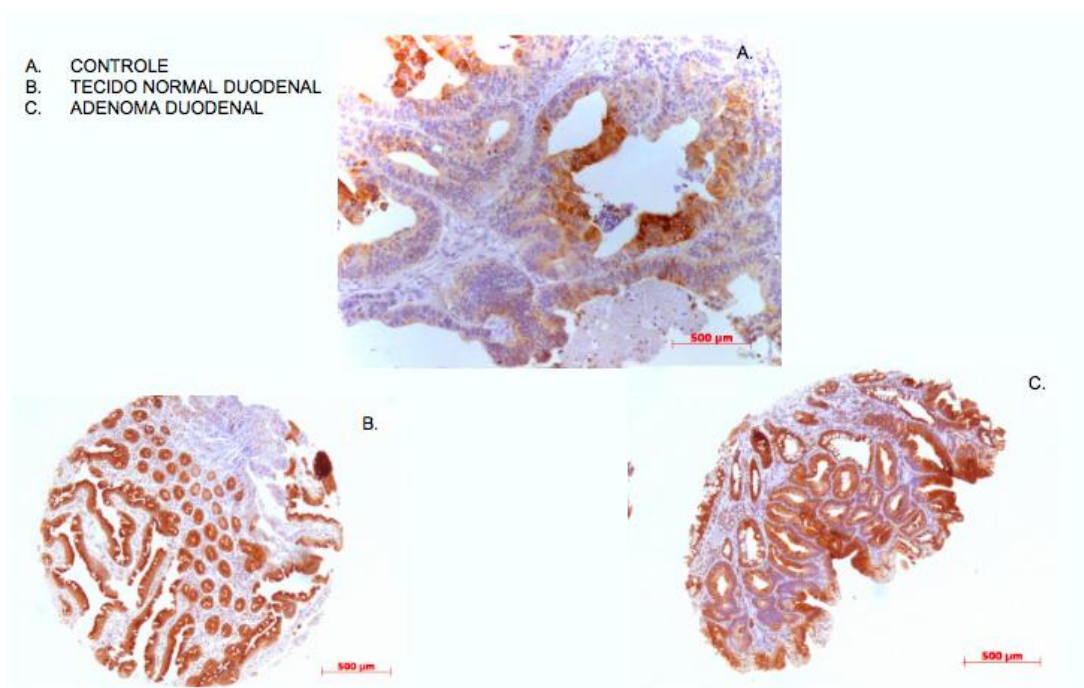


Figura 14 - Imunoexpressão duodenal de COX-2

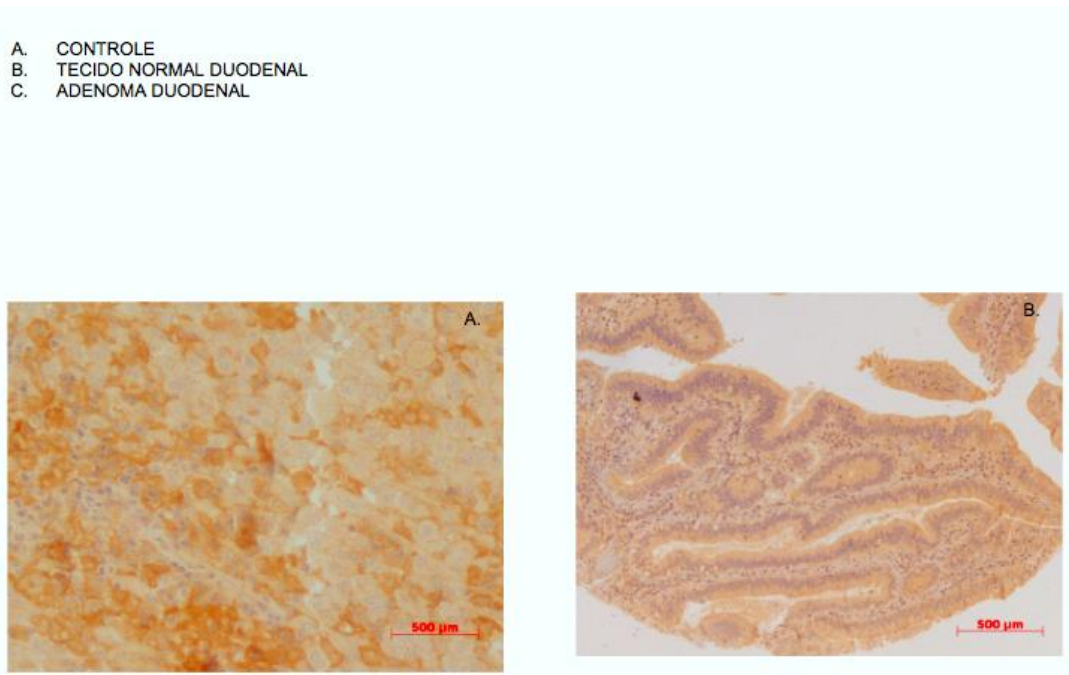


Figura 15 - Imunoexpressão duodenal de PD-L1

5.3.3 Imunoexpressão de marcadores de apoptose

A expressão duodenal de p53, Bcl-2 e caspase-3 foi similar no grupo 1 e 2 (Tabelas 4 e 5) (Figura 16, 17 e 18).

