

El esófago de Barrett: la realidad biológica de una metaplasia columnar premaligna

P. Sánchez-Fayos, M.J. Martín, A. González, O. Bosch, B. Polo, C. Arocena y J.C. Porres

Servicio de Aparato Digestivo. Fundación Jiménez Díaz. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Madrid.

CONSIDERACIONES GENERALES

El término esófago de Barrett (EB) es un epónimo con el que se ha honrado al cirujano británico Norman Barrett por la interpretación, más o menos errónea, que hizo hace unos cincuenta años de un curioso proceso patológico de la mucosa esofágica^{1,2}, del que se tenía idea desde principios del siglo pasado³. Con el tiempo, se han ido conociendo algunos aspectos básicos de este proceso, que a continuación resumiremos⁴⁻¹⁷.

Se trata, en esencia, de un cambio metaplásico adquirido del epitelio escamoso de esófago distal, por un epitelio columnar con estructuras glandulares. Este último exhibe un patrón histológico polimorfo, en el que suele predominar una mucosa intestinosímil, con sus células caliciformes típicas (*goblet cells*), junto a retales de mucosa gástrica (tipo fúndico o cardial). Están expuestos a su padecimiento los varones de edades comprendidas entre los 55 y 65 años, de raza caucásica, pertenecientes a sociedades opulentas del mundo occidental. Pronto se asoció el desarrollo del EB a la existencia de un reflujo gastroesofágico (RGE) crónico, siendo los síntomas de este reflujo, y los de sus complicaciones, los que aquejan a los pacientes con aquella metaplasia. También empezó a sospecharse relativamente pronto la naturaleza premaligna del EB, desde el momento que es la causa preferente, si no exclusiva, del adenocarcinoma esofágico. Por último, se ha ido consolidando la idea de que el riesgo oncogénico de este proceso, probablemente sobrestimado en el pasado¹⁸, reside en su componente histológico de epitelio especializado de tipo intestinal.

Estudios de estos últimos años han demostrado también la existencia de metaplasia intestinal en el cardias gástrico, aunque todavía no hay acuerdo convincente sobre si esta afección es una expresión del RGE, como lo es el

EB, o de una inflamación del cardias producida por *Helicobacter pylori*¹⁹⁻²².

La importancia clínica del EB nos la proporciona el simple encadenamiento de dos hechos epidemiológicos: en primer lugar, que cerca de un 20% de la población adulta de los países occidentales padece algún grado de RGE y, en segundo lugar, que aproximadamente un 10% de los sujetos con un RGE sintomático y crónico podrían desarrollar algún tipo de EB. Si fuesen correctas estas premisas, se podría llegar a una estimación indirecta de que es posible que entre 1-2% de los adultos de nuestro entorno sociogeográfico sufran un EB^{9,10,23,24}. Esta estimación alcanzaría niveles de auténtico escándalo epidemiológico si se confirmasen los datos de autopsia del condado de Olmsted (Minnesota), que sugieren que por cada caso conocido de EB podrían existir otros 20 casos ignorados²⁵. Sin embargo, con los exigentes criterios actuales de definición del EB, todas estas cifras tienden a bajar, como veremos más adelante.

A pesar de estos datos alarmantes, el desarrollo de un epitelio metaplásico de Barrett no pasaría de ser una «curiosidad biológica» si no fuese por el riesgo de transformación cancerosa que implica su aparición²⁶⁻³³ y de que el adenocarcinoma esofágico sea el tumor visceral cuya incidencia crece a mayor velocidad en los países industrializados occidentales^{34,35}.

El propósito de este trabajo ha sido repasar y comentar el cómo y el porqué de la realidad biológica del EB y de su posible secuencia tumorigénica.

APROXIMACIÓN ANATOMOPATOLÓGICA

Desde el punto de vista macroscópico, el epitelio columnar del EB contrasta endoscópicamente con el aspecto nacarado del epitelio escamoso normal. El epitelio de Barrett ofrece la imagen de una película de color rosa-asalmonado, de consistencia aterciopelada, a veces congestiva y friable, en la que se adivina en ocasiones el dibujo vascular submucoso^{5-7,9,36}. La mucosa metaplásica se despliega, en el esófago distal, de acuerdo con dos modelos principales^{15,37,38}.

Correspondencia: Dra. P. Sánchez-Fayos Calabuig.
Servicio de Aparato Digestivo. Fundación Jiménez Díaz.
Avda. Reyes Católicos, 2. 28040 Madrid.

Recibido el 19-6-2001; aceptado para su publicación el 25-9-2001.

Por una parte, el tipo más convencional es el de disposición circunferencial, caracterizado por placas continuas de epitelio columnar, de mayor o menor tamaño, situadas por encima de la unión esofagogástrica. Cuando la superficie de estas placas supera los 2-3 cm de altura por encima de aquella unión se habla de EB de «segmento largo»; por el contrario, se conoce como EB de «segmento corto» cuando la altura de la placa metaplásica es inferior a aquella medida^{17,39-42}. Este último modelo adopta con frecuencia la imagen de pequeñas lengüetas montadas sobre la unión esofagogástrica o simulando la imagen de una «ora serrata» o línea Z irregular y excéntrica.

Estudios endoscópicos recientes⁴³ indican que la prevalencia del EB de «segmento largo» en pacientes sometidos a endoscopia alta por diversos motivos es del 4,6%, mientras que la prevalencia microscópica de epitelio columnar especializado en los últimos 3 cm («segmento corto») se eleva al 13,6%.

Otro patrón menos frecuente de disposición del EB es el que adopta la forma de islas de mucosa columnar, rodeadas de epitelio escamoso, en la mitad inferior del esófago. Inicialmente existió una cierta confusión sobre la morfología del epitelio de Barrett, al encontrarse imágenes que sugerían su naturaleza gástrica, mientras que en otras ocasiones, al descubrirse células caliciformes (*globet cells*), se apuntaba su origen intestinal^{2,44,45}. Así continuaron las cosas hasta que, en 1976, Paull et al publicaron un trabajo, ya clásico, en el que pareció que se aclaraban aquellas discrepancias⁴⁶. Estos autores realizaron biopsias endoscópicas con guía manométrica en un grupo de pacientes y describieron 3 tipos histológicos de EB, hecho generalmente aceptado por otros autores a partir de entonces^{5,6,8,12}.

Un primer patrón histológico de epitelio metaplásico recuerda al que normalmente recubre la zona oxíntica del estómago, por lo que se denomina de tipo fúndico. Este epitelio presenta un aspecto foveolar y está recubierto en su superficie por células exclusivamente mucosecretoras. En cambio, las glándulas profundas del mismo están recubiertas, no sólo por células secretoras de moco, sino también por células principales y parietales. La histoquímica demuestra la presencia de mucinas neutras, como ocurre en el fundus gástrico normal.

Un segundo tipo histológico recuerda al epitelio de la pequeña zona situada en el adulto inmediatamente por debajo de la unión endoscópica esofagogástrica, por lo que se ha denominado metaplasia de tipo cardial. Se trata de un epitelio de superficie también foveolar, y tanto éste como las glándulas que alberga están formados exclusivamente por células mucosecretoras que contienen mucinas sulfatadas ácidas y neutras.

Un tercer patrón histológico, sin duda el más frecuente y característico del EB, está representado por un epitelio columnar especializado que por su aspecto se ha denominado de metaplasia intestinal incompleta, ya que carece de células absorptivas. Este epitelio luce un aspecto exterior «villiforme», con profundas criptas que recuerdan a las del intestino delgado. Tanto la superficie vellositaria como las criptas están tapizadas por células columnares

mucosecretoras y por las características células caliciformes (*globet cells*). En ocasiones se distinguen también células de Paneth y enteroendocrinas. En este tipo de mucosa se suele detectar mucinas ácidas sulfatadas (localizadas normalmente en las células colónicas) y mucinas ácidas no sulfatadas (típicas del intestino delgado). Tanto las células caliciformes como las células mucosecretoras se tiñen de color azul por el colorante azul Alcian a pH 2,5, que se ha convertido en una poderosa herramienta diagnóstica de este tipo de epitelio.

Algunos autores han descrito un tipo transicional de epitelio metaplásico, intermedio entre el epitelio gástrico y el intestinal^{6,47}. Este epitelio teñido con hematoxilina-eosina parece de naturaleza gástrica (aunque faltan en él células parietales y principales); en cambio, desde el punto de vista histoquímico, las células del mismo son azul Alcian positivas (aunque sin presentar células caliciformes propiamente dichas). Sin embargo, no todo el mundo comparte la idea de que estas estructuras híbridas tengan carácter metaplásico.

Para complicar más las cosas, se ha descrito en algún caso de EB una presunta metaplasia acinar de tipo pancreático⁴⁸.

Los patrones histológicos clásicos del epitelio de Barrett presentan una cierta tendencia a la «zonalización»⁴⁶. Así, el epitelio especializado intestinal ocupa preferentemente la región más alta de la placa columnar, cerca de la mucosa escamosa normal. Por debajo de éste se sitúa la mucosa de tipo cardial, mientras que la metaplasia fúndica suele ocupar la posición más distal. Esta localización zonal es especialmente válida para el patrón intestinal, aunque tiene excepciones, no siendo infrecuente la coexistencia de dos o más patrones histológicos en espacios metaplásicos relativamente pequeños. De esta manera, se forma a veces un mosaico complejo y polimorfo de imágenes, tanto celulares como glandulares.

En estos últimos años se ha dado una importancia creciente al patrón intestinal incompleto como «marcador» seguro del proceso metaplásico y del riesgo oncogénico del EB. Por el contrario, los patrones histológicos gastro-símiles del epitelio columnar (tanto fúndico como cardial), sobre todo si se descubren en biopsias tomadas en los últimos 2-3 cm del esófago distal, pueden tener otro significado; concretamente, el de una línea Z muy excéntrica, y su hallazgo no significa que estemos siempre ante un epitelio metaplásico^{15,47,49}.

