

Esófago de Barrett: diferencia histoquímica entre células caliciformes y células azules

Barrett's esophagus: histochemical difference between goblet cells and blue cells

Jesús Alberto Hernández-Castillo^{1a}, Lázaro Ariel Ramírez-Balderrama^{1b}, Mario Murguía-Pérez^{1c}

Resumen

Introducción: el esófago de Barrett (EB) es el recambio de la mucosa habitual esofágica por un epitelio cilíndrico simple con presencia de células caliciformes (CC) de tipo intestinal. Se ha relacionado con factores de riesgo como la enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE), consumo inapropiado de alimentos irritantes, tabaquismo o sobrepeso. Hay células imitadoras de las CC, las células azules (CA), que dificultan el diagnóstico del EB y es debido a falta de una definición precisa sobre la naturaleza y ubicación de la unión gastroesofágica y las variaciones microscópicas en esta zona.

Objetivo: identificar morfológicamente y con las técnicas de histoquímica azul alciano (AA) y ácido peryódico de Schiff (PAS) las CC y las CA.

Material y métodos: estudio transversal retrolectivo analítico; se incluyeron 45 muestras de pacientes diagnosticados con EB.

Resultados: las características morfológicas son similares en ambas variedades celulares. La tinción de PAS fue del 100%, a diferencia de la tinción de AA, con solo 16 casos con tinción, correspondiente al 35.55%.

Conclusiones: la tinción de PAS tiene una alta sensibilidad y especificidad para la identificación de CC, lo cual es fundamental para el correcto diagnóstico de la EB. La presencia de CA detectadas mediante AA no excluye el diagnóstico de EB, ya que ambos tipos celulares pueden coexistir.

Abstract

Background: Barrett's esophagus (BE) is the replacement of the usual esophageal mucosa by a simple columnar epithelium with the presence of goblet cells (GC) of intestinal type. It has been related to different risk factors such as gastroesophageal reflux disease (GERD), inappropriate consumption of irritating foods, smoking and overweight. There are CC mimic cells, known as blue cells (BC), which make the diagnosis of BE difficult, due to the lack of a precise definition of the nature and location of the gastroesophageal junction and the microscopic variations in this area.

Objective: To identify morphologically and with histochemical techniques Alcian blue (AA) and periodic acid-Schiff (PAS) between GC and BC.

Material and methods: Retrolective cross-sectional analytical study where 45 samples of patients diagnosed with BE were included.

Results: The morphological characteristics are similar in both cell varieties. PAS staining was 100%, unlike AA staining, with only 16 cases with staining, corresponding to 35.55%.

Conclusions: PAS staining has a high sensitivity and specificity for the identification of GC, this being a fundamental pillar for the correct diagnosis of BE. The presence of BC detected by AA does not exclude the diagnosis of BE, since both cell types can coexist.

¹Instituto Mexicano del Seguro Social, Centro Médico Nacional del Bajío, Hospital de Especialidades No. 1, Departamento de Anatomía Patológica. León, Guanajuato, México

ORCID: [0000-0002-7622-2131^a](https://orcid.org/0000-0002-7622-2131), [0000-0002-6721-3508^b](https://orcid.org/0000-0002-6721-3508), [0000-0003-4260-389X^c](https://orcid.org/0000-0003-4260-389X)

Palabras clave

Metaplasia
Reacción del Ácido Peryódico de Schiff
Azul Alciano
Esófago de Barrett
Estudios Transversales

Keywords

Metaplasia
Periodic Acid-Schiff Reaction
Alcian Blue
Barrett Esophagus
Cross-Sectional Studies

Fecha de recibido: 18/12/2022

Fecha de aceptado: 16/01/2023

Comunicación con:

Mario Murguía Pérez

 drmariopatologia@gmail.com

 477 230 5861

Cómo citar este artículo: Hernández-Castillo JA, Ramírez-Balderrama LA, Murguía-Pérez M. Esófago de Barrett: diferencia histoquímica entre células caliciformes y células azules. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2023;61 Supl 2:S233-8.

