
TRABAJOS DE ACTUALIZACIÓN

CITOQUERATINAS 7 Y 20 EN EL ESÓFAGO DE BARRETT

CYTOKERATINA 7 AND 20 IN BARRETT'S ESOPHAGUS

Dres. Antonio Arra, Norma B. Nieva, Natividad Rey, Angel O. Fernández

Servicio de Patología Hospital Escuela de la Universidad Abierta Interamericana. Quirno 91 8ª A
(1406) Floresta. Capital Federal. Tel/fax: 011 4612 6209 - aarra@intramed.net.ar

ABSTRACT

Barrett's esophagus (BE) has been identified as the most important risk factor for adenocarcinoma of the distal esophagus. BE has been categorized as long-segment (LSBE) if it extends 3 cm or more up the esophagus and as short-segment (SSBE) if it extends less than 3 cm into esophagus. Intestinal metaplasia may also develop in gastric mucosa (IMG) at the gastroesophageal junction. IMG has a much lower risk to progress to dysplasia or carcinoma when compared with SLBE or SSBE. Moreover, these conditions are difficult to distinguish one from another only based on endoscopic and morphologic criteria. Therefore the aim this study was to evaluate the cytokeratin (CK) 7 and 20 immunoreactivity patterns in these intestinal metaplasias with the purpose to determine the precise anatomic site of the biopsy. Biopsy specimens from 14 patients with LSBE, 6 with SSBE and 7 patients with IMG were immunohistochemically stained with monoclonal antibodies to CK 7 and 20. Barrett's CK7/20 pattern was characterized by superficial and deep CK7 reactivity and only superficial CK 20 staining in the intestinalized mucosa. This pattern was found in all 7 (100%) patients with LSBE, and was absent in all 7 patients with IMG. All biopsy specimens from patients with IMG showed no staining for CK7 and diffuse surface positivity for CK20. 67% of the biopsy specimens from patients with endoscopic SSBE showed Barrett's CK7/20 pattern, and the

remaining 33% specimens showed the IMG staining pattern. Based on our data the immunohistochemical determination of CK7/20 is an excellent tool with high specificity in distinguishing LSBE and SSBE from IMG.

Key Words: barrett's esophagus CK 7 and 20 immunoreactivity patterns.

RESUMEN

El esófago de Barrett (EB) es un factor de riesgo conocido para el desarrollo de adenocarcinoma esofágico. El EB ha sido categorizado como a segmento largo (EBSL) si se extiende a más de 3 cm de la unión esófago-gástrica, o a segmento corto (EBSC) si se observa mucosa de aspecto columnar a menos de 3 cm de dicha unión. La metaplasia intestinal puede también desarrollarse en la mucosa gástrica (MIG) de la unión esófago-gástrica, presentando un menor potencial desarrollo de cambios displásicos o adenocarcinomatosos. Estas condiciones son difíciles de distinguir entre sí sólo en base a parámetros endoscópicos o morfológicos. El objetivo de este estudio fue evaluar patrones de inmunomarcación con anticuerpos para citoqueratinas (CQ) 7 y 20 en estas entidades con el fin de identificar el sitio de origen de dichas metaplasias intestinales. Fueron evaluadas 27 biopsias pertenecientes a pacientes con sospecha endoscópica de EBSL y EBSC, las cuales fueron comparadas con biopsias con

diagnóstico de MIG. El patrón CQ7/20 de tipo Barrett fue observado en el 100% de los EBSL, el cual no fue identificado en ninguna de las biopsias con MIG. En estas últimas se observó por el contrario la ausencia de marcación con CQ7 y tinción con CQ20 en el epitelio superficial. En el grupo de pacientes con EBSC, 67% presentaron el patrón CQ7/20 tipo Barrett, mientras que el 33% restante evidenció una marcación similar a la vista en las biopsias con MIG. Nuestros hallazgos confirman la alta especificidad del patrón Inmunohistoquímico de CQ7/20 para distinguir metaplasias intestinales correspondientes a EBSL o EBSC de las MIG.

Palabras Claves: esófago de Barrett. patrón CQ 7/20.

INTRODUCCIÓN

La metaplasia columnar especializada de tipo intestinal a nivel esofágico o esófago de Barrett (EB), es un reconocido factor de riesgo para el desarrollo de adenocarcinoma esofágico (1,2). Convencionalmente el EB a segmento largo (EBSL) puede ser fácilmente identificado por endoscopia, sin embargo muchos pacientes con metaplasia intestinal confinada a la región de la unión esofago-gástrica (MIREG) tienen solo un segmento corto de mucosa columnar, o sea de 3 cm de longitud (EBSC) (3,4). En muchos de éstos casos el sitio preciso de origen, esofágicos o gástricos, son difícil de determinar por endoscopia.

