



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU
Ankara İli 2.Bölge Kamu Hastaneler Birliği Genel Sekreterliği
Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi
İç Hastalıkları Kliniği

**BARRETT ÖZOFAGUS VE ÖZOFAGUS KANSERLERİNDE M30
VE M65'İN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRİLMESİ**

Eğitim Sorumlusu Doç.Dr.Esin Beyan

UZMANLIK TEZİ

Dr. İBRAHİM KARADAĞ

TEZ DANIŞMANI

Doç.Dr. Esin BEYAN

ANKARA-2016

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU
Ankara İli 2.Bölge Kamu Hastaneler Birliği Genel Sekreterliği
Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi
İç Hastalıkları Kliniği

**BARRETT ÖZOFAGUS VE ÖZOFAGUS
KANSERLERİNDE M30 VE M65'İN
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL
DEĞERLENDİRİLMESİ**

DR. İBRAHİM KARADAĞ
UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. ESİN BEYAN

ANKARA 2016

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde büyük emeği geçen, bilgi, yetenek ve deneyimleri ile rehberlik eden, tez hazırlık sürecinde her aşamada bana özveri ile yardımcı olan değerli hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. Esin BEYAN'a, kliniğimiz eğitim görevlilerinden Doç. Dr. Derun Taner ERTUĞRUL ve Doç. Dr. Mustafa ALTAY'a tez hazırlık sürecinde emeklerini esirgemeyen Doç. Dr. Gülçin ŞİMŞEK'e,

Eğitimim sırasında bilgi ve deneyimlerini bana aktaran Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Gastroenteroloji Kliniği'nden Prof. Dr. Yaşar NAZLIGÜL, Doç. Dr. Metin UZMAN ve tüm uzman doktorlara,

Asistanlık eğitimim süresince çalıştığım Ankara Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi İç Hastalıkları Kliniğinde, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım başta Doç. Dr. Kürşat DAL, Uzm. Dr. Oktay BULUR, Uzm. Dr. Güler KIZILCA, Doç. Dr. Aysun AYBAL KUTLUGÜN, Doç. Dr. Fatma AYERDEN EBİNÇ olmak üzere tüm başasistanlarımıza, uzmanlarımıza ve beraber çalıştığımız dostluğunu hiçbir zaman esirgemeyen tüm asistan arkadaşlarıma, bütün hemşirelerimize, hastane personelimize,

Teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Dr. İbrahim KARADAĞ

Ankara 2016

İÇİNDEKİLER

I. TEŞEKKÜR.....	i
II. İÇİNDEKİLER.....	ii
III. ÖZET.....	iv
IV. ABSTRACT.....	v
V. KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
VI. ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
VII. TABLOLAR DİZİNİ.....	viii
VIII. RESİMLER DİZİNİ.....	ix
IX. GRAFİKLER DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Barret Özofagus.....	3
2.1.1. Epidemiyoloji.....	5
2.1.2. Patogenez.....	5
2.1.3. Endoskopik Tanı.....	8
2.1.4. Histolojik Tanı.....	8
2.1.5. Takip ve Tarama.....	10
2.1.6. Tedavi.....	11
2.1.6.1. Medikal Tedavi.....	12
2.1.6.2. Endoskopik Tedavi.....	13
2.1.6.3. Cerrahi Tedavi.....	13
2.2. Özofagus Adenokarsinomu.....	14
2.2.1. Tanım ve Epidemiyoloji.....	14

2.2.2. Etiyoloji ve Patogenez.....	14
2.2.3. Klinik Semptom ve Bulgular.....	17
2.2.4. Tanı ve Evreleme.....	17
2.2.5. Tedavi.....	20
2.3. Apoptozis.....	22
2.3.1. Apoptoz Mekanizmaları.....	24
2.3.2. Barrett Karsinogenezi ve Apoptozis Mekanizmaları.....	26
2.4. Sitokeratinler ve M30-M65.....	28
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	31
3.1. Hasta Seçimi.....	31
3.2. İmmünohistokimyasal Yöntem.....	31
3.3. İstatistiksel Yöntem.....	33
4. BULGULAR.....	35
5. TARTIŞMA.....	39
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	44
7. KAYNAKLAR.....	45

ÖZET

AMAÇ: Özofagus adenokanserlerinde birçok protein-genetik belirteç üzerinde çalışma olmasına rağmen günümüzde klinik kullanıma giren bir marker yoktur. Bu çalışmada Barrett özofagus ve adenokanser karsinogenezinde apoptozun rolünü araştırmak ve apoptotik- nekrotik belirteçler olan M30 ve M65'in prediktif bir değerinin olup olmadığını belirlemek üzere Barrett mukozası ve kanserli dokuda immünohistokimyasal yöntemle incelenmesi amaçlandı.

GEREÇ VE YÖNTEM: Çalışmamıza 2008-2015 yılları arasında Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi gastroenteroloji kliniğine başvuran 18 yaşından büyük ve uygun tıbbi endikasyonlarla üst gastrointestinal endoskopisiyle özofagiyal doku biyopsisi yapıp yeni tanı alan 20 Barrett özofagus, 20 özofagus kanseri hastası ile gastroözofagiyal reflü semptomlarıyla başvurup üst gastrointestinal sistem endoskopisi yapıp alınan özofagiyal dokusu histopatolojik olarak normal saptanan 20 hasta dahil edildi. Hastanemiz patoloji kliniği arşivinden alınan doku örneklerinden immünohistokimyasal yöntemlerle M30 ve M65 boyandı. Bu şekilde çalışmaya alınan kişiler 3 gruba ayrıldı ve gruplar arasında M30 ve M65 boyanmaları açısından immünohistokimyasal olarak anlamlı bir fark olup olmadığı araştırıldı. Hastaların demografik verileri, tıbbi özgeçmişleri ve endoskopi raporları dosya taraması ile kaydedildi. Bilinen başka bir malignitesi olanlar, aktif inflamatuvar ve enfeksiyöz hastalığı bulunanlar çalışma dışı bırakıldı.

BULGULAR: Gruplar arasında M30 ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p=0,329$). Sağlıklı ve Barrett özofagus grubuyla karşılaştırıldığında Adenokanser grubunda M65 pozitifliği istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek bulundu ($p=0,0001$).

SONUÇ: Çalışmamızda gruplar arasında M30 ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. M65 özofagus adenokanserlerinde anlamlı oranda yüksek bulundu. Bu durum özofagus adenokanser patogenezinde nekrozun daha baskın olduğunu düşündürmektedir. M65 özofagus adenokanserlerinde prediktif bir marker olarak kullanılabilir.

ABSTRACT

OBJECTIVES: Although there are many studies on protein-genetic markers of esophageal adenocarcinoma, any marker is not still used clinically in today. In this study, it aimed to examine them with immunohistochemical method in the Barrett's mucosa and cancer tissue to investigate the role of apoptosis in carcinogenesis in Barrett's esophagus and adenocarcinoma and to determine whether M30 and M65 (apoptotic-necrotic markers) have the predictive value.

MATERIAL AND METHOD: Our study included 20 patients with Barrett's esophagus and 20 patients with esophageal cancer who were admitted to the gastroenterology outpatient clinic of Kecioren Training and Research Hospital between the years 2008-2015 and were older than 18 years and underwent esophageal tissue biopsy by upper gastrointestinal endoscopy for appropriate medical indications and were newly diagnosed and also 20 patients who were admitted with gastroesophageal reflux symptoms and underwent esophageal tissue biopsy by upper gastrointestinal endoscopy and had normal histological examination. M30 and M65 were stained with immunohistochemical methods from tissue samples taken from the archives of the pathology clinic of our hospital. Thus, the patients were classified into 3 groups and it was investigated whether there is an immunohistochemically significant difference between the groups in terms of staining of M30 and M65. The patients' demographic data, medical history and endoscopy reports were recorded with the file scanning. The patients with another known malignancy, active inflammatory and infectious disease were excluded from the study.

FINDINGS: There was no a statistically significant difference between the groups in terms of the expression of M30 ($p=0.329$). M65 positivity was statistically significantly higher in the adenocarcinoma group compared to the healthy group and the Barrett's esophagus group ($p=0.0001$).

CONCLUSION: In our study, there was no a statistically significant difference between the groups in terms of the expression of M30. M65 positivity was statistically significantly higher in the patients with adenocarcinoma. This suggests that necrosis is more prominent in the pathogenesis of esophageal adenocarcinoma. M65 can be used as a predictive marker in esophageal adenocarcinoma.

KISALTMALAR DİZİNİ

GÖRH : Gastroözofageal Reflü Hastalığı

BÖ : Barrett Özofagus

ÖAK : Özofagus Adenokarsinomu

CK : Sitokeratin

FasL : Fas Ligand

Bcl-2 : B-cell lymphoma 2

H : Hidrojen

PPI : Proton Pompa İnhibitörü

NSAİİ : Nonsteroid Antiinflamatuvar İlaçlar

COX-2 : Selektif Siklooksijenaz 2

EMR : Endoskopik Mukozal Rezeksiyon

APK : Argon Plasma Koagulasyon

FDT : Fotodinamik Tedavi

RFA : Radyo-Frekans Ablasyon

CT : Computerized Tomography

PET : Positron Emission Tomography

EUS : Endoscopic Ultrasound

TNFR : Tümör Nekrozis Faktör Reseptör

FADD : Fas Adapter Protein with a Death Domain

TNF : Tümör Nekrozis Faktör

TRADD : TNFR Adapter Protein with a Death Domain

APAF 1 : Apoptosis Proteaz Aktive Edici Faktör 1

PBS : Fosfatlı Buffer Solüsyonu

EM : Elektron Mikroskopu

DOK : Deoksikolat

ELİSA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. : Özofageal kolumnar metaplazi/ Barrett özofagus ait şüpheli alanların endoskopik olarak görünümü

Şekil 2.2. : Özofagusta kolumnar epitel ve intestinal metaplazi gelişim aşamaları

Şekil 2.3. : ÖAK İnvazyon Evrelemesi

Şekil 2.4. : p53 Aktivasyonu

Şekil 2.5. : Kırılmış sitokeratin 18

Şekil 2.6. : M30 ve M65



TABLolar DİZİNİ

Tablo 4.1. : Çalışmaya Katılanların Cinsiyet Dağılımları

Tablo 4.2. : Grupların Cinsiyet Açısından Değerlendirilmesi

Tablo 4.3. : Grupların Yaş Bakımından Değerlendirilmesi

Tablo 4.4. : Gruplara Göre M30 Boyanması

Tablo 4.5. : Gruplara Göre M65 Boyanması



RESİMLER DİZİNİ

Resim 2.1. : Barrett Özofagusun Endoskopik Görüntüsü

Resim 2.2. : Barrett Özofagus Histolojik Görüntüsü

Resim 2.3. : Metaplazi-Displazi-Karsinom

Resim 2.4. : Erken Evre ÖAK'un Endoskopik Görünümü

Resim 3.1. : M30 Negatif Barret Özofagus Odağı

Resim 3.2. : İyi Diferansiye Adenokanser Alanı M30 Pozitif

Resim 3.3. : Adenokanser Alanı M65 Pozitif

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 4.1. : Gruplara Göre M30 Boyanması

Grafik 4.2. : Gruplara Göre M65 Boyanması



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Özofagus kanserleri Dünya'da kanser tipleri arasında % 4,2 görülme oranıyla sekizinci sırada olup ölüm sıklığı açısından altıncı sırada yer alan kanserlerdendir (1). Özofagus kanserleri adenokarsinom ve yassı hücreli karsinom olmak üzere iki major histolojik tipe ayrılmaktadır. Adenokarsinomun major risk faktörü olarak gastroözofageal reflü hastalığı (GÖRH) ve Barrett özofagus (BÖ) suçlanmaktadır. Özofagus karsinomunun kötü prognozundan dolayı Barrett özofagus'un erken tanı ve tedavisi büyük önem taşımaktadır.

