

ПАТОГЕНЕЗ И МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ГЭРБ, НЭРБ И ПИЩЕВОДА БАРРЕТТА

Михалева Л. М., Маслénкина К. С., Науменко М. С., Гущин М. Ю., Конюкова А. К.

«Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А. П. Авцына» Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Российский научный центр хирургии имени академика Б. В. Петровского», (ул. Цюрупы, д. 3, г. Москва, 117418, Россия)

Михалева Людмила Михайловна, д. м. н., профессор, член-корреспондент РАН, директор

Маслénкина Ксения Сергеевна, к. м. н., старший научный сотрудник

Науменко Максим Сергеевич, аспирант

Гущин Михаил Юрьевич, к. м. н., старший научный сотрудник

Конюкова Александра Константиновна, младший научный сотрудник

Для переписки:

Маслénкина Ксения
Сергеевна
Ksenia S. Maslenkina

e-mail:

ksusha-voi@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Диагностика воспалительных и предраковых заболеваний пищевода является клинико-морфологической и включает в себя морфологическую верификацию эндоскопических изменений в соответствии со специально разработанными протоколами взятия биопсийного материала в зависимости от эндоскопических находок и предполагаемого диагноза. Данная обзорная статья подробно рассматривает патогенез спектра гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ) и посвящена тонкостям морфологической диагностики пищевода Барретта (ПБ) и дисплазии при ПБ. Точная морфологическая диагностика у этой группы пациентов определяет тактику лечения и прогноз.

Ключевые слова: гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, рефлюкс-эзофагит, пищевод Барретта, дисплазия, иммуногистохимическое исследование, p53.

Информация о конфликте интересов: конфликт интересов отсутствует.

Информация о спонсорстве: данная работа не финансировалась.

Для цитирования: Михалева Л. М., Маслénкина К. С., Науменко М. С., Гущин М. Ю., Конюкова А. К. Патогенез и морфологическая диагностика ГЭРБ, НЭРБ и пищевода Барретта. Клиническая эндоскопия. 2025;67(2):51-67. doi: 10.31146/2415-7813-endo-67-2-51-67.

PATHOGENESIS AND HISTOLOGICAL DIAGNOSTICS OF GERD, NERD AND BARRETT'S ESOPHAGUS

L. M. Mikhaleva, K. S. Maslenkina, M. S. Naumenko, M. Yu. Gushchin, A. K. Konyukova
Avtsyn Research Institute of Human Morphology of Federal state budgetary scientific institution «Petrovsky National Research Centre of Surgery», Moscow, (3, Tsyurupy st., Moscow, 117418, Russia)

Ludmila M. Mikhaleva, Doctor of Med. Sci., Corresponding Member of Russian Academy of Sciences, Head of the Institute; ORCID: 0000-0003-2052-914X, Scopus Author ID: 6701472396, Researcher ID: AAG-8330-2019

Ksenia S. Maslenkina, Cand of Med. Sci., senior researcher; ORCID: 0000-0001-8083-9428, Scopus Author ID: 55882201800, Researcher ID: G-6251-2013

Maksim S. Naumenko, fellow; ORCID: 0009-0007-9071-1613

Mikhail Yu. Gushchin, Cand of Med. Sci., senior researcher; ORCID: 0000-0002-1041-8561, Scopus Author ID: 5721424398, Researcher ID: J-5345-2018

Aleksandra K. Konyukova, junior researcher; ORCID: 0000-0001-5925-5196

EDN: XPWBXT



SUMMARY

Since inflammatory diseases and precancerous lesions of esophagus require clinico-morphological diagnostics, it includes histological verification of endoscopic lesions in line with specific protocols of biopsy taking according to endoscopic findings and expected diagnosis. This review elucidates pathogenesis of gastroesophageal reflux disease (GERD) specter and focuses on detailed features of histologic diagnostics of Barrett's esophagus

and Barrett's dysplasia. Precise histologic diagnosis in this group of patients implies appropriate treatment and defines prognosis.

Key words: gastroesophageal reflux disease, reflux esophagitis, Barrett's esophagus, dysplasia, immunohistochemical evaluation, p53

Information on conflicts of interest: there is no conflict of interest.

Sponsorship Information: This work was not funded.

For citation: Mikhaleva L. M., Maslenkina K. S., Naumenko M. S., Gushchin M. Yu., A. K. Konyukova A. K. Pathogenesis and histological diagnostics of gerd, nerd and barrett's esophagus. *Filin's Clinical endoscopy*. 2025;67(2):51-67. (in Russ.) doi: 10.31146/2415-7813-endo-67-2-51-67.

ДЕФИНИЦИЯ ГЭРБ И ЕЕ ОСЛОЖНЕНИЙ

Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (ГЭРБ) — это хроническое заболевание слизистой оболочки пищевода, возникающее под воздействием регулярно повторяющегося заброса в пищевод желудочного и в ряде случаев дуоденального содержимого и сопровождающееся клиническими симптомами, преимущественно изжоги и регургитации желудочного содержимого [1, 2, 3]. Развитие ГЭРБ обусловлено нарушением моторно-эвакуаторной функции органов гастроэзофагеальной зоны, связанное с анатомическим или физиологическим нарушением работы нижнего пищеводного сфинктера как главного компонента анти-рефлюксного барьера (вследствие грыжи пищеводного отверстия диафрагмы, курения, ожирения, беременности и других причин). Нарушение анти-рефлюксного барьера приводит к повреждению слизистой оболочки дистального отдела пищевода (ДОП) под воздействием рефлюктата (соляной кислоты желудочного сока, желчных кислот при наличии гастро-дуоденального рефлюкса) с развитием в ней дистрофических изменений и хронического воспаления (рефлюкс-эзофагита).

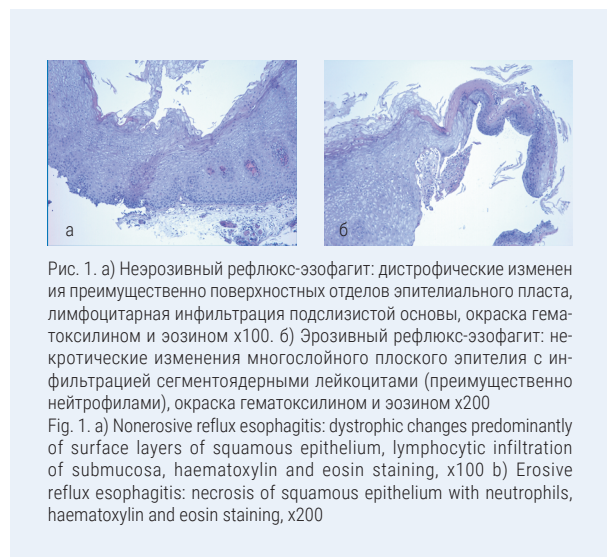
В зависимости от эндоскопической и морфологической картины, ГЭРБ подразделяют на неэрозивную и эрозивную форму. При неэрозивной ГЭРБ морфологическая картина представлена дистрофическими изменениями эпителия и слабой интраэпителиальной инфильтрацией лимфоцитами (при неактивном рефлюкс-эзофагите) и сегментоядерными лейкоцитами в случае активного рефлюкс-эзофагита. При эрозивной ГЭРБ морфологическим субстратом являются эрозии слизистой оболочки пищевода, представляющие собой участки некроза на глубину более $\frac{1}{2}$ толщины эпителиального пласта с лейкоцитарной инфильтрацией (Рис. 1).

При длительном повторяющемся воздействии рефлюктата на слизистую оболочку ДОП хроническое воспаление вызывает клеточное репрограммирование эпителия и ремоделирование слизистой, что приводит к развитию цилиндроклеточной (желудочной) метаплазии ДОП и пищевода Барретта (ПБ), которые являются осложнениями ГЭРБ. ПБ является морфологически подтвержденная кишечная метаплазия (КМ) ДОП с наличием бокаловидных клеток (БК), выявленная в биоптатах, полученных выше 1 см от уровня гастроэзофагеального перехода.

Частота ГЭРБ, по разным оценкам и в разных регионах варьирует. Истинную распространенность ГЭРБ оценить не представляется возможным. Однако приблизительная распространенность составляет от 8 до 33% во всем мире [2]. Частота встречаемости ПБ составляет около 10% всех пациентов с ГЭРБ. Важность своевременной и точной диагностики ПБ связана с тем, что ПБ является предраковым заболеванием для аденокарциномы пищевода (АКП).

ПАТОГЕНЕЗ ПИЩЕВОДА БАРРЕТТА

Существует две основные концепции развития ПБ: 1) в ходе заживления повреждения, обусловленного агрессивным воздействием рефлюктата, и 2) путем клеточного репрограммирования в результате цитокин-опосредован-



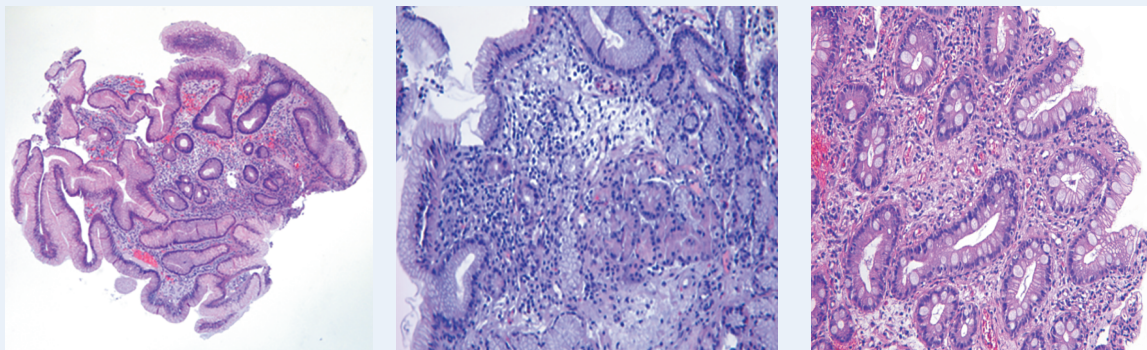


Рис. 2. Типы метаплазии ДОП, окраска гематоксилином и эозином: а – кардиальный, x100, б – оксинто-кардиальный, x400, в – кишечный, x200
Fig. 2. Types of metaplasia in distal esophagus, haematoxylin and eosin staining: a) cardiac type, x100, b) oxynto-cardiac type, x400, c) intestinal type, x200

ного повреждения слизистой ДОП [4, 5].

В соответствии с моделью заживления повреждений, повторяющееся повреждение многослойного плоского эпителия под действием рефлюкса приводит к развитию эрозивного эзофагита и изъязвлений пищевода. При этом заживление повреждения происходит стереотипным образом: в первой фазе восстановления формируется грануляционная ткань с тонкой пленкой фибринозного экссудата для защиты подлежащих тканей, а затем грануляционная ткань покрывается репаративным эпителием, лишенным функциональных свойств, в том числе, способности синтезировать слизь. В следующей фазе происходит латеральный рост прилегающих желез (т.н. язвенно-ассоциированной клеточной линии, ulcer-associated mucosal lineage – UACL), пока дефект не будет закрыт полностью функциональным эпителием [4,5, 6].