La incidencia de adenocarcinoma en pacientes con EB se estima en 0,5% por año (5,6). Por el contrario, recientes estudios clínicos sugieren que el potencial desarrollo de displasia epitelial o carcinoma es considerablemente menor en pacientes con metaplasia intestinal originada en el cardias gástrico (MICG) con línea Z aparentemente normal (7,8). En consecuencia son los pacientes con diagnóstico de EB los ubicados dentro de protocolos de vigilancia endoscópica, jerarquizándose entonces la importancia clínica del diagnóstico diferencial del origen de la MIREG, en términos de

riesgo de desarrollo de neoplasia y de la necesidad de realizar prácticas periódicas de control endoscópico a este subgrupo de pacientes.

Complica esta situación el hecho de que la metaplasia intestinal gástrica (MIG) es histológicamente indistinguible de la metaplasia intestinal originada en el EB, aún con la utilización de técnicas convencionales (9,10). Por lo tanto es necesaria la utilización de una técnica alternativa, tal como la inmunohistoquímica, que demuestre una mayor especificidad para determinar con exactitud el origen de las diferentes metaplasias intestinales. Con este fin, se ha descrito recientemente la utilización de técnicas inmunohistoquímicas para la determinación de patrones de inmunotinción con marcadores epiteliales como las citoqueratinas (CQ), en especial CQ7 y CQ20, e identificando un patrón único de tinción en el EB (11,12).

El objetivo de este estudio fue evaluar la inmunoreactividad de la CQ7 y de la CQ20 en pacientes con diagnóstico endoscópico sospechado de metaplasia intestinal en EBSC y compararlos con aquellos pacientes con diagnóstico de EBSL y MIG, para determinar la utilidad de esta metodología auxiliar para arribar al diagnóstico preciso del sitio de origen de la MIREG.

MATERIALES Y MÉTODOS

Fueron revisadas 32 biopsias pertenecientes a pacientes con diagnóstico de EBSC, EBSL y MIG del servicio de patología del Hospital Escuela de la UAI entre los años 2.000 y 2.004.

El EBSC fue definido endoscópicamente por la presencia de lengüetas de mucosa de aspecto columnar que se extienden a menos de 3 cm del margen proximal de los pliegues gástricos e identificándose en la biopsia del área sospechada una metaplasia intestinal enterógena.

El EBSL fue definido a su vez como la presencia de mucosa columnar con metaplasia intestinal localizada a más de 3 cm de la unión gastroesofágica. Se incluyeron en este estudio casos

diagnosticados de MIG de la zona cardial, fúndica y antral.

La presencia de metaplasia intestinal fue confirmada en todos los casos por la evaluación de las biopsias, las cuales fueron fijadas en formol-buffer e incluidas en parafina, de las cuales se obtuvieron cortes histológicos que fueron coloreados con hematoxilina y eosina para determinar la presencia de células caliciformes.

De las 32 biopsias revisadas, 5 fueron excluidas por presentar cambios displásicos o zonas de transformación adenocarcinomatosa. Del total de 27 biopsias incluidas, 14 correspondieron a EBSL, 6 fueron endoscópicamente sospechosas de EBSC y 7 correspondieron a MIG (3 de cardias, 2 fúndicas y 2 antrales).

Técnicas inmunohistoquímicas

De cada caso se realizaron secciones del taco de inclusión en parafina las cuales fueron incubadas con los siguientes anticuerpos primarios monoclonales: CQ7 (clon OV-TL, 12/30; dilución 1:70, 32 minutos; DAKO, USA), CQ20 (Clon Ks 20.8; dilución 1:40, 32 minutos; DAKO, USA). Se empleó la técnica de Avidina-Biotina-Peroxidasa (ABC) y la tinción fue realizada en un automatizador de inmunotinción Ventana Sistema Nexes (USA); como revelador se utilizó 3,3' diaminobenzidina, siendo todos los preparados histológicos contrastados con hematoxilina.

Patrón de inmunoreactividad con CQ.

El patrón CQ7/20 de tipo Barrett fue considerado sólo cuando la tinción con CQ20 se observó en el epitelio y en las glándulas superficiales, mientras que la marcación con CQ7 se identificó de manera difusa a nivel superficial y profundo de las estructuras glandulares en la zona de metaplasia intestinal.

