

CZU: 616.329-003.972-074/-076

ROLUL EXAMENULUI IMUNOHISTOCHIMIC ÎN DIAGNOSTICUL ESOFAGULUI COLUMNAR METAPLAZIAT

Ungureanu Sergiu, Istrate Viorel, Șipitco Natalia, Fosa Doina

Catedra de chirurgie nr.4,

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

Autorul correspondent: Fosa Doina, e-mail: doina.fosa@usmf.md

Rezumat

Metaplazia columnară a mucoasei esofagiene reprezintă o patologie cu evoluție cronică de natură eterogenă. Una din complicațiile acesteia care pune în pericol viața pacientului este transformarea malignă. Moment care este adesea trecut cu vederea din cauza lipsei de abordări standardizate în screening-ul, diagnosticul și tratamentul acestei boli. În acest articol ne-am propus să apreciem valoarea diagnostică a examenului imunohistochimic în procesul transformării histopatologice, inclusiv și neoplazice la pacienții cu esofag columnar metaplaziat. În cadrul unui proiect de cercetare științifică au fost examinați imunohistochimic un lot de 20 de pacienți cu esofag columnar metaplaziat prin 8 markeri imunohistochimici (CK7, CK20, Ki 67, EMA, CDX2, p53, HER 2, AMACR). Ulterior, aceste date prin comparabilitate cu datele examinării imunohistochimice la pacienții cu adenocarcinom de joncțiune esogastrică dezvoltat pe metaplazie Barrett (din alt proiect științific) au permis analiza biomarkerilor predictivi pentru modificările displazico-neoplazice. Rezultatele noastre sugerează că modificările moleculare ale esofagului columnar metaplaziat apar mai devreme decât transformarea canceroasă, ba mai mult, chiar urmează o succesivitate de modificări histopatologice care pot fi percepute imunohistochimic, ceea ce înseamnă că biomarkerii imunohistochimici pot ajuta la formarea strategiilor preventive în grupurile de pacienți cu risc. În cadrul studiului rolul examenului imunohistochimic în aprecierea caracterului evoluției displazice/neoplazice a metaplaziei esofagiene este mai semnificativ pentru markerii imunohistochimici: p53 și Ki 67 (0,854 și respectiv 0,808 Area ROC). CDX2 s-a dovedit a fi un marker imunohistochimic cert al celulelor goblet și este direct proporțional cu riscul dezvoltării celulelor caliciforme în metaplazia gastrică definind procesul de intestinalizare a esofagului columnar metaplaziat.

Cuvinte-cheie: Esofag Columnar Metaplaziat, esofag Barrett, adenocarcinom esofagian, metaplazia Barrett, imunohistochimia Barrett

Summary**The role of immunohistochemical examination in diagnosis of columnar metaplasia of esophagus**

Metaplasia of esophagus represents a pathology with a chronic evolution and heterogeneous nature. One of the complications that is life-threatening is malignancy. Often it is out of sight because there is no standard approach in the screening, diagnostic and treatment of this disease. In this article we aimed to assess the value of immunohistochemical examination in the process of histopathological change, including neoplasia in patients with columnar metaplasia of esophagus. During a research project there were examined 20 patients immunohistochemically with columnar metaplasia of esophagus, with 8 immunohistochemical markers (CK7, CK20, Ki 67, EMA, CDX2, p53, HER 2, AMACR). Later the data through comparison with data of the patients with adenocarcinoma of the esogastric junction that was developed on Barrett metaplasia (from other research project) made possible the analysis of predictive biomarkers for dysplasia and neoplasia changes. Our results suggest that molecular alterations of columnar metaplasia of esophagus appear earlier than cancerous turning, and even follow a number of histopathological changes that can be perceived immunohistochemically. This means that immunohistochemical biomarkers may help in forming of preventive strategies in high-risk patients group. In the study the role of immunohistochemical examination in assessment of the characteristics of dysplasia/neoplasia evolution of esophageal metaplasia is more significant for markers: p53 and Ki 67 (0,854 and 0,808 respectively, Area ROC). CDX2 proved to be a certain immunohistochemical marker of goblet cells and is directly proportional to the risk of developing caliciform cells in gastric metaplasia defining the process of intestinalization of columnar metaplasia esophagus.

Keywords: columnar metaplasia esophagus, Barrett esophagus, esophageal adenocarcinoma, Barrett metaplasia, Barrett immunohistochemistry

Резюме**Роль иммуногистохимического исследования в диагностике столбчатой метаплазии пищевода**