В соответствие с этой моделью, локальный процесс заживления повреждения приводит к пролиферации в краях повреждения клеток-предшественников как многослойного плоского эпителия пищевода, так и цилиндрического эпителия из наиболее проксимального участка желудка («первая фундальная железа желудка»). При этом в условиях повторяющегося воздействия рефлюкса происходит вторичная селекция клонов, более устойчивых в данных условиях, т.е. слизь-продуцирующего цилиндрического эпителия желудочного типа. Это фовеолярный эпителий, который приводит к разви-

тию наиболее раннего морфологического типа метаплазии – кардиального (Рис. 2). Постепенно метаплазированный цилиндрический эпителий занимает все большую площадь ДОП, замещая многослойный плоский эпителий (Рис. 3). Кроме того, происходит его дальнейшая дифференцировка и изменение фенотипа в условиях повторяющегося воздействия рефлюктата, на оксинто-кардиальный (с наличием смеси желез кардиального и фундального типа) и

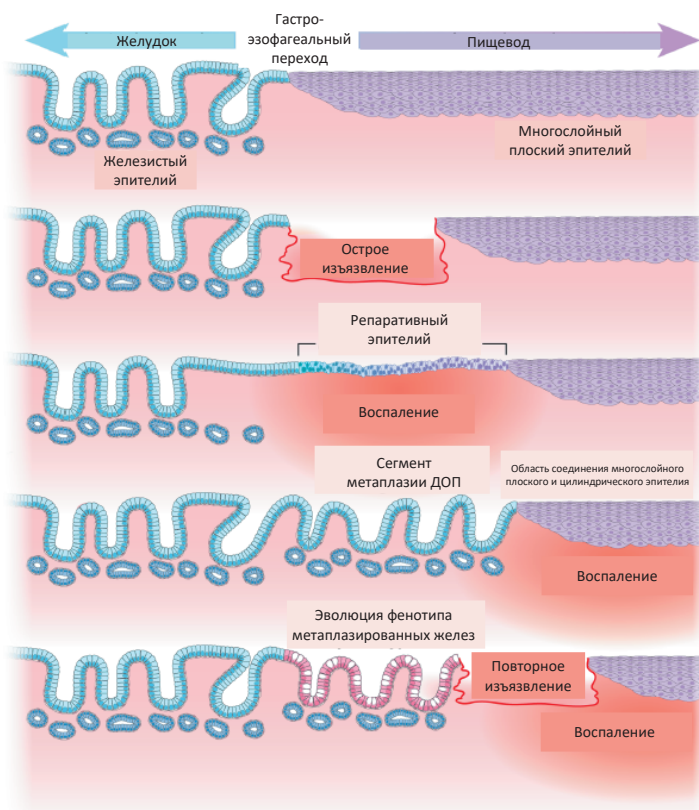


Рис. 3. Модель заживления повреждения в патогенезе ПБ [4]
Fig. 3. Model of the injury repair in Barrett's esophagus pathogenesis [4]

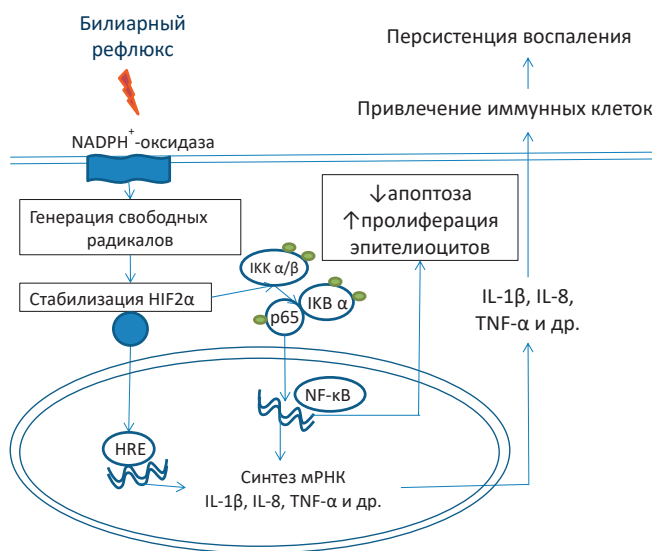


Рис. 4. Схема реализации NFκB сигнального пути при рефлюкс-эзофагите и ПБ по Huo X. et al. 2017 [24] с модификациями
Fig. 4. Scheme of NFκB-signaling pathway in reflux-esophagitis and Barrett's esophagus (from Huo X. et al. 2017 [24], modified)

кишечный (с наличием БК) [7].

Внутри сегмента ПБ обычно все три типа метаплазии (кардиальный, оксинто-кардиальный и кишечный) распределены мозаичным образом и все три можно обнаружить в эзофагобиоптатах. Поэтому для точной диагностики ПБ требуется либо выполнение четырехквadrантной биопсии, либо прицельная биопсия под навигацией эндоскопического исследования в режиме ближнего фокуса (NBI).

В подтверждение гипотезы заживления повреждения в эксперименте обнаружена миграция стволовых клеток (СК), экспрессирующих LGR5+, из проксимального отдела желудка (линия клеток т.н. «первой железы» фундального типа желудка) в ходе репарации рефлюксного повреждения ДОП с развитием цилиндроклеточной метаплазии [8, 9]. Кроме того, при помощи комплексного гистологического и иммуногистохимического исследования показано, что метаплазированные железы кардиального типа при ПБ обнаруживают большое сходство общего плана строения и компарментализации с пилорическими железами желудка [10, 11]. С одной стороны, это выступает аргументом в пользу наличия общего пула СК, то есть косвенно поддерживает модель миграции СК из проксимального отдела желудка. С другой стороны, схожий с пилорическими железами тип строения метаплазированных желез в ДОП можно объяснить реализацией типового механизма заживления повреждения с участием язвенно-ассоциированной клеточной линии, которая универсальным образом воссоздает фенотип так называемой пилори-

ческой метаплазии во всех органах ЖКТ [6, 12, 13].

Другим подтверждением реализации модели заживления повреждения является хирургическая модели эзофагоэностомии у крыс с разобщением пищевода и желудка, что делает невозможной миграцию СК из проксимального отдела желудка в ДОП. Через две недели после операции у животных наблюдали изъязвление ДОП непосредственно вблизи анастомоза. Эпителизация этого дефекта происходила с дистального края путем пролиферации и латерального распространения незрелых крипт из тощей кишки по механизму заживления повреждения [14]. Метаплазированные железы ДОП имели фенотип, аналогичный эпителию тощей кишки, с экспрессией маркеров CDX2, виллина, CD10, MUC2 и не-

гативной экспрессией маркеров желудочной дифференцировки (MUC5AC и MUC6), толстокишечной дифференцировки (Das-1) и многослойного плоского эпителия (p63). Процесс реэпителизации язвенного дефекта происходил путем активации эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) и миграции стволовых элементов эпителия слизистой оболочки тощей кишки в ДОП. Это подтверждалось положительной экспрессией Е-кадгерина в эпителиальных клетках новообразованных желез и коэкспрессией Е-кадгерина и TWIST в веретеновидных клетках стромы в эпителизирующемся крае язвы. В проксимальном крае изъязвления ожидаемо происходила пролиферация незрелого многослойного плоского эпителия пищевода.

Интересно, что в другом исследовании в клеточных культурах ПБ без дисплазии и с дисплазией соли желчных кислот вызывали активацию ЭМП (снижение экспрессии кадгерина 1, повышение экспрессии фибронектина 1, виментина и матриксной металлопротеазы 2, а также повышение клеточной подвижности), опосредованную сигнальным каскадом VEGF [15]. Таким образом, соли желчных кислот при низком внутрилюминальном уровне pH могут индуцировать ЭМП, что с одной стороны способствует процессу репарации повреждения в ДОП, но при тяжелой дисплазии и АКП запускает процессы опухолевой инвазии.

Модель цитокин-опосредованного повреждения слизистой оболочки ДОП под действием гастро-эзофагеального рефлюкса активно разрабатывалась Souza R.F. et al. [16-20].

В 2009 г. авторы [16] при моделировании рефлюксного эзофагита путем эзофагодуоденостомии на крысах заметили, что язвенные дефекты в ДОП обычно развиваются отсроченно и поэтому не могут быть объяснены прямым повреждающим действием желчных кислот или соляной кислоты по типу химического ожога, который должен развиваться стремительно. Это противоречие подтолкнуло авторов к изучению ранних морфологических изменений, возникающих в слизистой оболочке ДОП после индукции рефлюкса путем эзофагодуоденостомии у крыс.

Было обнаружено, что на третий день после операции у животных возникает морфологическая картина рефлюкс-эзофагита в виде лимфоцитарной инфильтрации в подслизистой основе, которая затем распространяется выше, достигая многослойного плоского эпителия ДОП. Воспалительная инфильтрация в собственной пластинке слизистой оболочки значительно усиливалась к концу первой недели после операции, а в эпителии – через три недели после операции, с третьей по восьмую неделю после операции уровень воспалительной инфильтрации во всех трех исследованных слоях оставался относительно постоянным.

Авторами показано, что появление эрозий в ДОП было обусловлено иммунными механизмами, связанными с привлечением Т-лимфоцитов и выработкой цитокинов и хемокинов, из которых важное значение имеет IL-8 и ряд других.

Так, интерлейкин IL-1 β является провоспалительным цитокином, одним из компонентов врожденного иммунитета. Его активация запускает синтез цитокинов IL-8 и IL-6 как в эпителиальных, так и в иммунных клетках, который опосредован реализацией сигнального пути NF κ B [21]. Важная роль IL-1 β в патогенезе ПБ подтверждена на лабораторной модели: у мышей с гиперэкспрессией IL-1 β на 12-15 месяце развивалась цилиндроклеточная метаплазия дистального отдела пищевода, а на 20-22 месяце – тяжелая дисплазия и АКП. Кроме того, повышение уровня IL-1 β и IL-8 отмечено в биоптатах пациентов с рефлюкс-эзофагитом и ПБ [22].

В исследовании Souza R.J. et al. [16] *in vitro* на клеточных линиях многослойного плоского эпителия NES-B3T и NES-B10T через два дня культивации в среде с добавлением желчных солей при pH 4,0 наблюдалось значительное повышение уровня секреции IL-1 β на четвертый и пятый дни и нарастание уровня секреции IL-8, которое продолжалось до пятого дня. Секреция других цитокинов (ИФН- γ , IL-4 и IL-10) не менялась. При этом кондиционная

среда клеток многослойного плоского эпителия на четвертый и пятый день экспозиции солей желчных кислот при кислом pH вызывала значительное повышение миграции Т-лимфоцитов и нейтрофилов.