A título de resumen orientativo, podríamos decir que en más del 70% de los casos de EB la mucosa exhibe un claro patrón intestinal (con sus células caliciformes típicas), puro o combinado a otros patrones histológicos. Cuando a este tipo intestinal clásico se suma el tipo transicional o intermedio, uno u otro se encuentran en un 85% de los casos. Finalmente, cuando el EB supera los 2-3 cm de longitud («segmento largo»), el tipo intestinal con células caliciformes se encuentra en más del 95% de los casos (solo o frecuentemente combinado a otros patrones histológicos).

El llamado Practice Parameter Committee del American College of Gastroenterology ha definido de manera re-

ciente el EB como la presencia de un epitelio columnar endoscópicamente visible en el esófago en el que el estudio biopsico confirma la existencia de metaplasia intestinal⁵⁰, aceptando que lo que realmente define a esta última es la presencia de células caliciformes que contienen mucinas ácidas azul Alcian positivas, aunque sea en cantidades mínimas. El motivo que da este comité para exigir el hallazgo de metaplasia intestinal como condición diagnóstica del EB es el hecho de que cerca de la mitad de las biopsias tomadas de los últimos 2 cm del esófago distal contienen mucosa de tipo fúndico o cardial, como simple consecuencia de una línea Z de disposición irregular. Este hecho produce pequeñas lengüetas de epitelio columnar gástrico en situación aparentemente esofágica que podrían crear confusión diagnóstica. Con este doble criterio (endoscópico e histopatológico) se pretende dar seguridad de que «son todos los que están» en un proceso que, por su carácter potencialmente premaligno, requiere un programa de vigilancia costoso y molesto.

CIRCUNSTANCIAS ETIOLÓGICAS

Existe un amplio acuerdo de que el EB es un proceso patológico adquirido en cuya realización desempeña un papel fundamental el reflujo gastroesofágico (RGE), y probablemente también el reflujo duodenal, de carácter crónico. Este hecho no descarta la existencia de otros factores etiológicos menos importantes^{5-9,11,12,15,16,51-53}. Unos y otros serán resumidos a continuación.

Reflujo gastroesofágico

El papel etiológico del RGE crónico fue intuido, desde muy pronto, tanto en publicaciones de casos aislados^{45,54-56} como en revisiones más amplias^{6,9,57,58}. Esta sospecha epidemiológica fue confirmada desde el campo de la investigación experimental, al comprobarse la reparación, con epitelio columnar secretor de moco, de la mucosa escamosa del esófago distal en perros a los que se les había provocado un RGE por métodos quirúrgicos, unido a una hipersecreción gástrica inducida por histamina⁵⁹. Este mismo acontecimiento metaplásico fue observado también en seres humanos tras intervenciones quirúrgicas de escisión del esfínter esofágico inferior⁶⁰. Tanto es así que, hoy día, no existe ninguna duda sobre el papel etiológico de este reflujo.

Se ha evidenciado, con mayor o menor claridad, toda una serie de circunstancias que parecen agravar el RGE que se asocia al EB, en contraposición al reflujo que no ha provocado ningún cambio metaplásico. Entre ellas se han citado^{6,8,16,35,51,61}: *a)* una mayor hipotonía del esfínter esofágico inferior, sobre todo en forma de relajaciones transitorias de dicho esfínter mediadas por mensajeros químicos (ácido gamma-amino-butírico, acetilcolina, óxido nítrico, etc.) o por neuropéptidos relacionados con la entrada de grasas en el duodeno (colecistocinina); *b)* una disfunción peristáltica más acusada; *c)* la frecuentísima

asociación de una hernia hiatal, *d)* un enlentecimiento más ostensible del vaciamiento gástrico, y *e)* un descenso más pronunciado de la secreción de ciertos factores citoprotectores del epitelio esofágico, como el factor de crecimiento epidérmico (EGF) de origen salival y esofágico, las mucinas segregadas por las glándulas esofágicas, etc. Parece muy probable que sean algunos de los componentes de este reflujo los factores implicados en la etiología del EB. Entre ellos se podría considerar la composición ácida del contenido gástrico y la acción de las enzimas segregadas en su pared (pepsina, lipasa, etc.), aunque es posible que la acidez aislada no sea un factor determinante desde el momento que el EB es una afección infrecuente en pacientes con síndrome de Zollinger-Ellison.

Reflujo duodenal

La aparición del EB en pacientes afectados de anemia perniciosa, y por lo tanto con aclorhidria, así como en otros a los que se había practicado una gastrectomía total, apunta a la posibilidad de que el reflujo duodenal pueda ser una circunstancia etiológica a tener en cuenta^{62,63}. Apoya esta idea el hallazgo de que la cantidad de bilis en el esófago distal es significativamente mayor en pacientes con EB que en sujetos normales, e incluso en aquellos otros con una simple esofagitis de reflujo sin cambio metaplásico^{16,64,65}.

Por otra parte, se ha logrado experimentalmente en perros la reepitelización columnar de la mucosa esofágica tras la producción quirúrgica de un reflujo biliar permanente (cardioplastia con colecistogastrostomía)⁶⁶. Igualmente, se ha conseguido la aparición de zonas de metaplasia glandular esofágica y el desarrollo de un adenocarcinoma en ratas sometidas a esofagoyunostomía con la cooperación de un carcinógeno administrado por vía subcutánea⁶⁷. Todos estos hechos, epidemiológicos y experimentales, han planteado como muy probable el efecto lesivo sobre el epitelio escamoso esofágico de algunos componentes del reflujo duodenopancreático, como las sales biliares (sobre todo de los ácidos desoxicólico y taurodesoxicólico), las enzimas pancreáticas (tripsina, lipasa, etc.), la lisolecitina, etc. Es muy probable que estos factores actúen en estrecha sinergia con la actividad acidopéptica del RGE y que la combinación de ambos reflujos profundice la lesión del epitelio escamoso y propicie el desarrollo del EB^{33,64}.

Otros agentes etiológicos

Se ha sugerido el posible papel de otros factores etiológicos, como el hábito tabáquico, el alcoholismo, la quimioterapia antineoplásica²³, así como el uso de inhibidores del canal del calcio en el tratamiento de la hipertensión arterial (nifedipino)⁶⁸ y la generación de radicales de oxígeno reactivo en la mucosa inflamada^{69,70}. También se ha buscado el posible protagonismo etiológico de la infección por *Helicobacter pylori*, sin que exista

ninguna evidencia en este sentido^{71,72}. Incluso en algún trabajo reciente se ha sugerido que esta infección de la mucosa gástrica podría «proteger» al esófago, evitando el reflujo ácido⁷³.

Por último, se sospecha la participación de algún factor genético dado que sólo uno de cada 10 pacientes con RGE sintomático desarrollan EB y se ha descrito concentración familiar de la misma, en algunas ocasiones⁵. Incluso llega a plantearse la hipotética existencia de un gen regulador del RGE⁷⁴.

DESDE EL REFLUJO DUODENOGASTROESOFÁGICO A LA METAPLASIA COLUMNAR

Desde factores etiológicos, localizados fundamentalmente en el contenido del reflujo duodenogástrico, se pone en marcha, en un subgrupo de pacientes, una metaplasia columnar del epitelio escamoso esofágico, a la que hemos denominado EB.

Intentaremos resumir en este apartado la patogenia del EB desde dos puntos de vista: el de la cadena de acontecimientos fisiopatológicos que aquel reflujo origina y el de la histogénesis propiamente dicha del epitelio metaplásico^{5,9,11,12,75,76}.

Fisiopatología del reflujo

Un RGE suficientemente intenso provoca en el esófago distal una primera lesión, la esofagitis de reflujo, con denudación del epitelio escamoso y reacción inflamatoria celular.

Parece razonable pensar que algunos componentes lesivos de aquel reflujo, como la pepsina y la lipasa gástrica, y sus acompañantes duodenales, la tripsina y la lipasa pancreáticas, actúen a través de sus respectivas actividades enzimáticas desarticulando el entramado celular y deteriorando las propias membranas celulares.

Por otra parte, la acción de los ácidos biliares va dirigida preferentemente sobre membranas celulares y las organelas intracitoplasmáticas⁷⁷. El daño sobre la mucosa esofágica de estos ácidos depende del grado de conjugación de los mismos y del pH intraluminal. Así, los ácidos biliares conjugados o primarios (cólico y quenodesoxicólico) son más lesivos a pH ácido (lo que explicaría el sinergismo del CIH con los ácidos biliares), mientras que los ácidos biliares no conjugados o secundarios (oxicólico y litocólico) son más nocivos a pH neutro o alcalino⁶⁸.

Independientemente de una acción química irritativa, la acidez del RGE favorece la activación del pepsinógeno a pepsina y es probable que aumente la capacidad de penetración de las sales biliares en la mucosa esofágica^{76,78}. Este hecho casa bien con la observación clínica de que el reflujo mixto (duodenogástrico) es más nocivo para el esófago que el reflujo gástrico puro⁶⁴.

El epitelio escamoso del esófago no sólo es muy sensible al propio contenido del reflujo, sino también a la acción de las células inflamatorias reactivas a ésta. Los hallazgos histopatológicos iniciales de este efecto nocivo son la de-

nudación epitelial con pérdida de células escamosas y los fenómenos de necrosis local.

La respuesta adaptativa inicial frente a aquellos hechos, propios de la esofagitis de reflujo, es un intento reparador con el mismo tipo de epitelio, incrementando el espesor o altura de la zona proliferativa, bajo el estímulo paracrino del EGF (*epidermal growth factor*) segregado por células endoteliales vecinas. Con la misma intención de aumentar la capacidad proliferativa, está la exageración de los pliegues del epitelio basal, con formación de auténticas papilas de epitelio escamoso^{53,79-81}.

Esta respuesta inmediata conduce a la curación en el 40% de los casos o mantiene una situación de esofagitis escamosa crónica en otro 50% de los mismos. Sin embargo, alrededor del 10% de los pacientes sufre el proceso metaplásico que caracteriza al EB.