Метаплазия слизистой оболочки пищевода – патология с хроническим течением, носящая гетерогенный характер. Одним из опасных для жизни осложнений является злокачественная трансформация. Момент, который часто упускается из виду из-за отсутствия стандартизированных подходов в скрининге, диагностике и лечении этого заболевания. В данной статье мы поставили цель оценить диагностическую ценность иммуногистохимического исследования в процессе гистопатологической трансформации, в том числе опухолевой, у больных с метаплазией пищевода. В рамках научно-исследовательского проекта группа из 20 пациентов с метаплазией столбчатого пищевода была обследована иммуногистохимически, по 8 иммуногистохимическим маркерам (CK7, CK20, Ki 67, EMA, CDX2, p53, HER 2, AMACR). В последующем эти данные в сравнении с данными иммуногистохимического исследования у больных с аденокарциномой пищеводно-желудочного перехода, развившейся на фоне метаплазии Барретта (из другого научного проекта), позволили провести прогностический анализ биомаркеров в плане диспластически-неопластических изменений. Наши результаты свидетельствуют о том, что молекулярные изменения метапластического столбчатого пищевода появляются раньше, чем раковая трансформация, более того, они даже следуют за последовательностью гистопатологических изменений, которые могут быть восприняты иммуногистохимически, а это означает, что иммуногистохимические биомаркеры могут помочь сформировать превентивные стратегии для пациентов с онко-риском. В исследовании роль иммуногистохимического исследования в оценке характера диспластической/неопластической эволюции метаплазии пищевода более значима для иммуногистохимических маркеров: p53 и Ki 67 (aria ROC 0,854 и 0,808 соответственно). Было показано, что CDX2 является определенным иммуногистохимическим маркером бокаловидных клеток и прямо пропорционален риску развития бокаловидных клеток при желудочной метаплазии, определяющей процесс интестинализации метапластического столбчатого пищевода.

Ключевые слова: метапластический столбчатый пищевод, пищевод Барретта, аденокарцинома пищевода, метаплазия Барретта, иммуногистохимия Барретта

Introducere. Definiția esofagului Barrett a evoluat în ultimele decenii și acum variază în întreaga lume cu o lipsă de consens în ceea ce privește importanța identificării metaplaziei intestinale, și respectiv a celulelor calciforme (*goblet*) în mucoasa esofagiană metaplaziată. Astăzi se fac distincte noțiunile de Esofag Columnar Metaplaziat și esofag Barrett prin atribuirea celui din urmă doar a metaplaziei intestinale. Cert este că indiferent de tipul histopatologic, esofagul columnar metaplaziat este rezul-

tatul unui reflux gastro-esofagian cronic prin care mucoasa nativă a esofagului distal de tip pavimentos pluristratificat este substituită de epitelul cilindric. În plan etiopatogenetic la apariția metaplaziei esofagiene mai contribuie: prezența herniilor hiatale, dereglările de motilitate esofagiană, tabagismul, vîrsta >50 ani. Deci, există controverse cu privire la criteriile de diagnosticare doar pentru metaplazia Barrett, iar acest lucru provine în primul rînd din diferențele de opinie cu privire la tipurile patologice ale epitelului

care au ca rezultat un risc crescut de cancer. Risc care este atribuit preponderent metaplaziei intestinale în studiile publicate de Asociația și Colegiul American de Endoscopie și Gastroenterologie pe deoparte [1], sau un risc de neoplazie similar pentru orice tip histopatologic al esofagului columnar metaplaziat precum susține partea euroasiatică din studiile de profil [2]. Motivele din spatele acestei opțiuni sunt argumentate în studii care susțin procesul de *intestinalizare* a celulelor metaplazice, prin transformarea metaplaziei gastrice în metaplazie intestinală sau și mai frecvent de faptul că absența celulelor caliciforme poate fi rezultatul unei eșantionări robuste în procesul biopsierii mucoasei metaplazice [3]. Examenul histopatologic stabilește diagnosticul de esofag columnar metaplaziat prin evidențierea unuia din cele trei histotipajuri cunoscute [4]: epitelium de tip fundic, cu celule secretoare de mucus, celule parietale și oxintice; epitelium de tip joncțional de aspect foveolar și cu celule secretoare de mucus; epitelium de tip intestinal de aspect viliform cu celule secretoare de mucus și celule caliciforme (*goblet*).

Histopatologic metaplazia mucoasei esofagiene se caracterizează prin prezența celulelor caliciforme, a modificărilor stromale de tip – *dedublare de mucoasă*, apariția *criptelor* – unități morfofuncționale ale metaplaziei intestinale și glandele care stau la baza acestora. Mosaicul de celule și *angiogeneza de novo* reprezintă modificări patognomonice pentru metaplazia asociată cu displazie și frecvent sunt depistate tardiv. Examenul histopatologic deși reprezintă instrumentul absolut sigur de diagnostic al metaplaziei, în parte este supus și unor neajunsuri precum: diagnosticul incert pentru diferite forme de displazie asociată (cu o variabilitate mare interobservator [5]) și astfel poate fi scăpată fereastra terapeutică pentru pacienți. Scopul cercetării în metaplazia columnară de mucoasă esofagiană este de a găsi o metodă diagnostică sigură pentru anticiparea proceselor displazico-neoplazice a metaplaziei Barrett. Ultimele noutăți în diagnosticul esofagului columnar metaplaziat se bazează pe examenul imunohistochimic și molecular. Imunohistochimia mucinelor, studiul anomaliilor ciclului celular, precum și modificările genetice pot constitui metode de apreciere și de urmărire a progresiei displaziei [6-8]. Numărul de publicații care au discutat despre un biomarker potențial pentru esofagul Barrett a crescut exponențial în ultimii 30 de ani de la 1 în 1981 la 1269 în total în 2019, ceea ce reflectă faptul că esofagul Barrett are nevoie de un instrument de prognostic validat clinic, cum ar fi un biomarker imunohistochimic eficient pentru a ajuta definirea riscului. Rețeaua de cercetare pentru detectarea timpurie a neoplaziei a recomandat cinci faze de studiu înaintea ca un biomarker să poată fi utilizat clinic [9]. În

prezent, majoritatea biomarkerilor sunt în faza 3 și 4 de cercetare. Studiile preclinice au reușit să detecteze anumiți biomarkeri care contribuie la progresia malignă a metaplaziei esofagiene, însă utilizarea lor este foarte limitată de diferențele de reproductibilitate, de dimensiunile mici ale eșantionului și de necesitatea unor studii prospective multicentrice. În ansamblu, actual, dorința de a anticipa care dintre pacienții cu metaplazia mucoasei esofagiene va progresa până la adenocarcinom esofagian este palpabilă, dar rămîne o țintă și nu o realitate. Biomarkerul ideal, ca și în cazul tuturor opțiunilor potențiale de *screening* și diagnostic, ar trebui să fie eficient din punct de vedere al costurilor, minim invaziv, ușor de administrat și să aibă rezultate comparabile sau superioare față de biopsiile oferite în prezent [10, p.123].