Миграция Т-лимфоцитов, индуцированная IL-8 или IL-8 в сочетании с IL-1 β была менее выраженной по сравнению с миграцией под влиянием кондиционной среды. Это означает, что в кондиционной среде присутствуют и другие хемокины, участвующие в патогенезе рефлюкс-эзофагита. Миграция нейтрофилов, индуцированная IL-8, IL-8 в сочетании с IL-1 β и кондиционной средой не различалась. При добавлении блокирующих IL-8 антител к кондиционной среде миграционная способность Т-лимфоцитов значимо не уменьшалась, а миграционная способность нейтрофилов значительно падала. Таким образом, патогенез эрозивного рефлюкс-эзофагита связан с иммуноопосредованным повреждением, возникающим в результате выброса кератиноцитами провоспалительных цитокинов (IL-8, IL-1 β и др.) и привлечения Т-лимфоцитов и других воспалительных элементов.

Данная модель получила своё клиническое подтверждение при исследовании биоптатов пациентов с тяжелым рефлюкс-эзофагитом, получавших ИПП в течение месяца, при эндоскопической картине отсутствия эзофагита или эзофагита класса А по Лос-Анжелеской классификации на момент включения в исследование. Спустя одну-две недели после отмены ИПП в биоптатах этих пациентов наблюдалось усиление инфильтрации слизистой оболочки пищевода преимущественно CD3+ Т-лимфоцитами при отсутствии или наличии лишь единичных нейтрофилов и эозинофилов. Это сопровождалось появлением базальноклеточной и сосочковой гиперплазии многослойного плоского эпителия, а также усилением явления спонгиоза (увеличения межклеточных пространств между кератиноцитами) [23]. У тех же пациентов спустя одну-две недели после отмены ИПП также наблюдалась повышенная экспрессия HIF-2 α и фосфорилированного p65, которая сопровождалась повышением уровней мРНК провоспалительных цитокинов (IL-8, IL-1 β , TNF- α , COX-2 и ICAM-1) [24, 54].

In vitro авторы продемонстрировали, что в культурах клеток многослойного плоского эпителия NES-B3T и NES-B10T экспозиция желчных кислот при кислом pH спустя один час приводила к повышению экспрессии HIF-2 α , что сопровождалось повышением уровня мРНК COX-2, IL-1 β , IL-8, TNF- α и ICAM-1 [24]. При нокауте HIF-2 α короткой шпилечной РНК экс-

прессия перечисленных провоспалительных цитокинов через один час после экспозиции желчных кислот при кислотном pH не менялась, кроме того нокаут HIF-2α приводил к снижению уровня фосфорилированного p65.

Известно, что стабилизация HIF-2α возникает при оксидативном стрессе в ответ на генерацию избытка свободных радикалов [26]. В свою очередь, проникновение HIF-2α в ядро и связывание с HIF-респонсивными элементами (HRE) приводит к синтезу и высвобождению провоспалительных цитокинов.

Таким образом, HIF-2α регулирует воспалительный ответ при рефлюксном повреждении и этот эффект опосредован перекрестным взаимодействием с сигнальным путем NF-κB через фосфорилирование p65 (Рис. 4).

Данные, полученные при изучении эрозивного эзофагита, хорошо вписываются в патогенез ПБ, поскольку между этими двумя рефлюкс-обусловленными заболеваниями имеется патогенетическая преемственность. Тяжесть кислотного и билиарного рефлюкса, а вместе с тем и тяжесть морфологических изменений, возрастает в ряду: незрозивная ГЭРБ → эрозивная ГЭРБ → ПБ. В ряде работ наличие эрозивного рефлюкс-эзофагита было связано с последующим выявлением ПБ [27, 28, 29]. Кроме того, эрозивный рефлюкс-эзофагит выявлялся чаще у пациентов с длинным сегментом ПБ [30], а при динамическом наблюдении был связан с элонгацией участка метаплазии до длинного сегмента ПБ [31]. Таким образом, ПБ является следующим этапом после эрозивного эзофагита в развитии рефлюкс-обусловленного повреждения.

КЛЕТОЧНЫЕ ИСТОЧНИКИ РАЗВИТИЯ ПИЩЕВОДА БАРРЕТТА

Развитие метаплазии в ДОП вследствие длительного воздействия кислотного и билиарного рефлюкса является результатом клеточного репрограммирования, при котором изменяется экспрессия ключевых факторов транскрипции и в результате этого меняется клеточный фенотип. Возможные пути клеточного репрограммирования включают трансдифференцировку многослойного плоского эпителия и транскоммитирование прогениторных клеток [32 - 35].

Трансдифференцировка – это процесс, при котором один полностью дифференцированный тип клеток (в данном случае, многослойный плоский эпителий) превращается в другой тип клеток (в клетки цилиндрического эпителия) [33, 34]. При прямой трансдифференцировке клетка меняет свой фенотип непосредственно, не подвергаясь клеточному делению.

Непрямая трансдифференцировка подразумевает на первом этапе дедифференцировку клеток многослойного плоского эпителия с приобретением свойств прогениторных клеток, а на втором этапе – приобретение нового фенотипа и возникновение метаплазированного цилиндрического эпителия. Таким образом, непрямая трансдифференцировка все равно подразумевает транскоммитирование (репрограммирование) прогениторной клетки. Термин транскоммитирование более точно отражает происходящий процесс, поскольку при трансдифференцировке из одного типа клеток возникает другой тип клеток, а при ПБ возникает множество линий дифференцировки, которые обеспечиваются мультипотентной СК [36].

Описано пять вероятных источников возникновения метаплазии ДОП:

- стволовые или прогениторные клетки многослойного плоского эпителия пищевода,
- стволовые или прогениторные клетки области гастро-эзофагеального перехода,
- стволовые или прогениторные клетки желез и протоков подслизистой основы пищевода,
- стволовые или прогениторные клетки первой фундальной железы желудка,
- резидуальные эмбриональные стволовые клетки,
- циркулирующие мультипотентные клетки костного мозга.

Аргументом в пользу транскоммитирования прогениторных клеток многослойного плоского эпителия является выявление многорядного эпителия, который располагается на границе между многослойным плоским и цилиндрическим эпителием при ПБ и представлен несколькими рядами незрелого плоского эпителия, который покрыт слизеобразующими столбчатыми клетками. Многорядный эпителий демонстрирует ультраструктурные особенности и иммуногистохимические признаки как многослойного плоского, так и цилиндрического эпителия. По данным сканирующей электронной микроскопии, клетки многорядного эпителия, или т.н. транзитной зоны, имеют межклеточные мостики, характерные для многослойного плоского эпителия, а также короткие микроворсинки и муцин в цитоплазме – признаки столбчатых секреторных клеток [37]. Кроме того, базальные клетки многорядного эпителия одновременно экспрессируют как цитокератин 19, свойственный цилиндрическому эпителию, так и цитокератин 4, характерный для многослойного плоского эпителия [38]. Показано, что многорядный эпителий является характерным патоморфологическим признаком ПБ и не встре-

чается в области ГЭП в норме [39]. Кроме того, при Nicholson A.M. et al. [40] обнаружили в метаплазированных железах ПБ и прилежащем многослойном плоском эпителии пищевода клоны с одинаковыми мутациями митохондриальной ДНК, что подтверждает наличие у этих двух типов эпителия общих прогениторных клеток.

Под воздействием желчных кислот на культуру immortalized кератиноцитов (EPC1 и EPC2) меняется экспрессия многих генов, включая гены плоскоклеточной дифференцировки, окислительного стресса, репарации ДНК, клеточного цикла и др. [41]. Ключевым моментом фенотипического сдвига в сторону кишечной дифференцировки является активация транскрипционного фактора CDX2. Показано, что холевая и дегидрохолевая кислоты вызывают наиболее выраженную активацию промотора гена CDX2 в клеточной культуре незрелых кератиноцитов, а после индуцированной вектором экспрессии CDX2 кератиноциты начинают транскрибировать MUC2, что может быть ранним признаком перепрограммирования многослойного плоского эпителия в цилиндрический [42]. Этот процесс опосредован активацией провоспалительного сигнального пути NFκB [42, 43] и подавлением сигнального пути NOTCH [44, 45, 46]. На клеточных линиях АКП (OE19, OE33) и immortalized многослойного плоского эпителия (Het-1A) показано, что под действием желчных кислот происходит снижение экспрессии рецепторов NOTCH, что приводит к подавлению транскрипционного фактора Hes-1 и активации АТОН-1, который стимулирует экспрессию CDX2. При этом активация лиганда NOTCH-рецепторов Dll1 также повышает экспрессию АТОН-1, а повышенная экспрессия CDX2 подавляет Hes-1, что приводит к закреплению кишечного фенотипа (Рис. 5).

Ингибирование Notch-сигнального пути в EPC2-hTERT клетках с гиперэкспрессией CDX1 и MYC приводит к изменению морфологии базального слоя многослойного плоского эпителия с приобретением черт цилиндрических клеток, а также изменению экспрессии ряда маркеров: наблюдается повышение экспрессии кератинов KRT8, KRT18, KRT19, KRT20 и муцинов MUC2, MUC3B, MUC5B, MUC17, свойственных для метаплазированного эпителия при ПБ, а также снижение экспрессии кератинов KRT5, KRT13 и KRT14, характерных для многослойного плоского эпителия [47]. Mincapelli C.D. et al. [48] при обработке в течение 30 недель клеточных культур hTERT-immortalized многослойного плоского эпителия соляной кислотой и желчными кислотами также показали

наличие клеток с двойным фенотипом: со сниженной экспрессией маркеров многослойного плоского эпителия CK4 и TAp63 и повышенной экспрессией кишечных маркеров CK8, CDX2, SOX9, villin, MUC2 и mAb Das-1.

Jiang M. et al. [49] выявили в многорядном эпителии транзитной зоны как у мышей, так и у человека базально расположенные прогениторные клетки, имеющие фенотип p63+ KRT5+ KRT7+. В эксперименте на мышах с индукцией экспрессии CDX2 из этих подобных клеток в дальнейшем дифференцировались БК с экспрессией MUC2+ и TFF3+.