Histogénesis

La histogénesis del EB es todavía mal conocida, siendo varias las teorías que se han barajado en los últimos años^{5,12,53,59,66,82,83}.

En el pasado se especuló sobre la posible emigración ascendente de células del epitelio columnar gástrico, con intención reparadora. Un punto de vista alternativo apuntó a que el origen del EB podría estar en restos embrionarios de epitelio columnar ectópico.

Sin embargo, la hipótesis más aceptada, en el momento actual, es que el epitelio metaplásico del EB se origina a partir de células germinales pluripotentes (*stem cells*) digestivas, situadas en el estrato basal del epitelio escamoso denudado, con el que comparte un perfil parecido de citoqueratinas⁸³. Este hecho explicaría mejor la pluralidad de fenotipos celulares exhibido por la mucosa metaplásica (células mucosecretoras con mucinas neutras o ácidas, células caliciformes intestinales, células parietales y principales de tipo gástrico, células de Paneth y enteroendocrinas, etc.). Avalan esta hipótesis estudios histoquímicos de citoqueratinas, análisis ultraestructurales y trabajos experimentales^{66,84,85}.

Se supone que los «factores tróficos» responsables del cambio metaplásico están contenidos en el propio reflujo duodenogástrico y quizá en otros componentes de la luz esofágica⁸¹. Es también posible que la transformación papilar del epitelio escamoso, en la fase de esofagitis de reflujo, coloque en posición más superficial, y por lo tanto más accesible, a las células germinales pluripotenciales que son seleccionadas para expresar el fenotipo glandular del EB.

No obstante, lo que no está claro es qué fuerza biológica es la que «determina y dirige» el sentido de la diferenciación celular en cada caso y en cada parcela geográfica de la mucosa de Barrett.

Algún grupo de investigadores⁸¹ ha defendido la idea de que el tipo histológico de metaplasia depende de las características dominantes del reflujo. Así, cuando el reflujo es predominantemente acidopéptico, el modelo metaplásico sería preferentemente gastrosímil, resistente a este tipo de

reflujo. Cuando predomina la bilis en dicho reflujo (y existe una infección gástrica por *Helicobacter pylori*) se originaría una línea celular de tipo intestinal, resistente a la bilis. Por el contrario, cuando aquel reflujo es mixto (duodenal y gástrico) entonces el epitelio metaplásico se decidiría por un patrón histológico en mosaico. El efecto lesivo de los ácidos biliares se realiza mejor a pH neutro o alcalino, como hemos comentado con anterioridad, por lo que la metaplasia intestinal incompleta se realiza en las zonas alejadas del estómago y más cercanas a la boca⁴⁶, donde el pH es neutro o alcalino, gracias al efecto alcalinizante de la saliva.

Otros investigadores⁷⁵ han propuesto la idea de que la primera «dirección» de la metaplasia del EB se realiza hacia el epitelio mucosecretor sin otras células específicas (ni fúndicas ni intestinales). Este fenotipo parece corresponder a la definición que en su día realizó Hayward⁸⁶ de la mucosa cardial, y posteriormente Paull et al⁴⁶ del EB «tipo cardial». Según aquel grupo de investigadores, cualquier otro tipo de mucosa glandular que se encuentre en el EB procedería de este tipo inicial de metaplasia, con la adquisición de células especializadas intestinales (células calciformes) o fúndicas (células parietales y principales). Cuando el reflujo es de «bajo nivel» se produciría una metaplasia fúndica y, por el contrario, cuando dicho reflujo es de «alto nivel» se pondría en marcha una intestinalización progresiva del epitelio columnar con aparición de células calciformes bien definidas.

Ninguna de las dos hipótesis histogénicas comentadas en las líneas anteriores repugna a la lógica, aunque no existe ninguna demostración de la veracidad de las mismas. Lo único que parece cierto es que en la enfermedad por RGE la unión escamoso-columnar emigra cefálicamente y la extensión de este desplazamiento guarda relación positiva con la severidad del reflujo, y no sería tampoco imposible que fuese el azar quien dirigiese la diferenciación polivalente de aquellas células germinales.

Sea como fuere, se fabricaría un complejo tapiz, protector del reflujo duodenogastroesofágico, elaborado con retales de varios tejidos glandulares, entre los que dominan los de estructura celular y citoquímica intestinosímil.

DESDE LA METAPLASIA AL ADENOCARCINOMA

Los pacientes con EB tienen un riesgo de desarrollar un adenocarcinoma de esófago de 30 a 50 veces mayor que el de la población general, por lo que se considera la metaplasia columnar, concretamente de tipo intestinal, como una condición premaligna. Esta metamorfosis se realiza a través de estadios morfológicos intermedios de displasia, de bajo y alto grado, teniendo presente que en el tracto gastrointestinal la displasia epitelial debe considerarse como una «transformación inequívocamente neoplásica», confinada dentro de las fronteras de la membrana basal, siempre que se pueda descartar su carácter «reactivo» a inflamación local (seudodisplasia)⁵². Se estima que, en conjunto, la prevalencia de imágenes displásicas en el momento del diagnóstico del EB alcanza al 10-20% de

los casos y terminan en el último estadio de adenocarcinoma convencional un 3-4% de los pacientes; esta tasa es bastante inferior a la que se manejó hace pocos decenios (más del 8%). Igualmente, se aceptaba hace pocos años una incidencia anual media de un adenocarcinoma por cada 100 pacientes de EB. Sin embargo, se apunta que una incidencia del 0,5% es una cifra más realista¹⁸.

Desde hace un cuarto de siglo ha ido ganando crédito la idea de que la oncogénesis es un proceso secuencial multifásico que se desarrolla por la interacción de una inestabilidad genómica junto a una actividad proliferativa anormal. Esta interacción predispone a la adquisición progresiva de nuevas alteraciones genéticas, por parte de una célula somática, que se transmiten con carácter clonal^{87,88}.

En este apartado resumiremos los datos conocidos en la actualidad sobre la manera en que se realiza la secuencia metaplasia-neoplasia en el EB^{7,12,14,52,89,90}, y lo haremos desde dos enfoques diferentes: el de la biología celular y el de la biología genético-molecular.

Biología celular

En estos últimos años, los investigadores han utilizado diversos métodos para estudiar la situación citodinámica de un tejido tumoral. Con técnicas inmunohistoquímicas se han identificado estructuras antigénicas relacionadas con la actividad proliferativa (Ki-67, PCNA, etc.). Por otra parte, con técnicas de citometría de flujo, aplicadas a poblaciones celulares neoplásicas, se ha podido conocer la distribución de las mismas a lo largo de diferentes compartimientos del ciclo generativo. También ha sido posible, con esta última metodología, cuantificar los cambios en el contenido del ADN nuclear y, con ello, detectar subpoblaciones aneuploides.

A continuación resumiremos los hallazgos aportados por aquellas técnicas aplicadas al estudio de la biología celular de la mucosa de Barrett, en sus diferentes escalones evolutivos (metaplasia simple, displasia de «bajo grado», displasia de «alto grado» y adenocarcinoma)^{7,53,79,90-96}.

Un primer hallazgo citodinámico apunta a que el primer estadio del EB podría ser una expansión del compartimiento proliferativo hacia áreas más superficiales de la nueva mucosa, con reclutamiento de células quiescentes (G0).

Esta actividad hiperproliferativa parece sensiblemente mayor en la metaplasia tipo intestinal que en las metaplasias gastrosímiles (fúndica o cardial). Por otra parte, esta situación citodinámica acelerada es progresivamente creciente desde la fase de metaplasia intestinal simple a la fase adenocarcinomatosa, pasando por situaciones dinámicamente intermedias en los estadios displásicos de bajo y alto grado.

Se ha detectado, en un subgrupo de pacientes, un incremento de la fracción de células en fase G2/4N del ciclo, que fue progresivamente creciendo desde situaciones de metaplasia sin atipias hasta los estadios de displasia/neoplasia. Este hallazgo parece traducir una situación de