Scopul publicației – identificarea rolului examenului imunohistochimic în diagnosticul histotipajurilor de esofag columnar metaplaziat și determinarea caracterului evoluției modificărilor histopatologice de mucoasă esofagiană.

Material și metode. Examinarea imunohistochimică a fost realizată în cadrul unui proiect de cercetare doctorală care a vizat 20 de pacienți cu esofag columnar metaplaziat (10 pacienți cu metaplazie intestinală (2 cazuri de displazie asociată) și 10 pacienți cu metaplazie gastrică) care a analizat un panou de 8 biomarkeri imunohistochimici (CK7, CK20, Ki 67, EMA, CDX2, p53, HER 2, AMACR - Tabelul 1).

Tabelul 1.

Rezultatele examenului imunohistochimic la pacienții cu esofag columnar metaplaziat din lotul de cercetare [10, p.168]

| Rezultat Histologic | Nr pac. | Marcherii Imunohistochimici | | | | | | | |
|---------------------|---------|-----------------------------|------|-----|------|-----|-------|-------|-------|
| | | CK7 | CK20 | EMA | CDX2 | P53 | Ki 67 | HER 2 | AMACR |
| MI | 1 | + | + | + | + | - | 80% | +/- | +/- |
| | 2 | + | + | + | + | - | 60% | - | - |
| | 3 | + | + | + | + | - | 70% | - | - |
| | 4 | + | + | + | +/- | + | 70% | - | - |
| | 5 | + | + | + | + | - | 60% | - | - |
| | 6 | + | + | + | + | - | 50% | - | - |
| | 7 | + | + | + | +/- | - | 80% | - | - |
| | 8 | + | + | + | + | + | 70% | +/- | - |
| | 9 | + | + | + | + | - | 60% | - | - |
| | 10 | + | + | + | + | - | 60% | - | - |
| MG | 1 | + | + | + | +/- | - | 40% | - | - |
| | 2 | + | + | + | + | - | 60% | - | - |
| | 3 | + | + | + | +/- | - | 20% | - | - |
| | 4 | + | + | + | - | - | 20% | - | - |
| | 5 | + | +/- | + | + | - | 50% | +/- | - |
| | 6 | + | + | + | +/- | - | 20% | - | - |
| | 7 | + | + | + | - | - | 20% | - | - |
| | 8 | + | + | + | - | - | 60% | - | - |
| | 9 | + | + | + | +/- | - | 20% | - | - |
| | 10 | + | + | + | + | - | 20% | - | - |

Notă: MI –metaplazie intestinală, MG – metaplazie gastrică.

Astfel în loturi separate a putut fi analizată specificitatea și sensibilitatea biomarkerilor în parte pentru fiecare histotipaj de metaplazie a mucoasei esofagiene. De asemenea, cu suportul Centrului de Excelență în Chirurgia Esofagului, Spitalul Sfânta Maria, or. București, România a fost realizat un studiu de comparație a markerilor imunohistochemici specifici ai adenocarcinomului esofagian dezvoltat pe fond de metaplazie intestinală a mucoasei esofagiene (20 cazuri, lot I) visavi de markerii imunohistochemici cercetați în lotul de studiu din cadrul proiectului nostru de cercetare doctorală la 20 de pacienți cu esofag columnar metaplaziat – 10 pacienți cu metaplazie intestinală și respectiv 10 pacienți cu metaplazie gastrică (lot II). Deși în loturi separate au fost cercetați mai mulți factori, în cadrul studiului de comparabilitate în aceste două loturi au putut fi analizați doar 5 factori imunohistochemici (CK7, CK20, CDX2, p53, și Ki 67 – Tabelul 2). Criteriu pentru analiza acestora a servit metoda de examinare imunohistochemică, precum și aceeași valoare de citire a rezultatului (pozitiv/negativ, gradul de expresie în procente) [10, p.39].

Examinarea imunohistochemică a fost realizată în cadrul Laboratorului medical SYNEVO or. Chișinău, Republica Moldova prin colaborare cu instituțiile de parteneriat din or. Timișoara, România. Aparatajul utilizat pentru examinările imunohistochemice:

- Aparatul de imunohistochimie Benchmark Ultra (Ventana) – un sistem complet automat pentru optimizarea eficienței și reducerea timpului de procesare a probelor,
- Histoprosesor de țesuturi Excelsior (Thermo),
- Microtom HM 325 (Thermo),
- Sistem de colorare automată HMS70 (Microm).