Introducción

El esófago de Barrett (EB) es una entidad premaligna que se desarrolla en una minoría de pacientes con enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE); se caracteriza por evidenciar un cambio metaplásico del epitelio plano estratificado o escamoso en la unión esofagogástrica por uno cilíndrico con presencia de células caliciformes (CC); esto es conocido como metaplasia intestinal (MI).¹ La incidencia nacional ha evidenciado un incremento en los casos nuevos, que predomina en varones adultos en un porcentaje de 0.26 a 9.2%; su riesgo de progresión a adenocarcinoma es de 21% en 5 a 10 años.² Entre los múltiples factores de riesgo, los mayormente asociados a EB ocurren en personas con sobrepeso u obesidad, los cuales presentan en su mayoría ERGE secundario a gastritis crónica y hernia hiatal; la condicionante del sobrepeso no es obligatoria para la presencia del ERGE.³ El efecto del reflujo gástrico genera daños a nivel del ADN del epitelio esofágico, lo cual provoca la estimulación y la proliferación celular, además de suprimir la apoptosis y provocar la proliferación descontrolada de PT53, lo que conlleva a una acumulación de estas mutaciones y progresa hacia la carcinogénesis en el EB.⁴

De acuerdo con la definición de la Academia Americana de Gastroenterología (AGA),⁵ histológicamente se considera el EB como una MI, que es una combinación de diferentes tipos celulares, desde glándulas cardiales y fúndicas hasta glándulas mixtas o híbridas más cambios asociados a la especialización colónica observados mediante microscopio electrónico, como la superficie de absorción, las células de Paneth y las foveolas gástricas. Desafortunadamente, la definición de EB varía en todo el mundo. Históricamente el EB se ha dividido en segmento largo (3 cm), segmento corto (1-3 cm) y segmento ultracorto (1 cm). Sin embargo, estos ya no son reconocidos como entidades distintas. Por ejemplo, la AGA se refiere a la distinción de EB por segmentos como arbitrario y clínicamente no válido.

En la unión esofagogástrica con regularidad se observan células imitadoras de la MI, conocidas como células azules (CA); se pueden encontrar en esta localización debido a la migración de la mucosa cardial del epitelio y puede simular la displasia, ya que presenta formación columnar y vacuolas intracitoplasmáticas.⁶

Diversos autores han utilizado tinciones especiales de histoquímica, como azul alciano (AA) y ácido peryódico de Schiff (PAS), así como inmunohistoquímica contra CDX2 y MUC 2 para aislar las CC; sin embargo, mediante el uso de estas técnicas no se ha podido excluir la presencia de otras variedades celulares. Las tinciones de histoquímica más comunes usadas por Zhang son AA, hierro coloidal y PAS.⁷ Es imprescindible el seguimiento estrecho de las

lesiones precursoras mediante la endoscopia, con lo que se demuestra que el mapeo sistémico cada 2 cm es más eficaz que el mapeo aleatorio de las zonas sospechosas.⁸ Debido a que las CA pueden imitar la morfología de las CC y sobrediagnosticar el EB, es importante encontrar métodos de fácil acceso para diferenciar entre estos tipos celulares y evitar el diagnóstico erróneo de EB, lo que condenaría a un seguimiento estrecho innecesario a los pacientes por presentar un cambio metaplásico premaligno, motivo del presente trabajo.

Material y métodos

Se realizó un estudio transversal retrolectivo analítico, en el que se recabaron muestras histopatológicas del archivo de laminillas del Departamento de Anatomía Patológica de la Unidad Médica de Alta Especialidad (UMAE) Hospital de Especialidades No. 1 del Centro Médico Nacional del Bajío con diagnóstico de EB durante el periodo comprendido entre enero de 2018 y diciembre de 2021. Se hizo una revisión en pares por 2 médicos patólogos del departamento para la corroboración histopatológica y la identificación de las características morfológicas correspondientes a MI; también se determinó la presencia o ausencia de inflamación crónica (presencia de células mononucleares, como linfocitos y células plasmáticas) y aguda (neutrófilos o eosinófilos). Posteriormente, se recabaron los correspondientes bloques de parafina y se hicieron recortes histológicos para realizar técnicas histoquímicas de AA y PAS. Se incluyeron todas las muestras con diagnóstico definitivo de EB y que se informara del sitio anatómico de la biopsia; se descartaron las biopsias sin referencia de sitio anatómico de obtención, otros métodos de obtención como cepillado esofágico, identificación deficiente o incompleta y material no adecuado o maltratado. Se consideró tinción positiva con AA con coloración azul en las CA y ausente en CA; tinción de PAS de coloración magenta en CA y azul en CA.