Barrett özofagusu, özofagusun distal kısmındaki normal skuamöz epitelin intestinal metaplazi içeren normal olmayan kolumnar epitel ile yer değiştirmesi olarak tanımlanmaktadır (2). Özofagus adenokarsinomu (ÖAK) için öncü bir lezyon olan Barrett özofagusda karsinogenezin başlaması ve ilerlemesinde apoptozis sürecindeki aktivasyon-inhibisyon basamakları önemli bir rol oynamaktadır.

Apoptozis işlevini yitirmiş, yaşlanmış, düzensiz gelişimi olan veya DNA'sında hasar olan hücrelerin güvenli bir şekilde ortadan kaldırılmasını sağlayan ve genetik olarak kontrol edilen programlı hücre ölümüdür (3). Apoptozis ekstrinsik ve intrinsik yollar ile ilerleyen çok sayıda mediatörün aracılık ettiği kompleks bir olaydır. Kaspaz enzim ailesinin aktifleşmesi apoptozisi başlatan olaylardan biridir. Kaspaz-3 ekstrinsik ve intrinsik apoptozis yollarının ortak noktasıdır. Sitokeratinler (CK), intermediyat filament protein ailesindedir. Epitelyal dokularda hücrelerin şekil ve bütünlüğünün desteklenmesine yardım ederler. Apoptotik veya proliferasyon halindeki hücrelerden CK'lerin salgılanması artar. CK18 hızlı büyüyen tümörlerin epitelyal hücrelerinden aşırı derecede salgılanır.

Epitelyal hücre ölümü sırasında CK-18, kaspazlarla aspartat 238 ve aspartat 396 noktasında bölünüp, ortaya CK-18Asp396 neoepitopunun (M30 antijeni) çıkmasına sebep olur. Buna karşı geliştirilen monoklonal M30 belirteci özellikle CK-18'in aspartat 396'da bölünmüş fragmanını tanıyabilir ve ölçülmesine yardımcı olur. Bununla beraber monoklonal M65 belirteci hem sağlam CK-18'i hem de bölünmüş CK-18'i ölçmektedir. Total CK-18 (M65) tüm hücre ölümlerinde salgılanırken, kırılmış CK-18 (M30) ise apoptozis sırasında oluşur ve hücreler sekonder nekroze giderken salgılanır. M30 M65 oranının artması apoptoz,

azalması ise nekroz lehinedir (4). Böylece monoklonal M30 ve M65 antikorları apoptotik- nekrotik epitelyal hücre ölümünün belirteçleri olarak kullanılabilir (5,6) .

Barrett özofagusdan özofagus adenokarsinomu gelişiminde kontrolsüz hücre çoğalması, apoptozun inhibisyonu, kromozomlardaki değişiklikler ve invazyon gibi genel karsinogenez sürecinde olan basamaklar görülmektedir (7). Tümör baskılayıcı bir gen olan p53'teki mutasyonlar, apoptoz mekanizmasında önemli rol oynayan Fas ve Fas Ligand (FasL) moleküllerindeki değişiklikler ve B-cell lymphoma 2 (Bcl-2) protoonkogeninin aktive olması gibi değişik mekanizmalar Barrett kanserogenezinde apoptozun inhibisyonuna neden olur (8,9,10,11). Daha önce yapılan ve değişik malignitelerde apoptoz sürecini değerlendiren birçok çalışmada M30 ve M65'in serum düzeyleri incelenmiştir. Histopatolojik olarak yapılan çalışma sayısı ise daha azdır.

Özofagus adenokanserlerinde birçok protein-genetik belirteç üzerinde çalışma olmasına rağmen günümüzde klinik kullanıma giren bir marker yoktur. Bu çalışmada Barrett özofagus ve adenokanser karsinogenezinde apoptozun rolünü araştırmak ve apoptotik- nekrotik belirteçler olan M30 ve M65'in prediktif bir değerinin olup olmadığını belirlemek üzere Barrett mukozası ve kanserli dokuda immünohistokimyasal yöntemle incelenmesi amaçlandı.

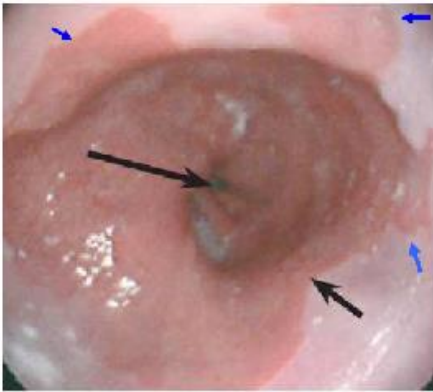
2.GENEL BİLGİLER

2.1. Barret Özofagus

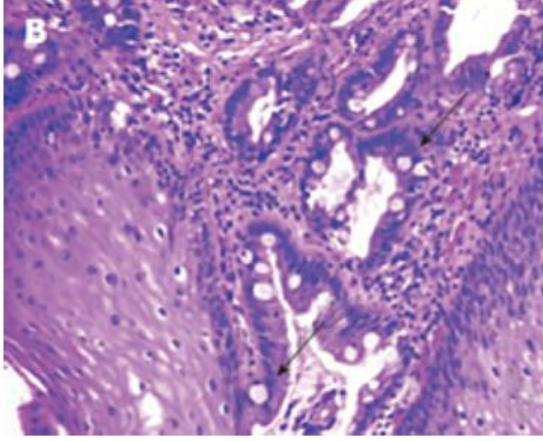
Barrett özofagusu özofagusun distal kısmındaki normal skuamöz epitelin intestinal metaplazi içeren normal olmayan kolumnar epitel ile yer değiştirmesi olarak tanımlanmaktadır (2). Barrett özofagusu, GÖRH'nın bir komplikasyonu olup gastrik kardiyanın ve özefagusun adenokarsinomuna öncülük edebilir. Barrett özofagus, multifaktoriyel bir hastalıktır ve gelişmesinde kronik GÖRH, özefagus alt uçta Barrett epiteli ve metaplazi önemli rol oynar.

1906 yılında Tileston tarafından distal özofagusta kolumnar epitel izlenmesi üzerine BÖ'dan ilk kez bahsedilmiştir. 1953'te GÖRH sonucunda mukozadaki değişimi Allison ve Johnstone göstermişlerdir (12). Barrett daha sonra hastalığın edinsel olduğunu ortaya çıkarmıştır (13). BÖ tanısı, endoskopik ve histolojik kriterlerin kombinasyonu ile konulmaktadır. Tanı gastroözefageal bileşkenin proksimalinde, distal özefagustaki somon rengi anormal görünümlü özofagus mukozasından alınan biyopsi örneklerinde intestinal metaplazi (İM) 'nin saptanması ile konulur (14).

Geleneksel Barrett özofagus tanımı, skuamo-kolumnar bağlantıdan proksimale doğru uzanan en az 3 cm'lik kolumnar mukoza alanı bulunması ve bu bölgeden alınan biyopsilerde intestinal metaplazi saptanmasıdır (Resim-2.1. ve Resim-2.2.).



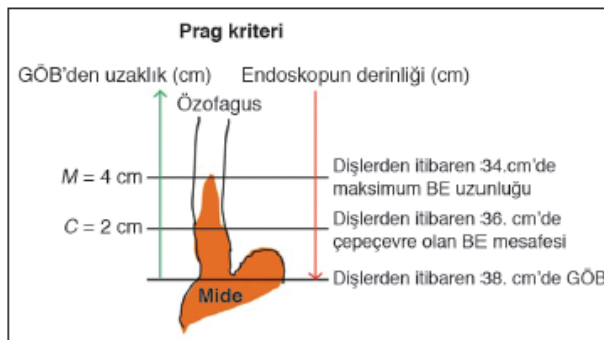
Resim-2.1. : Barrett Özofagusun Endoskopik Görüntüsü: Gastroözofageal bağlanma bölgesi (uzun siyah ok), skuamo kolumnar bağlanma bölgesi (kısa siyah ok), Skuamo kolumnar bölgesinin proksimalina uzanan Barrett mukozası (mavi oklar) (15).



Resim-2.2. : Barrett Özofagusun Histolojik Görüntüsü: Histopatolojik incelemede goblet hücreleri ve intestinal metaplazi (12).

Metaplastik farklılaşmanın yerleşimine göre daha önce Barrett Özofagus uzun segment (≥ 3 cm), kısa segment (<3 cm) ve ultra-kısa segment (gastroözofageal bileşke endoskopik olarak normal olup biyopsi ile intestinal metaplazi görülür) olarak sınıflandırılmıştır (16). Fakat Barrett Özofagusunun tanısında özofagusta hangi uzunlukta olursa olsun goblet hücrelerinin bulunduğu intestinal metaplazinin varlığı gerekli olan ölçüttür. Bugün kabul edilen Barrett Özofagus tanısı uzunluk belirtmeksizin özofagusta intestinal metaplazinin saptanmasıdır (17,18).

Prag "C" ve "M" kriterleri olarak isimlendirilen yeni bir sınıflama modelinde ise yapılan endoskopiye göre çevresel uzunluk (C) ve en fazla uzunluk (M) ölçülerek yapılan değerlendirme kullanılmaktadır (19) (Şekil-2.1).



Şekil-2.1. : Özofageal kolumnar metaplazi/ Barrett özofagus ait şüpheli alanların endoskopik olarak görünümü (12)

2.1.1. Epidemiyoloji

Barrett özofagusunun prevalansı kesin olarak bilinmemekle birlikte, toplumun genelinde %0.2-2'sinde görülebilmektedir (20). Gastroözofageal reflü nedeni ile endoskopi yapılan hastaların yaklaşık olarak %5-15'inde, herhangi bir nedenle endoskopi yapılan tüm hastaların %1-2'sinde saptanabilmektedir (12). Gelişmiş ülkelerde Barrett özofagus görülme oranı daha yüksektir. ABD'de yapılan çalışmalarda 100.000'de 261,8-376 kişide BÖ olduğu gösterilmiştir (15). Ülkemizde gastroözofageal reflü prevalansı %20'dir. Yılmaz ve ark. (20) yapmış oldukları çalışmada 18.766 endoskopik incelemenin 84'ünde (%0.4) histopatolojik olarak Barrett özofagus tespit etmişlerdir.