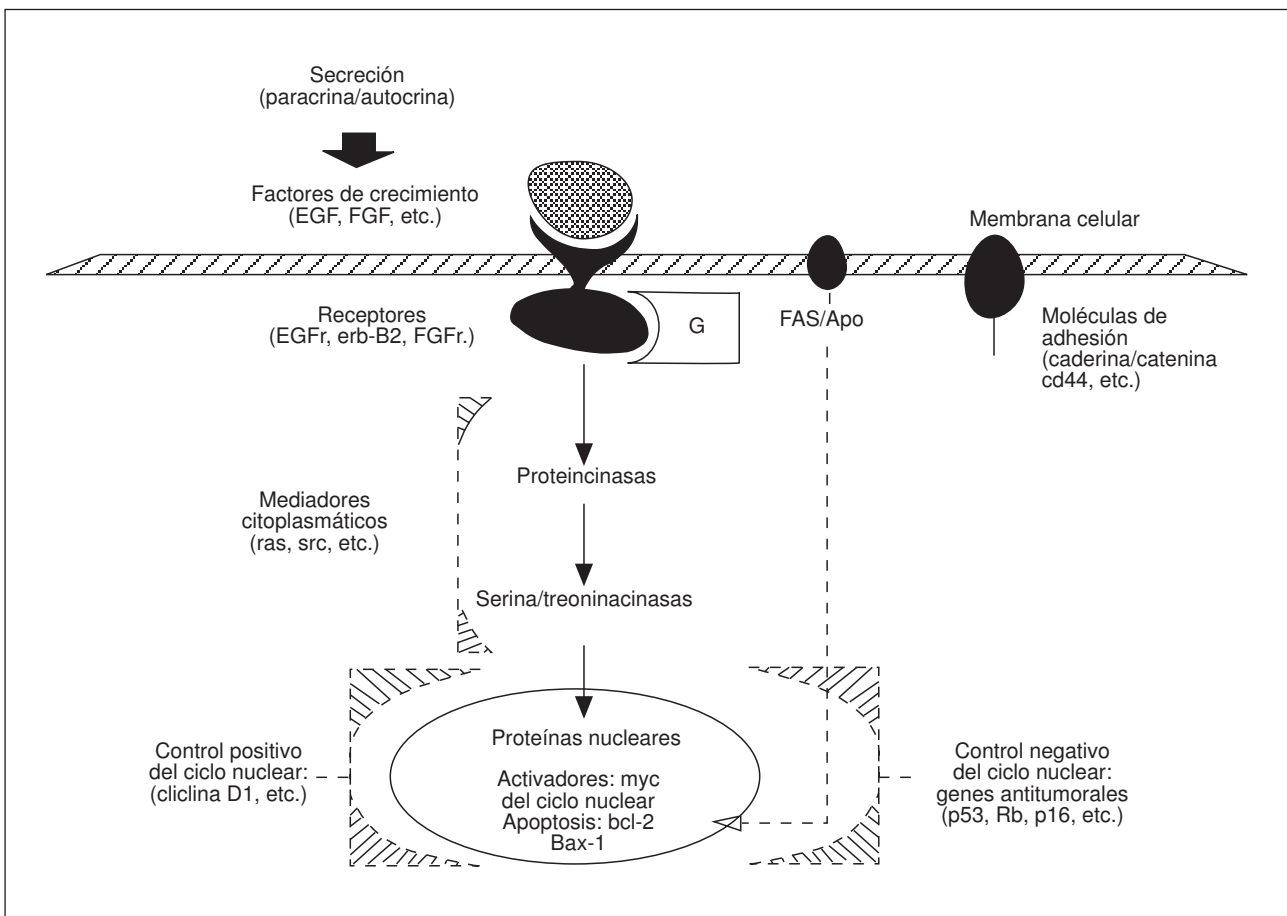


Fig. 1. Factores de crecimiento, oncogenes, genes antitumorales y moléculas de adhesión implicados en la tumorigénesis del esófago de Barrett.

«paro citodinámico» y acumulación celular en el espacio de reposo postsintético (G2), donde se acumulan células tetraploides, con el fin de dar tiempo a reparar alteraciones genéticas del ADN, antes de la siguiente mitosis.

Por último, la citometría de flujo ha permitido demostrar también una tasa progresivamente creciente de aneuploidía nuclear a lo largo de los cuatro escalones de la secuencia carcinogénica del EB.

Cuando se ha investigado en profundidad la distribución de las anomalías del ADN en la mucosa de Barrett se ha encontrado a veces varios clones aneuploides en áreas con displasia y adenocarcinoma asociados. Ello sugiere, como mínimo, que el genoma de las células metaplásicas es altamente inestable y, con un poco de imaginación y atrevimiento, quizá se podría sugerir la posible expansión multicéntrica de más de un clon celular transformado, al menos en algunos casos.

Biología molecular

A continuación resumiremos las alteraciones moleculares, de base genética o extragenética, que se han encontrado en la secuencia patodinámica que nos ocupa^{53,80,89,90,97-99}, desde tres enfoques: a) comportamiento de

protooncogenes y factores de crecimiento, cohesión intercelular y organización intracelular; b) situación de los genes supresores de tumor, y c) participación de los genes reparadores del ADN.

Protooncogenes, factores de crecimiento, cohesión y organización

En el genoma celular de los seres vivos existe una serie de estructuras nucleotídicas que, en condiciones normales, codifican proteínas implicadas en funciones de proliferación, diferenciación, cohesión intercelular, organización intracelular y muerte celular programada (apoptosis). Estas proteínas ejercen aquellas funciones comportándose como factores de crecimiento, receptores de membrana de estos factores, traductores intracelulares de señales, proteínas de acción nuclear, moduladores de la expresión de otros genes, proteínas adhesivas, etc.

Algunas de estas estructuras genéticas se encontraron inicialmente en el genoma de virus ARN (retrovirus) y se las hizo responsables de los tumores que dichos virus provocan en aves y pequeños roedores, por lo que se denominaron oncogenes virales. Sus equivalentes normales en el reino animal, y entre ellos en el hombre, recibieron por esta razón la denominación de protooncogenes.

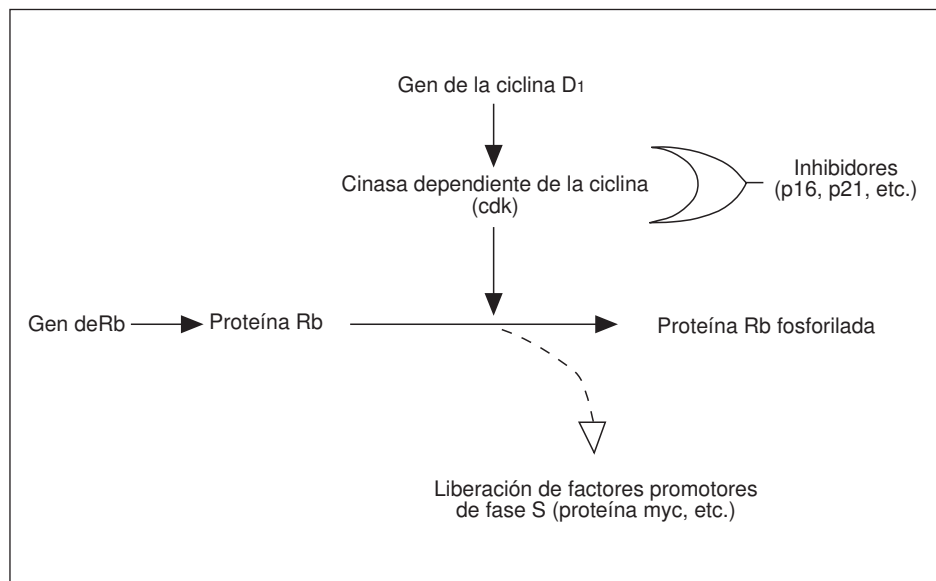


Fig. 2. Interrelación entre las proteínas codificadas por los genes de la ciclina D1 y del retinoblastoma.

Con el tiempo se ha conocido que algunos de estos protooncogenes se pueden «activar» dando lugar, en los seres humanos, a auténticos oncogenes celulares de estructura muy parecida a la de sus equivalentes virales. Esta «activación» se realiza a través de acontecimientos genéticos generalmente limitados a uno de los alelos o copias del mismo, por tratarse de genes dominantes (mutaciones, traslocaciones, amplificaciones, etc.). Esto provoca un incremento de la síntesis de sus proteínas respectivas con un estímulo proliferativo potencialmente tumorigénico.

Algunos de aquellos oncogenes están implicados con claridad en la patogenia de procesos neoplásicos humanos y muy probablemente participan en la secuencia carcinogénica del EB^{14,88,90,98}, como a continuación comentaremos. Sin embargo, conviene puntualizar que no siempre la hiperexpresión de aquellas proteínas (fundamentalmente en los factores de crecimiento y las moléculas de adhesión), detectadas en la secuencia oncogénica del EB, responde a un acontecimiento genético mutacional, sino más bien a una respuesta extragenética de naturaleza fisiopatológica reactiva (fig. 1).

El protooncogén *erb-B2* (situado en el cromosoma 7p) codifica normalmente una glucoproteína de membrana homóloga, aunque diferente, al receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFr). Se ha encontrado hiperexpresión aberrante de aquella proteína como consecuencia de amplificación génica, en diversos adenocarcinomas humanos y, entre ellos, en una proporción variable (10-70%) de adenocarcinomas esofágicos, como un acontecimiento tardío en la malignización del EB^{98,100}.

Los protooncogenes de la familia *ras*, en sus tres isoformas (*K-*, *H-*, *N-*) (cromosoma 12p) codifican normalmente proteínas que realizan funciones de transducción intracitoplasmática de señales, a partir de una actividad de trifosfatasa de guanosina (parecida a la de la proteína G submembranaria), que hidroliza la GTP a GDP. La activación de alguno de estos protooncogenes estimula la proliferación celular, y con ello contribuye a la realiza-

ción de numerosos tumores. Sin embargo, su participación en la oncogénesis del EB parece ser escasa en la fase inicial y sólo en algunos casos se ha detectado posibles alteraciones genéticas del *H-ras* y *N-ras* en la fase tardía^{99,101}.

La familia de genes *src* (cromosoma 1p) codifica normalmente un grupo de proteínas de actividad enzimática proteincinasa, que se comportan también como mediadores citoplasmáticos de señales de proliferación y diferenciación celular. Existe evidencia de la participación de los oncogenes *src* en diversos tumores y se ha encontrado hiperexpresión de sus proteínas en el EB (tres veces lo normal) y en el adenocarcinoma esofágico (seis veces lo normal). Este hecho parece indicar que la activación de este protooncogén es anterior a la transformación displásica de este proceso^{98,100}.

El protooncogén *myc* (cromosoma 8q) codifica fisiológicamente una proteína de acción nuclear directa que, al impedir que las células entren en fase quiescente (G0), estimula la proliferación celular. La hiperexpresión de esta proteína puede ser consecuencia de acontecimientos genéticos directos (translocaciones, amplificaciones genéticas, etc.) o de mecanismos no propiamente mutacionales conducidos por la cascada de fosforilación citoplasmática (proteincinasas, serina/treoninacinasas). No se ha encontrado proteína *myc* en el tejido mucoso de la metaplasia simple del EB pero, en cambio, se ha detectado hiperexpresión de la misma en todos los grados de displasia del EB y en el adenocarcinoma esofágico^{98,101}.

El gen de la ciclina *D1* (cromosoma 9p) es un candidato a protooncogén. Normalmente codifica la síntesis de una proteína que se comporta como una subunidad de la enzima cinasa ciclina-dependiente (cdk), necesaria para la fosforilación de la proteína Rb (retinoblastoma), como veremos más adelante. Esta fosforilación libera de dicha proteína Rb efectores de la fase S del ciclo nuclear (p. ej., la proteína *myc*) que lleva adheridos y con ello activa la proliferación celular (fig. 2). Se ha encontrado hiperex-

presión del gen de la ciclina D1 en un 40% de las muestras de mucosa de Barrett, tanto displásicas como no, por lo que parece ser un acontecimiento precoz en la carcinogénesis que estamos analizando¹⁰².