Rezultate. În cadrul examinării pacienților din lotul de cercetare doctorală am obținut următoarele rezultate:

În vederea stabilirii diagnosticului de esofag columnar metaplaziat, imunohistochemic citokeratinele CK7, CK20 și factorul EMA (figura 1: a, b, c) și-au dovedit o specificitate înaltă (curbele ROC cu valori $\geq 0,83$), astfel că diagnosticul metaplaziei esofagiene a fost demonstrat în 100% cazuri.

Markerul CDX2 (figura 1, d) a demonstrat o pozitivitate preponderent în biopțiile de metaplazie intestinală (80% de cazuri), iar în biopțiile de metaplazie gastrică a fost pozitiv în doar 30% de cazuri.

Ki 67 (figura 1, e), a avut o colorație mai intensă în glandele și ductele glandelor din mucoasa metaplaziată de tip intestinal, iar în biopțiile de metaplazie gastrică colorația a fost practic absentă.

P53 (figura 1, f) a fost pozitiv la doar 20% din pacienții cercetați imunohistochemic, cazuri care histopatologic erau demonstrate cu metaplazie de tip intestinal asociat cu displazie de grad scăzut.

Tabelul 2.

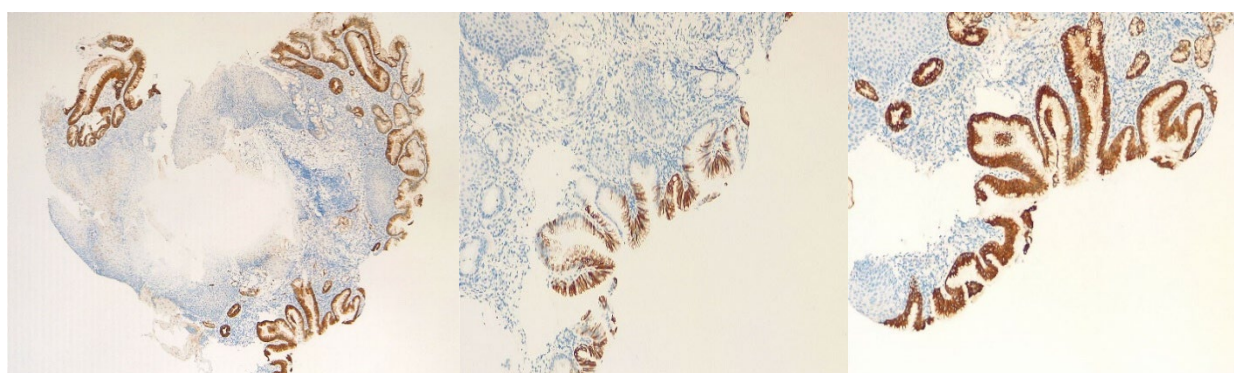
Rezultatele examenului imunohistochemic pentru pacienții cu adenocarcinom esofagian și esofag columnar metaplaziat [10, p.169]

| Loturi | Rezultat Histologic | Nr. pac. | Marcherii Imunohistochemici | | | | |
|--------|---------------------|----------|-----------------------------|------|------|------|-------|
| | | | CK7 | CK20 | CDX2 | P53 | Ki 67 |
| Lot I | AC esofagian | 1 | + | + | + | 40% | 80% |
| | | 2 | + | + | + | 70% | 60% |
| | | 3 | + | + | + | 80% | 40% |
| | | 4 | + | + | + | 70% | 80% |
| | | 5 | + | + | - | 60% | 80% |
| | | 6 | +/- | +/- | + | 60% | 40% |
| | | 7 | + | + | + | 60% | 80% |
| | | 8 | +/- | +/- | + | 40% | 60% |
| | | 9 | + | + | + | 80% | 60% |
| | | 10 | + | + | + | 60% | 60% |
| | | 11 | + | + | + | 80% | 40% |
| | | 12 | + | + | - | 80% | 80% |
| | | 13 | + | + | + | 60% | 60% |
| | | 14 | + | + | + | 40% | 60% |
| | | 15 | - | - | - | 40% | 60% |
| | | 16 | -/- | -/- | + | 40% | 80% |
| | | 17 | + | + | + | 60% | 80% |
| | | 18 | - | - | - | 40% | 80% |
| | | 19 | - | - | + | 40% | 60% |
| | | 20 | - | - | + | 40% | 80% |
| Lot II | MI | 1 DGS | + | + | + | - | 80% |
| | | 2 | + | + | + | - | 60% |
| | | 3 DGS | + | + | + | - | 70% |
| | | 4 | + | + | + | + 40 | 70% |
| | | 5 | + | + | + | - | 60% |
| | | 6 | + | + | + | - | 50% |
| | | 7 DGS | + | + | + | - | 80% |
| | | 8 | + | + | + | +40 | 70% |
| | | 9 | + | + | + | - | 60% |
| | | 10 | + | + | + | - | 60% |
| | MG | 1 | + | + | +/- | - | 80% |
| | | 2 | + | + | + | - | 60% |
| | | 3 | + | + | +/- | - | 20% |
| | | 4 | + | + | - | - | 20% |
| | | 5 | + | +/- | + | - | 50% |
| | | 6 | + | + | +/- | - | 20% |
| | | 7 | + | + | - | - | 20% |
| | | 8 | + | + | - | - | 60% |
| | | 9 | + | + | +/- | - | 20% |
| | | 10 | + | + | + | - | 20% |

Notă: MI –metaplazie intestinală, MG – metaplazie gastrică, AC –adenocarcinom, DGS – displazie de grad scăzut.