Para determinar el tamaño de muestra utilizamos el cálculo para estimar proporciones y el total de la población en nuestra unidad fue de 60 para obtener un nivel de confianza de (1 - alfa) del 95% con una precisión (d) del 3% y teniendo en cuenta que el valor aproximado del parámetro que se va a medir debe tener una proporción del 5%, nuestro tamaño muestra fue de 35 biopsias, ajustado a 20% de posibles pérdidas, la muestra total fue de 45 biopsias.

Los análisis que destacamos son la estadística descriptiva y utilizamos media, mediana, moda y desviación estándar y para la estadística inferencial utilizamos el método de correlación de Pearson.

Resultados

En el periodo de enero de 2018 a diciembre de 2021, recibimos 55 biopsias con diagnóstico de EB. De estas, 10 se descartaron de acuerdo con los criterios ya mencionados en el apartado previo, por lo que quedaron 45 biopsias elegibles para estudiar. Los resultados demostraron una prevalencia mayor en hombres en un 67% (cuadro I); las características morfológicas fueron similares en ambas variedades celulares; la positividad a la tinción de PAS fue del 100% y para AA fueron 16 (figuras 1 y 2). Otros hallazgos relevantes fueron

Cuadro I Características y hallazgos microscópicos en pacientes diagnosticados con esófago de Barrett

	Media (DE)
Edad (años)	60.36 (16.6)
	n (%)
Género	
Masculino	30 (67)
Femenino	15 (33)
Infiltrado inflamatorio	
Leve	33 (73)
Moderado	12 (27)
Displasia	
Presente	2 (4)
Ausente	43 (96)
Azul alciano	
Positivo	27 (60)
Ausente	18 (40)
PAS	
Positivo	45 (100)
Ausente	0 (0)
HE (esófago de Barrett)	
Positivo	45 (100)
Negativo	0 (0)

DE: desviación estándar

la ausencia de displasia en 96%, infiltrado inflamatorio perileisional de intensidad leve en 27% y de intensidad moderada en el 73% de las muestras (figuras 3 y 4).

Figura 2 Positividad a estudios de histoquímica

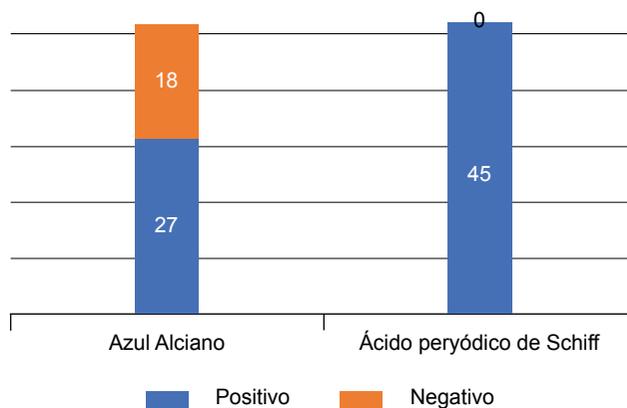
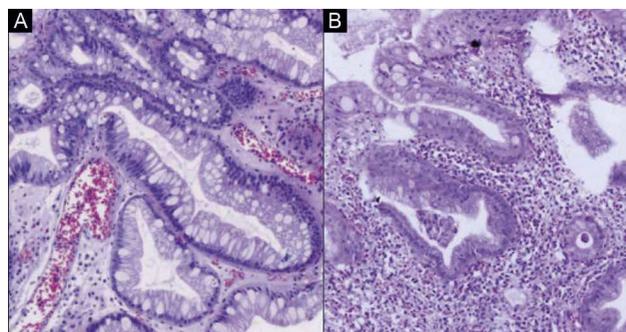
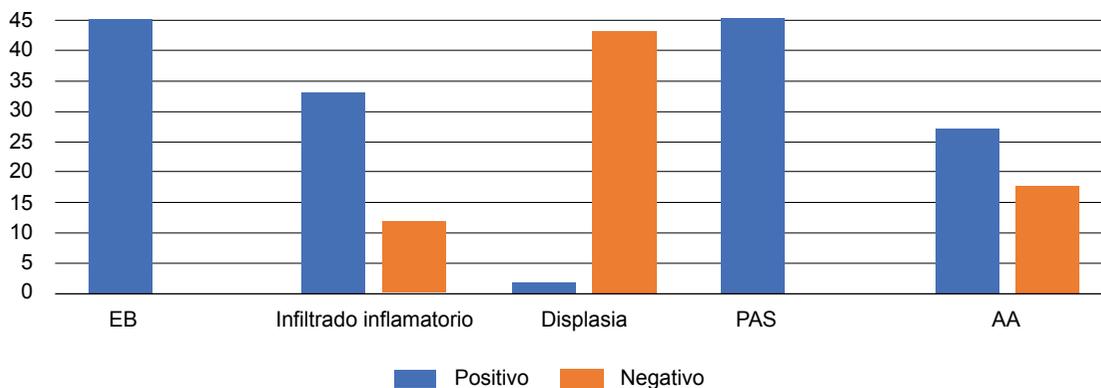