A diferencia de los protooncogenes que hemos considerado hasta el momento, el gen *bcl-2* (cromosoma 18q) codifica una proteína que desde el núcleo regula la muerte celular programada, frenando la apoptosis que es favorecida, en cambio, por el gen *bax-1*. En condiciones fisiológicas, existe un discreto predominio del gen *bax-1* sobre el *bcl-2*, en la balanza de fuerzas apoptóticas. Algunos autores han encontrado hiperexpresión progresivamente decreciente de la proteína *bcl-2* en el trayecto tumorigénico del EB. Así, se ha objetivado esta hiperexpresión en el 100% de los casos de displasias de «bajo grado» y en el 20-40% de los adenocarcinomas esofágicos. Este hecho avala un fracaso progresivo de los mecanismos antitumorales apoptóticos a lo largo del proceso de malignización del EB¹⁰³.

Otra molécula involucrada en la apoptosis, pero esta vez desde una localización transmembrana, es la proteína FAS/Apo 1. La pérdida de expresión de la misma, durante los procesos tumorales, podría interrumpir la vía apoptótica de defensa antitumoral. Sin embargo, se ha observado de manera reciente, en un colectivo amplio de muestras de EB, que esta proteína era prácticamente indetectable en áreas de metaplasia simple, mientras que se incrementaba sensiblemente su expresión en áreas con «alto grado» de displasia y en zonas carcinomatosas^{99,104}. Este hallazgo podría interpretarse como un intento celular de neutralizar la proliferación tumoral facilitando la llegada de señales apoptóticas.

Existen algunos factores de crecimiento celular, como el EGF (*epidermal growth factor*), el FGF (*fibroblastic growth factor*) y el TGF-beta (*transforming growth factor*) involucrados en la proliferación y diferenciación celular, a través de sus respectivos receptores de membrana. Se ha encontrado expresión inmunohistoquímica de estas proteínas en la mucosa de Barrett, con una acumulación progresivamente creciente a lo largo de los clásicos escalones de la secuencia tumorigénica. Este hecho apoya la idea de una regulación proliferativa de dicha mucosa, de carácter probablemente paracrina o autocrina, no dependiente de acontecimientos mutacionales de sus genes respectivos^{52,79,80,97}.

También se ha objetivado una ampliación del gen receptor de una de aquellas proteínas (*EGFr*), en un tercio de los adenocarcinomas esofágicos, generalmente unida a una amplificación sinérgica del gen *erb-B2*.

Las células epiteliales mantienen su cohesión dentro de los tejidos gracias a moléculas de adhesión. Entre ellas destaca la familia de las caderinas, que son glucoproteínas transmembrana Ca^{++} dependientes y, dentro de ésta, la proteína mejor conocida como responsable de la cohesión de las células cancerosas es la caderina-E. La parte intracitoplasmática de la caderina-E forma complejos moleculares con las diversas cateninas (alfa, beta y gamma), esenciales para la función adhesiva. Una disminución en la actividad de ambas familias de proteínas (caderinas/ca-

teninas) podría desempeñar un papel patogénico en la fase de diseminación carcinomatosa. Así parece ocurrir en una elevada proporción de carcinomas esofágicos (70%), aunque se desconoce el significado genético o epigenético de este hallazgo molecular^{99,105}.

Otro grupo de moléculas de adhesión, la familia de las proteínas CD44 (involucrada en el *homing* linfocitario y en las interacciones de la matriz extracelular), interviene en los mecanismos de invasión y diseminación tumorales. Se ha detectado transcritos anormales de alguna de estas moléculas en una proporción creciente de casos de EB, a medida que avanza la malignización del mismo, lo que hace pensar en su participación patogénica en los estadios finales del proceso¹⁰⁶.

Durante el proceso de invasión y metástasis tumoral, las células neoplásicas deben degradar la matriz extracelular que las sujeta; mediadores importantes de esta degradación son las serina-proteasas. En el adenocarcinoma esofágico se han encontrado valores elevados de activador del plasminógeno⁹⁹.

Por último, se han encontrado en el epitelio de Barrett defectos en la expresión de la proteína *rab11*, involucrada normalmente en la organización intracelular de organelas (polaridad celular)⁹⁹.

Genes supresores de tumor

Un segundo grupo de genes codifica proteínas que se comportan como antiproliferativas y, por tanto, como antitumorales. Por ello actúan, en condiciones normales, como genes supresores de tumor. La inactivación de los mismos facilita la carcinogénesis en general y, dado el comportamiento recesivo de los mismos, se requiere habitualmente para ello la mutación inicial de uno de los alelos y la delección posterior del alelo residual, de acuerdo con la «teoría de los dos golpes» de Knudson.

Es un hecho bien conocido la participación de estos genes inactivados en la secuencia tumorigénica del EB^{89,90,98,107}, como a continuación comentaremos.

El gen *p53* (cromosoma 17p) codifica, en condiciones normales, una proteína de acción nuclear que funciona como «guardián del genoma». Cualquier lesión del ADN estimula la expresión de la proteína *p53* y, con ello, impide la entrada de las células en ciclo, en el «punto de control G1», con lo que da tiempo a que se repare el ADN; en caso de que no se logre dicha reparación, la proteína *p53* «empuja» a la célula diana por el sano camino de la apoptosis^{99,103,107-111}.

El péptido funcionalmente deficiente que codifica un alelo del gen *p53* mutado disfruta de una vida media más prolongada que la de la proteína normal, por lo que con técnicas inmunohistoquímicas se detecta mejor en el núcleo celular. De aquí que, con esta metodología sencilla, toda «expresión tisular» de esta proteína se suele interpretar como sinónimo de mutación del gen *p53*. Sin embargo, es la técnica molecular de secuenciación del ADN la manera más segura de demostrar aquel acontecimiento. Tanto con una técnica como con otra se ha encontrado sospecha o evidencia de alteración genética del *p53* en

muchos tumores y también a lo largo de la malignización del EB, con frecuencia creciente desde la fase de metaplasia simple (11%) al estadio adenocarcinomatoso (64%)¹¹².

Por otra parte, no se ha encontrado delección alélica del cromosoma 17p en muestras de epitelio no displásico de EB, mientras que se ha logrado objetivar esta delección en el 90% de los adenocarcinomas esofágicos. Todas estas observaciones sugieren que la inactivación del p53 es un acontecimiento relativamente precoz en la secuencia carcinogénica que nos ocupa^{107,113-116}.

La inactivación del gen *p53* dejaría a las células abandonadas a una estimulación sin freno por parte de factores de crecimiento localmente segregados (EGF, FGF, TGF-beta, etc.), por parte de proteínas codificadas por oncogenes (*erb-B2*, *ciclina D1*, etc.), al mismo tiempo que se cerraría el camino de la apoptosis.

Deleciones en el cromosoma 5q se observan con cierta frecuencia en neoplasias gastrointestinales, fundamentalmente en el cáncer colorrectal. En esta región (concretamente en la 5q 2.1) están ubicados los genes supresores de tumor APC (*adenomatous polyposis coli*) y MCC (*mutated in colorectal carcinoma*). En el 60% de los adenocarcinomas esofágicos se ha encontrado este tipo de pérdida alélica, cosa que no ocurre en los escalones pretumorales. Sin embargo, es posible que la «diana» de estas deleciones en el cáncer de Barrett sea un tercer gen supresor de tumor, el IRF-1 (*interferon regulator factor 1*), localizado en la región 5q 3.1.

Por otra parte, en un 40% de los adenocarcinomas esofágicos se han objetivado también deleciones alélicas en el cromosoma 18q. Concretamente en la región 18q 2.1 se encuentran localizados otros dos genes supresores de tumor, el gen DCC (*deleted in colorectal carcinoma*) y el gen DPC-4 (*deleted in pancreatic carcinoma*). Aunque la inactivación de estos genes desempeña un papel patogénico en ciertos carcinomas digestivos, se desconoce si ocurre lo mismo en la progresión neoplásica del EB.

En el cromosoma 13q está localizado otro gen supresor de tumor, el gen *Rb* (retinoblastoma), que en situación fisiológica codifica una proteína cuya actividad antiproliferativa depende de su capacidad de ligar, y por tanto «bloquear», factores promotores de la fase S del ciclo nuclear (proteína *myc*, etc.). De esta manera, se comporta como una proteína antitumoral. Y las cosas siguen así mientras aquella proteína RB no es fosforilada por la cinasa dependiente de la ciclina (*cdk*) codificada a su vez por el protooncogén *ciclina D1*, como hemos comentado anteriormente (fig. 2).

Se han encontrado pérdidas alélicas en el cromosoma 13q en un 40% de los adenocarcinomas esofágicos y en una proporción menor de casos no se ha encontrado expresión inmunohistoquímica de la proteína Rb. Todo ello sugiere una posible implicación de este gen en la metamorfosis neoplásica del EB¹⁰⁴.

Otro gen supresor de tumor es el gen *pl6* o *MTS1*, situado en el cromosoma 9p, que codifica normalmente una proteína inhibidora de la enzima cinasa dependiente de la ciclina (*cdk*) (fig. 2). La inactivación monozigótica de este gen favorece el crecimiento celular incontrolado. En estu-

dios recientes se ha encontrado pérdidas alélicas del cromosoma 9p, así como mutaciones de este gen, en una amplia proporción de adenocarcinomas esofágicos y en una proporción menor de epitelios de Barrett premalignos. Es posible que la inactivación de este gen sea un acontecimiento involucrado en la progresión neoplásica del EB⁹⁹.

El gen *FHIT* (*fragile histiline triad*), situado en el cromosoma 3p, es un candidato a gen supresor de tumor, que codifica normalmente una proteína que protege ciertos puntos frágiles del genoma, especialmente predispuestos a sufrir aberraciones cromosómicas (translocaciones o deleciones), bajo el efecto de tóxicos mutagénicos. Se han encontrado alteraciones del ARN de este gen en más del 80% de los casos de EB y en más del 90% de los adenocarcinomas esofágicos. Por otra parte, sólo se han objetivado deleciones homocigotas de este gen en el caso de adenocarcinomas invasores. Por todo ello, se sospecha un posible papel patogénico de este gen en la secuencia patodinámica del EB⁹⁹.