СК и прогениторные клетки собственных желез подслизистой пищевода также являются возможным источником метаплазии при ПБ. На гистологическом уровне показано, что многорядный эпителий является продолжением протоков собственных желез пищевода [50, 51]. Glickman J.N. et al. [50] выявили одинаковый профиль экспрессии цитокератинов (CK7, 8/18, 19 и 20) в метаплазированном эпителии ПБ, в многорядном эпителии, железах и протоках собственных желез пищевода, а кроме того показали высокую пролиферативную активность клеток многорядного эпителия (положительную экспрессию Ki67 в 88% случаев). Таким образом, многорядный эпителий на поверхности фрагментов, который считается наиболее ранним патоморфологическим изменением при ПБ, может происходить из СК протоков собственных желез подслизистой основы пищевода. В эксперименте на животных показано, что в протоках собственных желез пищевода у свиньи содержатся мультипотентные СК, которые участвуют в заживлении повреждения многослойного плоского эпителия и экспрессируют маркеры цилиндрического эпителия SOX9, CK7, CK8 [52]. Owen R.P. et al. [53] обнаружили сходство в экспрессии ряда маркеров (в том числе LEFTY1 и OLFM4) между СК собственных желез пищевода и СК в участках метаплазии при ПБ, что делает вероятным происхождение метаплазированных желез при ПБ из СК собственных желез пищевода. Но, пожалуй, самым убедительным доказательством этой гипотезы является обнаружение при секвенировании ДНК одинаковых мутаций в генах CDKN2A и TP53 (в том числе LOH – потерю гетерозиготности), в клетках метаплазированных желез и эпителия собственных желез пищевода [54]. Интересно также, что при патоморфологическом анализе обнаружена связь так называемой дуктальной метаплазии собственных желез пищевода с развитием HGD и АКП [55].

В то же время ряд данных указывают на то, что источником метаплазии пищевода могут

монстрировано, что метаплазированные железы ПБ по своему строению эквивалентны пилорическим железам желудка с наличием пролиферативной зоны в средней 1/3 толщи слизистой оболочки с экспрессией на нижней границе LGR и миграцией IdU-меченных клеток из пролиферативной зоны в двух направлениях – к поверхности и к основанию желез, клетки над пролиферативной зоной экспрессируют MUC5AC и TFF1, а в основании желез – TFF2 и MUC6. БК, экспрессирующие MUC2 и TFF3 локализуются в верхней части слизистой оболочки. Jang B.G. et al. [59] предполагают, что LGR5+ клетки при КМ в желудке и ПБ, экспрессирующие маркеры кишечных СК (ASCL2, OLFM4 и EPHB2), являются отдельной популяцией СК, которые замещают предсуществующие СК желудка.

В качестве источников метаплазии при ПБ также предложены резидуальные эмбриональные клетки [60, 61] и циркулирующие мультипотентные клетки костного мозга [62, 63], однако эти два источника находят меньше всего подтверждения.

Наиболее обоснованной гипотезой о происхождении пищевода Барретта в настоящий момент является гипотеза о транскоммитировании прогениторных клеток. В то же время, в патогенезе ПБ, вероятно, участвуют несколько возможных клеточных источников (Рисунок 6) [5], отвечающих за возникновение и поддержание всего многообразия фенотипов метаплазии, объясняя гетерогенность, поликлональность и мозаичность метаплазированных желез в пределах сегмента даже у одного пациента.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ПИЩЕВОДА БАРРЕТТА БЕЗ ДИСПЛАЗИИ И С ДИСПЛАЗИЕЙ

Пищевод Барретта является пренеопластическим состоянием для АКП. Каскад изменений включает ПБ без дисплазии – ПБ с дисплазией низкой степени – ПБ с дисплазией высокой степени – АКП. Одна стадия процесса с течением времени переходит в другую, что сопровождается накоплением мутаций и сложными геномными перестройками [32, 64].

Для диагностики ПБ, и особенно для верификации дисплазии, обязательно требуется оценка правильно ориентированных срезов слизистой оболочки ДОП, т.е. срезов перпендикулярно просвету пищевода. Срезы должны быть получены на всю толщу слизистой оболочки и не содержать дефектов.

По определению, для диагностики ПБ необходимо обнаружение в биоптатах, полученных из ДОП выше 1 см от уровня гастро-эзофаге-

ального перехода КМ с наличием БК. В первую очередь, требуется удостовериться в том, что гистопрепараты действительно получены из пищевода, а не из желудка [65, 66, 67]. В гистопрепаратах, полученных из смежных областей желудка, слизистая оболочка будет соответствовать фундальному типу – с тесным расположением фундальных желез, не прерывающихся железами других клеточных типов. В то же время, в метаплазированной слизистой оболочке пищевода наблюдаются мозаично расположенные железы кардиального и оксинто-кардиального типа с очагами толсто- и тонкокишечной метаплазии, при этом железы могут встречаться в различном сочетании в различных биопсированных фрагментах. Кроме того, в срезах из метаплазированной слизистой оболочки пищевода могут определяться островки сохранного многослойного плоского эпителия, либо многорядный эпителий, нижние слои которого соответствуют строению многослойного плоского, а верхний представлен цилиндрическими слизь-содержащими клетками. Также для пищевода характерна дупликатура мышечной пластинки слизистой оболочки, что иногда можно заметить в биопсированных фрагментах. Иногда в срез могут попасть собственные железы пищевода, расположенные в подслизистой основе, и их выводные протоки. Все эти гистологические признаки будут способствовать правильному определению локализации взятия образца биопсии.

Следующим этапом диагностики ПБ является выявление истинных БК. БК являются клетками с крупной вакуолью в цитоплазме, по форме напоминающей бокал, и окрашивающейся при комбинированной ШИК-реакции в сочетании с альциановым синим в синий цвет. Следует отличать истинные БК от псевдобокаловидных клеток [68, 69], которые представляют собой растянутые слизью фовеолярные клетки, их цитоплазма при комбинированной ШИК-реакции в сочетании с альциановым синим также может окрашиваться в фиолетово-синий и синий цвет. Однако истинные бокаловидные клетки всегда разделены между собой фовеолярными клетками и не прилежат друг к другу, в отличие от псевдобокаловидных клеток. Также псевдобокаловидные клетки, хоть и растянуты муцином, но по форме отличаются от настоящих бокаловидных: они более вытянутые и их вакуоль не бывает округлой (Рисунок 7). Различение БК и псевдобокаловидных клеток помогает в дифференциальной диагностике между ПБ (кишечной метаплазией) и цилиндроклеточной метаплазией ДОП (желудочной метаплазией).

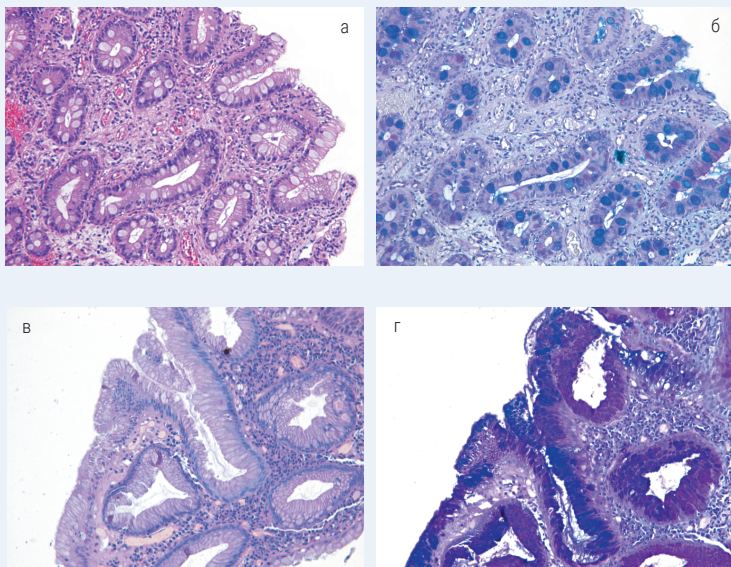


Рис. 7. Бокаловидные (верхний ряд) и псевдобокаловидные (нижний ряд) клетки, а, в – окраска гематоксилином и эозином, б, г – ШИК-реакция в сочетании с альциановым синим, x200
Fig. 7. Goblet cells (upper line) and pseudogoblet cells (lower line), а, b – haematoxylin and eosin staining, c, d – PAS with Alcian blue staining, x200

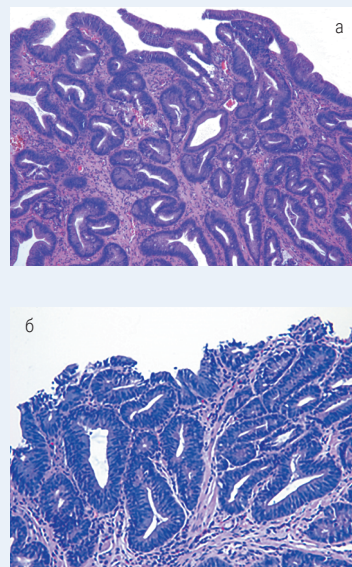


Рис. 8. а) Дисплазия при пищеводе Барретта низкой степени, окраска гематоксилином и эозином, увеличение x100. б) Дисплазия при пищеводе Барретта тяжелой степени, окраска гематоксилином и эозином, увеличение x200
Fig. 8. а) Low-grade dysplasia in Barrett's esophagus, haematoxylin and eosin staining, x100. б) High-grade dysplasia in Barrett's esophagus, haematoxylin and eosin staining, x200

Важнейшей задачей исследования образцов ДОП при ПБ является вынесение суждения о наличии и степени дисплазии. Степень дисплазии определяют либо по Венской классификации дисплазии ЖКТ [70], либо по системе Reid et al. (1988) [71]. При диагностике дисплазии в метаплазированной слизистой оболочке ДОП разработано четыре признака [72, 73]:

1. Созревание эпителия на поверхности фрагмента по сравнению с эпителием в железах/криптах. В норме ядерно-цитоплазматическое соотношение несколько увеличено в пролиферативной зоне, которая при пищеводе Барретта находится на границе нижней и средней трети толщи слизистой оболочки. При этом ядерно-цитоплазматическое соотношение уменьшается по направлению к поверхности, что соответствует «созреванию» эпителия. При дисплазии наблюдается повышенное ядерно-цитоплазматическое соотношение в поверхностном эпителии, где определяется укрупнение и стратификация ядер, различной степени выраженности ядерный полиморфизм и гиперхроматоз.
2. Архитектоника желез. При дисплазии низкой степени железы сохраняют близкую к

округлой и вытянутой форму, в то время как при тяжелой дисплазии наблюдается комплексное строение желез с наличием сосочковых и криброзных структур, ветвление и почкование желез, железы различаются между собой по размерам и форме. При слабой дисплазии отмечается слабое сближение желез между собой, собственная пластинка слизистой оболочки между железами хорошо различима. При тяжелой дисплазии железы выражено сближены, собственная пластинка слизистой оболочки между ними едва различима.

3. Цитологические признаки пролиферации эпителиальных клеток. Выраженность ядерной атипии и наличие митозов – важные опорные признаки для диагностики дисплазии. При этом для дисплазии характерно увеличение ядер не более чем до $\frac{1}{2}$ длинника клеток, а для дисплазии тяжелой степени – более $\frac{1}{2}$ длинника клеток. Наличие ядрышек помогает различить неопределенную дисплазию и истинную дисплазию. Нарастание ядерного полиморфизма, потеря полярности ядер, четкие ядрышки в большинстве клеток характерны для тяжелой дисплазии.