Prevalans yaşla birlikte artmaktadır. BÖ'da erkek/kadın oranı yaklaşık 2/1'dir (21). Tanı konulma yaşı genellikle beş yıldan daha fazla devam eden GÖRH semptomlarını takiben 40 yaşın üzerinde ortalama 60 yaş civarında olmaktadır (22).

Kronik göğüs yanması olan hastalarda olmayanlara göre BÖ olma riski daha fazladır. Yüksek vücut kitle indeksi ve sentripedal yağ dağılımı olması da artmış risk ile birlikte (23,24,25). Helikobakter pilori enfeksiyonu, sebze ve meyveden zengin diyetin BÖ'na karşı koruyucu olabileceğine dair görüşler mevcuttur (14).

Barrett özofagusda kalıtsal yatkınlık üzerinde de çalışmalar mevcuttur. İki veya daha çok akrabasında Barrett özofagus olan 10'dan fazla aile taranmış diğer aile bireylerinde de Barrett özofagus olmaksızın GÖR saptanmıştır (26). Barrett özofagusu olan hastaların akrabalarında BÖ olma olasılığı reflüsü olan diğer hastalardan 2 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir (27).

2.1.2. Patogenez

Barrett özofagusun patogenezinde gastrik asit, safra ve pankreas sıvısı içeren duodenogastroözofageal reflü önemli bir rol oynamaktadır. Daha az önemli olan diğer risk faktörleri arasında, BÖ ile sık ilişkileri nedeniyle sigara ve alkol tüketimi de vardır. Ancak kronik GÖRH hala en anlamlı risk faktörü olarak kabul edilmektedir (28).

GÖR vakalarında reflü; epitelyal hasar, proliferasyon ve stem veya pluripotent hücrelerde farklılaşmaya neden olmaktadır. GÖR'da mide asiti ve safra içeriğinin özofagusu reflüsü, özofagusun skuamöz özofageal epitelinin yüzeyel tabakalarında hasar yaparak,

intersellüler aralıkta dilatasyona neden olur, bu inflamatuvar cevabı tetikler, mide asiti ile safra tuzlarının derin differansiye olmuş epitelyal ve kök hücelere maruziyetine neden olur (29).

Mide sekresyonunun özofagusa reflüsü, reflü özofajit ve BÖ gelişiminde esas faktör olarak rol oynar. BÖ hastalarında, eroziv gastriti olan hastalara kıyasla, pH sınırlarını aşan patolojik asit etkisinin yüksek seviyelerde bulunduğu gösterilmiştir (30).

Asit hasarı hidrojen (H)⁺'nin özefageal epitel hücrelerinin sitoplazmalarına girmesiyle ilişkilidir. Özofagus epitelinin apikal membranının aside geçirgen olmaması nedeniyle, hücre sitozolü sadece luminal asidite hücreler arası bağlantı yapılarına hasar verecek kadar yeterli derecede yüksek pH (pH'nin 2'nin altında olması) olduğunda asidik hale gelmektedir. İntersellüler boşluklarda bir genişleme izlenmesinden sonra H⁺ iyonları bazolateral membran yoluyla hücre içine girmekte, hücre şişmesi ve nekroz mekanizmalarıyla hücre ölümüne neden olmaktadır. Böylece büyük bir alanda tam ayrılma meydana gelmişse ülserasyonla sonuçlanmaktadır (31).

Gastrointestinal mukoza, iritanlara maruz kaldığında direncini artırabilmektedir. Mukozal adaptasyon denilen bu mekanizma özofageal epitelde de meydana gelmekte, akut ve kronik olarak sınıflandırılabilir. Asit mukozal hasarı indükler, ayrıca hücre replikasyonunda artış ve kanlanmada artış gibi çok sayıda akut mukozal savunma mekanizmalarını da tetikler (32). Kolumnar metaplazi gelişimi, kronik asit maruziyetine kronik adaptif cevap olarak değerlendirilmektedir. Asit etkisi ile sadece asit özefageal mukoza hasarını indüklememekte aynı zamanda, Barrett epitelinin rejenerasyonunu da indüklemektedir (28).

Güçlü bir sindirim enzimi olan pepsin de asidik ortamda özofagus hasarına neden olur. Gastrik fundus esas hücrelerinden pepsinojen olarak salgılanmakta ve asit ile pepsine çevrilmiştir. Asit pH'ta doz bağımlı olarak eroziv özofajit hasarına neden olur. Özofageal mukoza ile temas ettiğinde, H⁺ iyonunun permeabilitesini artırır. Hücreler arası maddeleri etkileyerek, epitelden yüzey hücrelerinin dökülmesine neden olur (28).

BÖ'nun, sadece gastrik sekresyonların etkisi sonucu olmadığı düşünülmektedir. Asit-pepsin reflüsü BÖ gelişimi için tek şart değildir. BÖ total gastrektomi sonrasında da

gelişebilir. Duedenal reflünün de özofajit ve BÖ'un ortaya çıkışına neden olduğu ileri sürülmüştür. Hem asit hem de duedonum sıvısı ile karışık reflüsü olan hastalarda, özofageal mukoza hasarı daha yüksek bulunmuştur (33). Ayrıca duedonum sıvısı ile reflü olduğunda daha fazla özofajit veya BÖ gelişmektedir (34).

Pankreatik enzimler, safra tuzları ve lesitin gibi duedonum içeriklerinin intestinal metaplazinin gelişiminde temel bir rol oynadığına inanılmaktadır. Safra reflüsünün, eroziv gastritli hastalara ve normal insanlara göre BÖ'lu hastalarda daha fazla görüldüğü ve bu atakların asit reflüsü ataklarına eşlik ettiği birçok çalışmada gösterilmiştir (28,33).

Barrett Özofagus oluşumunda 3 hipotez ortaya konmuştur:

- 1- Midedeki proksimal kök hücrelerin farklılaşmasındaki bozukluklar ve yukarı migrasyonu
- 2- Özofagus submukozal bezlerinin anormal farklılaşması.
- 3- Özofagus skuamöz epitelyal kök hücrelerin anormal farklılaşması.

Kronik reflü maruziyetinin midedeki proksimal (kardiya gastrik epitel) kök hücreleri yanlış yönde uyararak anormal farklılaşmalarına ve yanlış migrasyonlarına neden olabileceği ve böylece distal özofagusta kolumnar epitel gelişimi oluşabileceği düşünülmüştür (35). Bu hipotez daha sonra kolumnar epitelin yassı epitelin üstünde, hasarlı mukozadan da gelişebileceği gösterilerek terk edilmiştir (36). Ayrıca BÖ'un, çeşitli epitel tiplerini içermesi, tek başına kardiyak epitelin proksimal migrasyonu ile açıklanamaz (37). Bu durum, kolumnar mukozanın ortaya çıkışında özofagus intrensek hücre mekanizmalarının ön planda olduğunu göstermektedir (28).

Özofagus mukozasının kolumnar diferansiyasyona uğrayabilme yeteneği, intrensek hücre varlığı ile açıklanabilir. Bu hücrenin, Barrett mukozasının karakteristiği olan çeşitli hücre tiplerine diferansiye olabilen multipotent undiferansiye kök hücre olabileceği düşünülmüştür. Tüm Barrett mukozasının endoskopik veya cerrahi olarak çıkarılmasından sonra mukozanın skuamöz reepitelizasyonu gözlenmesi bunu desteklemektedir. Duedenogastrik reflünün kesin olarak önlenmesi ve asit supresyonu yapılması, kök hücrenin skuamöz epitele diferansiye olmasını sağlamaktadır (28).

Barrett özofagus kolumnar hücreleri, özofagusun submukozal bezlerinin duktal hücrelerinden de kaynaklanabilir (38). Bu hipotez özofagus bezlerinin duktuslarının

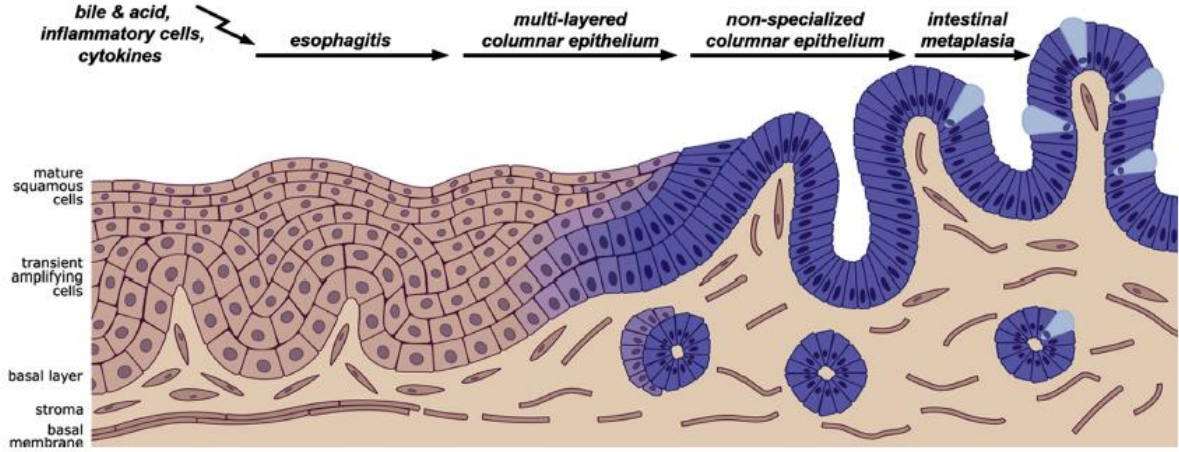
proksimal üçte ikisinin kolumnar epitelle döşeli iken distal üçte birinin yassı epitelle döşendiği gerçeğine dayanmaktadır. Yüzeysel hasar durumunda, hem mukozal hem de glandular duktal hücreler yaşamakta, rejenerasyon karışık bir şekilde meydana gelmekte ve kolumnar onarım dominant hale gelmektedir. Çünkü kolumnar hücrelerin turnoverı daha hızlıdır (28,36). Eğer bez kanalındaki yassı hücreler tamamen yok olursa onarım sadece kolumnar epitelle sağlanmaktadır. Endoskopi, fizyopatoloji ve immünohistokimya bu hipotezi desteklemektedir. Çünkü derin özefageal bez duktal hücreleri mukozal defekti onaran kolumnar mukoza ile doğrudan süreklilik göstermiştir (36,39).