AMACR (figura 1, g) și HER 2 au fost negativ exprimate în toate biopțiile de cercetare imunohistochemică.

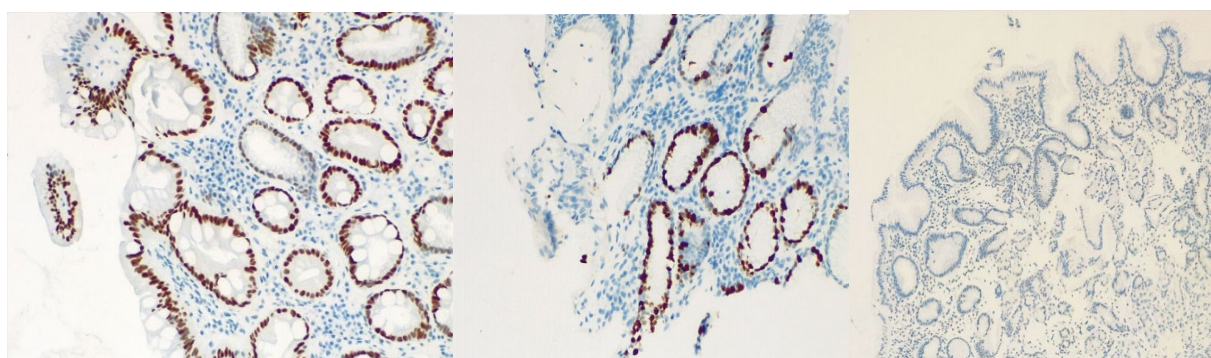
Având în vedere rata scăzută a progresiei neoplazice în esofagul Barrett și limitările inerente ale programelor curente de supraveghere endoscopică, a existat mult timp interesul în identificarea biomarche-



a) CK 7,

b) CK 20,

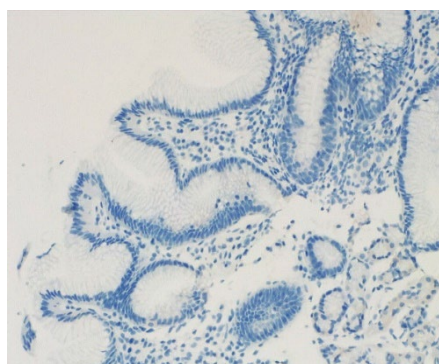
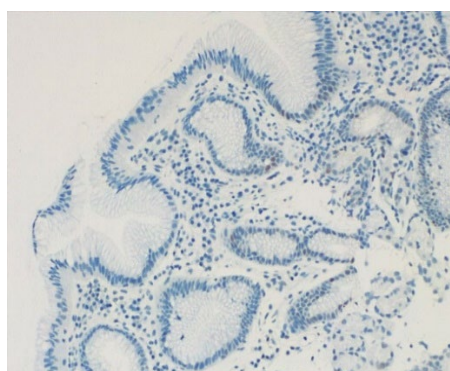
c) EMA



d) CDX2,

e) Ki67,

f) p53



g) AMACR.

Figura 1. Examinarea imunohistochimică a esofagului columnar metaplaziat (colorația imuno standard, pgf. 10x0,25) [10]

rilor cu risc crescut de neoplazie la pacienții Barrett. În timp ce mai mulți biomarkeri au fost studiați pentru pacienții cu esofag Barrett, și mai mult pentru pacienții cu adenocarcinom esofagian, am încercat analiza lor prin prisma examenului imunohistochimic de comparație în două loturi de cercetare concludente [10, p.123]. În urma examinării și analizei pacienților din loturile de cercetare din cadrul proiectului de cercetare doctorală (lot II) și a celui format în cadrul proiectului de cercetare din București (lot I) am

obținut următoarele rezultate: P53 a fost pozitiv în 60% de cazuri din lotul I (figura 2) și în doar 20% de cazuri din lotul II. Imunofenotipul CK7+/CK20 a avut o medie de expresie de 100% în lotul I și 70% în lotul II de cercetare. Expresia CDX2 a fost apreciată pozitiv la 80% din pacienții I lot de cercetare și la 80% din cazurile cu metaplazie intestinală, și 30% cazuri de metaplazie gastrică în lotul II de cercetare.

În cadrul cercetării, în lotul II, Ki 67 în metaplazia intestinală a fost pozitiv în 100% cazuri și a avut o

colorație mai intensă în glande și ductele glandelor, iar în biopatele histopatologice ale metaplaziei gastrice acestea au fost practic absente, iar în cadrul lotului I de cercetare acesta a fost pozitiv în medie la 70% de pacienți cu adenocarcinom esofagian [10, p.90].