Figura 3 Histología del esófago de Barrett

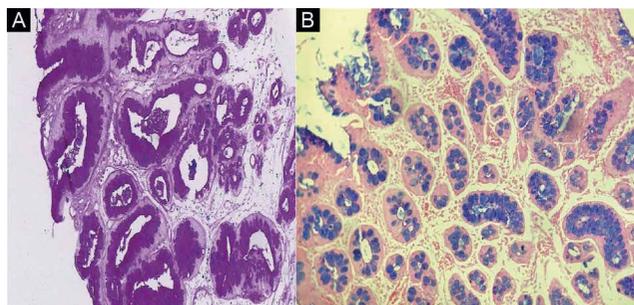


A: se observan células caliciformes con presencia de mucina intracitoplasmática y escaso infiltrado inflamatorio, intercaladas entre el epitelio de cardias. B: infiltrado inflamatorio y células azules (imitadoras)

Figura 1 Hallazgos microscópicos en pacientes diagnosticados con esófago de Barrett



EB: esófago de Barrett; PAS: ácido peryódico de Schiff; AA: azul alciano

Figura 4 Tinciones especiales presentes en el esófago de Barrett

A: tinción de PAS en biopsia con esófago de Barrett. B: tinción de azul alciano en células imitadoras de metaplasia intestinal

Discusión

Los trastornos motores se consideran un factor de riesgo. El contenido estomacal es regurgitado hacia el tercio distal del esófago debido a la incompetencia del esfínter esofágico inferior (EEI).⁹ Otras causantes del ERGE son la dismotilidad, anomalías congénitas, mala posición anatómica, ausencia del ligamento diafragmático y movimientos paradójicos del diafragma.¹⁰ También se ha descrito el consumo de tabaco, que presentó una prevalencia de 15.2% en un estudio realizado entre los trabajadores y derechohabientes del IMSS con una relación hombres/mujeres de 2.6.¹¹ De 1988 a 2012 el sobrepeso en mujeres y hombres de 20 a 49 años se incrementó de 25 a 35.3% y la obesidad pasó de 9.5 a 35.2% y al menos un 10% de ellos desarrollarán síndrome metabólico.¹² En el estudio realizado por Signorini *et al.*¹³ los autores relacionan el género con los hábitos higiénico-dietéticos y su relación con el EB, y demuestran una prevalencia del 75% entre la población masculina, lo que concuerda con los datos obtenidos en nuestro estudio.

Existe una variabilidad interobservador importante entre patólogos para determinar el grado de displasia en bajo, alto o indeterminado.¹⁴ Esto es debido a la falta de homogeneización en los criterios de invasión a la lámina propia y a la presencia de alteraciones arquitecturales que se pueden ver afectadas por el grado de infiltrado inflamatorio. Nosotros no encontramos relación entre el grado de infiltrado inflamatorio en lámina propia y el grado de severidad de la displasia y el daño epitelial; por lo tanto, estos procesos no están relacionados.