Genes reparadores del ADN «desparejado»

Una tercera familia de nucleótidos implicados en la defensa antitumoral la forman los genes responsables de la reparación del ADN (*DNA mismatch repair*). En condiciones normales, la enzima ADN-polimerasa empareja adecuadamente las bases purínicas y pirimidínicas. De vez en cuando falla dicho emparejamiento, lo que propicia un acontecimiento mutacional, a través de una situación de inestabilidad genómica, si no se repara rápidamente. Ésta es la misión de una serie de proteínas que actúan de manera coordinada y secuencial, codificadas por una serie de genes reparadores del ADN «desparejado».

En los seres humanos se han identificado varios de estos genes: el gen *MSH2* (cromosoma 2p), el gen *MLH1* (cromosoma 3p), el gen *PMS1* (cromosoma 2q), el gen *PMS2* (cromosoma 7p), etc.

La inactivación de estos genes, por su comportamiento también recesivo, necesita de una lesión en ambos alelos (mutaciones y/o deleciones), como ocurre en los genes supresores de tumor, y se suele sospechar por el fenómeno genético-molecular de la llamada «inestabilidad de microsátélites».

En algunos carcinomas digestivos (cáncer colorrectal, etc.), parece que la inactivación de alguno de estos genes es un factor patogénico importante. Sin embargo, aunque se ha encontrado «inestabilidad de microsátélites» en un tercio de los adenocarcinomas esofágicos, este fenómeno ocurre solamente en focos localizados y suele ser poco expresivo. Por ello, no parece que este tipo de genes desempeñe un papel importante en el problema que nos ocupa.

INTEGRACIÓN DE HALLAZGOS PATOGENICOS

Desde factores tróficos, hoy por hoy desconocidos, que probablemente forman parte del reflujo duodenogastroesofágico, se pone en marcha la metaplasia columnar del EB en uno de cada 10 pacientes afectados de una esofagi-

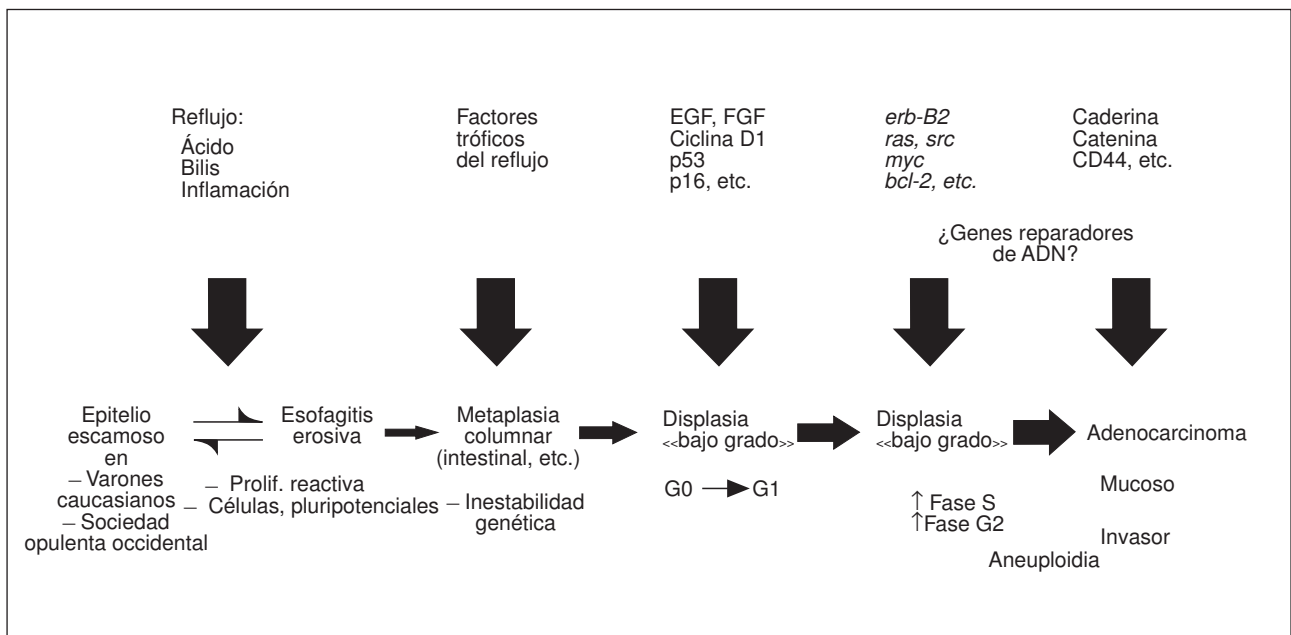


Fig. 3. Esófago de Barrett: correlación entre acontecimientos biológico-moleculares y progresión histológica.

tis crónica de reflujo. Parece que en este grupo de enfermos podrían ser más acusadas las circunstancias que determinan o acompañan a aquel reflujo, aunque no se puede descartar la existencia de otros factores (intrínsecos o ambientales) que estimulen la diferenciación columnar de las células germinales pluripotentes digestivas, una vez denudadas de su epitelio escamoso normal. De todas maneras, sigue siendo una incógnita qué fuerzas son las que determinan el nacimiento de la metaplasia de Barrett y el sentido de su diferenciación histológica.

No existe ninguna sospecha de que la metaplasia columnar que caracteriza al EB sea, desde el principio, un acontecimiento celular de naturaleza clonal. Sin embargo, existen pocas dudas de que este epitelio, al menos en su variedad especializada intestinosímil, exhibe desde el principio dos características biológicas importantes: una actividad citodinámica elevada (en respuesta probable a estímulos locales paracrinos o autocrinos) y, por otra parte, un grado notable de inestabilidad genética, probablemente debida a su propia inmadurez y a su ubicación atípica.

Ambas características –anormal actividad proliferativa e inestabilidad genómica– son condiciones básicas para que se ponga en marcha, en una fracción de los casos, el proceso secuencial y multifásico de la oncogénesis adenocarcinomatosa^{87,88}. Y esto es así en la medida en que todo lo que es persistentemente mitogénico puede llegar a ser potencialmente mutagénico¹¹⁷. Y, por otra parte, en la medida que la citada inestabilidad genética hace especialmente sensible al epitelio metaplásico de tipo intestinal, no sólo a su propia hiperactividad citodinámica, sino también al efecto mutagénico de tóxicos ambientales endógenos o exógenos (componentes del reflujo, oxirradicales generados

en la inflamación de la lámina propia de la mucosa de Barrett, tóxicos alimentarios o de otra naturaleza, etc.).

Por uno u otro camino –o por ambos a la vez– se pueden ir generando y acumulando cambios somáticos autopertuables que provoquen la progresiva «cancerización» del componente intestinal del epitelio metaplásico. Todo ello da lugar, en un momento determinado, a una expansión celular monoclonal –y a veces oligoclonal multicéntrica– que tiende a ocupar áreas cada vez mayores de aquel epitelio columnar^{118,122}.

La malignización biológica del EB suele acompañarse de grados morfológicos de displasia, más o menos evidentes. Al principio nos encontramos ante clones celulares neoplásicos de crecimiento intraepitelial. Pero a medida que se van acumulando determinadas alteraciones genético-moleculares, se va dibujando con mayor claridad el «fenotipo maligno» del clon neoplásico protagonista. Esto le permite sobrepasar la membrana basal (adenocarcinoma intramucoso) y posteriormente desbordar la barrera de la *muscularis mucosae* (adenocarcinoma invasor)¹²³.

Poco a poco se van ajustando las piezas de la secuencia patogénica, de la que hemos hablado en los dos últimos apartados, y con ello se va construyendo un «modelo secuencial» teórico en el que se correlacionan tímidamente acontecimientos citodinámicos y moleculares, por una parte, con los escalones histopatológicos evolutivos del EB (fig. 3).