RESULTADOS

Histológicamente se identificó metaplasia intestinal enterógena en todos los pacientes diagnosticados endoscópicamente como EBSL y EBSC, la cual presentó características histopatológicas indistinguibles de las biopsias diagnosticadas como MIG.

Inmunohistoquímicamente, el patrón CQ7/20 tipo Barrett (figura 1 y 2) fue

observado en las 14 biopsias diagnosticadas como EB pertenecientes a los pacientes con EBSL (100%).



Foto 1. CQ 7 100x Esófago de Barrett a segmento largo. Tinción a nivel superficial y profundo.

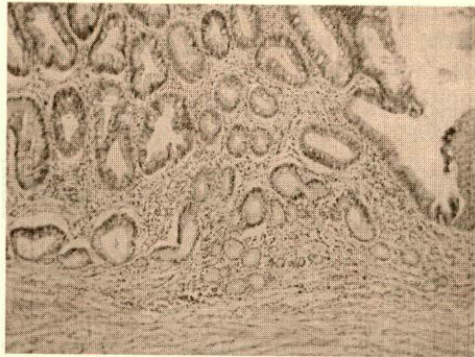


Foto 2. CQ 20 100x. Esófago de Barrett a segmento largo. Tinción a nivel superficial.

Este patrón no fue identificado en las 7 biopsias diagnosticadas como MIG (100%) (figura 3 y 4), observándose en cambio 7/7 (100%) de estas biopsias la ausencia de inmunomarcación con CQ7 y tinción con CQ20 sólo en el epitelio superficial.

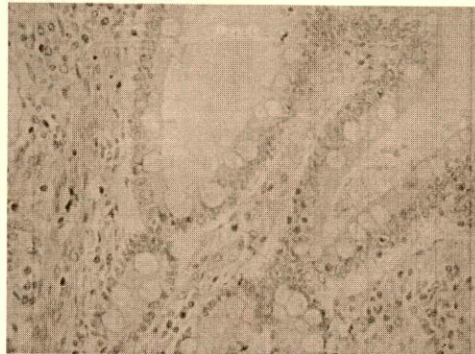


Foto 2. CQ 20 100x. Esófago de Barrett a segmento largo. Tinción a nivel superficial.

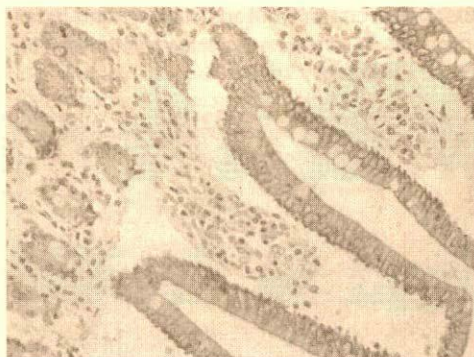


Foto 4. CQ 20 400x en metaplasia intestinal gástrica. Positividad a nivel superficial.

En el grupo de pacientes con sospecha endoscópica de EBSC (6 pacientes), 4/6 (67%) presentaron el patrón CQ7/20 del EB (figura 3), evidenciando los 2 restantes (33%) el tipo de marcación observada en los pacientes con MIG, o sea negatividad con CQ7 e inmunotinción con CQ20 en el epitelio superficial. (figura 5 y 6)



Foto 5. CQ 7 400x en Esófago de Barrett a segmento corto. Negativa.

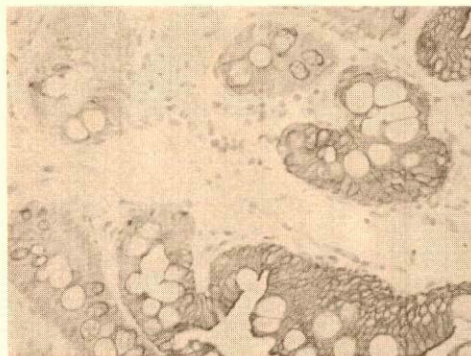


Foto 6. CQ 20 400x en Esófago de Barrett a segmento corto. Positividad a nivel superficial.

DISCUSIÓN

Estudios epidemiológicos realizados en países industrializados americanos y europeos han demostrado que la incidencia del adenocarcinoma de esófago se ha duplicado entre los años 1.970 y fines de 1.980 y continúa en aumento, siendo aproximadamente de 5-10% de casos/año (13). Esta neoplasia y la localizada a nivel de la unión gastroesofágica, tienen en común al EB como lesión precursora y factor de riesgo mejor conocido para el desarrollo de fenómenos de displasia y adenocarcinomas.