4. Наличие воспаления и эрозий/изъязвления. Выраженное активное воспаление и эрозии заставляют размышлять о реактивном характере изменений эпителия. Однако, при тяжелой дисплазии и аденокарциноме также возможны эрозии и участки изъязвления. Следует ориентироваться на совокупность изменений и результаты иммуногистохимического исследования с p53.

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ С P53 ДЛЯ УТОЧНЯЮЩЕЙ ДИАГНОСТИКИ ДИСПЛАЗИИ ПРИ ПИЩЕВОДЕ БАРРЕТТА

Известно, что уровень согласия о наличии и степени дисплазии при ПБ остается низким как среди патоморфологов общего профиля, так и среди патоморфологов, специализирующихся на исследовании материала из ЖКТ [72, 74 - 77]. Проблемы унификации и воспроизводимости диагноза дисплазии привели к тому, что стандартом патоморфологической диагностики дисплазии при ПБ стало подтверждение ее минимум двумя врачами-патоморфологами, один из которых должен быть экспертом в патоморфологии ЖКТ [77 - 79]. Вместе с тем, задача точной диагностики наличия и степени дисплазии чрезвычайно важна, т.к. наличие и степень дисплазии при ПБ определяют интервал выполнения эндоскопического исследования и лечебную тактику.

Объективным методом исследования для подтверждения наличия дисплазии в биопсированных фрагментах пищевода является иммуногистохимический (ИГХ) анализ интенсивности и распространенности экспрессии p53.

Инактивация гена TP53, которая может происходить либо в результате мутации, либо при потере гетерозиготности в области короткого плеча 17-й хромосомы (17pLON) – ключевое событие канцерогенеза при ПБ [80, 81, 82]. Мутации гена TP53 – наиболее частые генетические нарушения при АКП. По данным Reid B.J. et al. [80], мутации гена TP53 выявлены в 88% АКП, а 17pLON – в 94% АКП. В других исследованиях частота мутаций TP53 при АКП составляла от 72% до 82,6% [83, 84]. При этом, по некоторым данным, различного рода нарушения TP53 могут происходить задолго до развития АКП, предопределяя статус «прогрессоров» [81].

ИГХ исследование с антителами к p53 дает возможность визуализировать aberrантное накопление белка p53 в ядре, которое является вследствие нарушения деградации p53 и часто связано с мутациями гена TP53 (так называемый «мутантный тип» экспрессии). В

то же время, мутантный тип экспрессии p53 не позволяет однозначно утверждать о мутациях гена TP53, поскольку ИГХ исследование фиксирует лишь избыточное накопление белка p53, а не его причину (не выявляет мутацию напрямую). Кроме того, экспрессия p53 «дикого типа» не исключает наличие мутаций TP53. В работе Hamelin R. et al. [85] мутации TP53 выявлены в 94% АКП, а гиперэкспрессия p53 – у 66,7% пациентов с мутациями TP53, в остальных 33,3% случаях были выявлены мутации, нарушающие синтез полноразмерного белка, при этом экспрессия p53 была негативна, в одном наблюдении мутации TP53 не обнаружены и экспрессия p53 также была негативна и ещё в одном случае положительная экспрессия p53 наблюдалась при отсутствии мутаций в гене TP53. Davelaar A.L. et al. [86] сравнивали результаты FISH и ИГХ исследования с p53 (смесь клонов DO-7 и BP53-12) и обнаружили, что обе методики в сочетании друг с другом позволяют выявить 100% аномалий TP53 в участках LGD, HGD и АКП. При этом обе методики дали положительный результат только в 9 из 40 случаев (22,5%).

ИГХ исследование с антителами к p53 (Рисунок 9) показало хорошие результаты не только в ракурсе диагностики наличия и степени дисплазии при ПБ [87 - 90], но и в качестве маркера прогрессии [86, 88, 90 - 101]. Так, в крупном исследовании van der Wel M.J. et al. [87] уровень согласия патоморфологов в отношении ПБ без дисплазии составил 78,8%, в отношении дисплазии низкой степени – 41,6%, в отношении дисплазии тяжелой степени – 71,1% (при объединении случаев дисплазии низкой и тяжелой степени – 77,5%), а в отношении дисплазии неопределенной степени – 22,9%. Уровень согласия между патоморфологом улучшился после оценки результатов ИГХ исследования с p53 и составил 83,8% для ПБ без дисплазии и 79,3% для комбинированной группы дисплазии низкой и тяжелой степени. Таким образом, ИГХ исследование с маркером p53 предотвращало гипердиагностику ПБ без дисплазии и делало более точной диагностику дисплазии.

В исследовании Skacel M. et al. [90] показана связь между экспрессией p53 и прогрессированием до дисплазии тяжелой степени/АКП ($p = 0,017$, логарифмический ранговый критерий), при этом чувствительность экспрессии p53 для выявления потенциальных прогрессоров до дисплазии тяжелой степени/АКП составила 88%, а специфичность 75%.

По данным Murray L. et al. [91], при диффузной экспрессии p53 ОШ развития дисплазии тяжелой степени/АКП составило 8,42 (95% ДИ

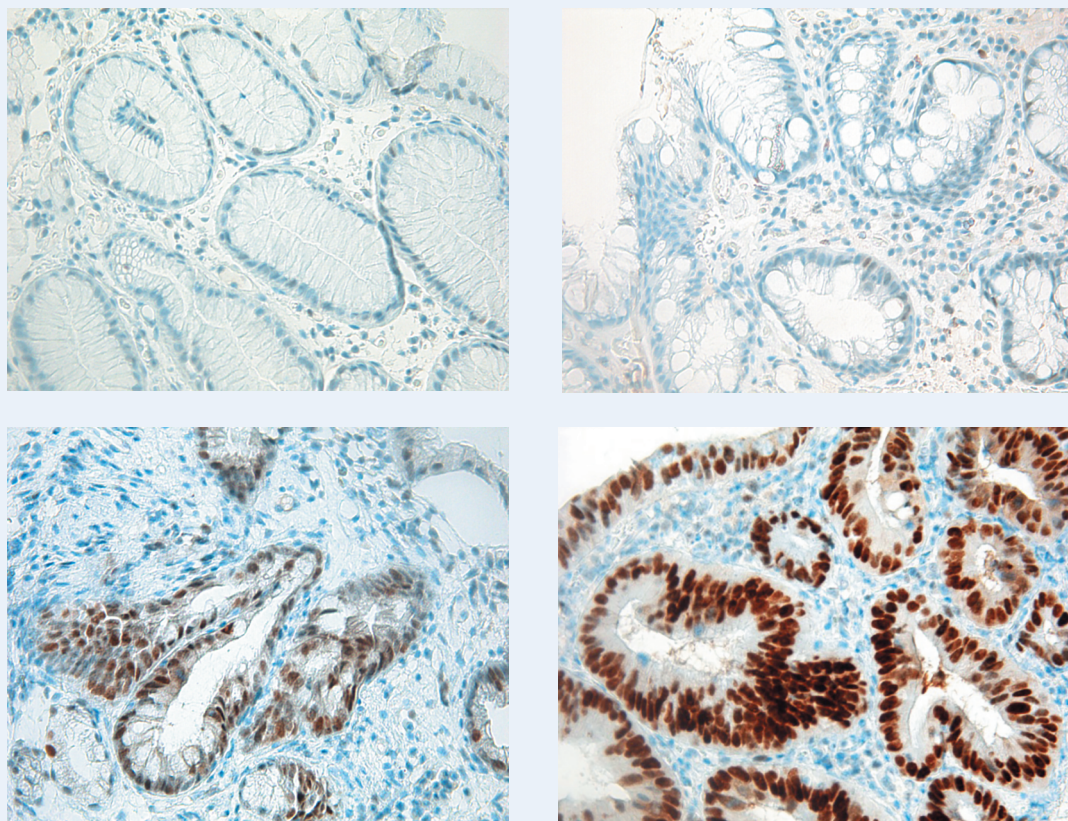


Рис. 9. Слабая ядерная экспрессия p53 а) при цилиндрической (кардиальной) метаплазии ДОП без дисплазии и б) ПБ без дисплазии. Выраженная кластерная ядерная экспрессия маркера p53 в) при дисплазии низкой степени, г) при дисплазии тяжелой степени, увеличение x400
Fig. 9. Weak expression of p53 а) in columnar-lined esophagus (cardiac type metaplasia) without dysplasia and б) in Barrett's esophagus without dysplasia. Marked cluster nuclear expression of p53 c) in low-grade dysplasia, d) in high-grade dysplasia, x400

2,37-30,0), однако один только p53 не мог служить надежным маркером прогрессии, т.к. его экспрессия отсутствовала у 2/3 пациентов, у которых в дальнейшем произошла прогрессия до дисплазии тяжелой степени/АКП. В других исследованиях ОШ развития дисплазии тяжелой степени/АКП при aberrантной экспрессии p53 варьировала от 3,0 до 21,6 [86, 97]. В исследовании Kastelein F. et al. [94] aberrантная экспрессия p53 выявлена в 11% биопсированных фрагментов без дисплазии, в 38% случаев дисплазии низкой степени, в 83% случаев дисплазии тяжелой степени и во всех случаях АКП ($p < 0,001$); полная потеря экспрессии p53 выявлена в 6% случаев дисплазии тяжелой степени и 43% случаев АКП. В этом исследовании прогностическая ценность в отношении неопластической прогрессии увеличивалась с 15% при гистологической диагностике дисплазии низкой степени до 33% при наличии дисплазии низкой степени и aberrантной экспрессии p53. Риск неопластической прогрессии у

пациентов с потерей экспрессии p53 был выше (отношение рисков 14,0; 95% ДИ 5,3-37,2), чем при гиперэкспрессии p53 (отношение рисков 5,6; 95% ДИ 3,1-10,3). В работе Duits L.C. et al. [97] у пациентов с потерей экспрессии p53 ОШ развития дисплазии тяжелой степени/АКП составило 5,6; 95% ДИ 0,7-43,9, а у пациентов с гиперэкспрессией p53 – 4,6; 95% ДИ 1,8-11,9. Показано, что гиперэкспрессия p53 встречается более часто и связана с миссенс-мутацией гена TP53, а полное отсутствие экспрессии наблюдается реже и связано с делецией или мутацией, нарушающей синтез полноразмерного белка [89].

В проспективном исследовании Younes M. et al. [96] прогрессия до дисплазии тяжелой степени/АКП была обнаружена при экспрессии p53 в виде кластеров у 31,25% пациентов и при экспрессии p53 в виде мультифокальных кластеров у 75% пациентов (анализ Каплана-Мейера, $p < 0,0001$). При экспрессии p53 в > 50% ядер в криптах прогрессирование

до дисплазии тяжелой степени/АКП произошло в 40% наблюдений, а при отрицательной экспрессии p53 прогрессирование наблюдалось в 0,3% случаев (анализ Каплана-Мейера, $p < 0,0001$).