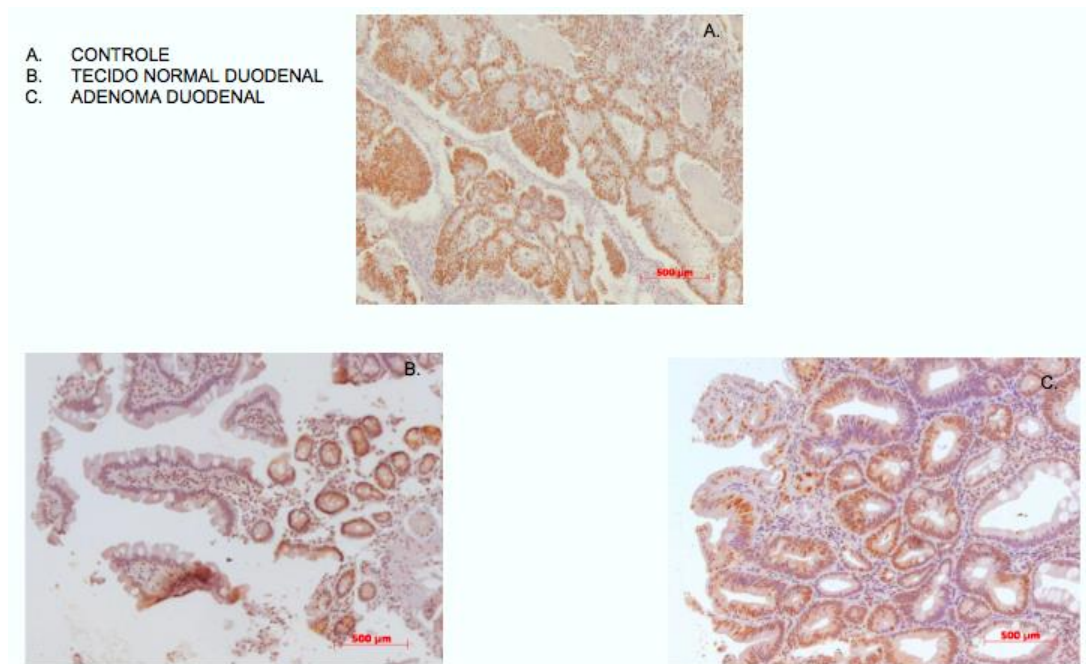


Figura 16 - Imunoexpressão duodenal de p53

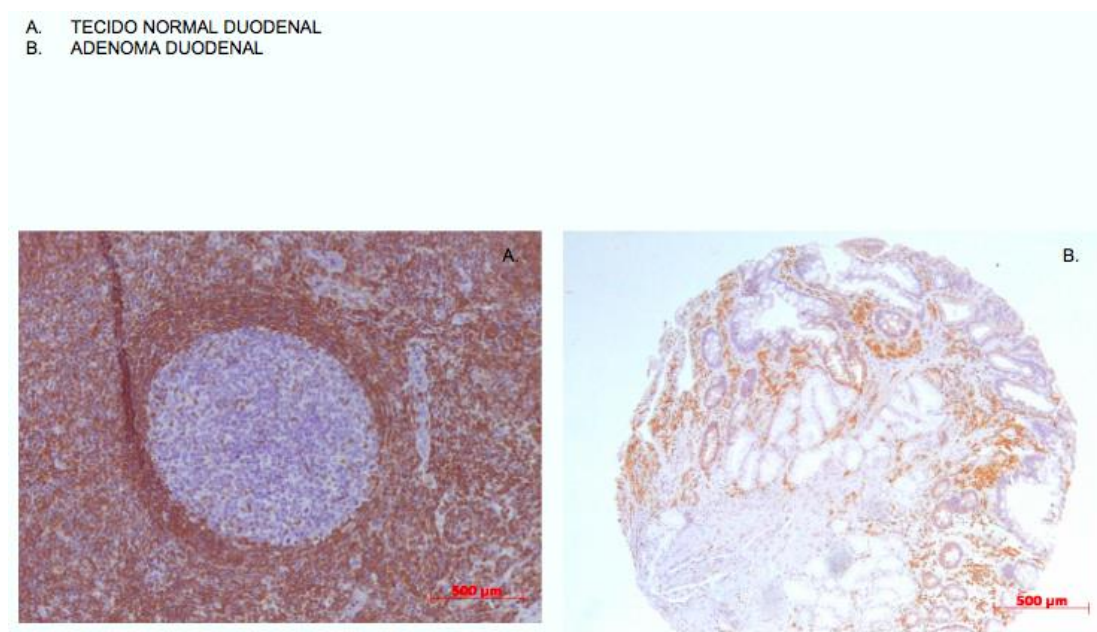


Figura 17 - Imunoexpressão duodenal de Bcl-2

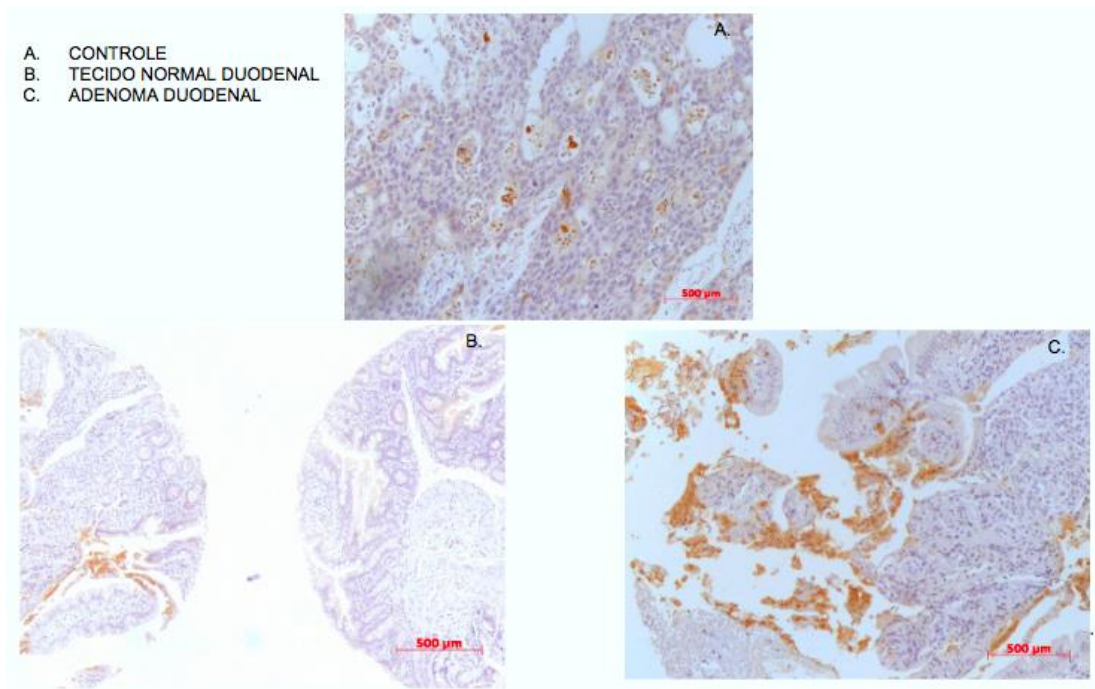


Figura 18 - Imunoexpressão duodenal de Caspase-3

6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

6.1 IMUNOEXPRESSÃO DE Ki-67

Os resultados deste estudo demonstraram alta taxa de proliferação epitelial expressa pelo aumento significativo da imunexpressão de Ki-67 em adenomas duodenais de pacientes com doença não ampular avançada.

Estes resultados foram semelhantes ao estudo italiano que avaliou 22 pacientes com PAF submetidos à ressecções duodenais endoscópicas e/ou cirúrgicas devido a neoplasias epiteliais duodenais e 15 pacientes sem PAF como grupo controle. Neste estudo, as lesões ressecadas foram classificadas segundo a histologia em adenomas com displasia de baixo grau, adenomas de alto grau e adenocarcinoma, e demonstrou-se o aumento progressivo da expressão de Ki-67 segundo a histologia da polipose duodenal até adenocarcinoma (grupo controle $20,7 \pm 5,5$ = tecido normal em pacientes com PAF $21,5 \pm 6,3$ < displasia de baixo grau $35,3 \pm 5,2$ < displasia de alto grau $46,3 \pm 8,5$ < adenocarcinoma $59,3 \pm 9,5$)⁽⁸³⁾. Outros estudos aplicados à carcinogênese do cólon na PAF também mostraram um aumento do nível de expressão do RNAm do Ki-67 nos casos de adenocarcinoma quando comparados ao tecido normal ou pólipos, apontando que o Ki-67 pode ser um marcador de gravidade da doença intestinal^(84, 85). Estes dados sugerem que o índice de marcação de proliferação celular pode auxiliar no manejo, ajudando a diferenciar os

pacientes com maior probabilidade de apresentarem adenomatose não ampular avançada.

Além disso, outro estudo que avaliou a cinética celular em 22 pacientes com PAF que apresentaram 17 adenomas duodenais e 15 adenomas ampulares, usando como controle 18 pacientes sem PAF; mostrou que adenomas ampulares em pacientes com PAF tinham um índice de imunexpressão de Ki-67 mais alto quando comparados com adenomas ampulares em pacientes com PAF ($54,3 \pm 11,3$ versus $46,8 \pm 12,7$; $P < 0,01$). Em contraste, quando os pacientes com PAF foram comparados aos indivíduos controle, os adenomas duodenais não ampulares de pacientes com PAF não apresentaram maior atividade proliferativa ou menor grau de apoptose ⁽⁸⁶⁾. No entanto, a histologia de todos os adenomas não ampulares em pacientes com PAF deste estudo foram adenomas tubulares com displasia de baixo grau e sem componente viloso. Seria interessante comparar a expressão desse marcador de proliferação celular em adenomas com histologia avançada em estudos futuros.

6.2 APLICABILIDADE CLÍNICA DA IMUNOEXPRESSÃO DE Ki-67 NO TRATO GASTROINTESTINAL

O manejo atual da doença duodenal na PAF possui algumas limitações, principalmente devido a falta de critérios clínicos para se definir com precisão os pacientes que realmente merecem tratamento cirúrgico. Estudos têm mostrado que apenas aproximadamente 40% de todos os pacientes com PAF com câncer duodenal apresentam estágio de Spigelman

avançado no momento do diagnóstico do câncer ^(43, 85, 87). Embora a classificação de Spigelman sirva como uma orientação clínica, parece lógico que essa conduta poderia ser apoiada de acordo com os achados dos marcadores moleculares.

Em consonância com esta linha de raciocínio e aplicado às lesões ampulares, Kubota et al. afirmaram que a expressão de Ki-67 pode ser um marcador diagnóstico discriminando adenoma e câncer em estágio inicial em pacientes com tumores ampulares. Eles mostraram que a infiltração significativa da papila duodenal maior por células tumorais positivas para Ki-67 (> 31 / HPF) foi reconhecida em 73% dos pacientes com adenocarcinoma (sensibilidade 100%, especificidade 54,2%, precisão 62,9%) ^(88, 89).

O índice de marcação Ki-67 tem sido usado como indicador de agressividade em várias patologias. Especificamente no trato gastrointestinal, a expressão de Ki-67 tem auxiliado no manejo de tumores neuroendócrinos, GISTs e lesões gástricas, sendo os últimos definidos como tumores com comportamento biológico variável. O índice de marcação Ki-67 realmente orienta a decisão cirúrgica destes pacientes ⁽⁹⁰⁻⁹²⁾.

6.3 ESTUDOS QUE SUGEREM POTENCIAL APLICABILIDADE CLÍNICA DA IMUNOEXPRESSÃO DE Ki-67 NA DOENÇA NÃO AMPULAR DE PACIENTES COM PAF

A adenomatose duodenal em pacientes com PAF representa um cenário clínico complexo. A PAF constitui uma doença genética que

representa apenas 1% dos casos de CCR, na qual a maioria dos pacientes não desenvolve doença duodenal agressiva. Porém, os pacientes que desenvolvem doença duodenal avançada morrem como resultado de adenocarcinoma duodenal, sendo esta patologia a principal causa de mortalidade oncológica em pacientes com PAF que já foram submetidos à proctocolectomia profilática.

Um estudo randomizado, duplo-cego, que avaliou o efeito de uma combinação de sulindac e erlotinibe na regressão da adenomatose duodenal em 92 pacientes com FAP concluiu que o uso desta combinação farmacológica resultou em diminuição significativa dos pólipos duodenais após 6 meses, quando comparados com o grupo placebo ⁽⁹³⁾. Tais resultados estão alinhados com os achados de uma análise recente que teve como objetivo identificar os alvos moleculares que mediam a resposta ao sulindac-erlotinibe ⁽⁹⁴⁾. Este estudo sugeriu que o sulindac-erlotinibe suprimiu a polipose duodenal por meio da inibição das vias de transdução Wnt/ β -catenina, Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico (EGFR) e COX-2. Embora o benefício clínico do sulindac e do erlotinibe ainda não tenha sido totalmente validado, o efeito de quimioprevenção desta combinação pode ser útil.

Por outro lado, um estudo pré-clínico em ratos afirma que os adenomas duodenais na PAF se originam em adenomas “*monocryptal*”, descrevendo com esse termo adenomas que desenvolvem displasia a partir de uma única cripta, seguindo o modelo base-ápice ou “*bottom-up*” de morfogênese ^(95, 96). A análise qualitativa da expressão da polaridade do Ki-

67 em nosso estudo mostrou que os adenomas coletados de pacientes com Spigelman III e IV apresentaram maior proporção de imunoexpressão no ápice quando comparados aos adenomas de pacientes Spigelman I e II. Este achado pode comprovar a importância de um conceito pré-clínico que pode agregar valor à análise qualitativa de maior expressão de Ki-67 no ápice da cripta favorecendo o desenvolvimento de neoplasias. Adicionalmente, um estudo clínico italiano também mostrou um índice de marcação maior nos 40% superiores das criptas em adenomas de pacientes com PAF quando comparado ao duodeno normal nestes doentes e tecido normal de pacientes sem PAF ⁽⁹⁷⁾. Esta observação foi posteriormente apoiada por Biasco et al em 2004 ^(97, 98).

6.4 CONSIDERAÇÕES MORFOLÓGICAS DOS ADENOMAS E POSSÍVEL RELAÇÃO COM MARCADORES MOLECULARES

Em estudo prévio do nosso grupo, demonstrou-se que as lesões com depressão central apresentavam focos de displasia de alto grau, mesmo quando seu tamanho era inferior a 10 mm, sugerindo que esta característica endoscópica poderia ser preditiva de maior risco para doença duodenal avançada ⁽³⁰⁾. Levando em consideração os conceitos centrais da classificação de Paris ⁽⁹⁹⁾, parece lógico considerar este comportamento como previsível para este tipo de adenoma. Interessantemente, Kudo et al mostraram a presença de adenomas deprimidos no cólon em pacientes com PAF, sugerindo a possível fisiopatologia da carcinogênese “de novo” nestes

pacientes ⁽¹⁰⁰⁾. Dado o pequeno número de adenomas com este padrão morfológico em nosso estudo, não foi possível fazer uma diferenciação imuno-histoquímica. No entanto, um estudo que teve como objetivo caracterizar a imunexpressão do índice de marcação Ki-67 e p53 em adenomas duodenais deprimidos em pacientes com PAF mostrou que o índice de marcação de Ki-67 foi significativamente maior nos adenomas deprimidos quando comparados com os adenomas polipoides (59,7 +/- 9,5 vs. 47,5 +/- 10,7, P <0,01) ⁽⁵⁸⁾.

6.5 CONSIDERAÇÕES DOS MARCADORES B-CATENINA E E-CADERINA

A proteína produto do gene APC evita o crescimento celular descontrolado ao direcionar a β -catenina para degradação ⁽¹⁰¹⁾. No entanto, neste estudo, não foi demonstrada diferença estatística significativa na expressão de β -catenina e e-caderina entre adenomas ou tecido normal em pacientes com doença duodenal avançada. Apesar da sequência adenoma-carcinoma ser postulada como o principal mecanismo fisiopatológico do CCR; os resultados deste estudo sugerem que outros mecanismos fisiopatológicos podem estar envolvidos na carcinogênese duodenal em pacientes com PAF. Estudos prévios com objetivo de esclarecer os mecanismos envolvidos na formação de adenomas duodenais esporádicos, reforçam a hipótese da carcinogênese “de novo” como via alternativa da clássica sequência adenoma-carcinoma ⁽¹⁰¹⁾. Nesta hipótese, o carcinoma

emerge diretamente do epitélio normal sem o clássico estágio de adenoma. Esta teoria é baseada na observação do comportamento de lesões deprimidas no cólon de pacientes com PAF, que mesmo sendo menores que 10 mm tem alto potencial de malignidade e invasão submucosa ^(100, 102). Interessantemente, lesões duodenais com características endoscópicas similares foram descritas na nossa casuística (Figura 6). Em contraste, outro estudo que comparou marcadores imuno-histoquímicos em adenomas ampulares e não ampulares obtidos em pacientes com PAF, constatou que a expressão nuclear de β -catenina estava presente em 6/6 (100%) dos adenomas não ampulares. No entanto, o resultado do sequenciamento genético do exon 3 do gene da β -catenina não revelou mutações neste importante “hotspot” mutacional ⁽⁴⁹⁾. Adicionalmente, a análise deste resultado foi limitada devido ao número reduzido de adenomas.