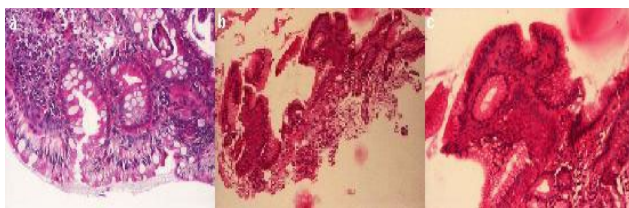


Figura 2. Examinarea esofagului columnar metaplaziat de adenocarcinom esofagian prin p53. (colorația imunostandard, pgf. 10x0,25) [10, p.87]

Discuții. Progresia de la metaplazie la adenocarcinomul esofagian a fost documentată pentru prima dată în anii 1970, oferind obiective pentru screening-ul, monitorizarea și gestionarea neoplaziei precoce [11]. Incidența adenocarcinomului esofagian în esofagul Barrett la examenul endoscopic și respectiv histopatologic a fost estimată la aproximativ 0,5-1% pe an în general [12, 13] și 2,92% în grupul pacienților cu displazie scăzută, minoră. În medie, timp de 20 de ani displazia de grad avansat se dezvoltă la aproximativ 20-25% din pacienții cu metaplazie intestinală a esofagului columnar metaplaziat, iar nivelul de risc este dependent de lungimea segmentului afectat. Legătura dintre lungimea segmentului afectat al metaplaziei esofagiene și riscul progresiei spre displazie este următoarea: la o lungime de până la 6 cm a esofagului columnar metaplaziat riscul dezvoltării adenocarcinomului esofagian reprezintă 0,1% anual, la segmentele ce depășesc 6 cm lungime, riscul malignizării este de 0,65% anual [14-16]. În prezența displaziei riscul malignizării este dat de gradul acesteia, precum și gradul ei de răspândire: focală sau difuză [8, 15-18]:

- În displazia de grad scăzut – 0,8-0,9% anual,
- În displazia de grad avansat – 6-12% anual,
- În displazia multifocală riscul adenocarcinomului esofagian este de 3 ori mai mare decât în formele unifocale.

Dezvoltarea și progresia displaziei reprezintă o evoluție absolut individuală pentru fiecare pacient și este foarte dificil de a fi estimată. O parte din pacienți nu vor progresa spre displazie timp îndelungat, și doar o parte vor evolua spre displazie de grad avansat și adenocarcinom esofagian. Regresia formelor de displazie de grad scăzut parțial poate fi explicată prin interpretarea greșită interobservator a biopatelor, preponderent în formele ce sunt însoțite de modificări inflamatorii.

Expunerea îndelungată la un reflux gastro-esofagian favorizează apariția metaplaziei esofagiene,

iar metaplazia gastrică este forma morfologică de diagnostic timpuriu, deși aceasta este anticipată cu mult timp înainte de modificări structurale la nivelul ductului glandelor de mucoasă esofagiană [19-21]. O parte din glande sunt supuse *intestinalizării* cu apariția metaplaziei intestinale cu celule caliciforme, iar ulterior și procesului de displazie. Se consideră că acest proces poate iniția expresia markerilor imunohistochimici intestinali de tip: CDX2, villin, Das-1 și MUC2 [22]. Asocierea displaziei în studii se încearcă a fi demonstrată prin gradul de expresie a p53, AMACR sau HER2 [23, 24]. Utilizarea markerilor imunohistochimici pentru evaluarea riscului de progresie neoplazică a metaplaziei intestinale și a esofagului columnar în general, astăzi, nu a atins nivelul de cercetare pentru a fi implementat în practica clinică. Experiența noastră în acest sens o considerăm modestă pentru a fi recomandată, însă cu siguranță utilă.

În cadrul studiului nostru, expresia prin pozitivitate de 100% a Citokeratinelor 7 și 20, precum și factorul EMA demonstrează că acești biomarkeri imunohistochimici permit diagnosticarea certă a metaplaziei mucoasei esofagiene, chiar și atunci când sunt efectuate pe un fon de inflamație reactivă, excluzând formele fals pozitive de esofag columnar metaplaziat. Și mai mult, utilizarea acestora este absolut benefică pentru certificarea sigură a locului biopsiei (esofag/stomac).

CDX2 s-a dovedit a fi un marker imunohistochimic cert al procesului de *intestinalizare* și este direct proporțional cu riscul dezvoltării celulelor caliciforme în metaplazia gastrică. Gradul său de expresie a corelat cu tipul refluxului gastro-esofagian la pacient, dar și cu timpul de la debutul semnelor bolii de reflux gastro-esofagian. Expresia în monstrele de metaplazie gastrică a fost pozitivă la pacienții cu reflux gastro-esofagian acid și un debut al acestuia 5±1,2 ani (95% CI 4,7-6,9). Aceste date permit concluzionarea faptului că substratul esofag columnar metaplaziat fără celule *goblet* sub influența în timp a agresivității clorhidropeptice dispune de potențial de transformare în celule intestinal specializate [10, p.86].

Evaluarea activității mitotice prin colorare pentru Ki 67 poate fi utilă pentru diagnosticarea displaziei în cadrul esofagului columnar metaplaziat, deoarece identificarea mitozelor în suprafața epitelului intact este anormală, cu excepția epitelului regenerativ. Deși aceste mitoze pot fi observate pe diapozitivele colorate cu H&E, imunohistochimia pentru Ki 67 a demonstrat cu ușurință celulele mitotice active în suprafață, ceea ce poate permite patologilor să distingă reactivitatea de modificările displazice. [10, p.87]