Значимая связь между аберрантной экспрессией p53 и неопластической прогрессией подтверждена в мета-анализах [99, 100, 101]. Janmaat V.T. et al. [99] оценили среднее ОШ прогрессии до HGD/АКП при аберрантной экспрессии p53 как 3,86 (95% ДИ 2,03-7,33), при включении в анализ только пациентов с ПБ без дисплазии среднее ОШ прогрессии рассчитано как 6,12 (95% ДИ 2,99-12,52), а при оценке прогрессирования у пациентов с LGD ОШ составило 8,64 (95% ДИ 3,62-20,62). В мета-анализе Snyder P. et al. 2019 [101] ОШ неопла-

стической прогрессии в исследованиях типа случай-контроль в модели с фиксированным эффектом составило 3,84, 95% ДИ 2,79–5,27, а в модели со случайными эффектами 5,95, 95% ДИ 2,68–13,22. Для когортных исследований в модели с фиксированным эффектом ОШ составило 17,31, 95% ДИ 9,35–32,08, а в модели со случайными эффектами – 14,25, 95% ДИ 6,76–30,02.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Морфологическая диагностика ПБ и диспластических изменений при ПБ определяет тактику дальнейшего лечения. Поэтому диагностика дисплазии при ПБ носит коллегиальный характер и требует уточняющего иммуногистохимического исследования с маркером p53.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Vakil N., van Zanten S.V., Kahrilas P., Dent J., Jones R.; Global Consensus Group. The Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global evidence-based consensus. *Am J Gastroenterol.* 2006 Aug;101(8):1900-20; quiz 1943. doi: 10.1111/j.1572-0241.2006.00630.x.
2. Gyawali C.P., Kahrilas P.J., Savarino E. et al. Modern diagnosis of GERD: the Lyon Consensus. *Gut.* 2018 Jul;67(7):1351-1362. doi: 10.1136/gutjnl-2017-314722.
3. Gyawali C.P., Yadlapati R., Fass R. et al. Updates to the modern diagnosis of GERD: Lyon consensus 2.0. *Gut.* 2024 Jan 5;73(2):361-371. doi: 10.1136/gutjnl-2023-330616.
4. Biswas S., Quante M., Leedham S., Jansen M. The metaplastic mosaic of Barrett's oesophagus. *Virchows Archiv.* 2018;472:43–54. doi: 10.1007/s00428-018-2317-1.
5. Maslenkina K., Mikhaleva L., Naumenko M. et al. Signaling Pathways in the Pathogenesis of Barrett's Esophagus and Esophageal Adenocarcinoma. *Int J Mol Sci.* 2023; 24(11):9304. doi: 10.3390/ijms24119304.
6. Wright N.A. Aspects of the biology of regeneration and repair in the human gastrointestinal tract. *Philos Trans R Soc Lond Ser B Biol Sci.* 1998;353(1370):925–933. doi: 10.1098/rstb.1998.0257.
7. Evans J.A., Carlotti E., Lin M.L. et al. Clonal Transitions and Phenotypic Evolution in Barrett's Esophagus. *Gastroenterology.* 2022 Apr;162(4):1197-1209.e13. doi: 10.1053/j.gastro.2021.12.271.
8. Quante M., Bhagat G., Abrams J.A. et al. Bile acid and inflammation activate gastric cardia stem cells in a mouse model of Barrett-like metaplasia. *Cancer Cell.* 2012;21(1):36-51. doi: 10.1016/j.ccr.2011.12.004.
9. Kunze B., Wein F., Fang H.Y. et al. Notch Signaling Mediates Differentiation in Barrett's Esophagus and Promotes Progression to Adenocarcinoma. *Gastroenterology.* 2020;159(2):575-90. doi: 10.1053/j.gastro.2020.04.033.
10. Lavery D.L., Nicholson A.M., Poulsom R. et al. The stem cell organisation, and the proliferative and gene expression profile of Barrett's epithelium, replicates pyloric-type gastric glands. *Gut.* 2014;63(12):1854-63. doi: 10.1136/gutjnl-2013-306508.
11. McDonald S.A., Lavery D., Wright N.A., Jansen M. Barrett oesophagus: lessons on its origins from the lesion itself. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2015;12(1):50-60.
12. Nomura S., Goldenring J.R. Mind the Gap: Crossing Boundaries to Establish Reparative Metaplasia. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2018 Aug 8;6(4):468-469. doi: 10.1016/j.jcmgh.2018.07.002.
13. Goldenring J.R. Pyloric metaplasia, pseudopyloric metaplasia, ulcer-associated cell lineage and spasmolytic polypeptide-expressing metaplasia: reparative lineages in the gastrointestinal mucosa. *J Pathol.* 2018 Jun;245(2):132-137. doi: 10.1002/path.5066.
14. Agoston A.T., Pham T.H., Odze R.D., Wang D.H., Das K.M., Spechler S.J., Souza R.F. Columnar-Lined Esophagus Develops via Wound Repair in a Surgical Model of Reflux Esophagitis. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2018 Jun 27;6(4):389-404. doi: 10.1016/j.jcmgh.2018.06.007.
15. Zhang Q., Agoston A.T., Pham T.H. et al. Acidic Bile Salts Induce Epithelial to Mesenchymal Transition via VEGF Signaling in Non-Neoplastic Barrett's Cells. *Gastroenterology.* 2019 Jan;156(1):130-144.e10. doi: 10.1053/j.gastro.2018.09.046.
16. Souza R.F., Huo X., Mittal V. et al. Gastroesophageal reflux might cause esophagitis through a cytokine-mediated mechanism rather than caustic acid injury. *Gastroenterology.* 2009 Nov;137(5):1776-84. doi: 10.1053/j.gastro.2009.07.055.
17. Souza R.F. The role of acid and bile reflux in esophagitis and Barrett's metaplasia. *Biochem Soc Trans.* 2010 Apr;38(2):348-52. doi: 10.1042/BST0380348.
18. Souza R.F. From Reflux Esophagitis to Esophageal Adenocarcinoma. *Dig Dis.* 2016;34(5):483-90. doi: 10.1159/000445225.

19. Souza R.F. Reflux esophagitis and its role in the pathogenesis of Barrett's metaplasia. *J Gastroenterol.* 2017 Jul;52(7):767-776. doi: 10.1007/s00535-017-1342-1.
20. Souza R.F., Bayeh L., Spechler S.J., Tambar U.K., Bruick R.K. A new paradigm for GERD pathogenesis. Not acid injury, but cytokine-mediated inflammation driven by HIF-2 α : a potential role for targeting HIF-2 α to prevent and treat reflux esophagitis. *Curr Opin Pharmacol.* 2017 Dec;37:93-99. doi: 10.1016/j.coph.2017.10.004.
21. Tambunting L., Kelleher D., Duggan S.P. The Immune Underpinnings of Barrett's-Associated Adenocarcinogenesis: a Retrial of Nefarious Immunologic Co-Conspirators. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2022;13(5):1297-1315. doi: 10.1016/j.jcmgh.2022.01.023.
22. O'Riordan J.M., Abdel-latif M.M., Ravi N. et al. Proinflammatory cytokine and nuclear factor kappa-B expression along the inflammation-metaplasia-dysplasia-adenocarcinoma sequence in the esophagus. *Am J Gastroenterol.* 2005 Jun;100(6):1257-64. doi: 10.1111/j.1572-0241.2005.41338.x.
23. Dunbar K.B., Agoston A.T., Odze R.D. et al. Association of Acute Gastroesophageal Reflux Disease With Esophageal Histologic Changes. *JAMA.* 2016 May 17;315(19):2104-12. doi: 10.1001/jama.2016.5657.
24. Huo X., Agoston A.T., Dunbar K.B. et al. Hypoxia-inducible factor-2 α plays a role in mediating oesophagitis in GORD. *Gut.* 2017 Sep;66(9):1542-1554. doi: 10.1136/gutjnl-2016-312595.
25. Spechler S.J., Merchant J.L., Wang T.C. et al. A Summary of the 2016 James W. Freston Conference of the American Gastroenterological Association: Intestinal Metaplasia in the Esophagus and Stomach: Origins, Differences, Similarities and Significance. *Gastroenterology.* 2017 Jul;153(1):e6-e13. doi: 10.1053/j.gastro.2017.05.050.
26. Haddad J.J., Harb H.L. Cytokines and the regulation of hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α . *Int Immunopharmacol.* 2005 Mar;5(3):461-83. doi: 10.1016/j.innimm.2004.11.009.
27. Hanna S., Rastogi A., Weston A.P., Totta F., Schmitz R., Mathur S., McGregor D., Cherian R., Sharma P. Detection of Barrett's esophagus after endoscopic healing of erosive esophagitis. *Am J Gastroenterol.* 2006 Jul;101(7):1416-20. doi: 10.1111/j.1572-0241.2006.00631.x.
28. Modiano N., Gerson L.B. Risk factors for the detection of Barrett's esophagus in patients with erosive esophagitis. *Gastrointest Endosc.* 2009 May;69(6):1014-20. doi: 10.1016/j.gie.2008.07.024.
29. Ronkainen J., Talley N.J., Storskrubb T., Johansson S.E., Lind T., Vieth M., Agr  s L., Aro P. Erosive esophagitis is a risk factor for Barrett's esophagus: a community-based endoscopic follow-up study. *Am J Gastroenterol.* 2011 Nov;106(11):1946-52. doi: 10.1038/ajg.2011.326.
30. Zampeli E., Karamanolis G., Morfopoulos G. et al. Inflammatory infiltration of metaplastic epithelium and correlation to previous diagnosis of esophagitis and Barrett's length. *Scand J Gastroenterol.* 2012 Sep;47(8-9):900-6. doi: 10.3109/00365521.2012.688214.
31. Usui G., Shinozaki T., Jinno T., Fujibayashi K., Morikawa T., Gunji T., Matsuhashi N. Relationship between time-varying status of reflux esophagitis and Helicobacter pylori and progression to long-segment Barrett's esophagus: time-dependent Cox proportional-hazards analysis. *BMC Gastroenterol.* 2020 Aug 15;20(1):270. doi: 10.1186/s12876-020-01418-5.
32. Peters Y., Honing J., Kievit W., Kestens C., Pestman W., Nagtegaal I.D., van der Post R.S., Siersema P.D. Incidence of Progression of Persistent Nondysplastic Barrett's Esophagus to Malignancy. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2019 Apr;17(5):869-877.e5. doi: 10.1016/j.cgh.2018.08.033.
33. Que J., Garman K.S., Souza R.F., Spechler S.J. Pathogenesis and Cells of Origin of Barrett's Esophagus. *Gastroenterology.* 2019 Aug;157(2):349-364.e1. doi: 10.1053/j.gastro.2019.03.072.
34. Wang D.H., Souza R.F. Transcommitment: Paving the Way to Barrett's Metaplasia. *Adv Exp Med Biol.* 2016;908:183-212. doi: 10.1007/978-3-319-41388-4_10.
35. Zhang W., Wang D.H. Origins of Metaplasia in Barrett's Esophagus: Is this an Esophageal Stem or Progenitor Cell Disease? *Dig Dis Sci.* 2018 Aug;63(8):2005-2012. doi: 10.1007/s10620-018-5069-5.
36. McDonald S.A., Lavery D., Wright N.A., Jansen M. Barrett oesophagus: lessons on its origins from the lesion itself. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2015 Jan;12(1):50-60. doi: 10.1038/nrgastro.2014.181.
37. Sawhney R.A., Shields H.M., Allan C.H., Boch J.A., Trier J.S., Antonioli D.A. Morphological characterization of the squamocolumnar junction of the esophagus in patients with and without Barrett's epithelium. *Dig Dis Sci.* 1996 Jun;41(6):1088-98. doi: 10.1007/BF02088224.
38. Shields H.M., Zwas F., Antonioli D.A., Doos W.G., Kim S., Spechler S.J. Detection by scanning electron microscopy of a distinctive esophageal surface cell at the junction of squamous and Barrett's epithelium. *Dig Dis Sci.* 1993 Jan;38(1):97-108. doi: 10.1007/BF01296780.
39. Boch J.A., Shields H.M., Antonioli D.A., Zwas F., Sawhney R.A., Trier J.S. Distribution of cytokeratin markers in Barrett's specialized columnar epithelium. *Gastroenterology.* 1997 Mar;112(3):760-5. doi: 10.1053/gast.1997.v112.pm9041237.
40. Nicholson A.M., Graham T.A., Simpson A. et al. Barrett's metaplasia glands are clonal, contain multiple stem cells and share a common squamous progenitor. *Gut.* 2012 Oct;61(10):1380-9. doi: 10.1136/gutjnl-2011-301174.
41. Reveiller M., Ghatak S., Toia L. et al. Bile exposure inhibits expression of squamous differentiation genes in human esophageal epithelial cells. *Ann Surg.* 2012 Jun;255(6):1113-20. doi: 10.1097/SLA.0b013e3182512af9.
42. Kazumori H., Ishihara S., Rumi M.A., Kadowaki Y., Kinoshita Y. Bile acids directly augment caudal related homeo-