6.6 CONSIDERAÇÕES DOS MARCADORES DE APOPTOSE

A apoptose tem função essencial na manutenção da integridade da mucosa gastrointestinal. A inibição desta está associada à ocorrência de lesões e tumorigênese. No estudo atual, Bcl-2 e p53 foram selecionados como inibidores representativos da apoptose porque essas proteínas demonstraram desempenhar um papel fundamental na carcinogênese colorretal ^(24, 25). No entanto, nossas análises falharam em demonstrar diferença significativa na imunorreatividade de Bcl-2 e p53 entre pacientes com PAF duodenal avançada e pacientes com PAF com polipose duodenal

leve. No entanto, ao analisar os resultados da imuno-expressão de p53 em adenomas duodenais em estádios avançados vs leves de Spigelman, a significância estatística foi próxima a 0,05 baseado numa comparação de imunorreação de p53 positiva em 63,6% de Spigelman III e IV, em contraste com 36,4% de positividade em casos de doença duodenal leve. O número reduzido de casos avançados e a ausência de casos de adenocarcinoma desta casuística poderia explicar a falta de significância estatística de p53 neste estudo. No entanto, pelo fato da PAF ser uma doença genética rara, é difícil esclarecer este conceito. Por outro lado, o alto número de pacientes com expressão p53 positiva em tecido normal em pacientes Spigelman I, II e III, IV poderiam sinalizar que a inibição da apoptose poderia representar um evento precoce na carcinogênese duodenal não ampular em pacientes com PAF, observação que tem sido demonstrada no comportamento deste marcador em outros órgãos ⁽¹⁰³⁾. No entanto, é importante ressaltar que a hiperexpressão do p53 não necessariamente é relacionada com a mutação deste gene ⁽⁴⁹⁾.

Em relação à expressão de Bcl-2, estudos demonstram que a expressão alterada de Bcl-2 pode estar envolvida na carcinogênese colorretal ⁽²⁵⁾. No entanto, a especificidade da expressão de Bcl-2 em neoplasias é variável segundo o órgão atingido ^(26, 27).

6.7 LIMITAÇÕES

Reconhecemos algumas limitações de nosso estudo. Embora seja esperado, a baixa proporção de pacientes com doença duodenal avançada

limita a ampla aplicabilidade destes resultados. Além disso, a PAF é uma doença rara, por isso é difícil incluir um número suficiente de pacientes para melhor esclarecer o comportamento biológico da doença duodenal. Estudos multicêntricos com maior número de pacientes e, proporcionalmente, maior número de pacientes com polipose duodenal avançada poderiam facilitar a validação destes resultados.

7 CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

Diante dos resultados da análise do perfil imuno-histoquímico em pacientes com PAF seguidos no Ambulatório de Poliposes Intestinais da Disciplina do Aparelho Digestivo e Coloproctologia do Departamento de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pode-se concluir que:

1. A elevada proliferação celular, expressa pelo Ki-67 poderia ser utilizada como marcador de agressividade na polipose duodenal não ampular em pacientes com Polipose Adenomatosa Familiar, dado que poderá ter repercussões nos critérios de vigilância endoscópica e implicações nas recomendações terapêuticas desse grupo de doentes.
2. E-caderina, β -catenina, p-53, Caspase-3, Bcl-2, COX-2 e PD-L1 não tiveram associação com a gravidade da polipose duodenal.

8 ANEXOS

ANEXO 1. Parecer da comissão de ética para análise de projetos de pesquisa CAPPesq



Hospital das Clínicas da FMUSP
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq

PROJETO DE PESQUISA

Título: PERFIL ENDOSCÓPICO DA MUCOSA DO INTESTINO DELGADO NA POLIPOSE ADENOMATOSA FAMILIAR. ASPECTOS CLÍNICOS, MOLECULARES E IMUNO-HISTOQUÍMICOS
Pesquisador Responsável: Adriana Vaz Safatle-Ribeiro **Versão:** 3
Pesquisador Executante: Marianny Nazareth Sulbarán Nava **CAAE:** 33404214.2.0000.0068
Co-autores: Fabio Guilherme Casserta Maryssael Campos, Leonardo Alfonso Bustamante Lopez, Robson Kiyoshi Ishida, Rogério Kuga, Eduardo Guimarães Hourneaux de Moura, Paulo Sakai, Sérgio Carlos Nahas, Ivan Ceconello, Ulysses Ribeiro Júnior.
Finalidade Acadêmica: Mestrado
Instituição: HCFMUSP
Departamento: GASTROENTEROLOGIA

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Registro on-line: 12328

Número do Parecer: 1.391.559

Data da Relatoria: 20/01/2016

Apresentação do Projeto: Perfil endoscópico da mucosa do intestino delgado na polipose adenomatosa familiar. Aspectos clínicos, moleculares e imuno-histoquímicos.

Objetivo da Pesquisa: Objetivo Primário: 1) Avaliar a prevalência e a intensidade da adenomatose duodenojejunal em pacientes com PAF em nosso meio, através do método endoscópico; 2) Correlacionar mutações do gene APC e marcadores de imunohistoquímica com a gravidade fenotípica da adenomatose duodenojejunal. Objetivo Secundário: 3) Correlacionar a intensidade da adenomatose duodenal com a gravidade da polipose colônica; 4) Correlacionar os tipos de mutações do gene APC com a expressão fenotípica de adenomas de anastomose e bolsa ileal.

Avaliação dos Riscos e Benefícios: Riscos: relacionados à coleta de sangue, à duodenoscopia com biópsia, enteroscopia de duplo balão - via oral com biópsia, enteroscopia de duplo balão - via anal com biópsia. O paciente pode apresentar cólicas após o exame, geralmente facilmente tratada com analgésicos. Os riscos associados à realização de duodenoscopia e enteroscopia de duplo balão são raros, como pancreatite e perfuração, inerentes a qualquer outro exame endoscópico, além dos riscos associados à sedação. Benefícios: Indiretos. Ao final do estudo, poder-se-á concluir se existe algum fator que apresente associação com a predisposição para malignidade da mucosa do intestino delgado em pacientes com Polipose Adenomatosa Familiar, oferecendo melhor conhecimento da doença e, conseqüentemente, melhor abordagem clínica aos pacientes.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa: Pesquisa devidamente avaliada em pareceres prévios. No momento, apresentação de emenda - Participação do HSL (Hospital Sírio Libanês).

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória: Adequados.

Recomendações: Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações: Não há.

Rua Dr. Ovídio Pires de Campos, 225 - Prédio da Administração - 5º andar
CEP 05403-010 - São Paulo - SP.
55 11 2661-7585 - 55 11 2661-6442 ramais: 16, 17, 18 | cappesq_adm@hc.fm.usp.br



Hospital das Clínicas da FMUSP
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq


Situação do Parecer: Aprovado.

Necessita Apreciação da CONEP: Não.

São Paulo, 20 de janeiro de 2016

Prof. Dr. Alfredo José Mansur
Coordenador
Comissão de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa – CAPPesq

ANEXO 2. Registro do estudo na plataforma do *Clinical Trials*


 U.S. National Library of Medicine
ClinicalTrials.gov Find Studies ▾ About Studies ▾ Submit Studies ▾ Resources ▾ About Site ▾ [PRS Login](#)

[Home](#) > [Search Results](#) > Study Record Detail Save this study

Trial record 1 of 1 for: **Familial Adenomatous Polyposis | São Paulo, Brazil**

[Previous Study](#) | [Return to List](#) | [Next Study](#)

Small Bowel Endoscopic Evaluation in Familial Adenomatous Polyposis (FAP)

 The safety and scientific validity of this study is the responsibility of the study sponsor and investigators. Listing a study does not mean it has been evaluated by the U.S. Federal Government. Read our [disclaimer](#) for details.

ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02656134

[Recruitment Status](#) ⓘ : Unknown
[Verified January 2016](#) by Marianny Sulbaran, University of Sao Paulo.
Recruitment status was: Recruiting
[First Posted](#) ⓘ : January 14, 2016
[Last Update Posted](#) ⓘ : January 14, 2016

Sponsor:
University of Sao Paulo

Information provided by (Responsible Party):
Marianny Sulbaran, University of Sao Paulo

Information from the National Library of Medicine

To learn more about this study, you or your doctor may contact the study research staff using the contact information provided by the sponsor.

Please refer to this study by its ClinicalTrials.gov identifier (NCT number): **NCT02656134**

Contacts

Contact: Marianny Sulbaran, MD 5511 948526841 mariannysulbaran@gmail.com

Locations**Brazil**

University of Sao Paulo Medical School **Recruiting**

Sao Paulo, Brazil

Contact: Adriana Vaz Safatle-Ribeiro, MD, PhD

Contact adrisafatle@terra.com.br

Sponsors and Collaborators

University of Sao Paulo

Investigators

Principal Investigator: Marianny Sulbaran, MD PhD

ANEXO 3. Termo de consentimento livre e esclarecido**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 Nº _____ SEXO : .M F
DATA NASCIMENTO: ____/____/_____
ENDEREÇO: _____ Nº ____ APTO: _____
BAIRRO: _____ CIDADE: _____
CEP: _____ TELEFONE: DDD (____) _____

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: *“Perfil endoscópico da mucosa do intestino delgado na polipose adenomatosa familiar. Aspectos Clínicos, moleculares e imuno-histoquímicos”*

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Prof^a. Dra. Adriana Vaz Safatle Ribeiro
CARGO/FUNÇÃO: Médica. CRM: 60.168
UNIDADE DO HCFMUSP: Serviço de Endoscopia Gastrointestinal do Departamento de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas

2. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:
RISCO MÍNIMO RISCO MÉDIO
RISCO BAIXO RISCO MAIOR

3. DURAÇÃO DA PESQUISA: 1 ano

2. Desenho do estudo e objetivo(s)

Você está sendo convidado a participar desta pesquisa, pois realizou uma cirurgia de colectomia (retirada de uma parte do intestino) devido a uma doença chamada polipose adenomatosa familiar.

Este projeto tem como objetivo verificar quantas pessoas que fizeram esta cirurgia (colectomia) desenvolveram também a doença (adenomatose) em outras partes do intestino (duodeno e jejuno).