Enfatizando lo anterior se ha identificado metaplasia intestinal en más de 80% de los pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma de esófago distal (14,15).

Es lógico entonces, plantear estrategias para la prevención de esta neoplasia focalizando la atención en el reconocimiento temprano de la mucosa columnar especializada mediante controles endoscópicos periódicos.

Distintos estudios han demostrado que el adenocarcinoma esofágico puede originarse en la mucosa con metaplasia enterógena tanto del EBSC como del EBSC (16). Morales y col han demostrado a su vez que la metaplasia intestinal originada por debajo de la línea Z normal presentaba baja frecuencia de desarrollo de adenocarcinomas (7,8).

Sharma y col han reportado que menos del 3% de los pacientes con diagnóstico de MIG progresaron a lesiones con cambios displásicos de bajo grado (17). Estos hallazgos sostienen la conveniencia de distinguir la MIG de la metaplasia intestinal de origen esofágico, lo cual presenta dificultades reales tales como la imposibilidad de diferenciar estos epitelios columnares mediante estudios de endoscopia o de histopatología convencional, ya sea por la morfología o con técnicas histoquímicas de sialomucinas.

Dicha problemática ha despertado el interés de diversos autores respecto de la búsqueda de técnicas auxiliares de diagnóstico diferencial en estas lesiones. Las citoqueratinas (CQ) son proteínas estructurales que constituyen los

filamentos intermedios del citoesqueleto de las células epiteliales, que pueden ser detectadas por medio de técnicas inmunohistoquímicas y que representan una familia de 20 subtipos de diferentes pesos moleculares, de los cuales la CQ7 y la CQ20 se constituyen como las más restrictivas, o sea con mayor grado de especificidad para identificar diferentes epitelios (18,19).

Diversos autores tal como Ormsby y col evaluaron la utilidad de técnicas de inmunohistoquímica para la determinación de CQ7 y CQ20, en piezas de resección de pacientes con diagnóstico de EBSL y lo compararon con resecciones quirúrgicas gástricas con metaplasia intestinal (20,11). Observaron que todos los casos con EBSL tenían un patrón característico de inmunomarcación que denominaron tipo Barrett, caracterizado por la tinción superficial y profunda con CQ7 y sólo marcación superficial con CQ20. En contraste en las piezas gástricas con MIG se observaba una marcación superficial y profunda con CQ20 y ausencia de inmunotinción con CQ7. En nuestro estudio obtuvimos registros similares ya que el 100% de los casos con diagnóstico de EBSL evidenciaron el patrón de inmunomarcación tipo Barrett, observándose en cambio en todas las biopsias con diagnóstico de MIG la ausencia de inmunomarcación con CQ7 y tinción con CQ20 sólo en el epitelio superficial, o sea que carecían del patrón del origen esofágico. En estudios ulteriores los mismos autores evaluaron la utilidad de estas CQ en biopsias endoscópicas pertenecientes a pacientes con metaplasia intestinal en el esófago distal y en el cardias gástrico, y nuevamente el patrón Barrett fue sólo observado en las biopsias esofágicas (12).

Nuestros hallazgos reproducen los datos previamente registrados, ya que el 67% de los pacientes con sospecha endoscópica de EBSC presentaron metaplasia intestinal con patrón de inmunomarcación de tipo Barrett de características idénticas a aquellos con diagnóstico histológico y endoscópico de EBSL, mientras que el 33% restante de estas biopsias presentaron un tipo de marcación similar a la observada en

biopsias con diagnóstico de MIG, permitiendo así subdividir al grupo de pacientes con endoscopia sospechosa y morfología de EBSC, en dos subgrupos definidos con diagnóstico de origen de la presente metaplasia enterógena en esofágica y gástrica.

Por último, estos resultados permiten confirmar la alta sensibilidad y especificidad del patrón inmunohistoquímico de CQ7/20 para distinguir metaplasias intestinales correspondientes a EBSL o EBSC de las metaplasias de origen gástrico, convirtiéndose en una técnica auxiliar de baja complejidad en su realización, fácil interpretación y de gran utilidad en el diagnóstico diferencial de MIREG.