- box gene Cdx2 expression in oesophageal keratinocytes in Barrett's epithelium. *Gut*. 2006 Jan;55(1):16-25. doi: 10.1136/gut.2005.066209.
43. Huo X., Juergens S., Zhang X. et al. Deoxycholic acid causes DNA damage while inducing apoptotic resistance through NF- κ B activation in benign Barrett's epithelial cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2011 Aug;301(2):G278-86. doi: 10.1152/ajpgi.00092.2011.
 44. Morrow D.J., Avissar N.E., Toia L. et al. Pathogenesis of Barrett's esophagus: bile acids inhibit the Notch signaling pathway with induction of CDX2 gene expression in human esophageal cells. *Surgery*. 2009 Oct;146(4):714-21; discussion 721-2. doi: 10.1016/j.surg.2009.06.050.
 45. Tamagawa Y., Ishimura N., Uno G., Yuki T., Kazumori H., Ishihara S., Amano Y., Kinoshita Y. Notch signaling pathway and Cdx2 expression in the development of Barrett's esophagus. *Lab Invest*. 2012 Jun;92(6):896-909. doi: 10.1038/labinvest.2012.56.
 46. Tamagawa Y., Ishimura N., Uno G., Aimi M., Oshima N., Yuki T., Sato S., Ishihara S., Kinoshita Y. Bile acids induce Delta-like 1 expression via Cdx2-dependent pathway in the development of Barrett's esophagus. *Lab Invest*. 2016 Mar;96(3):325-37. doi: 10.1038/labinvest.2015.137.
 47. Vega M. E., Giroux V., Natsuizaka M. et al. Inhibition of Notch signaling enhances transdifferentiation of the esophageal squamous epithelium towards a Barrett's-like metaplasia via KLF4. *Cell Cycle*. 2014;13(24):3857-66. doi: 10.4161/15384101.2014. 972875.
 48. Minacapelli C. D., Bajpai M., Geng X., Cheng C. L., Chouthai A. A., Souza R., Spechler S. J., Das K. M.. Barrett's metaplasia develops from cellular reprogramming of esophageal squamous epithelium due to gastroesophageal reflux. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2017 Jun 1;312(6): G615-G622. doi: 10.1152/ajpgi.00268.2016.
 49. Jiang M., Li H., Zhang Y. et al. Transitional basal cells at the squamous-columnar junction generate Barrett's oesophagus. *Nature*. 2017 Oct 26;550(7677):529-533. doi: 10.1038/nature24269.
 50. Glickman J. N., Chen Y. Y., Wang H. H., Antoniolli D. A., Odze R. D. Phenotypic characteristics of a distinctive multilayered epithelium suggests that it is a precursor in the development of Barrett's esophagus. *Am J Surg Pathol*. 2001 May;25(5):569-78. doi: 10.1097/00000478-200105000-00002.
 51. Coad R. A., Woodman A. C., Warner P. J., Barr H., Wright N. A., Shepherd N. A. On the histogenesis of Barrett's oesophagus and its associated squamous islands: a three-dimensional study of their morphological relationship with native oesophageal gland ducts. *J Pathol*. 2005 Aug;206(4):388-94. doi: 10.1002/path.1804.
 52. Krüger L., Gonzalez L. M., Pridgen T. A. et al. Ductular and proliferative response of esophageal submucosal glands in a porcine model of esophageal injury and repair. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2017 Sep 1;313(3): G180-G191. doi: 10.1152/ajpgi.00036.2017.
 53. Owen R. P., White M. J., Severson D. T. et al. Single cell RNA-seq reveals profound transcriptional similarity between Barrett's oesophagus and oesophageal submucosal glands. *Nat Commun*. 2018 Oct 15;9(1):4261. doi: 10.1038/s41467-018-06796-9.
 54. Leedham S. J., Preston S. L., McDonald S. A. et al. Individual crypt genetic heterogeneity and the origin of metaplastic glandular epithelium in human Barrett's oesophagus. *Gut*. 2008 Aug;57(8):1041-8. doi: 10.1136/gut.2007.143339.
 55. Garman K. S., Kruger L., Thomas S., Swiderska-Syn M., Moser B. K., Diehl A. M., McCall S. J. Ductal metaplasia in oesophageal submucosal glands is associated with inflammation and oesophageal adenocarcinoma. *Histopathology*. 2015 Dec;67(6):771-82. doi: 10.1111/his.12707.
 56. Schellnegger R., Quante A., Rospleszcz S. et al. Goblet Cell Ratio in Combination with Differentiation and Stem Cell Markers in Barrett Esophagus Allow Distinction of Patients with and without Esophageal Adenocarcinoma. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2017 Jan;10(1):55-66. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-16-0117.
 57. Becker L., Huang Q., Mashimo H. Lgr5, an intestinal stem cell marker, is abnormally expressed in Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma. *Dis Esophagus*. 2010 Feb;23(2):168-74. doi: 10.1111/j.1442-2050.2009.00979.x.
 58. von Rahden B. H., Kircher S., Lazariotou M., Reiber C., Stuermer L., Otto C., Germer C. T., Grimm M. Lgr5 expression and cancer stem cell hypothesis: clue to define the true origin of esophageal adenocarcinomas with and without Barrett's esophagus? *J Exp Clin Cancer Res*. 2011 Feb 23;30(1):23. doi: 10.1186/1756-9966-30-23.
 59. Jang B. G., Lee B. L., Kim W. H. Intestinal Stem Cell Markers in the Intestinal Metaplasia of Stomach and Barrett's Esophagus. *PLoS One*. 2015 May 21;10(5): e0127300. doi: 10.1371/journal.pone.0127300.
 60. Wang X., Ouyang H., Yamamoto Y. et al. Residual embryonic cells as precursors of a Barrett's-like metaplasia. *Cell*. 2011 Jun 24;145(7):1023-35. doi: 10.1016/j.cell.2011.05.026.
 61. Xian W., Duleba M., Zhang Y., Yamamoto Y., Ho K. Y., Crum C., McKeon F. The Cellular Origin of Barrett's Esophagus and Its Stem Cells. *Adv Exp Med Biol*. 2019;1123:55-69. doi: 10.1007/978-3-030-11096-3_5.
 62. Sarosi G., Brown G., Jaiswal K. et al. Bone marrow progenitor cells contribute to esophageal regeneration and metaplasia in a rat model of Barrett's esophagus. *Dis Esophagus*. 2008;21(1):43-50. doi: 10.1111/j.1442-2050.2007.00744.x.
 63. Hutchinson L., Stenstrom B., Chen D., Piperdi B., Levey S., Lyle S., Wang T. C., Houghton J. Human Barrett's adenocarcinoma of the esophagus, associated myofibroblasts, and endothelium can arise from bone marrow-derived cells after allogeneic stem cell transplant. *Stem Cells Dev*. 2011 Jan;20(1):11-7. doi: 10.1089/scd.2010.0139.