Além disso, esta pesquisa visa determinar que fatores estariam associados ao desenvolvimento desta doença (alterações genéticas, alterações nas células do intestino). Para isso, serão analisadas informações do seu prontuário no hospital e serão realizados exames de sangue e de duodenoscopia, de enteroscopia via oral e de enteroscopia via anal.

3. Procedimentos não rotineiros que serão realizados:

Caso você aceite participar desta pesquisa, você realizará alguns exames.

Coleta de Sangue: Com uma agulha será retirado uma amostra de sangue de cerca de 12 mL (uma colher de sopa). Este exame será realizado para avaliar se há a presença de uma alteração genética no seu DNA (gene APC).

Duodenoscopia com biópsia: Será introduzido um tubo flexível pela sua boca para que seu intestino possa ser avaliado. Durante este exame, 11 (onze) pequenos fragmentos serão retirados para serem analisados.

Enteroscopia de duplo balão - via oral com biópsia: Este exame será realizado apenas se forem encontrados adenomas maiores no exame de duodenoscopia. Será introduzido um tubo flexível pela sua boca para que seu intestino possa ser avaliado. Durante este exame, 10 (dez) pequenos fragmentos serão retirados para serem analisados. Este exame será agendado em outro dia.

Enteroscopia de duplo balão - via anal com biópsia: Este exame será realizado apenas se forem encontrados adenomas maiores no exame de duodenoscopia. Será introduzido um tubo flexível pelo ânus para que seu intestino possa ser avaliado. Durante este exame, 10 (dez) pequenos fragmentos serão retirados para serem analisados.

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.

4. Relação dos procedimentos rotineiros e como são realizados:

Caso você aceite participar desta pesquisa, não haverá nenhuma alteração no seu tratamento e acompanhamento nesta instituição.

5. Descrição dos desconfortos e riscos esperados nos procedimentos dos itens 2 e 3:

Para evitar eventuais riscos ou desconfortos, todos os procedimentos desta pesquisa serão realizados por profissionais experientes, capacitados e habilitados para cada atividade específica. Você deverá procurar o serviço de emergência do HC sempre que apresentar qualquer complicação.

Coleta de Sangue: Você poderá sentir uma picada da agulha e poderá aparecer uma mancha roxa (hematoma) no local desta picada.

Duodenoscopia com biópsia, enteroscopia de duplo balão - via oral com biópsia, enteroscopia de duplo balão - via anal com biópsia: Para evitar desconfortos, um medicamento será injetado na veia do seu braço para que você durma durante o exame. Durante o procedimento, é necessária insuflação de ar no intestino para que o intestino seja devidamente visualizada, o que pode ocasionar cólicas após o exame, geralmente facilmente tratada com analgésicos. Os riscos associados à realização de duodenoscopia e enteroscopia de duplo balão são raros, como pancreatite e perfuração, inerentes a qualquer outro exame endoscópico.

6. Benefícios para o participante

No final do estudo, poderemos concluir se existe algum fator que apresente associação com a predisposição para malignidade da mucosa do intestino delgado em pacientes com Polipose Adenomatosa Familiar, oferecendo melhor conhecimento da doença e, conseqüentemente, melhor abordagem clínica aos pacientes.

7. Relação de procedimentos alternativos que possam ser vantajosos, pelos quais o paciente pode optar:

Caso você não aceite participar desta pesquisa, não haverá nenhuma alteração do seu tratamento nesta instituição.

8. Garantia de acesso

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. A principal investigadora é a **Dra. Adriana Vaz Safatle Ribeiro** que pode ser encontrada no endereço Rua Enéas Carvalho de Aguiar, 155, 6º. Andar, Bloco 3, Serviço de Endoscopia, telefone em horário comercial (11) 26616221 e no telefone (11) 996744902 (24 horas). Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 2661-6442 ramais 16, 17, 18 – e-mail: cappesq@hcnet.usp.br.

9. Garantia da liberdade da retirada de consentimento

Você pode retirar o seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição.

10. Direito de confidencialidade

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

11. Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas

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.

12. Despesas e compensações

Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira, sua participação nesta pesquisa é voluntária. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa. Você terá o direito de solicitar indenização no caso de eventuais danos decorrentes da pesquisa.

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

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo *“Perfil endoscópico da mucosa do intestino delgado na polipose adenomatosa familiar. Aspectos Clínicos, moleculares e imuno-histoquímicos”*.

Eu discuti com o médico sobre a minha decisão em participar neste 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.

Assino 2 (duas) vias deste documento, as quais uma ficará com o médico e sua equipe e a outra via será entregue para mim.

Assinatura do paciente/representante legal

Data ____/____/____

Assinatura da testemunha

Data ____/____/____

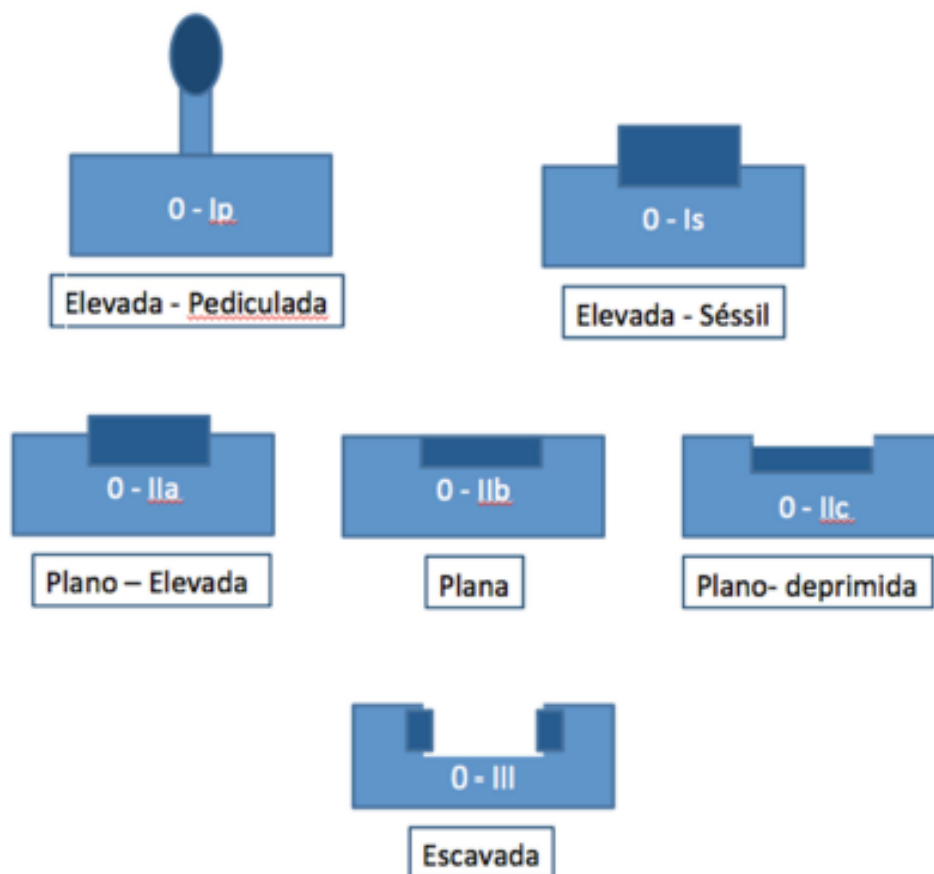
(para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do médico que obteve o consentimento

Data ____/____/____

ANEXO 4. Classificação endoscópica de Paris



9 REFERÊNCIAS

9 REFERÊNCIAS

1. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva.(INCA) Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. – Rio de Janeiro : INCA, 2019.
2. Al-Sukhni W, Aronson M, Gallinger S. Hereditary colorectal cancer syndromes: familial adenomatous polyposis and lynch syndrome. *Surg Clin North Am.* 2008;88(4):819-44, vii.
3. Campos FG. Surgical treatment of familial adenomatous polyposis: dilemmas and current recommendations. *World J Gastroenterol.* 2014;20(44):16620-9.
4. Brosens LA, Offerhaus GJ, Giardiello FM. Hereditary Colorectal Cancer: Genetics and Screening. *Surg Clin North Am.* 2015;95(5):1067-80.
5. Brosens LA, Keller JJ, Offerhaus GJ, Goggins M, Giardiello FM. Prevention and management of duodenal polyps in familial adenomatous polyposis. *Gut.* 2005;54(7):1034-43.
6. Trimbath JD, Giardiello FM. Review article: genetic testing and counselling for hereditary colorectal cancer. *Aliment Pharmacol Ther.* 2002;16(11):1843-57.
7. Lynch HT, Thorson AG, McComb RD, Franklin BA, Tinley ST, Lynch JF. Familial adenomatous polyposis and extracolonic cancer. *Dig Dis Sci.* 2001;46(11):2325-32.

8. Arvanitis ML, Jagelman DG, Fazio VW, Lavery IC, McGannon E. Mortality in patients with familial adenomatous polyposis. *Dis Colon Rectum*. 1990;33(8):639-42.
9. Belchetz LA, Berk T, Bapat BV, Cohen Z, Gallinger S. Changing causes of mortality in patients with familial adenomatous polyposis. *Dis Colon Rectum*. 1996;39(4):384-7.
10. Church J, Kiringoda R, LaGuardia L. Inherited colorectal cancer registries in the United States. *Dis Colon Rectum*. 2004;47(5):674-8.
11. Campos FG, Sulbaran M, Safatle-Ribeiro AV, Martinez CA. Duodenal adenoma surveillance in patients with familial adenomatous polyposis. *World J Gastrointest Endosc*. 2015;7(10):950-9.
12. Jagelman DG, DeCosse JJ, Bussey HJ. Upper gastrointestinal cancer in familial adenomatous polyposis. *Lancet*. 1988;1(8595):1149-51.
13. Heiskanen I, Kellokumpu I, Järvinen H. Management of duodenal adenomas in 98 patients with familial adenomatous polyposis. *Endoscopy*. 1999;31(6):412-6.
14. Tonelli F, Ficari F, Bargellini T, Valanzano R. Ileal pouch adenomas and carcinomas after restorative proctocolectomy for familial adenomatous polyposis. *Dis Colon Rectum*. 2012;55(3):322-9.
15. Bülow S, Björk J, Christensen IJ, Fausa O, Järvinen H, Moesgaard F, et al. Duodenal adenomatosis in familial adenomatous polyposis. *Gut*. 2004;53(3):381-6.
16. Offerhaus GJ, Giardiello FM, Krush AJ, Booker SV, Tersmette AC, Kelley NC, et al. The risk of upper gastrointestinal cancer in familial adenomatous polyposis. *Gastroenterology*. 1992;102(6):1980-2.