REFERENCIAS

1. Dent J, Bremner CG, Collen MJ. Working Party Report to the World Congresses of Gastroenterology, Sydney, 1990: Barrett's esophagus. *J Gastroenterol Hepatol*; 1991, 6: 1-22.
2. Haggitt RC. Barrett's esophagus, dysplasia and adenocarcinoma. *Hum Pathol*; 1994, 25: 982-993.
3. Cameron AJ, Lomboy CT. Barrett's esophagus: age, prevalence and extent of columnar epithelium. *Gastroenterology*; 1992, 103: 1241-1245.
4. Trudgill NJ, Suvarna SK, Kapur KC, Riley SA. Intestinal metaplasia at the squamocolumnar junction in patients attending for diagnostic gastrocopy. *Gut*; 1997, 41: 585-589.
5. Drewitz DJ, Stampliner RE, Garewal HS. The incidence of adenocarcinoma in Barrett's esophagus: a prospective study of 170 patients followed 4.8 years. *Am J Gastroenterol*; 1997, 92: 212-215.
6. Weston AP, Kamptich PT, Cherian R, Dixon A, Topalovskii M. Prospective long-term endoscopic and histological follow-up of the short Barrett's esophagus: comparison with transitional long segment Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol*; 1997, 92: 407-413.
7. Hackelsberger A, Gunther T, Schultze V, Manes G, Dominguez-Muñoz JE, Roessner A, Malfertheiner P. Intestinal

metaplasia of the gastro-oesophageal junction: *Helicobacter Pylori* gastritis or gastro-oesophageal reflux disease?. *Gut*; 1998, 43: 17-21.

8. Morales TG, Camargo E, Bhattacharyya A, Sampline RE. Longterm follow-up of the intestinal metaplasia of the gastric cardia. *Am J gastroenterol*; 2000, 95: 1677-1680.

9. Ormsby AH, Goldblum JR, Rice TW, Richter JE, Falk GW, Vaezi MF, Gramlich TL. The sensitivity and especificity of histologic features in the diagnostic of Barrett's esophagus on routine endoscopic biopsy specimens (abstr). *Am J Cin Pathol*; 1999, 112:A533.

10. Petras RE, Sivak MV, Rice TW. Barrett's esophagus: a review of the pathologist's role in diagnosis management.. *Pathol Annu*; 1991, 26: 1-32.

11. Ormsby AH, Goldblum JR, Rice TW, Richter JE, Falk GW, Vaezi MF, Gramlich TL. Cytokeratin subsets can reliably distinguish Barrett's esophagus from intestinal metaplasia of the stomach. *Hum Pathol*; 1999, 30: 288-294.

12. Ormsby AH, Vaezi MF, Richter JE, Goldblum JR, Rice TW, JE, Falk GW, Gramlich TL. Cytokeratin immunoreactivity patterns in the diagnosis of short-segment Barrett's esophagus. *Gastroenterology*; 2000, 119: 683-690.

13. Blot WJ, Dhillon AP, Fraumeni-JF J. Continuing climb in rates of esophageal adenocarcinoma: an update. *JAMA*; 1993, 270: 1320.

14. Haggitt RC, Tryzelaar J, Ellis FH, Colcher H. Adenocarcinoma complicating columnar epithelial-lined (Barrett's) esophagus. *Am J Clin Pathol*; 1978, 70:1-5.

15. Hamilton ST, Smith RR. The relationship between columnar epithelial dysplasia and invasive adenocarcinoma arising in Barrett's esophagus. *Am J Clin Pathol*; 1987, 87: 301-312.

16. Cameron AJ, Lomboy CT, Pera M, Carpenter HA. Adenocarcinoma of the esophagogastric junction and Barrett's esophagus. *Gastroenterology*; 1995, 109: 1541-1546.

17. Sharma P, Weston AP, Morales T. Relative risk of dysplasia for patients with intestinal metaplasia in the distal oesophagus and in the gastric cardia. *Gut*; 2000, 46: 9-13.

18. Moll R, Lowe A, Laufer J. Cytokeratin 20 in human carcinomas: a new histodiagnostic marker detected by monoclonal antibodies. *Am J Pathol*; 1992, 140: 427-447.

19. Van Niekerk CC, Jap PHK, Raemakers FCS. Immunohistochemical demonstration of keratin 7 in routinely fixed paraffin-embedded human tissues. *J Pathol* 1991; 165:145-152.

20. Glickman JN, Wang H, Das KM, Goyal RK, Spechler S, Antonioli D, Odze RD. Phenotype of Barrett's esophagus and intestinal metaplasia of the distal esophagus and gastroesophageal junction. An immunohistochemical study of cytokeratins 7 and 20, Das-1 and 45M1. *Am J Surg Pathol*; 2001, 25: 87-94.