64. Maslyonkina K. S., Konyukova A. K., Alexeeva D. Y., Sinelnikov M. Y., Mikhaleva L. M. Barrett's esophagus: The pathomorphological and molecular genetic keystones of neoplastic progression. *Cancer Med.* 2022 Jan;11(2):447–478. doi: 10.1002/cam4.4447.
65. Naini B. V., Souza R. F., Odze R. D. Barrett's Esophagus: A Comprehensive and Contemporary Review for Pathologists. *Am J Surg Pathol.* 2016 May;40(5): e45–66. doi: 10.1097/PAS.0000000000000598.
66. Japan Esophageal Society. Japanese Classification of Esophageal Cancer, 11th Edition: part I. Esophagus. 2017;14(1):1–36. doi: 10.1007/s10388-016-0551-7.
67. Srivastava A., Odze R. D., Lauwers G. Y., Redston M., Antonioli D. A., Glickman J. N. Morphologic features are useful in distinguishing Barrett esophagus from carditis with intestinal metaplasia. *Am J Surg Pathol.* 2007 Nov;31(11):1733–41. doi: 10.1097/PAS.0b013e318078ce91.
68. Chandrasoma P. T., Der R., Dalton P., Kobayashi G., Ma Y., Peters J., Demeester T. Distribution and significance of epithelial types in columnar-lined esophagus. *Am J Surg Pathol.* 2001 Sep;25(9):1188–93. doi: 10.1097/00000478-200109000-00010.
69. Srivastava A., Appelman H., Goldsmith J. D., Davison J. M., Hart J., Krasinskas A. M. 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 May;41(5): e8–e21. doi: 10.1097/PAS.0000000000000819.
70. Schlemper R. J., Riddell R. H., Kato Y. et al. The Vienna classification of gastrointestinal epithelial neoplasia. *Gut.* 2000 Aug;47(2):251–5. doi: 10.1136/gut.47.2.251.
71. Reid B. J., Haggitt R. C., Rubin C. E., Roth G., Surawicz C. M., Van Belle G., Lewin K., Weinstein W. M., Antonioli D. A., Goldman H. et al. Observer variation in the diagnosis of dysplasia in Barrett's esophagus. *Hum Pathol.* 1988 Feb;19(2):166–78. doi: 10.1016/s0046-8177(88)80344-7.
72. Montgomery E., Bronner M. P., Goldblum J. R. et al. Reproducibility of the diagnosis of dysplasia in Barrett esophagus: a reaffirmation. *Hum Pathol.* 2001 Apr;32(4):368–78. doi: 10.1053/hupa.2001.23510.
73. Montgomery E. Update on Grading Dysplasia in Barrett's Esophagus. *Pathology Case Reviews.* 2002;7(1):35–42. doi: 10.1097/00132583-200201000-00006.
74. Duits L. C., Phoa K. N., Curvers W. L. et al. Barrett's oesophagus patients with low-grade dysplasia can be accurately risk-stratified after histological review by an expert pathology panel. *Gut.* 2015;64(5):700–6. doi: 10.1136/gutjnl-2014-307278.
75. Duits L. C., van der Wel M. J., Cotton C. C. et al. Patients With Barrett's Esophagus and Confirmed Persistent Low-Grade Dysplasia Are at Increased Risk for Progression to Neoplasia. *Gastroenterology.* 2017;152(5):993–1001.e1. doi: 10.1053/j.gastro.2016.12.008.
76. Kerkhof M., van Dekken H., Steyerberg E. W., Meijer G. A., Mulder A. H., de Bruïne A., Driessen A., ten Kate F. J., Kusters J. G., Kuipers E. J., Siersema P. D.; CYBAR study group. Grading of dysplasia in Barrett's oesophagus: substantial interobserver variation between general and gastrointestinal pathologists. *Histopathology.* 2007 Jun;50(7):920–7. doi: 10.1111/j.1365-2559.2007.02706.x.
77. Skacel M., Petras R. E., Gramlich T. L., Sigel J. E., Richter J. E., Goldblum J. R. The diagnosis of low-grade dysplasia in Barrett's esophagus and its implications for disease progression. *Am J Gastroenterol.* 2000 Dec;95(12):3383–7. doi: 10.1111/j.1572-0241.2000.03348.x.
78. Fitzgerald R. C., di Pietro M., Ragunath K., Ang Y., Kang J. Y., Watson P., Trudgill N., Patel P., Kaye P. V., Sanders S., O'Donovan M., Bird-Lieberman E., Bhandari P., Jankowski J. A., Attwood S., Parsons S. L., Loft D., Lagergren J., Moayyedi P., Lyratzopoulos G., de Caestecker J.; British Society of Gastroenterology. British Society of Gastroenterology guidelines on the diagnosis and management of Barrett's oesophagus. *Gut.* 2014 Jan;63(1):7–42. doi: 10.1136/gutjnl-2013-305372.
79. Weusten B., Bisschops R., Coron E. et al. Endoscopic management of Barrett's esophagus: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Position Statement. *Endoscopy.* 2017 Feb;49(2):191–198. doi: 10.1055/s-0042-122140.
80. Reid B. J., Barrett M. T., Galipeau P. C., Sanchez C. A., Neshat K., Cowan D. S., Levine D. S. Barrett's esophagus: ordering the events that lead to cancer. *Eur J Cancer Prev.* 1996 Dec;5 Suppl 2:57–65. doi: 10.1097/00008469-199612002-00009.
81. Stachler M. D., Camarda N. D., Deitrick C. et al. Detection of Mutations in Barrett's Esophagus Before Progression to High-Grade Dysplasia or Adenocarcinoma. *Gastroenterology.* 2018 Jul;155(1):156–167. doi: 10.1053/j.gastro.2018.03.047.
82. Caspa Gokulan R., Garcia-Buitrago M. T., Zai-ka A. I. From genetics to signaling pathways: molecular pathogenesis of esophageal adenocarcinoma. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* 2019 Aug;1872(1):37–48. doi: 10.1016/j.bbcan.2019.05.003.
83. Dulak A. M., Stojanov P., Peng S., Lawrence M. S. et al. Exome and whole-genome sequencing of esophageal adenocarcinoma identifies recurrent driver events and mutational complexity. *Nat Genet.* 2013 May;45(5):478–86. doi: 10.1038/ng.2591.
84. Ross-Innes C. S., Becq J., Warren A., Cheetham R. K. et al. Whole-genome sequencing provides new insights into the clonal architecture of Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma. *Nat Genet.* 2015 Sep;47(9):1038–1046. doi: 10.1038/ng.3357.
85. Hamelin R., Fléjou J. F., Muzeau F., Potet F., Laurent-Puig P., Fékété F., Thomas G. TP53 gene mutations and p53 protein immunoreactivity in malignant and

- pre-malignant Barrett's esophagus. *Gastroenterology*. 1994 Oct;107(4):1012–8. doi: 10.1016/0016-5085(94)90225-9.
86. Davelaar A. L., Calpe S., Lau L. et al. Aberrant TP53 detected by combining immunohistochemistry and DNA-FISH improves Barrett's esophagus progression prediction: a prospective follow-up study. *Genes Chromosomes Cancer*. 2015 Feb;54(2):82–90. doi: 10.1002/gcc.22220.
87. van der Wel M. J., Coleman H. G., Bergman JJGHM, Jansen M., Meijer S. L.; BOLERO working group. Histopathologist features predictive of diagnostic concordance at expert level among a large international sample of pathologists diagnosing Barrett's dysplasia using digital pathology. *Gut*. 2020 May;69(5):811–822. doi: 10.1136/gutjnl-2019-318985.
88. Kaye P. V., Haider S. A., Ilyas M., James P. D., Soomro I., Faisal W., Catton J., Parsons S. L., Ragunath K. Barrett's dysplasia and the Vienna classification: reproducibility, prediction of progression and impact of consensus reporting and p53 immunohistochemistry. *Histopathology*. 2009 May;54(6):699–712. doi: 10.1111/j.1365-2559.2009.03288.x.
89. Kaye P. V., Ilyas M., Soomro I. et al. Dysplasia in Barrett's oesophagus: p53 immunostaining is more reproducible than haematoxylin and eosin diagnosis and improves overall reliability, while grading is poorly reproducible. *Histopathology*. 2016 Sep;69(3):431–40. doi: 10.1111/his.12956.
90. Skacel M., Petras R. E., Rybicki L. A., Gramlich T. L., Richter J. E., Falk G. W., Goldblum J. R. p53 expression in low grade dysplasia in Barrett's esophagus: correlation with interobserver agreement and disease progression. *Am J Gastroenterol*. 2002 Oct;97(10):2508–13. doi: 10.1111/j.1572-0241.2002.06032.x.
91. Murray L., Sedo A., Scott M., McManus D., Sloan J. M., Hardie L. J., Forman D., Wild C. P. TP53 and progression from Barrett's metaplasia to oesophageal adenocarcinoma in a UK population cohort. *Gut*. 2006 Oct;55(10):1390–7. doi: 10.1136/gut.2005.083295.
92. Kerkhof M., Steyerberg E. W., Kusters J. G., van Dekken H., van Vuuren A. J., Kuipers E. J., Siersema P. D. Aneuploidy and high expression of p53 and Ki67 is associated with neoplastic progression in Barrett esophagus. *Cancer Biomark*. 2008;4(1):1–10. doi: 10.3233/cbm-2008-4101.
93. Sikkema M., Kerkhof M., Steyerberg E. W. et al. Aneuploidy and overexpression of Ki67 and p53 as markers for neoplastic progression in Barrett's esophagus: a case-control study. *Am J Gastroenterol*. 2009 Nov;104(11):2673–80. doi: 10.1038/ajg.2009.437.
94. Kastelein F., Biermann K., Steyerberg E. W., Verheij J., Kalisvaart M., Looijenga L. H., Stoop H. A., Walter L., Kuipers E. J., Spaander M. C., Bruno M. J.; ProBar-study group. Aberrant p53 protein expression is associated with an increased risk of neoplastic progression in patients with Barrett's oesophagus. *Gut*. 2013 Dec;62(12):1676–83. doi: 10.1136/gutjnl-2012-303594.
95. Horvath B., Singh P., Xie H., Thota P. N., Sun X., Liu X. Expression of p53 predicts risk of prevalent and incident advanced neoplasia in patients with Barrett's esophagus and epithelial changes indefinite for dysplasia. *Gastroenterol Rep (Oxf)*. 2016 Nov;4(4):304–309. doi: 10.1093/gastro/gov045.
96. Younes M., Brown K., Lauwers G. Y., Ergun G., Meriano F., Schmullen A. C., Barroso A., Ertan A. p53 protein accumulation predicts malignant progression in Barrett's metaplasia: a prospective study of 275 patients. *Histopathology*. 2017 Jul;71(1):27–33. doi: 10.1111/his.13193.
97. Duits L. C., Lao-Sirieix P., Wolf W. A. et al. A biomarker panel predicts progression of Barrett's esophagus to esophageal adenocarcinoma. *Dis Esophagus*. 2019 Jan 1;32(1):doy102. doi: 10.1093/dote/doy102.
98. Choi Y., Bedford A., Pollack S. The Aberrant Expression of Biomarkers and Risk Prediction for Neoplastic Changes in Barrett's Esophagus-Dysplasia. *Cancers (Basel)*. 2024 Jun 28;16(13):2386. doi: 10.3390/cancers16132386.
99. Janmaat V. T., van Olphen S. H., Biermann K. E., Looijenga L. H. J., Bruno M. B., Spaander M. C. W. Use of immunohistochemical biomarkers as independent predictor of neoplastic progression in Barrett's oesophagus surveillance: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2017 Oct 23;12(10):e0186305. doi: 10.1371/journal.pone.0186305.
100. Altaf K., Xiong J. J., la Iglesia D., Hickey L., Kaul A. Meta-analysis of biomarkers predicting risk of malignant progression in Barrett's oesophagus. *Br J Surg*. 2017 Apr;104(5):493–502. doi: 10.1002/bjs.10484.
101. Snyder P., Dunbar K., Cipher D. J., Souza R. F., Spechler S. J., Konda V. J. A. Aberrant p53 Immunostaining in Barrett's Esophagus Predicts Neoplastic Progression: Systematic Review and Meta-Analyses. *Dig Dis Sci*. 2019 May;64(5):1089–1097. doi: 10.1007/s10620-019-05586-7.