Las CC se pueden clasificar en pseudocélulas caliciformes y en verdaderas células caliciformes. Las primeras se caracterizan por ser células superficiales con una vacuola intracitoplasmática que se tiñe de gris-azulado y se disponen en forma de racimos, mientras que las verdaderas células tipo caliciforme se disponen en todo el espesor

de la mucosa, son más dispersas y tiñen un ligero rosa-magenta.¹⁵

Debido a que la presencia de células columnares en la porción distal del esófago es un hallazgo común hasta en un 85%, no son suficientes para diagnosticar EB; sin embargo, su presencia podría ser considerada como un marcador temprano de esta enfermedad. Montgomery *et al.* han demostrado que las células foveolares gástricas pueden producir mucina y estar distendidas, pero no pueden considerarse CC, ya que no demuestran reacción a PAS y AA.¹⁶ La reactividad de AA ha sido estudiada y reportada por Tan *et al.*, quienes encontraron que el uso de la tinción de AA tuvo un efecto significativo en la tasa de detección de CC, cuando estas no eran visibles en la tinción H&E.¹⁷ En otros estudios, como el de Odze,¹⁸ en el que analizó 498 casos, no halló CC en 3 casos (0.6%) positivos para AA, lo que sugiere que esta técnica es más efectiva para la identificación de CA y, por lo tanto, tiene una mayor concordancia con los hallazgos histológicos en H&E. Otras tinciones, como CK7 o CK-20, han sido evaluadas con resultados no concluyentes. En el caso de MUC5 y MUC6, junto con CDX2, han sido positivas en los casos que carecen de CC, por lo que se sugiere eliminar este criterio histológico.¹⁹ Sin embargo, en la asistencia diaria es más práctico buscar simplemente CC como en nuestro grupo de estudio, ya que su presencia es diagnóstica de EB, el cual se confirmó con la reactividad a PAS, por lo que esta demuestra que es una tinción eficaz, rápida y económica. Con los hallazgos anteriores concluimos que las CC y las CA pueden estar presentes en los pacientes con esófago de Barrett; sin embargo, no entorpecen el diagnóstico histopatológico.

Lopes *et al.* trabajaron con una muestra similar a la nuestra (utilizaron MUC2, PAS y AA) y obtuvieron positividad en todos sus casos.²⁰ La expresión de mucina fue positiva en CC y en células columnares. Al ser similares nuestros resultados demuestran que la combinación de PAS con AA es una buena herramienta diagnóstica, dado que se obtiene una distribución heterogénea, pues también el epitelio cilíndrico y las glándulas submucosas muestran reactividad.

En todos sus casos, Torrado *et al.*²¹ demostraron la presencia de MI incompleta mediante el uso de MUC2, MUC5AC y MUC6, que son mucinas generalmente reactivas en las glándulas profundas gástricas, y cómo se relacionan con el grado de displasia al llegar a perderse esta expresión. Nosotros no usamos este marcador por no ser específico, ya que puede llegar a marcar glándulas gástricas habituales. Otros marcadores pueden ser de utilidad en casos con dificultad diagnóstica, como han demostrado Won-Tak *et al.*,²² quienes al buscar intencionadamente los marcadores PT53 mediante un muestreo transepitelial en área amplia lograron identificar la transformación maligna

temprana. Además, Kong *et al.*²³ encontraron la expresión ectópica de CDX2, principalmente en el epitelio escamoso relacionado con una hipoproliferación epitelial, además de encontrarlo en tejido gástrico ectópico. La expresión conjunta de CK7/CK20 podría explicarse por la configuración intestinal que presenta esta displasia y la expresión de CDX2 tiene una marcación muy similar a las expresadas por las citoqueratinas y, por lo tanto, puede predecir significativamente el riesgo de desarrollo de MI en un periodo de 40 a 45 meses después de la biopsia inicial.²⁴ Por ser marcadores no específicos y poco sensibles para los propósitos de nuestra investigación, decidimos no utilizarlos, además de que representaría un costo elevado. Es necesario el correcto seguimiento de estos pacientes relacionados con el grado de displasia,²⁵ ya que aquellos con EB y displasia representan un riesgo de progresión a malignidad. Los intervalos de vigilancia endoscópica deben someterse a no más de cada 3 a 5 años. Por lo tanto, es necesario implementar en nuestra institución un seguimiento más estrecho con un mapeo esofágico dirigido. La eficacia diagnóstica se eleva cuando se obtienen 4 biopsias de los 4 cuadrantes que se inicien a la altura del borde proximal de los pliegues gástricos y a cada 2 cm hasta la unión escamocolumnar.²⁶

Conclusiones

Con el presente estudio corroboramos que la tinción de PAS tiene una alta sensibilidad y especificidad para la identificación de CC y estas son una de las principales características para el diagnóstico de EB; por ende, esta tinción

es necesaria para la detección oportuna de estas lesiones premalignas y un inicio terapéutico temprano. La positividad a la tinción de AA no descarta el diagnóstico de EB, ya que demostramos una coexistencia de ambos tipos celulares en un 35.55% en la misma muestra. El grado de infiltrado inflamatorio no tiene relación con la presencia de cambios displásicos.