Inactivarea celulară prin p53 reprezintă o caracteristică cheie care apare la începutul carcinogenezei metaplaziei Barrett, astfel aceasta este utilizată pe

larg în diagnosticarea certă a displaziei. Sunt cunoscute 2 modele de expresie a p53: expresia aberantă și supraexpresia de p53 care este detectată mai frecvent (includerea unuia/altui mecanism sunt cauzate de mutația/absența TP53). Indiferent de particularitățile moleculare debutante cert este că evaluarea imunohistochimică prin p53 îmbunătățește evaluarea morfologică a specimenelor de metaplazie esofagiană și ajută la evitarea supradiagnosticării displaziei. Asocierea relevantă a progresiei displazice cu gradul de expresie a p53 a fost demonstrat de numeroase meta-analize: Janmaat [25] a estimat riscul progresiei neoplazice în expresia p53 pentru pacienții cu metaplazie esofagiană intestinală fără displazie cu un PR de 3,86 (ÎI 95%, 2,03-7,33), iar pentru pacienții cu displazie de grad scăzut cu un PR de 8,64 (ÎI 95%, 3,62-20,62). În studiile caz-control [26] rata progresiei displazice a variat între 3,84-5,95, iar în cele de cohortă [28, 28] – 14,25-17,31. Actualmente ghidurile internaționale BSG (British Society of Gastroenterology) și ESGE (European Society of Gastrointestinal Endoscopy) recomandă utilizarea examinării imunohistochimice a p53 în practica de rutină. [29]

Expresia negativă a AMACR și HER 2 în toate biopsiile de esofag columnar metaplaziat presupune 2 momente: 1 – AMACR și HER 2 nu sunt biomarkeri specifici metaplaziei esofagiene sau 2 – toate cazurile cercetate imunohistochimic nu au avut asocieri displazice sau modificări histologice cu progresie spre displazie, aceasta deoarece exprimarea racemazei și factorului de creștere epidermal uman crește cantitativ pe măsură ce esofagul columnar metaplaziat avansează spre displazie și neoplazie.

Deși comunitatea științifică se orientează enorm în plan diagnostic spre gradul de expresie imunohistochimică a diferitor biomarkeri a histotipajurilor de metaplazie columnară în mucoasa esofagiană, se pare că totuși aceasta deși deține un rol important, nu este determinanta predictivă a procesului neoplazic. Carcinogeneza esofagului columnar metaplaziat și a esofagului Barrett în parte reprezintă un proces indus plurifactorial. Astfel în acest sens mai necesită a fi luați în calcul și alți factori precum: lungimea segmentului de metaplazie, asocierea displaziei, tipul refluxului gastro-esofagian și severitatea acestuia, coexistența altor factori oncogeni.

Concluzi:

1. CK7, CK20, factorul EMA sunt markeri imunohistochimici specifici ai esofagului columnar metaplaziat, fac diferența cu procesul inflamator și specifică locul prelevării biopsiei.
2. CDX2 reprezintă markerul imunohistochimic al procesului de *intestinalizare* și este

direct proporțional cu riscul dezvoltării celulelor caliciforme în metaplazia gastrică.

3. p53 este un marker al modificărilor displazice, iar gradul său de expresie este asociat cu risc crescut pentru progresia spre adenocarcinomul esofagian.
4. Indicele proliferativ celular este mare la nivelul glandelor în metaplazia intestinală, în metaplazia gastrică este substanțial redus, iar aprecierea calitativă a acestuia poate fi efectuată prin Ki67.
5. HER 2, AMACR – nu sunt markeri imunohistochimici specifici metaplaziei mucoasei esofagiene.

Bibliografie

1. di Pietro M, Fitzgerald RC on behalf of the BSG Barrett's guidelines working group. Revised British Society of Gastroenterology recommendation on the diagnosis and management of Barrett's oesophagus with low-grade dysplasia. *BMJ Journals. Gut.* 2018; 67: 392-393.
2. Matsuhashi N, Sakai E, Ohata K, Ishimura N, Fujisaki J, Shimizu T, Iijima K, Koike T, Endo T, Kikuchi T, Inayoshi T, Amano Y, Furuta T, Haruma K, Kinoshita Y. Surveillance of patients with long segment Barrett's esophagus: A multicenter prospective cohort study in Japan. *Journal of Gastroenterology and Hepatology.* 2017; 32(2): 409-414.
3. Shah T, Lippman R, Kohli D, et al. Accuracy of probe-based confocal laser endomicroscopy (pCLE) compared to random biopsies during endoscopic surveillance of Barrett's esophagus. *Endoscopy International Open.* 2018; 6(4): E414-E420.
4. Paull A, Trier JS, Dalton MD, Camp RC, Loeb P, Goyal RK. The histologic spectrum of Barrett's esophagus. *The New England Journal of Medicine.* 1976; 295(9): 476-480.
5. Lindblad M, Bright T, Schlotthe A, Mayne GC, Chen G, Bull J, Bampton PA, Fraser RJ, Gatenby PA, Gordon LG, et al. Toward More Efficient Surveillance of Barrett's Esophagus: Identification and Exclusion of Patients at Low Risk of Cancer. *World Journal of Surgery.* 2017; 41(4): 1023-1034.
6. Ungureanu S., Istrate V., Tîrbu V., Șipitco N., Fosa D. Aspecte moderne de diagnostic și tratament al esofagului columnar metaplaziat. *Arta Medica* 2019; 3(72): 95.
7. Mukaisho KI, Kanai S, Kushima R, Nakayama T, Hattori T, Sugihara H. Barrett's carcinogenesis. *Pathology International.* 2019; 69(6): 319-330.
8. Zhang W, Wang DH. Origins of Metaplasia in Barrett's Esophagus: Is this an Esophageal Stem or Progenitor Cell Disease? *Digestive Diseases and Sciences.* 2018; 63(8): 2005-2012.
9. di Pietro M, Boerwinkel DF, Shariff MK, et al. The combination of autofluorescence endoscopy and molecular biomarkers is a novel diagnostic tool for dysplasia in Barrett's oesophagus. *BMJ Journals. Gut.* 2015; 64(1): 49-56.
10. Fosa D., Tratamentul chirurgical multimodal al pacienților cu metaplazie epitelială columnară de mucoasă esofagiană. Teza de doctor în șt. med., Editu-