17. Koornstra JJ. Small bowel endoscopy in familial adenomatous polyposis and Lynch syndrome. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2012;26(3):359-68.
18. Vasen HF, Möslin G, Alonso A, Aretz S, Bernstein I, Bertario L, et al. Guidelines for the clinical management of familial adenomatous polyposis (FAP). *Gut.* 2008;57(5):704-13.
19. Campos FG, Martinez CAR, Bustamante Lopez LA, Kanno DT, Nahas SC, Ceconello I. Advanced duodenal neoplasia and carcinoma in familial adenomatous polyposis: outcomes of surgical management. *J Gastrointest Oncol.* 2017;8(5):877-84.
20. Spigelman AD, Williams CB, Talbot IC, Domizio P, Phillips RK. Upper gastrointestinal cancer in patients with familial adenomatous polyposis. *Lancet.* 1989;2(8666):783-5.
21. Jaganmohan S, Lynch PM, Raju RP, Ross WA, Lee JE, Raju GS, et al. Endoscopic management of duodenal adenomas in familial adenomatous polyposis--a single-center experience. *Dig Dis Sci.* 2012;57(3):732-7.
22. Groves CJ, Saunders BP, Spigelman AD, Phillips RK. Duodenal cancer in patients with familial adenomatous polyposis (FAP): results of a 10 year prospective study. *Gut.* 2002;50(5):636-41.
23. Latchford AR, Neale KF, Spigelman AD, Phillips RK, Clark SK. Features of duodenal cancer in patients with familial adenomatous polyposis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2009;7(6):659-63.
24. Alderlieste YA, Rauws EA, Mathus-Vliegen EM, Fockens P, Dekker E. Prospective enteroscopic evaluation of jejunal polyposis in patients with familial adenomatous polyposis and advanced duodenal polyposis. *Fam Cancer.* 2013;12(1):51-6.

25. Matsumoto T, Esaki M, Yanaru-Fujisawa R, Moriyama T, Yada S, Nakamura S, et al. Small-intestinal involvement in familial adenomatous polyposis: evaluation by double-balloon endoscopy and intraoperative enteroscopy. *Gastrointest Endosc.* 2008;68(5):911-9.
26. Sulbaran M, et al. Dissertação de Mestrado. Perfil endoscópico da mucosa do intestino delgado na polipose adenomatosa familiar. Universidade de Sao Paulo, 2016. 10.11606/D.5.2017.tde-07032017-163539.
27. Sulbaran M, de Moura E, Bernardo W, Morais C, Oliveira J, Bustamante-Lopez L, et al. Overtube-assisted enteroscopy and capsule endoscopy for the diagnosis of small-bowel polyps and tumors: a systematic review and meta-analysis. *Endosc Int Open.* 2016;4(2):E151-63.
28. Saurin JC, Gutknecht C, Napoleon B, Chavaillon A, Ecochard R, Scoazec JY, et al. Surveillance of duodenal adenomas in familial adenomatous polyposis reveals high cumulative risk of advanced disease. *J Clin Oncol.* 2004;22(3):493-8.
29. Campos FG, Perez RO, Imperiale AR, Seid VE, Nahas SC, Cecconello I. Evaluating causes of death in familial adenomatous polyposis. *J Gastrointest Surg.* 2010;14(12):1943-9.
30. Sulbaran M, Campos FG, Ribeiro U, Kishi HS, Sakai P, de Moura EGH, et al. Risk factors for advanced duodenal and ampullary adenomatosis in familial adenomatous polyposis: a prospective, single-center study. *Endosc Int Open.* 2018;6(5):E531-E40.
31. Campos FG, Martinez CAR, Sulbaran M, Bustamante-Lopez LA, Safatle-Ribeiro AV. Upper gastrointestinal neoplasia in familial adenomatous polyposis: prevalence, endoscopic features and management. *J Gastrointest Oncol.* 2019;10(4):734-44.

32. Saurin JC, Ligneau B, Ponchon T, Leprêtre J, Chavaillon A, Napoléon B, et al. The influence of mutation site and age on the severity of duodenal polyposis in patients with familial adenomatous polyposis. *Gastrointest Endosc.* 2002;55(3):342-7.
33. Campos FG, Habr-Gama A, Kiss DR, Atuí FC, Katayama F, Gama-Rodrigues J. [Extracolonic manifestations of familial adenomatous polyposis: incidence and impact on the disease outcome]. *Arq Gastroenterol.* 2003;40(2):92-8.
34. Kumar S, Tomooka Y, Noda M. Identification of a set of genes with developmentally down-regulated expression in the mouse brain. *Biochem Biophys Res Commun.* 1992;185(3):1155-61.
35. Yang J, Gurudu SR, Koptiuch C, Agrawal D, Buxbaum JL, Abbas Fehmi SM, et al. American Society for Gastrointestinal Endoscopy guideline on the role of endoscopy in familial adenomatous polyposis syndromes. *Gastrointest Endosc.* 2020;91(5):963-82.e2.
36. Yamaguchi S, Ogata H, Katsumata D, Nakajima M, Fujii T, Tsutsumi S, et al. MUTYH-associated colorectal cancer and adenomatous polyposis. *Surg Today.* 2014;44(4):593-600.
37. Leoz ML, Carballal S, Moreira L, Ocaña T, Balaguer F. The genetic basis of familial adenomatous polyposis and its implications for clinical practice and risk management. *Appl Clin Genet.* 2015;8:95-107.
38. Syngal S, Brand RE, Church JM, Giardiello FM, Hampel HL, Burt RW, et al. ACG clinical guideline: Genetic testing and management of hereditary gastrointestinal cancer syndromes. *Am J Gastroenterol.* 2015;110(2):223-62; quiz 63.

39. Segditsas S, Tomlinson I. Colorectal cancer and genetic alterations in the Wnt pathway. *Oncogene*. 2006;25(57):7531-7.
40. Groves C, Lamlum H, Crabtree M, Williamson J, Taylor C, Bass S, et al. Mutation cluster region, association between germline and somatic mutations and genotype-phenotype correlation in upper gastrointestinal familial adenomatous polyposis. *Am J Pathol*. 2002;160(6):2055-61.
41. Galiatsatos P, Foulkes WD. Familial adenomatous polyposis. *Am J Gastroenterol*. 2006;101(2):385-98.
42. Leppert M, Burt R, Hughes JP, Samowitz W, Nakamura Y, Woodward S, et al. Genetic analysis of an inherited predisposition to colon cancer in a family with a variable number of adenomatous polyps. *N Engl J Med*. 1990;322(13):904-8.
43. Björk J, Akerbrant H, Iselius L, Bergman A, Engwall Y, Wahlström J, et al. Periampullary adenomas and adenocarcinomas in familial adenomatous polyposis: cumulative risks and APC gene mutations. *Gastroenterology*. 2001;121(5):1127-35.
44. Attard TM, Cuffari C, Tajouri T, Stoner JA, Eisenberg MT, Yardley JH, et al. Multicenter experience with upper gastrointestinal polyps in pediatric patients with familial adenomatous polyposis. *Am J Gastroenterol*. 2004;99(4):681-6.
45. Bisgaard ML, Bülow S. Familial adenomatous polyposis (FAP): genotype correlation to FAP phenotype with osteomas and sebaceous cysts. *Am J Med Genet A*. 2006;140(3):200-4.
46. Bülow S, Christensen IJ, Højen H, Björk J, Elmberg M, Järvinen H, et al. Duodenal surveillance improves the prognosis after duodenal cancer in familial adenomatous polyposis. *Colorectal Dis*. 2012;14(8):947-52.

47. Wong NA, Pignatelli M. Beta-catenin--a linchpin in colorectal carcinogenesis? *Am J Pathol.* 2002;160(2):389-401.
48. Sellin JH, Umar S, Xiao J, Morris AP. Increased beta-catenin expression and nuclear translocation accompany cellular hyperproliferation in vivo. *Cancer Res.* 2001;61(7):2899-906.
49. Wagner PL, Chen YT, Yantiss RK. Immunohistochemical and molecular features of sporadic and FAP-associated duodenal adenomas of the ampullary and nonampullary mucosa. *Am J Surg Pathol.* 2008;32(9):1388-95.
50. Aparicio T, Zaanan A, Mary F, Afchain P, Manfredi S, Evans TR. Small Bowel Adenocarcinoma. *Gastroenterol Clin North Am.* 2016;45(3):447-57.
51. Hankey W, Frankel WL, Groden J. Functions of the APC tumor suppressor protein dependent and independent of canonical WNT signaling: implications for therapeutic targeting. *Cancer Metastasis Rev.* 2018;37(1):159-72.
52. Gupta SD, Das RN, Ghosh R, Sen A, Chatterjee U, Saha K, et al. Expression of COX-2 and p53 in juvenile polyposis coli and its correlation with adenomatous changes. *J Cancer Res Ther.* 2016;12(1):359-63.
53. Hao X, Bishop AE, Wallace M, Wang H, Willcocks TC, Maclouf J, et al. Early expression of cyclo-oxygenase-2 during sporadic colorectal carcinogenesis. *J Pathol.* 1999;187(3):295-301.
54. Truta B, Allen BA, Conrad PG, Weinberg V, Miller GA, Pomponio R, et al. A comparison of the phenotype and genotype in adenomatous polyposis patients with and without a family history. *Fam Cancer.* 2005;4(2):127-33.

55. Bülow S, Berk T, Neale K. The history of familial adenomatous polyposis. *Fam Cancer*. 2006;5(3):213-20.
56. Sinicrope FA, Ruan SB, Cleary KR, Stephens LC, Lee JJ, Levin B. bcl-2 and p53 oncoprotein expression during colorectal tumorigenesis. *Cancer Res*. 1995;55(2):237-41.
57. Kashiwagi H, Spigelman AD, Talbot IC, Phillips RK. Overexpression of p53 in duodenal tumours in patients with familial adenomatous polyposis. *Br J Surg*. 1996;83(2):225-8.
58. Matsumoto T, Iida M, Nakamura S, Hizawa K, Mizuno M, Yao T, et al. Depressed adenoma of the duodenum in patients with familial adenomatous polyposis: endoscopic and immunohistochemical features. *Cancer*. 1999;86(8):1414-20.
59. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*. 1972;26(4):239-57.
60. Thornberry NA, Lazebnik Y. Caspases: enemies within. *Science*. 1998;281(5381):1312-6.
61. Cory S, Adams JM. The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. *Nat Rev Cancer*. 2002;2(9):647-56.
62. Tsujimoto Y, Finger LR, Yunis J, Nowell PC, Croce CM. Cloning of the chromosome breakpoint of neoplastic B cells with the t(14;18) chromosome translocation. *Science*. 1984;226(4678):1097-9.
63. Tsujimoto Y, Croce CM. Analysis of the structure, transcripts, and protein products of bcl-2, the gene involved in human follicular lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1986;83(14):5214-8.