2.1.3. Endoskopik Tanı

Barret özofagus üst gastrointestinal endoskopiyle adacık şeklinde, dil şeklinde ve çepeçevre olarak görülebilir. Özelleşmiş kolumnar epitelin Z hattından proksimale doğru özofagusun bir ya da birkaç kenarından diller şeklinde ilerlemesi dil şeklinde, skuamoz epitel içinde odaklar halinde bulunması ile adacık ve skuamoz epiteli çepeçevre yukarı itecek şekilde yerleşmesiyle de çepeçevre tip endoskopik görünümü ortaya çıkar. BÖ'nun endoskopik olarak kesin tanısını konulmasında birçok güçlük vardır. Bunlardan birincisi sıklıkla BÖ'ye eşlik eden hiatal herni varlığıdır. Bu durum, özofagogastrik bileşkenin tanınmasında zorluk yaratır. İkincisi alt özofagus sfinkter bölgesini tanımlayan bir anatomik işaretin olmamasıdır. Dolayısıyla, alınan biyopsi materyalinin BÖ'na mı yoksa gastrik kardiya mı ait olduğu anlaşılamayabilir.

2.1.4. Histolojik Tanı

Kesin tanı histopatolojik olarak konulur. Özelleşmiş kolumnar epitelin varlığı tanı için gereklidir. Kolumnar epitel, kolumnar hücre ve goblet hücre komponentlerinden oluşur. Goblet hücreleri geniş, müsinle yüklü sitoplazmaları olan fıçı şeklindeki hücrelerdir. PAS-Alcian blue ile boyandıklarında asit müsin pozitifler. Tanı için yalnızca kolumnar hücrelerin tespiti yeterli değildir. Goblet hücrelerinin bulunması gerekir (40) (Şekil-2.2).

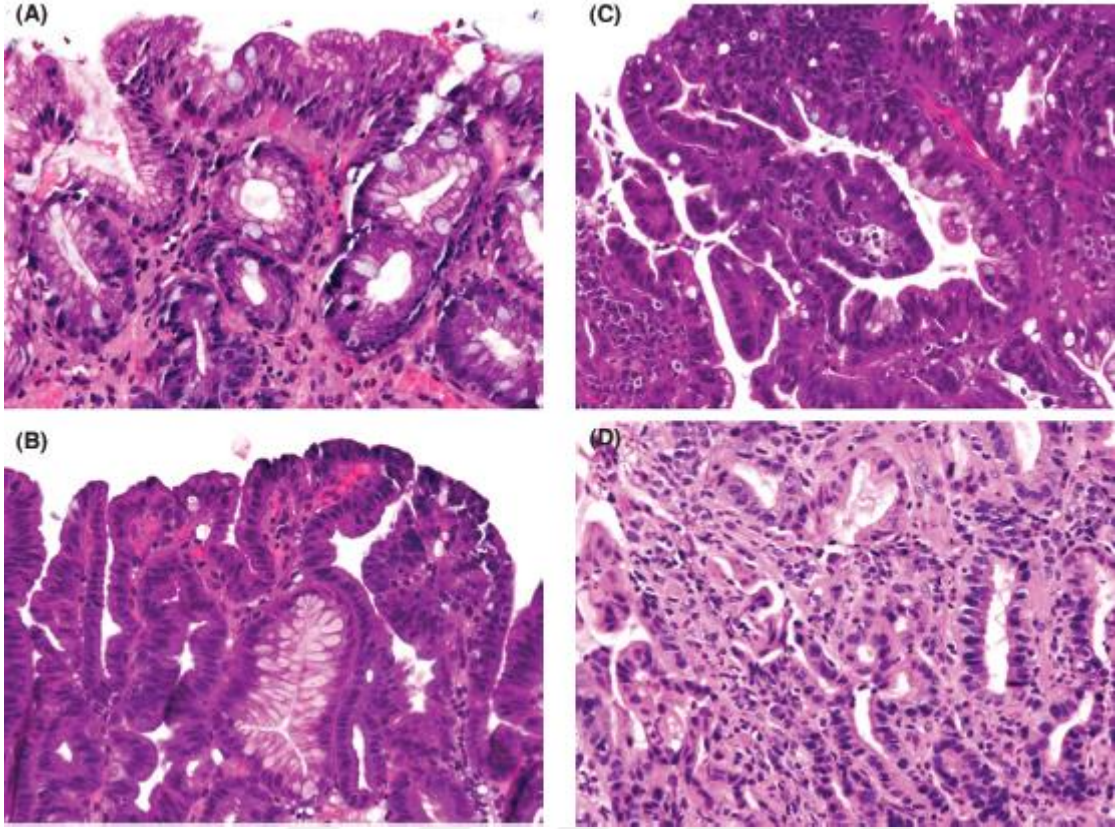


Şekil-2.2. : Özofagus'ta kolumnar epitel ve intestinal metaplazi gelişim aşamaları (41)

Alınan tüm biyopsiler histopatolojik olarak displazi varlığı veya yokluğuna göre 3 alt gruba ayrılmaktadır:

- 1- Negatif ve Belirsiz
- 2- İntestinal Tip Displazi
- 3- Bazal Kript Displazisi ve Foveolar Displazi

Yapılan biyopside displaziyi karakterize etmek için görülen değişiklikler yetersiz olabilir ve bunlar "displazi için belirsiz" olarak sınıflandırılır. Bu durumda inflamasyonun kontrolünden sonra tekrar biyopsi alınması gerekir (12). İntestinal tip displazi, düşük dereceli displazi ve yüksek dereceli displazi olarak ayrılır (14,42). Bazal kript displazisi son zamanlarda displazinin başka bir varyantı olarak tanımlanmıştır. Gastrik foveolar tip displazi BÖ displazi içinde ayrı bir displazi çeşididir. Bu displazi, midede olduğu bilinen tip II displaziye benzer. Gastrik tip foveolar displazi biyopsilerin yaklaşık %15-20'sinde bulunur (40) (Resim-2.3.).



Resim-2.3. : Metaplazi-Displazi-Karsinom : (A) Intestinal metaplazi, müsin ile ŐiŐmiŐ goblet hücreleri varlığı ile tanımlanır. Bu mikro-fotoğraf içinde yüzey maturasyon varlığı ile kanıtladığı gibi displazi yoktur. Yüzey epitel hücreleri benzer müsin kapaklar gösterir. (B) Kriptlerde ve yüzey epitelinde hiperkromatik uzamıŐ nkleusla karakterize dŐuk dereceli displazi. (C) Glandüler büyüme, nükleer tabakalanma varlığı ve nükleus kaybı ile grlen yüksek dereceli displazi. (D) Lamina propria invazyonunun olduğu intra-mukozal karsinoma (12)

2.1.5. Takip ve Tarama

Barrett özofagusu olan hastalar için takip displazi varlığına ve derecesine bağlıdır. Endoskopik biyopsi Seattle protokolüne dayanır. Kolumnar mukoza boyunca 1-2 cm aralıklarla 4 kadrandan biyopsi ve ayrıca ülserler veya nodüller gibi anormal grlen diğer mukoza alanlarından biyopsiler alınır (12).

Farklı yaklaŐımlar olmakla birlikte Amerikan Gastroenteroloji Koleji ve Amerikan Gastrointestinal Endoskopi Derneği rehberlerine göre displazisi olmayan hastaların, iki defa displazi negatif biyopsiden sonra 2-3 yıl aralıklarla endoskopik takibi önerilmektedir. DŐuk

dereceli displazi olan hastalarda, inflamatuvar değişiklikler, bu hücreleri taklit edebileceğinden üç aylık yoğun asit süpresyon tedavisinden sonra tekrar biyopsi ile değerlendirilmeli ve düşük dereceli displazi devam ediyorsa, ilk yıl 6 ayda bir, daha sonra yılda bir takip edilmelidir.

Yüksek dereceli displazi takibi tartışmalı bir konudur. Yüksek dereceli displazi varlığı, bu konuda deneyimli iki ayrı patolog tarafından doğrulanmalıdır. Bu hastalara özofagus rezeksiyonu veya asit süpresyon tedavisi ve mukozal ablasyon teknikleriyle tedavi uygulanarak, yoğun biyopsi protokolleri ile 3 aylık aralıklarla takip önerilebilir (43).

Genel popülasyonda GÖRH olup da risk faktörlerine sahip olmayan hastalarda tarama için endoskopi önerilmesinin faydalı olabileceği ile ilgili yeterli deliller bulunmamaktadır. BÖ için en iyi tanımlanmış risk faktörleri; 50 yaşından büyük olmak, erkek cinsiyet, beyaz ırk, kronik GÖRH, hiatus hernisi, artmış vücut-kitle indeksi, metabolik sendrom ve vücut yağının intra-abdominal dağılımı, artmış insülin direnci, serum artmış leptin ve düşük adiponektin seviyeleridir (21,25). Amerikan Gastroenteroloji Birliği, Amerikan Gastroenteroloji Koleji ve Amerikan Gastrointestinal Endoskopi Derneği arasında tarama yapılıp yapılmaması veya kimlere yapılması konusunda görüş birliği bulunmamakla birlikte yukarıda belirtilen risk faktörleri olan hastalarda BÖ varlığını taramak için endoskopi yapılacak hastaları belirlemede eşik olarak kullanılabilir (12).

2.1.6. Tedavi

Barret Özofagusta tedavi hedefleri: Duodenum ve mide içeriğinin özofagusa reflüsünü engelleyerek reflü semptomlarını gidermek, peptik ülser özofajit ve striktür gibi komplikasyonları önlemek, intestinal metaplazinin ilerlemesini durdurarak normal mukozaya gerilemesini hızlandırmak, displaziye gidişi durdurarak displazinin nondisplastik dokuya gerilemesini hızlandırmak ve adenokarsinoma gidişi engellemek olarak sıralanabilir (44, 45).

Tedavi seçenekleri arasında medikal tedavi, endoskopik tedavi teknikleri ve cerrahi seçenekleri bulunmaktadır.

2.1.6.1. Medikal Tedavi

Barrett özofagusda etkin bir asit süpresyon tedavisi gerekir. Barrett özofaguslu hastalar GÖRH' e göre, daha fazla ve daha uzun bir süre özofageal asit maruziyetine sahip oldukları için daha yüksek dozlarda tedaviye ihtiyaç duyabilirler (46). Asit maruziyetinin DNA'da çift iplik kırılmalarına neden olduğu, reaktif oksijen türlerini artırdığı, andactivate MAP kinaz yolu ile karsinogeneziste potansiyel rolü olduğu gösterilmiştir (12). BÖ'da proton pompa inhibitörü (PPI) kullanımı GÖRH semptomlarını kontrol altına almak, özofajit ve ülserasyonlar gibi ilgili komplikasyonları önlemek için önerilmektedir (40).

Kronik PPI kullanımı ve adenokarsinom riski arasındaki pozitif bir ilişki olduğunu öne süren raporlar olmasına rağmen birçok çalışmada PPI tedavisi ile düşük displazi insidansı bildirilmiştir. Bir çalışmada, PPI ile tedavi edilen 188 BÖ hastası 1-13 yıl prospektif takip edilmiştir. Çalışma süresinde BÖ uzunluğunda hiçbir azalma olmadığı, ama hastaların %48'inde BÖ segmentlerinde skuamöz adalar geliştiği bildirilmiştir (12).