Encontramos que existe una adecuada concordancia entre los hallazgos morfológicos y los resultados obtenidos mediante ambas técnicas de histoquímica, por lo que podemos sugerir el uso complementario para su diagnóstico.

La tinción de PAS es más sensible para el diagnóstico del EB comparada con la del AA. Con este estudio demostramos la coexistencia de las CA con verdaderas células de MI, ya que su presencia no excluye el diagnóstico de EB.

Agradecimientos

Al valioso apoyo y consejos del doctor Lázaro Ramírez Balderrama. A la atención y seguimiento del doctor Mario Murguía Pérez. Al personal del Departamento de Anatomía Patológica por su dedicación a este trabajo.

Declaración de conflicto de interés: los autores han completado y enviado la forma traducida al español de la declaración de conflictos potenciales de interés del Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas, y no fue reportado alguno relacionado con este artículo.

Referencias

- Sarem M, Martínez F, Salvia M, Corti R. Low-grade dysplasia in Barrett's esophagus: A problematic diagnosis. *Gastroenterol Hepatol.* 2022; 45(10): 228-34. doi: 10.1016/j.gastrohep.2022.10.002
- Valdovinos F, Bernal A, Barreto R, Briseño D, Martínez J, Romano A et al. Barrett's esophagus: Ten years of experience at a tertiary care hospital center in Mexico. *Rev Gastroenterol Mex.* 2018;83(1):25-30. doi: 10.1016/j.gastrohep.2022.10.002
- Huerta F, Bielsa M, Remes J, Valdovinos M, Tamayo-de la Cuesta J. Diagnóstico y tratamiento de la enfermedad por reflujo gastroesofágico: recomendaciones de la Asociación Mexicana de Gastroenterología. *Rev Gastroenterol Mex.* 2016;81(4): 208-22. doi: 10.1016/j.rgmx.2016.04.003
- Moinova H, Laframboise T, Lutterbaugh J, Chandar AK, Dumot J, Faulx A et al. Identifying DNA methylation biomarkers for non-endoscopic detection of Barrett's esophagus. *Sci Transl Med.* 2018;10:1-11. doi: 10.1126/scitranslmed.aao5848
- Bellizi A, Odze R. Histopathology of Barrett's esophagus: A review for the practicing gastroenterologist. *Techniques in Gastrointestinal Endoscopy.* 2010;2:69-81. doi: 10.1016/j.tgie.2010.02.008
- Srivastava A, Appelman H, Goldsmith JD, Davison JM, Hart J, Krasinskas AM. The Use of Ancillary Stains in the Diagnosis of Barrett Esophagus and Barrett Esophagus-associated Dysplasia: Recommendations From the Rodger C. Haggitt Gastrointestinal Pathology Society. *Am J Surg Pathol.* 2017;41(5):e8-21. doi: 10.1097/PAS.0000000000000819
- Zhang L, Sun B, Zhou X, Wei Q, Liang S, Luo G, et al. Barrett's Esophagus and Intestinal Metaplasia. *Frontiers in Oncology.* *Frontiers Media.* 2021;11:1-14. doi: 10.3389/fonc.2021.630837
- Tofani C, Gandhi K, Spataro J, Yoo J, Murphy M, Mohan N, et al. Esophageal adenocarcinoma in a first-degree relative increases risk for esophageal adenocarcinoma in patients with Barrett's esophagus. *United European Gastroenterol J.* 2019;7(2):225-9. doi: 10.1177/2050640618817098
- Elizondo J, Chaverri G, Téllez I. Actualización en Esófago de Barrett. *Revista Médica Sinergia.* 2019 Dec;4(12):304-14. doi: 10.31434/rms.v4i12.304
- Soto D, Campos I, Vázquez J, Sepulveda A. Riesgo para desarrollar reflujo gastroesofágico severo en neonatos operados de hernia diafragmática congénita. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2014;52(2):56-61. Disponible en: http://revistamedica.imss.gob.mx/editorial/index.php/revista_medica/article/view/775/1321