64. Vaux DL, Cory S, Adams JM. Bcl-2 gene promotes haemopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells. *Nature*. 1988;335(6189):440-2.
65. Tsujimoto Y. Stress-resistance conferred by high level of bcl-2 alpha protein in human B lymphoblastoid cell. *Oncogene*. 1989;4(11):1331-6.
66. Campbell KJ, Tait SWG. Targeting BCL-2 regulated apoptosis in cancer. *Open Biol*. 2018;8(5).
67. McIlwain DR, Berger T, Mak TW. Caspase functions in cell death and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2015;7(4).
68. Julien O, Wells JA. Caspases and their substrates. *Cell Death Differ*. 2017;24(8):1380-9.
69. Woo M, Hakem R, Furlonger C, Hakem A, Duncan GS, Sasaki T, et al. Caspase-3 regulates cell cycle in B cells: a consequence of substrate specificity. *Nat Immunol*. 2003;4(10):1016-22.
70. Van Damme P, Martens L, Van Damme J, Hugelier K, Staes A, Vandekerckhove J, et al. Caspase-specific and nonspecific in vivo protein processing during Fas-induced apoptosis. *Nat Methods*. 2005;2(10):771-7.
71. Soung YH, Lee JW, Kim SY, Park WS, Nam SW, Lee JY, et al. Somatic mutations of CASP3 gene in human cancers. *Hum Genet*. 2004;115(2):112-5.
72. Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer*. 1983;31(1):13-20.

73. Gerdes J, Lemke H, Baisch H, Wacker HH, Schwab U, Stein H. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol.* 1984;133(4):1710-5.
74. Bullwinkel J, Baron-Lühr B, Lüdemann A, Wohlenberg C, Gerdes J, Scholzen T. Ki-67 protein is associated with ribosomal RNA transcription in quiescent and proliferating cells. *J Cell Physiol.* 2006;206(3):624-35.
75. Petrelli F, Viale G, Cabiddu M, Barni S. Prognostic value of different cut-off levels of Ki-67 in breast cancer: a systematic review and meta-analysis of 64,196 patients. *Breast Cancer Res Treat.* 2015;153(3):477-91.
76. Tong G, Zhang G, Liu J, Zheng Z, Chen Y, Niu P, et al. Cutoff of 25% for Ki67 expression is a good classification tool for prognosis in colorectal cancer in the AJCC-8 stratification. *Oncol Rep.* 2020;43(4):1187-98.
77. Li F, Ren Y, Wang Z. Programmed death 1 Ligand 1 expression in breast cancer and its association with patients' clinical parameters. *J Cancer Res Ther.* 2018;14(1):150-4.
78. Tumei PC, Harview CL, Yearley JH, Shintaku IP, Taylor EJ, Robert L, et al. PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance. *Nature.* 2014;515(7528):568-71.
79. Gatalica Z, Snyder C, Maney T, Ghazalpour A, Holterman DA, Xiao N, et al. Programmed cell death 1 (PD-1) and its ligand (PD-L1) in common cancers and their correlation with molecular cancer type. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2014;23(12):2965-70.
80. Diggs LP, Hsueh EC. Utility of PD-L1 immunohistochemistry assays for predicting PD-1/PD-L1 inhibitor response. *Biomark Res.* 2017;5:12.

81. Patel SP, Kurzrock R. PD-L1 Expression as a Predictive Biomarker in Cancer Immunotherapy. *Mol Cancer Ther.* 2015;14(4):847-56.
82. Schlemper RJ, Riddell RH, Kato Y, Borchard F, Cooper HS, Dawsey SM, et al. The Vienna classification of gastrointestinal epithelial neoplasia. *Gut.* 2000;47(2):251-5.
83. Di Leo A, Nesi G, Principi M, Piscitelli D, Girardi B, Pricci M, et al. Epithelial turnover in duodenal familial adenomatous polyposis: A possible role for estrogen receptors? *World J Gastroenterol.* 2016;22(11):3202-11.
84. Zhang Z, Wang D, Xu C, Li Y, Yu Y, Chen C, et al. Analysis of expression levels of markers associated with tumor proliferation and angiogenesis in familial adenomatous polyposis. *Mol Genet Genomic Med.* 2020:e1534.
85. Thiruvengadam SS, Lopez R, O'Malley M, LaGuardia L, Church JM, Kalady M, et al. Spigelman stage IV duodenal polyposis does not precede most duodenal cancer cases in patients with familial adenomatous polyposis. *Gastrointest Endosc.* 2019;89(2):345-54.e2.
86. Esaki M, Matsumoto T, Yao S, Nakamura S, Hirahashi M, Yao T, et al. Immunohistochemical characteristics of duodenal adenomas in familial adenomatous polyposis with special reference to cell kinetics. *Hum Pathol.* 2005;36(1):66-73.
87. Roos VH, Bastiaansen BA, Kallenberg FGJ, Aelvoet AS, Bossuyt PMM, Fockens P, et al. Endoscopic management of duodenal adenomas in patients with familial adenomatous polyposis. *Gastrointest Endosc.* 2021;93(2):457-66.

-
88. Kubota K, Fujita Y, Sato T, Watanabe S, Hosono K, Yoneda M, et al. Tumor diameter and Ki-67 expression in biopsy could be diagnostic markers discriminating from adenoma and early stage cancer in patients with ampullary tumors. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 2013;20(5):531-7.
89. Kubota K, Kakuta Y, Kawamura S, Saito S, Seki H, Kuniyoshi T. Usefulness of endoscopic biopsy using immunostaining of p53 and Ki-67 in tumors of the ampulla of Vater. *Pathol Int.* 2003;53(6):361-70.
90. Zhou Y, Hu W, Chen P, Abe M, Shi L, Tan SY, et al. Ki67 is a biological marker of malignant risk of gastrointestinal stromal tumors: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2017;96(34):e7911.
91. Zhang H, Liu Q. Prognostic Indicators for Gastrointestinal Stromal Tumors: A Review. *Transl Oncol.* 2020;13(10):100812.
92. Safatle-Ribeiro AV, Ribeiro U, Corbett CE, Iriya K, Kobata CH, Sakai P, et al. Prognostic value of immunohistochemistry in gastric neuroendocrine (carcinoid) tumors. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2007;19(1):21-8.
93. Samadder NJ, Neklason DW, Boucher KM, Byrne KR, Kanth P, Samowitz W, et al. Effect of Sulindac and Erlotinib vs Placebo on Duodenal Neoplasia in Familial Adenomatous Polyposis: A Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2016;315(12):1266-75.
94. Delker DA, Wood AC, Snow AK, Samadder NJ, Samowitz WS, Affolter KE, et al. Chemoprevention with Cyclooxygenase and Epidermal Growth Factor Receptor Inhibitors in Familial Adenomatous Polyposis Patients: mRNA Signatures of Duodenal Neoplasia. *Cancer Prev Res (Phila).* 2018;11(1):4-15.

-
95. Preston SL, Leedham SJ, Oukrif D, Deheregoda M, Goodlad RA, Poulson R, et al. The development of duodenal microadenomas in FAP patients: the human correlate of the Min mouse. *J Pathol*. 2008;214(3):294-301.
96. Preston SL, Wong WM, Chan AO, Poulson R, Jeffery R, Goodlad RA, et al. Bottom-up histogenesis of colorectal adenomas: origin in the monocryptal adenoma and initial expansion by crypt fission. *Cancer Res*. 2003;63(13):3819-25.
97. Santucci R, Volpe L, Zannoni U, Paganelli GM, Poggi B, Calabrese C, et al. Cell proliferation of the duodenal mucosa in patients affected by familial adenomatous polyposis. *Gastroenterology*. 1997;113(4):1159-62.
98. Biasco G, Pantaleo MA, Di Febo G, Calabrese C, Brandi G. Risk of duodenal adenomas in familial adenomatous polyposis to progress toward advanced neoplastic disease. *J Clin Oncol*. 2004;22(18):3835-6; author reply 6-7.
99. Group ECR. Update on the paris classification of superficial neoplastic lesions in the digestive tract. *Endoscopy*. 2005;37(6):570-8.
100. Kudo SE, Sugihara Y, Kida H, Ishida F, Miyachi H, Mori Y, et al. Depressed-Type Colonic Lesions and "De Novo" Cancer in Familial Adenomatous Polyposis: A Colonoscopist's Viewpoint. *ISRN Gastroenterol*. 2013;2013:838134.
101. Niwa A, Kuwano S, Tomita H, Kimura K, Orihara Y, Kanayama T, et al. The different pathogeneses of sporadic adenoma and adenocarcinoma in non-ampullary lesions of the proximal and distal duodenum. *Oncotarget*. 2017;8(25):41078-90.

102. Saito Y, Fujii T, Akasu T, Gotoda T, Kozu T, Saito D, et al. Development of an aggressive depressed cancer in a case of familial adenomatous polyposis. *Endoscopy*. 2002;34(5):421-3.
103. Safatle-Ribeiro AV, Ribeiro U, Sakai P, Clarke MR, Fylyk SN, Ishioka S, et al. Integrated p53 histopathologic/genetic analysis of premalignant lesions of the esophagus. *Cancer Detect Prev*. 2000;24(1):13-23.

APÊNDICES

APÊNDICES

APÊNDICE 1. CARTA DE ACEITAÇÃO DO ABSTRACT “KI-67 EXPRESSION CAN BE A MARKER OF AGRESSIVENESS OF DUODENAL DISEASE IN FAMILIAL ADENOMATOUS POLYPOSIS” NO DIGESTIVE DISEASE WEEK, CHICAGO 2020



Dear Dr. Marianny Sulbaran,

Congratulations! On behalf of the ASGE Annual Scientific Program Committee, I am pleased to inform you that your abstract, **KI-67** EXPRESSION CAN BE A MARKER OF AGRESSIVENESS OF DUODENAL DISEASE IN FAMILIAL ADENOMATOUS POLYPOSIS (3351683), has been selected for a poster presentation during Digestive Disease Week® (**DDW**) at McCormick Place in Chicago, IL, May 2-5, **2020**. Please notify any co-authors of this acceptance. Details of your session follow:

SESSION DETAILS

Session Type: Poster Session

Session Title: Upper GI Small Bowel Imaging

Session Date: May 5, **2020**

Presentation Title: **KI-67** EXPRESSION CAN BE A MARKER OF AGRESSIVENESS OF DUODENAL DISEASE IN FAMILIAL ADENOMATOUS POLYPOSIS



Presentation Time: 12:30 p.m. to 1:30 p.m.