Medikal tedavide söz konusu olan diğer ilaçlar nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ), aspirin, selektif siklooksigenaz 2 (COX-2) inhibitörleri ve statinlerdir. Yapılan bir meta-analizde, aspirin veya NSAİİ kullanımı ve özofagus kanseri arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Aspirin veya NSAİİ kullanımı ile özofagus kanser riskinde %43 azalma bulunmuştur. Aspirin veya NSAİİ'lerin sık kullanımının %46 risk azalması, zaman zaman kullanımının %18 risk azalması ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (47). NSAİİ'lerin kronik kullanımı kardiyovasküler yan etkiler, major gastrointestinal ve diğer kanama riski ve nefrotoksiteden dolayı sınırlı olmaktadır. COX-2 kaynaklı prostaglandin E₂; hücre çoğalması, göçü, apoptozis ve anjiogenezi teşvik ederek tümör büyümesini hızlandırmaktadır. COX-2 inhibisyonu hücre büyümesi ve proliferasyonu azaltır, anjiogenezi inhibe eder ve apoptozu tamir eder. Selektif COX-2 inhibitorlerinin uzun süreli kullanımı; kardiyovasküler yan etkileri nedeni sınırlanmıştır (12).

3-hidroksi-methylglutaryl koenzim A redüktaz enzimini inhibe ederek kolesterol düşürücü etki sağlayan statinlerin de apoptozisi teşvik edip ve BÖ hücrelerinde proliferasyonu inhibe ederek etki gösterdiği düşünülmektedir.

2.1.6.2. Endoskopik Tedavi

Endoskopik tedavi teknikleri arasında endoskopik mukozal rezeksiyon (EMR) ve endoskopik submukozal diseksiyon gibi rezeksiyon teknikleri ve endoskopik ablasyon tedavi, argon plasma koagulasyon (APK), lazer ablasyon, fotodinamik tedavi (FDT), radyo-frekans ablasyon (RFA) ve kriyoterapi bulunur (14,48,49).

Güncel tedavi; rezidüel metaplastik doku ablasyonunu takiben görülebilen lezyonları ortadan kaldırmak için mukozal rezeksiyon tekniklerinin kombinasyonlarını gerektirir. Fokal lezyonların endoskopik rezeksiyonu; yüzeysel lezyonun invazyon derinliğini histoloji ile doğru ve güvenilir belirlemek için gösteren tek endoskopik tekniktir (12).

APK ve lazer tedavi gibi termal ablasyon yöntemleri; mukozanın homojen ablasyonunu sağlayamadığından ve neo-skuamöz epitel altında devam edebilen bazı bez yapılarının sebep olduğu doku derinliğinin farklılığı nedeni ile yeterli olamamaktadır. Anormal mukoza alanları kaldırıldıktan sonra, geride kalan Barrett mukozanın ablasyonu sıklıkla FDT ve RFA ile yapılmaktadır (12,48,50).

Bugün için non displastik BÖ için endoskopik tedavi önerilmemektedir (40). Düşük derece displazili BÖ tedavisinde Amerikan Gastroenteroloji Birliği, Amerikan Gastroenteroloji Koleji ve Amerikan Gastrointestinal Endoskopi Derneği kılavuzları endoskopik ablasyon tedavilerini önermektedir. Yüksek derece displazili veya intramukozal karsinom olan BÖ'un standart tedavisi özofajektomidir, ancak EMR ve ablatif tedaviler cerrahi tedaviye göre daha az invaziv olduğundan tedavi bireyselleştirilerek uygulanabilir (51).

2.1.6.3. Cerrahi Tedavi

Anti-reflü cerrahisi (Nissen Fundoplikasyon) ve özefajektomi cerrahi tedavi seçenekleridir. Cerrahi tedavi ile reflünün engellenmesi ve Barrett metaplazisinin ilerlemesi durdurulup malign dejenerasyon mekanizmaları önlenebilir. Uygun hastalar anti-reflü cerrahisi için seçilmelidir (12).

Endoskopik tedaviler gelişmeden önce yüksek derece displazili hastalarda özofajektomi primer tedavi seçeneği idi. Özofajektomi, özellikle multifokal yüksek derece displazi olan BÖ hastalarında kesin tedavi yöntemi olarak önerilir. Özofajektominin bir faydası da tespit edilemeyen gizli karsinomu tedavi etmesidir (12).

2.2. Özefagus Adenokarsinomu

2.2.1. Tanım ve Epidemiyoloji

Özofagus kanserleri Dünya'da kanser tipleri arasında % 4,2 görülme oranıyla sekizinci sırada olup ölüm sıklığı açısından altıncı sırada yer alan ve mortalitesi yüksek olan kanserlerdendir (1). Amerika Birleşik Devletlerinde 80 yaşın altındaki hastalarda özofagus kanserinin insidansı ortalama 100.000 kişi başına 3.2 olarak ve erkeklerde görülme sıklığının, kadınlarda görülme sıklığına oranı 3/1 olarak bildirilmiştir (52). Türkiye'de ise tüm kanserlerin %2'sini oluşturmakta ve en sık Doğu Anadolu bölgesinde görülmektedir (53).

Özofagus adenokarsinomu yassı hücreli karsinomla birlikte özofagus kanserlerini oluşturan 2 majör histolojik tipten biridir. Bu iki tip arasında belirgin epidemiyolojik ve etiyolojik farklılıklar bulunmaktadır. Son yirmi yıldır özofagus kanserine yakalanma oranında önemli değişiklikler gözlenmekte olup yassı hücreli kanser oranında azalma, adenokanser insidansında ise önemli bir artış izlenmektedir (54). Özofagusun yassı hücreli kanseri genellikle gelişmekte olan ülkelerde görülürken, adenokarsinomu ise gelişmiş ülkelerde daha sık görülmektedir (55). Dünya genelinde yassı hücreli karsinom hala baskın tip olmakla birlikte Amerika Birleşik Devletlerinde 2014 yılında yeni gelişen 18170 olgunun %59.9'u özofagus adenokarsinomudur. Adenokarsinomlardaki bu dramatik artışın nedenleri

tam olarak anlaşılamamıştır. Birçok araştırmacı, bu artışı obezite sıklığındaki hızlı yükselme ile ilişkilendirmiştir (56).

2.2.2. Etiyoloji ve Patogenez

Özofagus adenokarsinomu etiyojisinde belirtilen birçok faktör vardır. GÖRH ve ilişkili olarak gelişen BÖ majör risk faktörü olduğu halde ÖAK tanısı alan hastaların % 40'lık bir kesiminde hiç bir reflü semptom ve bulgusu bulunmamıştır (57).

ÖAK gelişiminde risk faktörlerinden birisi yaştır. BÖ popülasyonunda yapılan çalışmalar özellikle 70 yaş ve üzerinde yüksek dereceli displazi ve ÖAK gelişim riskinde hızlı bir artış olduğunu göstermiştir (58). Her iki cinsiyette de risk artmakla birlikte özellikle erkeklerde kadınlara göre BÖ ve ÖAK gelişim riskinin daha fazla olduğu iyi bilinmektedir (59). Amerika'da yapılan bir çalışmada BÖ ve ilişkili ÖAK beyazlarda Hispaniklerden 2 kat Asyalı ve siyahilerden ise 4 kat daha fazla görüldüğü saptanmıştır (60).

ÖAK gelişiminde aile öyküsünün katkısı kesin olarak ortaya konamasa da bir dizi küçük çalışmada olası bir otozomal dominant paternden bahsedilmiştir (61,62). Yapılan başka bir çalışmada birinci veya ikinci derece akrabalarda pozitif aile öyküsü olan kronik GÖRH olan hastalarda BÖ ve ÖAK gelişimi GÖRH olan kontrol gurubundan daha yüksek bulunmuştur (%24 vs %5) (63). BÖ ve ÖAK'da MSR1, ASCC1 ve CTHRC1 olmak üzere 3 germ-line mutasyondan bahsedilmiştir (64).

Gelişmiş ülkelerde ÖAK sıklığında görülen hızlı artışın obezite artışıyla paralellik göstermesi obeziteyi ÖAK gelişiminde potansiyel bir etiyolojik faktör haline getirmiştir. Yapılan gözlemsel çalışmalarda artan vücut kitle indeksi ile ÖAK arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (65,66). Son yapılan Seattle Barret özofagus çalışması obezitenin tetiklediği hiperglisemi ve yağ dokudan leptin salınımının adenokarsinom gelişim riski üzerindeki etkisini ortaya koymuştur (67). Leptin ve insülin direncindeki artışın adenokarsinom gelişiminde progresif etkisi olduğu ortaya çıkmıştır.

Gelişmiş ülkelerde artan ÖAK riskine tam ters olarak Helikobakter pilori enfeksiyonunda düşüş olması aralarında potansiyel bir ilişki olabileceği tezini akla getirmiştir. Son yapılan meta analizlerde Helikobakter pilori ile ÖAK ve BÖ arasında zıt bir

ilişki varmış gibi görünse de (OR 0.57; 95% CI 0.44-0.73) bu ilişkiyi tam olarak açıklayacak henüz net bir çalışma bulunmamaktadır (68,69,70).

Birçok çalışma sigaranın ÖAK riskini arttırdığını, yüksek derece displazili BÖ'dan ÖAK progresyonunu muhtemelen Barret mukozasındaki DNA hasarına neden olarak arttırdığını ortaya koymuştur (71,72). Alkol tüketimi ile BÖ ve ÖAK arasında bazı çalışmalarda düşük bir risk saptanırken bir çok epidemiyolojik çalışma sonucunda herhangi bir ilişki saptanmamıştır (73).

Diyet alışkanlıkları ile BÖ ve ÖAK arasında yapılan çalışmalarda özellikle sebze ve meyvelerden zengin, vitamin E, A, B6 ve folat içeriği fazla olan diyetlerin ÖAK riskini azalttığı düşünülürken kırmızı et ve yağdan zengin diyetin artmış riskle ilgili olabileceği gösterilmiştir (74,75,76,77).

ÖAK'un en iyi bilinen öncü lezyonu olan BÖ'dan kanser gelişim riski endoskopik ve histopatolojik özelliklerine göre değişmektedir. Endoskopik olarak kısa segment ve uzun segment özefagus tanısı alan BÖ vakalarının ikisinden de ÖAK gelişebildiği halde yüksek dereceli displazi ve ÖAK gelişim riskini karşılaştıran bir çok farklı çalışmada segment uzunluğu arttıkça kanser gelişim riskinde de artış olabileceği gösterilmiştir (78,79,80).

Goblet hücresi olan intestinal metaplazili BÖ olguları ile goblet hücresi olmayan intestinal metaplazili olguların karşılaştırıldığı başka bir çalışmada goblet hücrelerinin pozitif olduğu vakalarda kanserle ilişkili genetik anormallikler daha fazla görülmüştür (81,82). Buna rağmen BÖ'da ÖAK progresyonunda en belirleyici özellik displazi varlığıdır. Kanser gelişiminde genellikle dispazisiz BÖ, düşük derece displazili BÖ, yüksek derece displazili BÖ ve ÖAK sıralaması izlenirken bazı vakalarda bu displazi dereceleri görülmeden direk kanser gelişebileceği de saptanmıştır (78,83).