De todas formas, sigue siendo una incógnita la íntima significación biológica de esta manera tan peligrosa de «reparar» una esofagitis crónica por reflujo con un epitelio metaplásico potencialmente premaligno, lo que convierte este intento de «curación» en una desafortunada complicación cargada de riesgos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Barrett NR. Chronic peptic ulcer of the esophagus. *Br J Surg* 1950;38:175-82.
2. Barrett NR. The lower esophagus lined by columnar epithelium. *Surgery* 1957;41:881-94.
3. Tileston W. Peptic ulcer of esophagus. *Am J Med Sci* 1906;132:240-65.
4. Spechler SJ, Goyal RK. Barrett's esophagus. *N Engl J Med* 1986;315:362-71.
5. Polepalle SC, McCallum RW. Barrett's esophagus. Current assessment and future perspectives. *Gastroenterol Clin North Am* 1990;19:733-44.
6. Phillips RW, Wong RKH. Barrett's esophagus. Natural history, incidence, etiology and complications. *Gastroenterol Clin North Am* 1999;20:791-816.
7. Reid BJ. Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma. *Gastroenterol Clin North Am* 1991;20:817-34.
8. Spechler SJ. Barrett's esophagus. *Semin Oncol* 1994;21:431-7.
9. Bremner CJ, Bremner RM. Barrett's esophagus. *Surg Clin North Am* 1997;77:1115-37.
10. Fennerty MB. Barrett's esophagus: what do we really know about this disease? *Am J Gastroenterol* 1997;92:1-3.
11. Falk GW, Richter JE. Reflux disease and Barrett's esophagus. *Endoscopy* 1998;30:61-72.
12. Pera M, Duranceau A, Pera A, Rodés J, Malagelada JR, Pajares JM, et al. Esófago de Barrett. En: Vilardell F, et al, editores. *Enfermedades digestivas*. Tomo I. Madrid: Biblioteca Aula Médica, 1998; p. 351-65.
13. Castell DO, Katzka DA. Barrett's esophagus: continuing questions and controversy. *Gastrointest Endosc* 1999;49:5-8.
14. Polkowsky W, Van Lanschot JJB, Offerhaus GJA. Barrett's esophagus and cancer: pathogenesis, carcinogenesis and diagnostic dilemmas. *Histol Histopathol* 1999;14:927-44.
15. Ertan A, Younes M. Barrett's esophagus. *Dig Dis Sci* 2000; 63:1670-3.
16. Salis GB, Chiocca JC, García A, Mazzadi S. Epitelio de Barrett: revisión clínica. *Acta Gastroenterol Latinoamer* 2000;30:127-39.
17. Van Eyken P. Definition of Barrett's esophagus. *Acta Gastroenterol Belg* 2000;63:10-2.
18. Spechler SJ. Barrett's esophagus: an overrated cancer risk factor. *Gastroenterology* 2000;119:587-9.
19. Morales TG, Sampliner RE, Bhattacharyya A. Intestinal metaplasia of the gastric cardia. *Am J Gastroenterol* 1997;92: 414-8.
20. De Meester SR, Campos GMR, De Meester TR, Bremner CG. The impact of an antireflux procedure on intestinal metaplasia of the cardia. *Am Surg* 1998;228:547-56.
21. Goldblum JR, Vicari JJ, Falk GW, Rice TM, Peek RM, Easley K. Inflammation and intestinal metaplasia of the gastric cardia: the role of gastroesophageal reflux and *H. pylori* infection. *Gastroenterology* 1998;114:633-9.
22. Spechler SJ. The role of gastric carditis in metaplasia and neoplasia at the gastroesophageal junction. *Gastroenterology* 1999;117:218-28.
23. Kazka DA. Barrett's esophagus: detection and management. *Gastroenterol Clin North Am* 1989;18:339-57.
24. Prach AT, Mac Donald TA, Horwood DA, Johnston DA. Increasing incidence of Barrett's esophagus: education or epidemiology. *Lancet* 1997;350:933.
25. Cameron AJ, Zinsmeister AR, Ballard DJ, et al. Prevalence of columnar-lined (Barrett's) esophagus. *Gastroenterology* 1990; 99:918-22.
26. Naef AP, Savary M, Ozzello L. Columnar-lined lower esophagus: an acquired lesion with malignant predisposition. *J Thoracic Cardiovasc Surg* 1975;70:826-35.
27. Cameron AJ, Otto BJ, Payne WS. The incidence of adenocarcinoma in columnar-lined (Barrett's) esophagus. *N Engl J Med* 1985;313:857-63.
28. Cameron AJ. Barrett's esophagus and adenocarcinoma: from the family to the gene. *Gastroenterology* 1992;102:1421-4.
29. Haggitt RC. Adenocarcinoma in Barrett's esophagus: a new epidemic? *Human Pathol* 1992;23:475-6.
30. Blot WJ, Devesa SS, Fraumeni JF. Continuing climb in rates of esophageal adenocarcinoma: an update. *JAMA* 1993;270: 1320.
31. Cameron AJ, Lomboy CT, Pera M, Carpenter A. Adenocarcinoma of the esophagogastric junction and Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 1995;109:1541-6.
32. Drowitz DJ, Sanpliner 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; 92:212-5.
33. Shahin W, Murray JA. Esophageal cancer and Barrett's esophagus. *Postgraduate Medicine* 1999;7:111-7.
34. Blot WJ, Devesa SS, Kneller RW, et al. Rising incidence of adenocarcinoma of the esophagus and gastric cardia. *JAMA* 1991;265:1287-9.
35. Falk GW. Unresolved issues in Barrett's esophagus in the new millennium. *Dig Dis* 2000;18:27-42.
36. Sampliner RE. Detecting, measuring and managing Barrett's esophagus: the complete endoscopist's dilemma. *Gastrointest Endoscopy* 1997;45:533-5.
37. Herlihy HJ, Orlando RO, Bryson JC, Bozymski EM, Carney CN, et al. Barrett's esophagus: clinical, endoscopic, histologic, manometric and electrical potential difference characteristics. *Gastroenterology* 1984;86:436-43.
38. Tytgat GN, Hameeteman W, Onstend R, et al. The spectrum of columnar-lined esophagus (Barrett's esophagus). *Endoscopy* 1991;21:177-85.
39. Ballinger PG, Hogan WJ, Bohorfoush AG, et al. Short segment Barrett's epithelium: prevalence and accuracy of endoscopic detection. *Gastrointest Endoscopy* 1993;39:271A.
40. Spechler SJ, Zeroogian JM, Antonioli DA, et al. Prevalence of metaplasia at the gastroesophageal junction. *Lancet* 1994; 344:1533-6.
41. Donahue D, Navab F. Significance of short-segment Barrett's esophagus. *J Clin Gastroenterol* 1997;25:480-4.
42. Nandurkar S, Talley NJ. Barrett's esophagus: the long and the short of it. *Am J Gastroenterol* 1999;94:30-40.
43. Mas R, Krämer M, Seifert E, Rippin G, Vieth M, Stolte M. Short Barrett: prevalence and risk factors. *Scand J Gastroenterol* 1999;34:1065-70.
44. Morson BC, Belcher JR. Adenocarcinoma of the esophagus and ectopic gastric mucosa. *Br J Cancer* 1952;6:127-30.
45. Allison PR, Johnstone AS. The esophagus lined with gastric mucous membrane. *Thorax* 1953;8:87-101.
46. Paull A, Trier JS, Dalton MD, et al. The histologic spectrum of Barrett's esophagus. *N Engl J Med* 1976;295:476-80.
47. Weinstein WM, Ippoliti AF. The diagnosis of Barrett's esophagus: goblets, goblets, goblets. *Gastrointest Endoscopy* 1996;44:91-5.
48. Krishnamurthy S, Dayal Y. Pancreatic metaplasia in Barrett's esophagus: an immunohistochemical study. *Am J Surg Pathol* 1995;19:1172-80.
49. Spechler SJ, Goyal RK. The columnar-lined esophagus, intestinal metaplasia and Norman Barrett. *Gastroenterology* 1996; 110:614-21.
50. Sampliner RE. Practice guidelines on the diagnosis, surveillance and therapy of Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol* 1998;93:1028-32.
51. Ter RB, Castell DO. Gastroesophageal reflux disease in patients with columnar-lined esophagus. *Gastroenterol Clin North Am* 1997;26:549-63.
52. Geboes K. Barrett's esophagus: the metaplasia-dysplasia-carcinoma sequence. *Acta Gastroenterol Belg* 2000;63:13-7.
53. Ransford RAJ, Jankowski JAZ. Genetic versus environmental interactions in the oesophagitis-metaplasia-dysplasia-adenocarcinoma sequence of Barrett's esophagus. *Acta Gastroenterol Belg* 2000;63:18-21.
54. Moersch RN, Ellis FH, McDonald JR. Pathologic changes occurring in severe reflux esophagitis. *Surg Gynecol Obstet* 1959;108:476-4.
55. Goldman MC, Boeckman RC. Barrett's syndrome: case report with discussion about concepts of pathogenesis. *Gastroenterology* 1960;39:104-10.
56. Mossberg SN. The columnar-lined esophagus - an acquired condition? *Gastroenterology* 1966;50:671-6.
57. Burgess JN, Payne WS, Andersen HA, et al. Barrett's esophagus: the columnar epithelial-lined lower esophagus. *Mayo Clin Proc* 1971;46:728-34.
58. Borrie J, Golwater L. Columnar cell-lined esophagus: assessment of etiology and treatment. A 22 year experience. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1976;71:825-34.