APENDICE 2. PUBLICAÇÃO DO ABSTRACT “KI-67 EXPRESSION CAN BE A MARKER OF AGRESSIVENESS OF DUODENAL DISEASE IN FAMILIAL ADENOMATOUS POLYPOSIS” NA GASTROINTESTINAL ENDOSCOPY 2020

Tu1563 KI-67 EXPRESSION CAN BE A MARKER OF AGRESSIVENESS OF DUODENAL DISEASE IN FAMILIAL ADENOMATOUS POLYPOSIS

June 2020 · Gastrointestinal Endoscopy 91(6):AB620-AB621 · [Follow journal](#)

DOI: [10.1016/j.gie.2020.03.3735](https://doi.org/10.1016/j.gie.2020.03.3735)

 Marianny Sulbaran ·  Fabio Guilherme Campos · Vitor R. Paes · [Show all 11 authors](#) · Adriana V. Safatle

Tu1562

NARROWBAND IMAGING VERSUS WHITE LIGHT ENDOSCOPY IN DETECTION OF GASTRIC INTESTINAL METAPLASIA: A META-ANALYSIS AND SYSTEMATIC REVIEW

Umeha Boregowda¹, Mohammad Bilal², Diego Lim³, Madhav Desai⁴
¹Bassett Medical Center, Cooperstown, NY; ²BIDMC, Harvard Medical School, Boston, MA; ³University of South Carolina School of Medicine Greenville, Greenville, SC; ⁴Kansas City Veteran Affairs Medical Center, Kansas city, MO

Background: Gastric cancer is the 6th leading cause of cancer-related death worldwide. Gastric intestinal metaplasia (GIM) is a premalignant condition that can lead to gastric adenocarcinoma. However, GIM continues to be challenging to diagnose, and random gastric biopsies can often miss GIM. Narrowband imaging (NBI) has shown potential in the detection of GIM, but pooled estimates are not known compared to standard white light endoscopy (WLE). Methods: Electronic literature search (Medline, Embase, and Cochran database) was performed for studies of NBI for the detection of GIM compared to WLE. Studies in abstract form only, case series, case reports, editorials, and review articles were excluded. The primary outcome was the pooled detection rate of GIM when NBI was used compared to WLE. The gold standard for the primary outcome was the detection of GIM on histopathology. Pooled estimates using proportions from each group were compared using a random-effects model with odds ratio (OR) and 95% CI. Publication bias was examined using funnel plot asymmetry. Results: A total of 595 articles were reviewed, and seven studies were found eligible. There were two prospective randomized, blinded crossover studies, two prospective blinded studies, two prospective unblinded studies, and one retrospective cohort study. A total of 1,008 subjects underwent upper endoscopy for various indications including reflux symptoms (12.3%), dyspepsia (8.4%), abdominal pain (8%), postprandial fullness (5.5%), and anemia (2.9%). The average age was 55.3 years and 54.6% were males. There were 300 (29.7%) subjects who were found to have GIM. NBI was able to detect GIM in 23% additional subjects that were not detected by WLE alone. Pooled OR was 0.52 (95% CI 0.20-0.83; p<0.01) suggestive that NBI was better at the detection of GIM compared to WLE [Figure 1]. Only four patients needed to undergo NBI to find 1 GIM compared to WLE. There was moderate heterogeneity in outcomes (I² 34%). There was no evidence of publication bias (Figure 2). Conclusion: Narrow band imaging could detect more patients with GIM as compared to WLE alone. Findings suggest that NBI should be employed in clinical practice during upper endoscopy to guide targeted sampling given its effectiveness in improving the detection of gastric intestinal metaplasia.

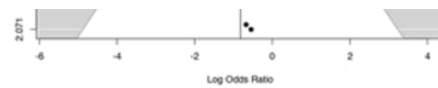


Figure 2. Funnel Plot

Tu1563

KI-67 EXPRESSION CAN BE A MARKER OF AGGRESSIVENESS OF DUODENAL DISEASE IN FAMILIAL ADENOMATOUS POLYPOSIS

Marianny Sulbaran¹, Fabio G. Campos¹, Vitor R. Paes¹, Venancio A. Alves¹, Humberto Kishi², Eduardo G. de Moura¹, Leonardo A. Bustamante-Lopez¹, Sergio C. Nahas¹, Ulysses Ribeiro¹, Renata Coudry³, Adriana V. Safatle¹

¹University of Sao Paulo. Gastroenterology Department., Sao Paulo, Brazil; ²Sao Paulo University School of Medicine, Sao Paulo, Brazil; ³Sirio Libanes Hospital, Pathology Department, Sao Paulo, Brazil

Aims: We aimed to analyze the expression of immunohistochemical markers and germline mutations in patients with duodenal disease in Familial Adenomatous Polyposis (FAP). Methods: This prospective study included 62 patients with FAP that had been previously submitted to prophylactic proctocolectomy at a single center in Brazil. Frontal and lateral view duodenoscopies were performed from July 2013 until April 2016. Duodenal polyposis was classified according to Spigelman. The expression of Ki-67, Bcl-2, E-cadherin, Beta-catenin, p53, Caspase 3, COX-2, and PD-L1 were analyzed by tissue microarray in normal duodenal mucosa and duodenal adenomas. These markers were related to predefined groups according to severity of duodenal polyposis (Group 1: Spigelman 0/II; Group 2: Spigelman III/IV). Blood samples from 8 Spigelman III/IV and/or patients with ampullary adenoma were submitted to genetic sequencing by Illumina and Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification. Results: A total of 62 patients from 46 families with FAP, mean age: 36.1 (22 to 41) years, 32 (51.6%) female were analyzed. Advanced duodenal polyposis was present in 13/62 patients (21%); 9 male (69.2%) at a mean age of 37.6 (21 to 47) years. There was a significant association between Ki-67 expression and advanced Spigelman score (p< 0.005). Expression of E-cadherin, Beta-catenin, COX-2, p53, Bcl-2, Caspase 3, and PD-L1 were not significantly associated to advanced duodenal disease (p>0.05). Among the 8 patients submitted to molecular evaluation, 5 (62.5%) presented deletions in exon 15 of APC gene, and 4 (50%) had novel



mutations in APC. Conclusions: High cellular proliferation expressed by Ki-67 may be used as a marker of aggressiveness in duodenal adenomatosis in FAP. Deletions in exon 15 of APC gene were the most frequent mutations in patients with advanced duodenal disease.

TABLE 1. Germline mutations in patients with advanced duodenal polyposis/ampullary adenomas.

| Patient | Age | Sex | Family history yes/no | Spigelman stage | Ampullary adenoma Yes/no | Deleted mutation |
|---------|-----|-----|-----------------------|-----------------|--------------------------|------------------------------|
| 1 | 29 | M | Yes | IV | Yes | Deletion in exon 15 APC |
| 2 | 36 | M | Yes | III | Yes | Deletion in exon 15 APC |
| 3 | 25 | M | Yes | III | No | Deletion in exon 15 APC |
| 4 | 21 | F | Yes | II | Yes | Deletion in exon 15 APC |
| 5 | 21 | M | Yes | I | Yes | Deletion in exon 15 APC |
| 6 | 38 | F | Yes | III | No | Deletion in exon 9 APC |
| 7 | 54 | M | Yes | III | Yes | Stop mutation in exon 13 APC |
| 8 | 35 | M | Yes | IV | No | No mutation found |

the clinical utility of alternative modalities, such as EUS-guided gastroenterostomy given the frequency of gastroduodenal SEMs related adverse events.

Table 1. Safety and Efficacy Outcomes of Secondary Self Expanding Metal Stent Insertion for the Palliation of Malignant Gastric Outlet Obstruction with an Indwelling Stent

| Outcome of Interest | Point Estimate | 95% CI | OR / I ² Heterogeneity |
|-----------------------------|----------------|---------|-----------------------------------|
| Technical Success | 99% | 95-100% | 0.1 |
| Clinical Success | 87% | 84-91% | 15.2 |
| Overall Adverse Events Rate | 65% | 31-83% | 26.6 |
| - Stent Migration | 3% | 0-8% | 0 |
| - Stent Collapse | 4% | 1-10% | 13.9 |
| - Stent Fracture | 1% | 0-3% | 1.1 |
| - Tumor Ingrowth | 12% | 4-33% | 32.2 |
| - Tumor Overgrowth | 8% | 5-12% | 0 |
| - Luminal Perforation | 1% | 0-6% | 5.4 |
| Endoscopic Reintervention | 17% | 11-26% | 85.5% |
| Surgical Reintervention | 1% | 0-3% | 0.144 |

Tu1565

GASTROPARESIS WITH CONCOMITANT GASTROINTESTINAL DYSMOTILITY IS NOT A CONTRAINDICATION FOR PER ORAL PYLOROMYOTOMY (POP)

Abhiram M. Kondajji¹, Michael Klingler¹, Chao Tu¹, Rebecca C. Smith¹, Kevin M. El-Hayek¹, John Rodriguez¹, Michael S. Cline¹, Matthew T. Allemang¹

¹Diagnostico Disease & Surgery Institute The Cleveland Clinic, Warrensville



APENDICE 3. CARTA DE ACEITAÇÃO DO ABSTRACT NA *UNITED EUROPEAN GASTROENTEROLOGY WEEK*, VIENNA 2016

Maresa Wiener <M.Wiener@ueg.eu>

Jul 7

to me

Dr. Marianny Sulbaran, Hospital Das Clinicas, University of Sao Paulo School of Medicine, Gastrointestinal Endoscopy Service. Gastroenterology Department, Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 255 - Bloco 3, São Paulo - SP, Brasil, 04011060, Sao Paulo, BR

Your email: mariannysulbaran@gmail.com

Vienna, Thursday July 07, 2016

**UEG Week 2016
October 15-19, 2016, Vienna - Austria**

Dear Dr. Marianny Sulbaran,

Thank you for having submitted an abstract for UEG Week 2016 to be held in Vienna this October.

Congratulations! Your abstract N° 993 Title: **Risk factors for advanced small bowel disease in Familial Adenomatous Polyposis: A prospective, single-center study** has been accepted for **POSTER presentation** and publication.

Your abstract has been renumbered and the new number is:

P1624

APÊNDICE 4. BOLSA RECEBIDA NO EUW 2016



24th UEG Week Vienna 2016
October 15-19, 2016
Austria Center Vienna, Vienna Austria

UEG Week Official
Registration Partner
WORLDWIDE CONGRESS &
EVENTS

Obermatten 209
A-1040 Vienna, Austria

T +43 1 388 090
F +43 1 388 041 85

uegweek.registration@
medial-cogress.com

ID: 2912

Marianny Sulbaran
Hospital Das Clinicas, University of Sao Paulo School of Medicine
Rua Jose Antonio Coelho, 207, apto 13, 04011060
04011060-Sao Paulo
Brazil
Email: mariannysulbaran@gmail.com

United European
Gastroenterology GmbH
Haus of European
Gastroenterology
Wickenburggasse 1
A-1088 Vienna, Austria

T +43 1 987 26 20
F +43 1 987 26 27 10

Austria Commercial
Register
FN 413667 z

uegweek@ueg.eu
www.ueg.eu

Letter of Invitation

Dear Marianny Sulbaran,

We are pleased to learn that you intend to attend UEG Week Vienna 2016.

We gladly extend to you a cordial invitation to take part in this international meeting and share your experience with colleagues from all around the world. Leading personalities in your field will gather in Vienna, Austria to debate and evaluate new basic finding and studies.

The purpose of this meeting is to teach and inform about the state-of-the-art in the field of gastroenterology, clinical applications and research. International experts will present the latest developments, case studies and research results.

Furthermore, a wide range of equipment relevant to the field of gastroenterology will be presented at this international congress.

UEG confirms that **Marianny Sulbaran** has been granted free registration for UEG Week Vienna 2016 and €1,000 for travel and accommodation expenses within the scope of the UEG International Scholarship Programme.

We look forward to welcoming you in Vienna.