Barret özofagus ve zemininde ÖAK gelişiminde genetik instabilitenin rolü araştırılmıştır. Genetik ve/veya ailesel faktörlerin rol aldığını gösteren çalışmalar vardır. Ancak hastalığın tamamen genetik faktörlere bağlı olduğunu söylemek zordur. Çünkü Barret özofagus gelişimde genetik/ epigenetik faktörleri, çevresel faktörleri ve kronik reflü etkisini birbirinden ayırmak güçtür (84). Gastroözofageal reflünün, nonspesifik DNA hasarına yol açtığı düşünülmektedir. Mutagenезisi indükleyen en önemli değişimin tümör baskılayıcı

proteini kodlayan p53 geninde olduğu bilinmektedir. Reflünün DNA hasarını indüklemesi ve p53 geninin inaktivasyonu sonucunda, DNA onarımını ve apoptozu indükleyen hücre döngüsünün bozulduğu düşünölmektedir (85).

Barrett özofagus ve adenokarsinom gelişiminde kromozomal instabilitenin rolü displazik BÖ ve ÖAK hastalarında karyotipleme ve in situ hibridizasyon yöntemleriyle araştırılmıştır. Bu olgularda en çok gözlenen sayısal anomalilik Y kromozomunun eksikliğidir. Displazi derecesi arttıkça Y kromozom kaybı görülme yüzdesinin de arttığı gözlenmiştir (86). Barrett özofagus ve adenokarsinom erkeklerde daha sık görülmesine rağmen, Y kromozomu ile ilişkili spesifik bir onkogen veya tümör baskılayıcı gen saptanmamıştır. Karyotipleme analizleri sonucunda özofageal adenokarsinomada 1p, 3q, 11p-13 ve 22p bölgelerinde yapısal anomalilik olduğu saptanmıştır. Ayrıca Barrett özofagusta kromozom 5 ve 7 de trizomi, kromozom 3 ve 6 da translokasyon ve 6, 7, 11 ve 12. kromozomlarda anozomi gözlenmiştir (87,88). Barrett özofagus gelişiminde ve özofageal adenokarsinoma dönüşümde etkili olduğu düşünölen ve en sık rastlanan kromozomal instabiliteden biri de 4. ve 8. kromozomlarda görölen anöploididir. Bu değişiklikler premalign dönemde de gözlendiğinden, bu kromozomlardaki genlerin Barrett özofagus'un başlamasını tetikleyen ve aynı zamanda kanser oluşumunu da aktive eden genler olabileceği düşünölmektedir (89).

Genomik instabilitede suçlanan bir diğer mekanizma da epigenetik faktörlerdir. Bu faktörler malignite gelişiminin erken aşamalarında meydana gelir ve hücrelerin çevresel veya yaşla ilgili faktörlere duyarlılığını arttırırlar. Bunlar arasında DNA'nın hipometilasyonu veya hipermetilasyonu, histonlardaki değişimler sayılabilir. Bu erken epigenetik değişiklikler, reflü maruziyeti gibi kronik faktörlerden kaynaklanabilir (90).

2.2.3. Klinik Semptom ve Bulgular

Genellikle özefagus kanserlerinde erken dönemde herhangi bir semptom ve bulgu olmaz (91). Tanı anında hastaların %50'den fazlasında unrezektable tümör veya metastaz bulunur (92). Hastalarda en yaygın semptom disfajidir (%74). Önce sadece katı yiyeceklerle olan disfaji kanserin hızlı bir şekilde ilerlemesiyle sıvı gıdalarla da olur (56). Bununla birlikte hastaların %57'sinde kilo kaybı %17'sinde odinofaji bulunur. Diğer semptomlar arasında yorgunluk, öksürük, nefes darlığı, ses kısıklığı ve göğüs ağrısı vardır. Metastatik hastalığı

olanlarda baş-boyun bölgesinde lenfadenopati, plevral efüzyon, hepatomegali saptanabilir (91).

2.2.4. Tanı ve Evreleme

Üst gastrointestinal sistem endoskopi ve alınan biyopsi ile histopatolojik inceleme standart tanı protokolünü oluşturur Endoskopide ÖAK; kitle, ülser, nodül düzensiz bir mukoza yapısı şeklinde görülebilir. İşlem sırasında tümörün daha sonra olası bir cerrahi tedavini yönetimi için proksimal ve distal boyutları, gastroözofagal bileşkeyle ilişkisi dökümente edilmelidir (56).

Computerized tomography (CT) ve pozitron emission tomography (PET)'nin kombine kullanımı (PET-CT) özellikle uzak lenf nodu tutulumu ve metastazları belirlemede ve ayrıca kemoterapiye cevabın takibinde kullanılmaktadır. Endoscopic ultrasound (EUS) ise hem tümörün özefagus duvarına invazyon derinliğinin saptanmasında hem de lokal lenf nodlarının boyut ve malign karakterini belirlemede çok faydalıdır. Bununla birlikte T1 evrelerinin ayırımına çok yeterli değildir. EUS ayrıca kanser özefagus sitriktürüne neden olmadığı müddetçe şüpheli lenf nodlarından aspirasyon biyopsisine de imkan sağlar (93).

Evrelemede Tümör-Nod-Metastaz (*TNM*) evreleme sistemi kullanılmaktadır. ÖAK'un evrelemesinde American Joint Committee on Cancer system temel alınarak en son 2010 yılında güncellenen evreleme sistemi kullanılmaktadır. İlk kez burada adenokarisnom yassı hücreli karsinomdan ayrı olarak evrelenmiştir (56).

T; Boyut önemli olmaksızın tümörün invazyon derinliğini, *N*; Lenf nodu metastazını ve *M* ise metastaz durumunu belirtir.

Primer tümör (T) :

Tx: Primer tümör saptanamaz

T0: Primer tümöre ait bulgu yok

Tis: Karsinoma in situ/ Yüksek derece displazi

T1a: Tümör lamina propria veya muskularis mukozayı tutmuştur

T1b: Tümör submukozayı tutmuştur

T2: Tümör muskularis propriayı tutmuştur

T3: Tümör adventisyayı tutmuştur

T4a: Tümör plevra perikard veya diafragma yayılmıştır

T4b: Tümör aort, vertebra ve trakea gibi komşu dokulara yayılmıştır

Lenf nodu (N) :

Nx: Bölgesel lenf nodları saptanamaz

N0: Bölgesel lenf nodu metastazı yoktur

N1: 1-2 bölgesel lenf nodu metastazı vardır

N2: 3-6 bölgesel lenf nodu metastazı vardır

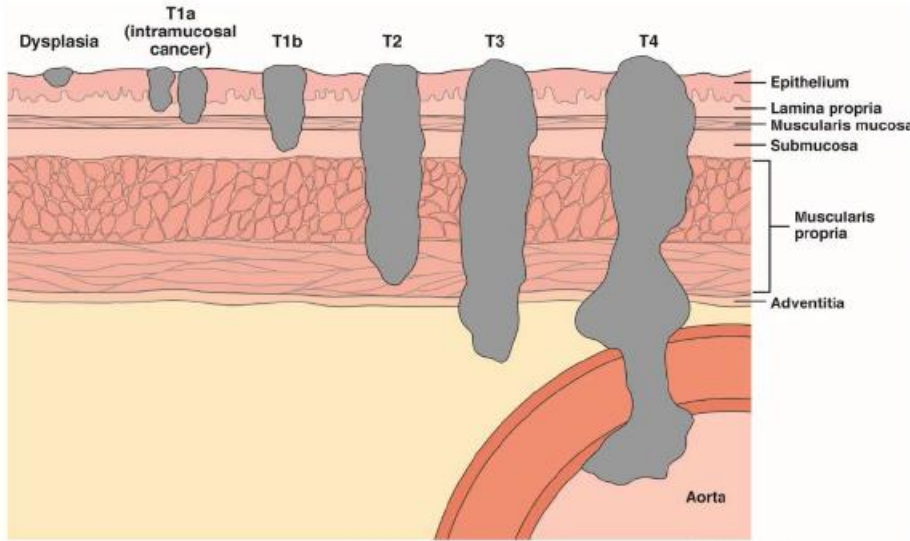
N3: 7 veya daha fazla bölgesel lenf nodu metastazı vardır

Uzak metastaz (M) :

Mx: Uzak metastaz bulgusu saptanamaz

M0: Uzak metastaz yok

M1: Uzak metastaz var



Şekil-2.3. : ÖAK İnvazyon Evrelemesi (56)

Histolojik Grade(G)

GX: Grade belirlenemez G1 gibi evrelendirilir

G1: İyi Diferansiye

G2: Orta Derece Diferansiye

G3: Kötü Diferansiye

G4: Diferansiye Olmamış Skuamöz G3 gibi evrelendirilir

Evre 0: Tis, NO, MO, G1 veya GX

Evre IA: T1, NO, MO, G1-2 veya GX

Evre IB: T1, NO, MO, G3

T2, N0, M0, G1-2 veya GX

Evre IIA: T2, NO, MO, G3

Evre IIB: T3, N0, MO, herhangi bir G

T1-2, N1, M0, herhangi bir G

Evre IIIA: T1-2, N2, M0, herhangi bir G

T3, N1, M0, herhangi bir G

T4a, N0, M0, herhangi bir G

Evre IIIB: T3, N2, M0, herhangi bir G

Evre IIIC: T4a, N1-2, M0, herhangi bir G

T4b, herhangi bir N, M0, herhangi bir G

herhangi bir T, N3, M0, herhangi bir G

Evre IV: herhangi bir T, herhangi bir N, M1, herhangi bir G

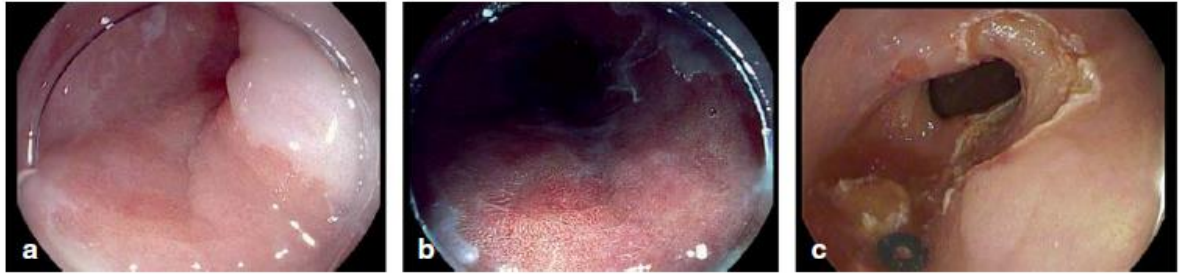
Tedavi stratejisini belirlemek için pratik olarak geliştirilmiş radyolojik evreleme son zamanlarda daha sık olarak kullanılmaktadır. Buna göre; lokalize hastalık, çevre organ ve lenf noduna invazyonu olmayan özofagus dışına çıkmamış tümör; lokal ileri hastalık, çevre organ invazyonu(mediastinal organ invazyonu) veya lenf nodu metastazı olan fakat uzak organ metastazı olmayan tümör; metastatik hastalık ise, çevre organ invazyonu veya lenf nodu tutulumuna bakılmaksızın uzak organ metastazı olan tümör olarak evrelendirilebilir.