11. Vázquez J, Mercadillo M, Celis J, Navarrete J. Consumo de tabaco en derechohabientes del IMSS. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2009;47(4):367-76. Disponible en: http://revistamedica.imss.gob.mx/editorial/index.php/revista_medica/article/view/1911/2422
12. Cruz M, González F, Ayala E, Lidia O, Vargas G, Zarate A et al. Sobrepeso, obesidad, síndrome metabólico e índice cintura/talla en el personal de salud. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2015;53(1):36-41. Disponible en: http://revistamedica.imss.gob.mx/editorial/index.php/revista_medica/rt/printerFriendly/52/344
13. Signorini F, Viscido G, Bocco M, Obeide L, Moser F. Impact of Gastric Bypass on Erosive Esophagitis and Barrett's Esophagus. *Obes Surg.* 2020;30(4):1194-9. doi: 10.1007/s11695-019-04333-1
14. Naini B, Souza R, Odze R. Barrett's esophagus: A comprehensive and contemporary review for pathologists. *Am J Surg Pathol.* 2016;40(5):e45-66. doi: 10.1097/PAS.0000000000000598
15. Yin F, Hernandez D, Lai J, Liu X. Histopathology of Barrett's Esophagus and Early-Stage Esophageal Adenocarcinoma: An Updated Review. *Gastrointestinal Disorders.* 2018;1(1):147-63. doi: 10.3390/gidisord1010011
16. Montgomery EA, Canto MI, Srivastava A. Evaluation and reporting of biopsies from the columnar-lined esophagus and gastro-esophageal junction. *Ann Diagn Pathol.* 2019;39:111-7. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2019.02.012
17. Tan W, di Pietro M, Fitzgerald R. Past, present and future of Barrett's oesophagus. *European Journal of Surgical Oncology (EJSO).* 2017;43(7):1148-60. doi: 10.1016/j.ejso.2017.02.004
18. Odze R. Histology of Barrett's Metaplasia: Do Goblet Cells Matter?, *Digestive Diseases and Sciences. Dig Dis Sci.* 2018; 63(8):2042-51. doi: 10.1007/s10620-018-5151-z
19. Montgomery E, Arnold C, Lam-Himlin D, Salimian K, Waters K. Some observations on Barrett esophagus and associated dysplasia. *Annals of Diagnostic Pathology.* 2018;39:5-82. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2018.09.013
20. Lopes C, Pereira J, Hartmann A, Lopes C. Expression of Mucin-2 and correlation with PAS-alcian blue stain in Barrett's esophagus. *Hepatogastroenterology.* 2006;53(70):511-5. doi: 10.1111/j.1365-2559.2004.01849.x
21. Torrado J, Piazuolo B, Ruiz I, Izarzugaza M, Constanza Camargo M, Delgado A, et al. El fenotipo de las mucinas en el esófago de Barrett: Mucin phenotypes in Barrett's esophagus. *Revista Española de Patología.* 2010;43(1):8-15. doi: 10.1016/j.patol.2010.02.001
22. Won-Tak C, Lauwer G, Montgomery E. Utility of ancillary studies in the diagnosis and risk assessment of Barrett's esophagus and dysplasia. *Modern Pathology.* 2022;35:1000-12. doi: 10.1038/s41379-022-01056-0
23. Kong J, Crissey M, Funakoshi S, Kreindler J, Lynch J. Ectopic Cdx2 expression in murine esophagus models an intermediate stage in the emergence of Barrett's esophagus. *PLoS One.* 2011;6(4): 1-12. doi: 10.1371/journal.pone.0018280
24. Johnson D, Abdelbaqui M, Tahmasbi M, Mayer Z, Lee H, Malafa MP et al. CDX2 protein expression compared to alcian blue staining in the evaluation of esophageal intestinal metaplasia. *World J Gastroenterol.* 2015;21(9):2770-6. doi: 10.3748/wjg.v21.i9.2770
25. Shaheen N, Falk G, Iyer P, Gerson L. ACG Clinical Guideline: Diagnosis and Management of Barrett's Esophagus. *American Journal of Gastroenterology.* 2016;111(1):30-50. doi: 10.1038/ajg.2015.322
26. Tamayo J. Esófago de Barrett (Actualidades en el diagnóstico y tratamiento). *Rev Gastroenterol Mex.* 2013;67(1):42-8. doi: 10.1016/j.rgmx.2013.06.020