Yours sincerely,

United European Gastroenterology GmbH

| | |
|-----------------|-------------|
| Date of Birth | 1981-12-10 |
| Gender | female |
| Passport Number | 090973376 |
| Nationality | Venezuelana |



UEG Week Official
Registration Partner
MONDIAL CONGRESS &
EVENTS

Donaustrasse 28B
A-1040 Vienna, Austria

T +43 1 588 040
F +43 1 588 041 85

uegweek.registration@
mondial-congress.com

United European
Gastroenterology GmbH
Hofstrasse 100
Gastroenterology
Wickenburggasse 1
A-1080 Vienna, Austria

T +43 1 917 35 39
F +43 1 917 35 39 10

Austrian Commercial
Register
FN 435873

uegweek@ueg.eu
www.ueg.eu

Marianny Sulbaran
Hospital Das Clinicas, University of Sao Paulo
School of Medicine
Rua Jose Antonio Coelho, 207, apto 13,
04011 000
04011060-Sao Paulo
Brazil



Reference: 2912

Dear Marianny Sulbaran,

Congratulations on your acceptance as one of the UEG International Scholars 2016. We herewith confirm that you have been registered for UEG Week Vienna 2016 including the Postgraduate Teaching Programme. As UEG International Scholar, your congress registration is free of charge and your registration fee will be waived!

You will receive the Congress documents upon arrival at the registration counters at the congress venue:

Austria Center Vienna
Bruno-Kreisky-Platz 1
A-1220 Vienna

If you have any questions please don't hesitate to contact the official registration partner at uegweek.registration@mondial-congress.com.

We look forward to welcoming you in Vienna.

Yours sincerely,

United European Gastroenterology GmbH

APÊNDICE 5. DADOS DA LEITURA DOS DIFERENTES MARCADORES DE IMUNO-HISTOQUÍMICA EM TECIDO DUODENAL ENDOSCÓPICAMENTE NORMAL

| TECIDO NORMAL | | | | | | | | |
|----------------|-------|-------|-----------|--------------|---------|-----------|-----|------|
| | Cox-2 | BCL-2 | Caspase 3 | Betacatenina | Ki67 | Ecaderina | P53 | PDL1 |
| Paciente 1:1 | 1 | 0 | 0 | 30% | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Paciente 2: 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1b | 70 | 0 | 0 |
| Paciente 3:1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 50b | 50 | 1 | 0 |
| Paciente 4:1 | 1 | 0 | 0 | 15% | 60b/70a | 75 | 1 | 0 |
| Paciente 5:1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1b | 85 | 1 | 0 |
| Paciente 6:1 | 1 | 0 | 0 | 50% | 70b | 85 | 1 | 0 |
| Paciente 7:1 | 1 | 0 | 0/1 | 50% | 70a/20b | 75 | 1 | 0 |
| Paciente 8:1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 60 | 0 | 0 |
| Paciente 9:1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1b | 50 | 1 | 0 |
| paciente 10: 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 15 | 0 | 0 |
| 11 92 | 1 | 0 | 2/0 | 0 | 70b | 85 | 1 | 0 |
| 12 17 | 1 | 0 | 0 | 30% | 1b | 15 | 1 | 0 |
| 13 94 | 1 | 0 | 0 | 25% | 40b | 75 | 1 | 0 |
| 14 46 | 1 | 0 | 0 | 10% | 5b | 5 | 1 | 0 |
| 15 31 | 1 | 0 | 1/0 | 0 | 50b | 75 | 1 | 0 |
| 16 16 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1b | 30 | 1 | 0 |
| 17 67 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1b | 30 | 1 | 0 |
| 18 95/67 | 1 | 0 | 0 | 0 | 20b | 20 | 1 | 0 |
| 19 68 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1b | 20 | 1 | 0 |
| 20 64 | 1 | 0 | 0 | 0 | 60b | 0 | 1 | 0 |
| 21 70 (52) | 1 | 0 | 0 | 0 | 1b | 0 | 0 | 0 |
| 22 70 (51) | 1 | 0 | 0 | 0 | 5b | 20 | 1 | 0 |
| 23 51 5N | 1 | 0 | 0 | 5% | 50b | 0 | 1 | 0 |
| P 26 n | 0.5 | 0 | 0 | 0 | 1b | 60 | 1 | 0 |
| Paciente 28 | 1 | 0 | 0 | 5% | 2b | 60 | 0 | 0 |
| Paciente 30 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1b | 50 | 0 | 0 |
| Paciente 32 | 1 | 0 | 0 | 0 | 5b | 30 | 1 | 0 |
| Paciente 34 | 1 | 0 | 0 | 0 | 4b | 20 | 1 | 0 |
| Paciente 36 | 1 | 0 | 0 | 0 | 15b | 5 | 1 | 0 |
| Paciente 39 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1b | 85 | 1 | 0 |
| Paciente 41 | 1 | 0 | 0 | 0 | 60b | 60 | 1 | 0 |
| Paciente 43 | 1 | 0 | 0 | 0 | 5b | 15 | 1 | 0 |
| Paciente 45 | 1 | 0 | 0 | 0 | 30b | 0 | 1 | 0 |
| Paciente 47 | 1 | 0 | 0 | 0 | 20b | 75 | 1 | 0 |
| Paciente 49 | 1 | 0 | 0 | 5% | 10b | 20 | 1 | 0 |
| Paciente 51 | 1 | 0 | 0 | 30% | 60b | 0 | 1 | 0 |
| Paciente 53 | 1 | 0 | 0 | 5% | 20b | 5 | 1 | 0 |
| Paciente 55 | 1 | 0 | 0 | 0 | 30b | 15 | 1 | 0 |
| M2 | 1 | 0 | 0 | 50% | 0 | 20 | 1 | 0 |
| M4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2b | 40 | 1 | 0 |
| M6 | 1 | 0 | 0 | 100% | 2b | 15 | 1 | 0 |
| M8 | 1 | 0 | 0 | 0 | 3b | 100 | 1 | 0 |
| M13 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1b | 10 | 1 | 0 |
| M16 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2b | 0 | 1 | 0 |
| M18 | 1 | 0 | 0 | 0 | 5b | 0 | 1 | 0 |
| M20 | 1 | 0 | 0 | 25% | 50b | 40 | 1 | 0 |
| M21 | 1 | 0 | 0 | 0 | 60b | 0 | 1 | 0 |
| M26 | 1 | 0 | 0 | 0 | 40b | 50 | 1 | 0 |
| M27 | 1 | 0 | 0 | 0 | 60b/60a | 40 | 1 | 0 |
| M28 | 1 | 0 | 0 | 0 | 40b | 20 | 1 | 0 |
| M38 | 1 | 0 | 0 | 0 | 40b | 0 | 1 | 0 |
| M48 | 1 | 0 | 0 | 20% | 10b | 0 | 1 | 0 |
| M11 | 1 | 0 | 0 | 30% | 30a | 95 | 1 | 0 |
| M36 | 1 | 0 | 0 | 5%/0 | 1b | 25 | 1 | 0 |

APÊNDICE 6. DADOS DA LEITURA DOS DIFERENTES MARCADORES DE IMUNO-HISTOQUÍMICA EM ADENOMAS DUODENAIS

| ADENOMAS | Cox-2 | BCL-2 | Caspase 3 | Betacatenina | Ki67 | Ecaderina | P53 | PDL1 |
|-------------|-------|-------|-----------|--------------|---------|-----------|-----|------|
| Paciente 26 | 0.5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 75 | 0 | 0 |
| Paciente 27 | 1 | 0 | 0 | 0 | 20a/1b | 0 | 1 | 0 |
| Paciente 29 | 0.5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 50 | 0 | 0 |
| Paciente 31 | 1 | 0 | 0 | 40% | 1b | 40 | 1 | 0 |
| Paciente 33 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1b | 20 | 1 | 0 |
| Paciente 35 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2b | 0 | 0 | 0 |
| Paciente 37 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 40 | 0 | 0 |
| Paciente 40 | 1 | 0 | 0 | 0 | 40a | 70 | 1 | 0 |
| Paciente 42 | 1 | 0 | 0 | 0 | 15a | 20 | 1 | 0 |
| Paciente 44 | 1 | 0 | 0 | 0 | 25a | 5 | 1 | 0 |
| Paciente 46 | 1 | 0 | 0 | 0 | 20b | 60 | 1 | 0 |
| Paciente 48 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 50 | 0 | 0 |
| Paciente 50 | 1 | 0 | 0 | 5% | 5b | 0 | 1 | 0 |
| Paciente 52 | 1 | 0 | 0 | 30 | 15a | 60 | 1 | 0 |
| Paciente 54 | 1 | 0 | 0 | 5 | 50a | 20 | 1 | 0 |
| M1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 3a | 70 | 1 | 0 |
| M3 | 1 | 0 | 0 | 4 | 20b | 0 | 1 | 0 |
| M5 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1b | 15 | 1 | 1 |
| M7 | 1 | 0 | 0 | 0 | 40a | 75 | 1 | 0 |
| M9 | 1 | 0 | 0 | 100% | 75a | 10 | 1 | 0 |
| M10 | 1 | 0 | 0 | 4 | 0 | 15 | 0 | 0 |
| M12 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1a | 70 | 1 | 0 |
| M14 | 1 | 0 | 0 | 0 | 15b/20a | 70 | 1 | 0 |
| M15 | | 1 | 0 | 0 | 20 15a | | 50 | 1 0 |
| M17 | 1 | 0 | 0 | 0 | 20a | 15 | 1 | 1 |
| M19 x2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 60a | 50 | 0 | 0 |
| M22 | 1 | 0 | 0 | 0 | 15b | 60 | 1 | 0 |
| M23 | 1 | 0 | 0 | 0 | 20b | 0 | 1 | 0 |
| M24 | 1 | 0 | 0 | 0 | 70b | 65 | 1 | 0 |
| m25 | | 1 | 0 | 0 | 0 60a | | 90 | 1 0 |
| M29 | 1 | 0 | 0 | 2 | 60a | 20 | 1 | 0 |
| M30 | 1 | 0 | 8 | 65% | 30a | 0 | 1 | 0 |
| M31 | 1 | 0 | 6 | 0 | 15a | 0 | 1 | 0 |
| M32 | 1 | 0 | 0 | 0 | 15a | 20 | 1 | 0 |
| M35 | 0.5 | 0 | 0 | 45% | 15a | 75 | 1 | 0 |
| M37 x3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 20a | 60 | 1 | 0 |
| M41 | 1 | 0 | 0 | 20% | 50a | 70 | 1 | 0 |
| M42 | 1 | 0 | 0 | 0 | 80b | 0 | 1 | 0 |
| M43 | 1 | 0 | 0 | 15% | 40b/30a | 0 | 1 | 0 |
| M45 x2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 30a | 25 | 1 | 0 |
| M46 | 1 | 0 | 0 | 0 | 75a | 0 | 1 | 1 |
| M47 | 1 | 0 | 0 | 15% | 5a | 65 | 1 | 0 |
| M48 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1a | 25 | 1 | 0 |
| M49 | 1 | 0 | 0 | 1 | 3a | 35 | 1 | 0 |
| M50 | 1 | 0 | 0 | 0 | 3b/10a | 5 | 1 | 0 |