59. Bremner CG, Lynch VP, Ellis FH. Barrett's esophagus: congenital or acquired? An experimental study of esophageal mucosa regeneration in the dog. *Surgery* 1970;68:209-16.
60. Hamilton SR, Yardley JH. Regeneration of cardiac type mucosa and acquisition of Barrett's mucosa after oesophagogastrectomy. *Gastroenterology* 1997;72:669-75.
61. Katzka DA, Rustgi AK. Gastroesophageal reflux disease and Barrett's esophagus. *Med Clin North Am* 2000;84:1137-61.
62. Meyer M, Vollmar F, Barr W. Barrett's esophagus following total gastrectomy. *Endoscopy* 1979;2:121-6.
63. Sandvik AK, Halvorsen TB. Barrett's esophagus after total gastrectomy. *J Clin Gastroenterol* 1998;10:587-8.
64. Kauer WK, Peters JH, De Meester TR, Ireland AP. Mixed reflux of gastric and duodenal juices is more harmful to the esophagus than gastric juice alone. *Ann Surg* 1995;222:525-31.
65. Vaezi MF, Richter JE. GERD, DGER or both in Barrett's esophagus? *Gastroenterology* 1996;111:1192-9.
66. Gillen P, Keeling P, Byrne PJ, et al. Experimental columnar metaplasia in the canine oesophagus. *Br J Surg* 1988;75:113-5.
67. Pera M, Cardesa A, Bombi JA, et al. The influence of esophagojejunostomy on the induction of adenocarcinoma of the distal esophagus in Sprague-Dawley rats by subcutaneous injection of 2,6-dimethylnitrosomorpholine. *Cancer Res* 1989;49:6303-8.
68. Myneni N, Minocha A. Bile acids and esophageal injury: a resolution to the controversy? *Am J Gastroenterol* 1999;94:3649.
69. Trush A, Kensler TW. An overview of the relationship between oxidative stress and chemical carcinogenesis. *Free Radical Biol Med* 1991;10:201-9.
70. Olyae M, Sontag P, Salman W, et al. Mucosal reactive oxygen species production in oesophagitis and Barrett's esophagus. *Gut* 1995;37:168-73.
71. Abbas Z, Hussainy AS, Ibrahim F, et al. Barrett's esophagus and *Helicobacter pylori*. *J Gastroenterol Hepatol* 1995;10:331-3.
72. Henihan RDJ, Stuart RC, Nolan N, et al. Barrett's esophagus and the presence of *Helicobacter pylori*. *Am J Gastroenterol* 1998;93:542-6.
73. Werdmuller BFM, Loffeld RJLF. *Helicobacter pylori* infection has no role in the pathogenesis of reflux esophagitis. *Dig Dis Sci* 1997;42:103-5.
74. Romero Y, Locke GR. Is there a GERD gene? *Am J Gastroenterol* 1999;94:1127-8.
75. Chandasoma P. Pathophysiology of Barrett's esophagus. *Sem Thorac Cardiovasc Surg* 1997;9:270-8.
76. Oberg S, Clark GWB, De Meester TR. Barrett's esophagus. Update pathophysiology and management. *Hepatol Gastroenterol* 1998;45:1348-56.
77. Schweitzer EJ, Bass BL, Batzari S, Harmon JW, Young PM. Lipid solubilization during bile salt induced esophageal mucosal barrier disruption in the rabbit. *J Lab Clin Med* 1987;110:172-9.
78. Gillen P, Keeling P, Byrne PJ. Barrett's esophagus: pH profile. *Br J Surg* 1987;74:774-6.
79. Jankowski J, Tregaskis B, Coghill G, Grant A. Epidermal growth factor in oesophagus. *Gut* 1992;33:1448-53.
80. Jankowski J, Wright NA. Gene expression in the alimentary tract: the modulation of epithelial proliferation, differentiation and peptide transcription by growth regulatory peptides. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1992;11:78-85.
81. Jankowski J. Gene expression in Barrett's mucosa: acute and chronic adaptive responses in the oesophagus. *Gut* 1993;34:1649-50.
82. Thompson JJ, Zeinsser KR, Enterline HT. Barrett's metaplasia and adenocarcinoma of the esophagus and gastroesophageal junction. *Hum Pathol* 1983;14:42-6.
83. Salo J, Kivilaakso E, Virtanen I. Barrett's esophagus originates from the squamous esophageal epithelium as judged from its cytokeratin profile. *Gastroenterology* 1991;100:153A.
84. Shields HM, Zwas F, Antonioli DA, et al. Detection by scanning electron microscopy of a distinctive esophageal surface at the junction of squamous and Barrett's epithelium. *Dig Dis Sci* 1993;38:93-108.
85. Boch JA, Shields HP, Antonioli DA, et al. Distribution of cytokeratin markers in Barrett's specialized columnar epithelium. *Gastroenterology* 1997;112:760-5.
86. Hayward J. The lower end of the oesophagus. *Thorax* 1961;16:36-41.
87. Nowel PC. The clonal evolution of tumor cell populations. *Science* 1976;194:23-8.
88. Stoler AB. Genes and cancer. *Br Med Bull* 1991;47:64-75.
89. Jankowski JA, Wright NA, Meltzer SJ, Triadafilopoulos G, Geboes K, Casson AG, et al. Molecular evolution of the metaplasia-dysplasia-adenocarcinoma sequence in the esophagus. *Am J Pathol* 1999;154:965-73.
90. Werner N, Mueller J, Walch A, Höfler H. The molecular pathology of Barrett's esophagus. *Histol Histopathol* 1999;14:553-9.
91. McKinley MJ, Budman DR, Grueneberg D, et al. DNA content in Barrett's esophagus and esophageal malignancy. *Am J Gastroenterol* 1987;82:1012-20.
92. Reid BJ, Blount PL, Rubin CE, Levine DS. Flow-cytometric and histological progression to malignancy in Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 1992;102:1212-9.
93. Gray MR, Hall PA, Nash J, Ansari B, Lana DP, Wingsnorth AN. Epithelial proliferation in Barrett's esophagus by proliferating cell nuclear antigen immunolocalization. *Gastroenterology* 1992;103:1769-76.
94. Reid BJ, Sánchez CA, Blount PL, Levine DS. Barrett's esophagus: cell cycle abnormalities in advancing stages of neoplastic progression. *Gastroenterology* 1993;105:119-9.
95. Fennerty MB, Sampliner RE. Flow cytometry in Barrett's esophagus: when all is said and done, more is said than done! *Am J Gastroenterol* 1993;88:319-20.
96. Neshat K, Sánchez CA, Galipeau PC, et al. Barrett's esophagus: the biology of neoplastic progression. *Gastroenterol Clin Biol* 1994;18:71-6.
97. Jankowski J, Werner M, Hopwood D, et al. Abnormal expression of growth regulatory factors in Barrett's esophagus. *Clin Sci* 1991;81:663-8.
98. Jankowski J, Coghill G, Hopwood D, Wormsley KG. Oncogenes and onco-suppressor gene in adenocarcinoma of the esophagus. *Gut* 1992;33:1033-8.
99. Mueller J, Werner M, Siewert JR. Malignant progression in Barrett's esophagus: pathology and molecular biology. *Recent Results Cancer Res* 2000;155:29-41.
100. Hardwick RH, Shepherd NA, Moorghen P, et al. C-erb-B2 overexpression in the dysplasia-carcinoma sequence of Barrett's oesophagus. *J Clin Pathol* 1995;48:129-32.
101. Abdelatif OM, Chandler FW, Mills LR, et al. Differential expression of *c-myc* and *H-ras* oncogenes in Barrett's epithelium. *Arch Pathol Lab Med* 1991;115:880-5.
102. Arber N, Lighdale M, Rotterdam H, et al. Increased expression of the *cyclin D1* gene in Barrett's esophagus. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996;5:457-9.
103. Rioux-Leclercq N, Turlin B, Sutherland F, Heresbach N, Laundis B, Campion JP, et al. Analysis of *Ki-67*, *p53* and *bcl-2* expression in the dysplasia-carcinoma sequence of Barrett's esophagus. *Oncology Reports* 1999;6:877-82.
104. Coppola D, Schreiber RH, Mora L, Dalton W, Warl RC. Significance of Fas and retinoblastoma protein expression during the progression of Barrett's metaplasia to adenocarcinoma. *Ann Surg Oncology* 1999;6:298-304.
105. Bailey T, Biddleston L, Shepherd N, Barr H. Altered cadherin-catenin complexes in the dysplasia-adenocarcinoma sequence: correlation with disease progression and dedifferentiation. *Am J Pathol* 1998;152:135-44.
106. Castella E, Ariza A, Fernández-Vasalo J, López-Larrea C. Expression of *CD44H* and *CD44v3* in normal esophagus, Barrett's mucosa and esophageal carcinoma. *J Clin Pathol* 1996;49:489-92.
107. González MV, Artímez ML, Rodríguez L, López-Larrea C. Mutation analysis of *p53*, *APC* and *p16* genes in Barrett's esophagus, dysplasia and adenocarcinoma. *J Clin Pathol* 1997;50:212-7.
108. Harris CC, Hollstein M. Clinical implications of the *p53* tumor-suppressor gene. *N Engl J Med* 1993;329:1318-27.
109. Levine DS. Barrett's esophagus and p53. *Lancet* 1994;344:212-3.
110. Klump B, Hsieh CJ, Holzmann K, Borchard F, Gaco V, Greschmidk A, et al. Diagnostic significance of nuclear p53 expression in the surveillance of Barrett's esophagus—a longitudinal study. *Z Gastroenterol* 1999;37:1005-11.
111. Hanas JS, Lerner MR, Lightfoot SA, Rackowski C, Wastens DJ, Brackett DV, et al. Expression of the cyclin-dependent ki-

- nase inhibitor p21 and p53 tumor supresor in dysplastic progression and adenocarcinoma in Barrett's esophagus. *Cancer* 1999;86:756-63.
112. Kubba AK, Poole NA, Watson A. Role of p53 assessment in management of Barrett's esophagus. *Dig Dis Sci* 1999;44: 659-67.
 113. Ramel S, Reid BJ, Sánchez CA, et al. Evaluation of p53 protein expression in Barrett's esophagus by two-parameters flow cytometry. *Gastroenterology* 1992;102:1220-8.
 114. Younes M, Lebovits LM, Lechango LV, et al. p53 protein accumulation in Barrett's metaplasia, dysplasia and carcinoma: a follow-up study. *Gastroenterology* 1993;105:1637-42.
 115. Blount PL, Meltzer J, Yin J, Huang Y, Wrasna HJ, Reid BJ. Clonal ordering of p17 and 5q allelic losses in Barrett's dysplasia and adenocarcinoma. *Proc Natl Acad Sci* 1993;90: 3221-5.
 116. Giménez A, Haro LM, Parrilla P, Bermejo J, Pérez-Guillermo M, Ortiz MA. Immunohistochemical detection of p53 protein could improve the management of some patients of Barrett's esophagus and mild histological alterations *Arch Pathol Lab Med* 1999;123:1260-3.
 117. Ames BN, Gold LS. Too many rodent carcinogens: mitogenesis increases mutagenesis. *Science* 1990;249:970-1.
 118. Blount PL, Ramel S, Raskind WH, et al. 17p allelic deletions and p53 protein overexpression in Barrett's adenocarcinoma. *Cancer Res* 1991;52:5482-6.
 119. Raskind WH, Norwood T, Levine DS, et al. Persistent clonal areas and clonal expansion in Barrett's esophagus. *Cancer Res* 1994;52:2946-50.
 120. Jankowski J. Clonality of esophageal carcinomas: genetic and epigenetics events leading to loss of genomic stability. *Dis Esophagus* 1997;10:143-4.
 121. Waridel F, Estreicher A, Bron L, et al. Field cancerisation and polyclonal p53 mutation in the upper aero-digestive tract. *Oncogenes* 1997;14:163-9.
 122. Prevo LJ, Sánchez CA, Galipeau PC, Reid J. p-53 mutant clones and field effects in Barrett's esophagus. *Cancer Res* 1999;59:4784-7.
 123. Reid BJ, Barrett MT, Galipeau PC, et al. Barrett's esophagus: ordering the events that lead to cancer. *Eur J Cancer Prev* 1996;5(Suppl 2):57-65.