2.2.5. Tedavi

ÖAK'da tümörün boyutu, lokalizasyonu, metastazların varlığı, hastanın yaşı ve genel durumu, komorbidite tedavinin planlanmasında rol alan faktörler arasındadır (56). Tedavi seçenekleri cerrahi, kemoterapi ve radyoterapiyi içermektedir. Tümörün evresine göre tedavi seçeneği değişmekte olup, bu tedaviler tek başlarına veya birlikte uygulanabilmektedir. Çoğu vakanın geç evrede tanı almasından dolayı, ilk başvuruda hastaların ancak yaklaşık 1/3'üne cerrahi tedavi uygulanabilmektedir. Tümörün mukozaya sınırlı olduğu erken evre vakalarda küratif cerrahi tedavi sonrası 5 yıllık sağ kalım oranı %50-85 tir. Ancak hastaların

çoğu ileri evrede olduğundan dolayı tüm vakalar içinde bu oran %5-12 olarak belirtilmektedir (94).

Mukoza ve submukozaya sınırlı lokalize karsinom(T1) tedavisi endoskopik olarak tümörün rezeksiyonu işlemine dayanır (95). Bu evrede lenf nodu invazyonu son derece düşük olduğundan yapılan endoskopik işlem genellikle küratif olarak kabul edilir (96). Lenf nodu veya damar invazyonu olursa, submukozanın üst üçte bir tutulumla birlikte tümör boyutu >20 mm ve histolik olarak G3 ise, derin submukozal invazyon varsa(>500 µm) ve rezeksiyon alanında tümör kalıntısı varsa özefajektomi endikasyonu doğmaktadır (97).



Resim-2.4. : Erken Evre ÖAK'un Endoskopik Görünümü a) yüksek çözünürlüklü video endoskopi b) asetik asit ile yıkama sonrası net kontürler c) endoskopik rezeksiyon sonrası görünüm (95)

Uzak metastaz olmadığı (M0) lokalize ilerlemiş karsinom da optimal bir tedavi yaklaşımı çok açık olmasa da bir çok çalışmada neoadjuvan kemoterapi ve radyoterapi ardından cerrahi operasyon seçeneği sık kullanılan bir ortak yaklaşımdır. Sisplatin veya 5-fluorouracil ile birlikte kullanılan karboplatin bazlı rejimler ve genellikle 35-45 gray radyoterapi özofajektomi öncesi uygulanır (56). Lokalize ilerlemiş karsinomlu hastalarda cerrahi tedavide tek amaç kür sağlamak değil aynı zamanda non-kürabl hastalarda disfajiyi azaltarak yaşam kalitesinin arttırmaya çalışmaktır (56).

Metastatik non-rezektabl karsinomu olan hastalarda 5 yıllık sağ kalım %15'in altında olup kemoterapi veya kemoradyoterapi tedavi seçenekleri arasındadır (56). Birçok randomize kontrollü çalışma kemoterapinin ortalama sağ kalımı ve hayat kalitesini arttırdığını göstermiştir (98). Hastanın genel durumu, komorbid hastalıklar, metastatik evre, toksisite, tedavi yanıtı gibi faktörler tedavi seçeneklerini belirler. Platin bazlı rejimlerin monoterapiye üstün olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (95). Yaklaşık %20 karsinomda insan epidermal

büyüme faktörü reseptörü HER2 pozitif olması tedaviye trastuzumab monoklonal antikorunun eklenmesini sağlar ve bu da sağ kalımda avantaj sağlar (99).

Semptomatik obstrüksiyon bulguları olan hastalarda endoskopik olarak argon plazma koagülasyon yöntemi ile rekanalizasyon veya stent implantasyonu ile semptomlar azaltılabilir. Buji uygulaması tek başına semptomları gidermede yetersizdir. Erken yerleştirilen perkütan endoskopik gastrotomi hastaların beslenmesinde oldukça yararlıdır (95).

2.3. Apoptozis

Apoptozis işlevini yitirmiş, yaşlanmış, düzensiz gelişimi olan veya DNA'sında hasar olan hücrelerin güvenli bir şekilde ortadan kaldırılmasını sağlayan ve genetik olarak kontrol edilen programlı hücre ölümüdür (3). Bu terim ilk defa 1972 yılında İskoç araştırmacılar olan Kerr ve arkadaşları tarafından canlı dokulardaki hücre azalmalarından sorumlu olan yapısal olarak özgün bir hücre ölüm tipi olarak tanımlanmıştır (100). 1983 yılında Duke ve arkadaşları tarafından endonükleazların yol açtığı DNA kırıklarının jel 17 elektroforezinde gösterilmesi ile apoptotik hücre ölümünün ilk biyokimyasal kanıtına ulaşılmıştır (101).

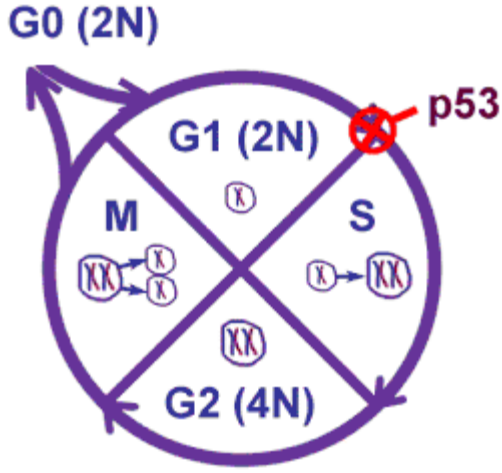
Patolojik bir süreç olan nekroz ise hipoksi, fiziksel hasar, hipertermi, kompleman aktivasyonu, ultraviyole ışık gibi zararlı hücre dışı uyaranlar sonucu oluşan istenmeyen bir süreçtir. Hücre plazma membran lipidlerinin peroksidasyonu sonucu, hücre içeriği ortama dökülerek inflamatuvar yanıt oluşturmakta ve komşu hücrelerde bu durumdan etkilenmektedir (102).

Apoptozis, nekrozdan farklı olarak fizyolojik şartlar altında da oluşabilen ve çoğunlukla doku homeostazisini sağlanmasına katkıda bulunan hücre ölümüdür (3). Hücrenin yaşam siklusu boyunca yapım ve yıkım arasında kontrollü bir denge vardır. Bu dengenin apoptozis lehine veya aleyhine bozulması, birçok önemli hastalığın patogeneğinde rol oynar. Örnek olarak bazı viral enfeksiyonlarda apoptozis engellenerek virüs ile infekte

olan hücrenin ortadan kaldırılmasına engel olunması verilebilir. Oto-reaktif lenfositlerin apoptozis ile ortamdan uzaklaştırılmaması veya geç uzaklaştırılmaları sonucu otoimmün hastalıklar oluşabilmektedir. DNA'sı hasar görmüş hücreler de apoptozis yolu ile ortadan kaldırılır. Hücrenin DNA'sında meydana gelen mutasyonlar kanser gelişimine neden olabilecekleri için bu hasarlı hücrelerin apoptozis ile öldürülmesi kilit rol oynar (103,104).

Apoptozis hızının yavaşladığı veya arttığı durumlarda çeşitli hastalıklar meydana gelebilir. Malign hastalıklarda hücre proliferasyonunun kontrolsüz biçimde artışı söz konusudur. Aşırı proliferasyonla beraber azalmış apoptotik hücre ölüm hızının da malignite gelişimine katkıda bulunduğu görülmüştür. Normal olarak apoptozise gidemeyen, genomlarında toplanan mutasyonların sonucu beklendiğinden daha uzun yaşayan hücreler malign hücrelere dönüşme potansiyeli taşırlar. Alzheimer, Hutchinson, Parkinson, Amyotrofik lateral skleroz gibi nörodejeneratif hastalıklarda, AIDS ve otoimmün hastalıklarda sebebi tam olarak tespit edilemeyen bir şekilde apoptozisin rol aldığı düşünülmektedir (105).

İç veya dış nedenlerle hücre kromozomlarında DNA hasarı oluştuğunda aktive olan bazı genler, hücrenin apoptozisinde önemli rol oynar. Bu genlerden en önemlisi p53 genidir. İnsan tümörlerinin %50'den fazlasında p53 geninin mutasyona uğradığı tespit edilip, kanser oluşumunda bu gen kritik rol oynadığı kabul edilmektedir (106,107). Normalde inaktif durumda bulunan p53 geni, DNA hasarı oluştuğunda aktifleşerek p21 genini harekete geçirir ve hücrenin geç G1 fazında kalarak S fazına geçmesini engeller. Böylece hücre siklusu durdurularak DNA'sı hasarlı hücrenin çoğalması engellenir. p53 geni, DNA tamiri yapan proteinlerin transkripsiyonunu sağlar. Bu proteinler DNA hasarını tamir edebilirse, hücre siklusundaki blok kalkar. Hücre hasarının tamiri başarılı olmazsa p53 geni bax proteinini (bcl- 2 grubu proteinlerden, proapoptotik) aktive ederek mitokondri aracılığı ile hücrenin apoptozise giderek ölmesini sağlar. Böylece DNA hasarlı hücre ortadan kaldırılmış olur (108,109).



Şekil-2.4. : p53 Aktivasyonu (110)

2.3.1. Apoptozis Mekanizmaları

Apoptozis belli olaylar ile başlatılan, birbiri ile çakışan fakat ayrılabilen dört komponentten oluşan, enerji bağımlı bir süreçtir.

Apoptozisin Başlatılması: Hücrenin apoptozise gidebilmesi için ilk olarak, genetik mekanizmayı harekete geçirecek hücre içinden veya dışından bir sinyalle karşılaşması gerekir. Hücreler çevredeki hücrelerden ve ekstrasellüler matriksden gelen büyüme faktörlerine, yaşam sinyallerine ihtiyaç duyarlar. Bu sinyaller yeterli miktarda değil ve düzensizse hücreler apoptozise giderler. Bazı sitokinler hücre membranında bulunan reseptörlere bağlanarak ölüm programını harekete geçiren sinyaller üretebilirler (108).

Apoptoziste rol alan membran reseptörleri içinde en önemli grup Tümör Nekrozis Faktör Reseptör (TNFR) ailesidir. TNFR içinde apoptozis oluşturan reseptörlerden en önemlileri Fas ve TNFR1'dir. Bu reseptörler uyarıldıklarında, hücrenin sitoplazmasında bulunan adaptör proteinlere bağlanırlar. Adaptör proteinlerin ölüm efektör parçaları vardır. Bunlar da apoptozis için başlatıcı olan kaspazlara bağlanırlar (111).