- ra: Chişinău, Anul creării: 2022, 210 p., Limba: Română.
11. di Pietro M, Fitzgerald RC on behalf of the BSG Barrett's guidelines working group. Revised British Society of Gastroenterology recommendation on the diagnosis and management of Barrett's oesophagus with low-grade dysplasia. *BMJ Journals. Gut.* 2018; 67: 392-393
 12. Wong A, Fitzgerald RC. Epidemiologic risk factors for Barrett's esophagus and associated adenocarcinoma. *Clinical Gastroenterology and Hepatology.* 2005; 3(1): 1-10.
 13. Falk GW. Barrett's oesophagus: frequency and prediction of dysplasia and cancer. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology.* 2015; 29(1): 125-38.
 14. Fock KM, Talley N, Goh KL, et al. Asia-Pacific consensus on the management of gastro-oesophageal reflux disease: an update focusing on refractory reflux disease and Barrett's oesophagus. *BMJ Journals. Gut.* 2016; 65(9): 1402-1415.
 15. Thota PN, Vennalaganti P, Vennelaganti S, et al. Low risk of high-grade dysplasia or esophageal adenocarcinoma among patients with Barrett's esophagus less than 1 cm (irregular Z line) within 5 years of index endoscopy. *Gastroenterology.* 2017; 152(5): 987-992.
 16. Bhat S, Coleman HG, Yousef F, Johnston BT, McManus DT, Gavin AT, Murray LJ. Risk of malignant progression in Barrett's esophagus patients: results from a large population-based study. *Journal of the NATIONAL CANCER INSTITUTE.* 2011; 103(13): 1049-1057.
 17. Salemme M, Villanacci V, Cengia G, Cestari R, Misale G, Bassotti G. Intestinal metaplasia in Barrett's oesophagus: An essential to predict the risk of dysplasia and cancer development. *Digestive and Liver Disease.* 2016; 48: 144-147.
 18. Ma M, Shroff S, Feldman M, DeMarshall M, Price C, Tierney A, Falk GW. Risk of malignant progression in Barrett's esophagus indefinite for dysplasia. *Diseases of the Esophagus.* 2017; 30(3): 1-5.
 19. Biswas S, Quante M, Leedham S, Jansen M. The metaplastic mosaic of Barrett's oesophagus. *Virchows Archiv.* 2018; 472(1): 43-54.
 20. McDonald SA, Graham TA, Lavery DL, Wright NA, Jansen M. The Barrett's gland in phenotype space. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology.* 2014; 1(1): 41-54.
 21. McDonald SA, Lavery D, Wright NA, Jansen M. Barrett oesophagus: lessons on its origins from the lesion itself. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology.* 2015; 12(1): 50-60.
 22. Srivastava S, Liew MS, McKeon F, et al. Immunohistochemical analysis of metaplastic non-goblet columnar lined oesophagus shows phenotypic similarities to Barrett's oesophagus: a study in an Asian population. *Digestive Liver Diseas.* 2014; 46(2): 170-175.
 23. Lavery DL, Martinez P, Gay LJ, et al. Evolution of oesophageal adenocarcinoma from metaplastic columnar epithelium without goblet cells in Barrett's oesophagus. *Gut. BMJ Journal.* 2016; 65(6): 907-913.
 24. Kunze B, Wein F, Fang HY, et al. Notch signaling mediates differentiation in Barrett's esophagus and promotes progression to adenocarcinoma. *Gastroenterology.* 2020; 159(2): 575-590.
 25. Janmaat VT, van Olphen SH, Biermann KE, Looijenga LHJ, Bruno MB, Spaander MCW. Use of immunohistochemical biomarkers as independent predictor of neoplastic progression in Barrett's oesophagus surveillance: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One. PLOS PATHOGENS.* 2017; 12(10): e0186305.
 26. Snyder P, Dunbar K, Cipher DJ, Souza RF, Spechler SJ, Konda VJA. Aberrant p53 immunostaining in Barrett's esophagus predicts neoplastic progression: systematic review and meta-analyses. *Digestive Diseases Sciens.* 2019; 64(5): 1089-1097.
 27. Altaf K, Xiong JJ, la Iglesia D, Hickey L, Kaul A. Meta-analysis of biomarkers predicting risk of malignant progression in Barrett's oesophagus. *British Journal of Surgery.* 2017; 104(5): 493-502.
 28. Baak JP, ten Kate FJ, Offerhaus GJ, van Lanschot JJ, Meijer GA. Routine morphometrical analysis can improve reproducibility of dysplasia grade in Barrett's oesophagus surveillance biopsies. *Journal of Clinical Pathology.* 2002; 55(12): 910-916.
 29. Weston AP, Banerjee SK, Sharma P, Tran TM, Richards R, Cherian R. p53 protein overexpression in low grade dysplasia (LGD) in Barrett's esophagus: immunohistochemical marker predictive of progression. *American Journal of Gastroenterology.* 2001; 96(5): 1355-1362.