Fas-Fas Ligand Aracılı Apoptozis hücre yüzey reseptörü Fas aracılığı ile oluşur. Fas ligandın Fas reseptörüne bağlanması ile Fas reseptörünün hücre içinde bulunan parçası Fas, FADD'la (Fas adapter protein with a death domain) birleşerek ölüm başlatan sinyal kompleksini oluşturur. Bu da prokaspaz 8'in aktifleşmesini sağlar (106).

Tümör Nekrozis Faktör (TNF) Aracılı Apoptozis'de TNF'nin, TNF reseptörleri ile birleşmesi sonucunda reseptörün hücre içinde bulunan parçası TRADD'la (TNFR adapter protein with a death domain) birleşerek etki gösterir. Adaptör protein daha sonra prokaspaz 8'i aktifleştirerek apoptozise neden olur (108).

Temel görevleri malign veya virus ile infekte olmuş olan hücrelerin öldürülmesi olan sitotoksik T lenfositler konakçı hücrelerin yüzeyinde bulunan yabancı antijenleri tanırlar. Yabancı antijenleri tanıdıklarında yüzeylerinde Fas ligand oluşur. Hedef hücrelerin Fas reseptörlerine tutunurlar. Sitoplazmalarında granzim B ve perforin adı verilen ve apoptozis oluşmasını sağlayan proteinler içeren sitoplazmik granüller vardır. Sitotoksik T lenfositler hedef hücrelerin membranlarında perforin ile porlar oluşturarak, onların sitoplazmalarına granzim B salgırlar. Granzim B hedef hücrelere girerek kaspazları aktive eder (105,108,112).

Hipoksi, radyasyon, antimetabolik etkili ilaçlar, ısı, gamma ve ultraviyole ışınlar gibi dış etkenler çeşitli yollar ile DNA hasarı oluşturarak apoptozise neden olurlar (105). Hücre içi pH'da azalma, metabolik veya hücre siklus bozuklukları, hücre içi Ca²⁺ seviyesinde artış gibi hücre içi değişiklikler de apoptoz sinyallerini başlatabilmektedir (113).

Hücre İçi Proteazların Aktivasyonu: İç ve dış sinyallerle hücre içindeki bir grup proteaz harekete geçer. Bu proteazlara kaspaz ismi verilmektedir. Dış ortamdan gelen sinyaller reseptörleri aktive ederek adaptör proteinleri, iç ortamdan gelen sinyaller ise mitokondrideki başlatıcı kaspazları aktive ederler (108). Mitokondrinin dış zarında sinyaller geçirgenlik artışına neden olurlar. Mitokondri dış zarının geçirgenliğini bcl-2 gibi bazı proteinler ayarlamaktadır. Antiapoptotik Bcl-2 proteini mitokondri dış membranında bulunan apoptozis proteaz aktive edici faktör 1 (APAF 1)'e tutulur. Hücrenin içinden kaynaklanan apoptotik sinyaller APAF 1'in mitokondriden ayrılmasına neden olur. Bu ayrılma dış mitokondri zarının geçirgenliğini artırır. Geçirgenliğin artması, mitokondrinin iki zarı arasında bulunan sitokrom C'nin sitozole çıkmasına neden olur. Sitokrom C

sitoplazmada APAF 1, kaspaz 9 ve ATP ile birleşir. Bu yeni oluşuma apoptozom denir. Apoptozom sonlandırıcı kaspaz olan kaspaz 3'ü aktive ederek apoptozisi başlatır (113).

Kaspazlar kalsiyum bağımsız hücre içi sistein proteaz sınıfının en önemli bölümünü oluşturur. İnaktif prekürsörler olarak hücre stoplazmasında bulunurlar ve çoğu proapoptotiktir. Biyolojik fonksiyonlarına göre üç gruba ayrılırlar:

Sitokin aktivasyonu yapanlar: Kaspaz 1, 4, 5, 11, 12, 14

Apoptozisi başlatanlar: Kaspaz 2, 8, 9, 10

Apoptozisi yürütenler (efektör grup): Kaspaz 3, 6, 7

Başlatıcı kaspazlar apoptotik uyarıyla başlayan ölüm sinyallerini efektör kaspazlara naklederler. Efektör kaspazlar ise proteolitik etkiyle apoptotik hücre morfolojisinin meydana gelmesine neden olur (114,115).

Biyokimyasal ve Morfolojik Değişiklikler: Efektör kaspazlar aktive olduktan sonra sitoplazmada ve çekirdek içinde hedef proteinleri yıkarak DNA kırıklarının meydana gelmesine, hücre iskeletinin yıkılmasına ve hücre membran değişikliklerine sebep olurlar.

Apoptozis morfolojik olarak kendine özgü bir yapı içerir. Apoptoziste hücre küçülür, hücrenin kromatini nükleus membranının çevresinde toplanır (kromatin agregasyonu) ve yoğunlaşır (kromatin kondensasyonu). Apoptotik hücre membranı intaktır ve üzerinde küçük cepçikler oluşur. Apoptotik hücre küçük cisimciklere parçalanır. Apoptotik cisimcikler, membran ile kaplıdır, değişen miktarlarda nükleus veya diğer hücre içi yapılar içerirler. Bu apoptotik cisimler komşu hücre ve makrofajlarca fagosite edilip lizozomların içinde parçalandıklarından enflamasyon oluşmaz. Komşu hücre proliferasyon ve migrasyonu ile apoptotik boşluk doldurulur (105,116).

Kaspazlar ile protein hidrolizi, transglutaminaz aktivitesi ile aşırı proteinler çapraz bağlanır, DNA internukleozomal bölgelerinden 180–200 baz çifti veya katları olacak şekilde kırılmalar oluşur. Apoptotik hücrede görülen önemli değişikliklerden biri de normalde plazma membranının iç yüzünde bulunan fosfatidilserinin erken evrede membranın dış yüzüne doğru yer değiştirmesidir. Bu değişim, apoptotik hücrelerin komşu hücreler ve makrofajlar tarafından tanınmasını sağlar (117).

Fagositoz: Apoptotik cisimler ortamdaki parankim hücreleri ve fagositler tarafından fagosite edilerek dokudan temizlenirler (105).

2.3.2. Barrett Karsinogenezi ve Apoptozis Mekanizmaları

Barrett özofagusdan Özofagus adenokarsinomu gelişiminde kontrolsüz hücre çoğalması, apoptozun inhibisyonu, kromozomlardaki değişiklikler ve invazyon gibi genel karsinogenez sürecinde olan basamaklar görülmektedir. Barrett metaplazisinden adenokarsinomanın gelişimi gen yapısında, gen ekspresyonunda ve protein yapısında meydana gelen birçok değişikliğin sonucudur. Bu değişikliklerden ilki metaplastik kolonilerin intestinal metaplazi ile beraber çoğalmasıdır. Bazı hücreler, nedeni tam olarak bilinmese de muhtemelen çevresel veya kalıtsal nedenlerden dolayı genetik olarak bozukluk gösterirler. Zamanla çoğalan bu hücreler koloni haline gelirler ve çevredeki normal hücrelerin de genetik yapılarını değiştirirler. Bu koloniler de kansere neden olabilecek genetik değişiklikleri indükleyebilir(7). Genetik olarak normal olmayan hücrelerin çoğalmasının ardından, hücre döngüsü kontrol noktalarının kaybı ve artan proliferasyon gözlenir. Daha sonra Barrett özofagusta apoptozisin inhibisyonu ve yüksek dereceli displazi hücrelerinin artışı meydana gelir. Hücre adezyonunun değişmesinin ardından invaziv kanser gözlenir (118).

Normal bir hücrede kromozom sayısı $2N$ (diploid) olarak ifade edilir. Hücre bölünmesi çeşitli fazlardan oluşur (G₀, G₁, S, G₂, M). Hücredeki sayısal anomaliler ise anöploidi olarak ifade edilir. Flow sitometriyle yapılan bazı çalışmalarda, kontrol grubundaki hücrelerin büyük bir kısmının G₀ (dinlenme) fazında olduğu halde, Barrett metaplazisinde hücrelerin üçte birinin G₁ fazında (hücre bölünmesinin ilk aşaması) olduğunu göstermiştir. Aynı çalışma grubu, Barrett hastalarından alınan biyopsi örneklerinde G₂ evresinde olan hücre sayısında artış olduğunu bildirmiştir (7).

Barrett neoplazisinin gelişiminde tümör baskılayıcı bir gen olan ve tıpkı p53 gibi hücrenin G₁ fazından S fazına geçişini engelleyen p16 geninin metilasyonu ile inhibisyonu aşırı hücre çoğalmasını başlatır (8).

İlk aşamada meydana gelen moleküler değişiklikler ve aşırı proliferasyon sonucu eğer hücrenin p53 geni ve proteini gibi aktif bir hasar kontrol sistemi varsa, hücre döngüsü

durdurulur ve DNA hasarı onarılmaya çalışılır. Eğer hasar onarılamıyorsa p53 apoptotik sinyali aktive eder ve mutant hücreler uzaklaştırılır (8). Tümör baskılayıcı bir gen olan p53'teki mutasyonlar tümör gelişimine neden olabilir. Yapılan bir çok çalışmada bu mutasyonlar BÖ ve ÖAK'da belirlenmiştir (119). Displazinin görülmediği Barrett epitelinde de p53 gen mutasyonuna rastlanması, p53 genindeki değişikliklerin metaplazi-displazi-karsinoma sıralamasında erken aşamada meydana geldiğini göstermektedir (120).

Apoptoz mekanizmasında önemli moleküllerden biri Fas ve FasL'dir. Barrett epitelindeki hücrelerde Fas ekspresyonunun azaldığı, FasL ekspresyonunun ise arttığı gözlenmiştir. Hasarlı hücrelerde Fas ekspresyonunun azalması, normalde FasL ekspresyonuna neden olan hücreler tarafından indüklenen apoptozdan kaçışına neden olur. Barrett epitelinde artan FasL ekspresyonu ise Fas eksprese eden ve tümörden koruyucu olan normal hücrelerin apoptoza girmesini indükleyebilir. Böylece normal hücreler ölürken neoplazi potansiyeli olan hücreler çoğalmaya devam eder (9,10).

Apoptozu kontrol eden bir diğer gen de Bcl-2 protoonkogenidir. Bu gen apoptozu indükleyen ve mitokondri dış zarının geçirgenliğini ayarlayan bir proteini kodlamaktadır. Bcl-2 ekspresyonunun reflü özofajitinde, Barrett metaplazisinde ve düşük dereceli displazide arttığı ancak yüksek dereceli displazide ve kanserde nerdeyse yok denecek kadar az olduğu gözlenmiştir. Bu durum bcl-2 proteininin artan ekspresyonu sonucunda apoptozun inhibisyonu ile ilgili mekanizmanın karsinogenezin ilk aşamalarında gerçekleştiğini göstermektedir (11). Bcl-2 ailesinin üyelerinden olan Bcl-xl'nin ekspresyonu adenokarsinoma doğru gittikçe artmaktadır (121).

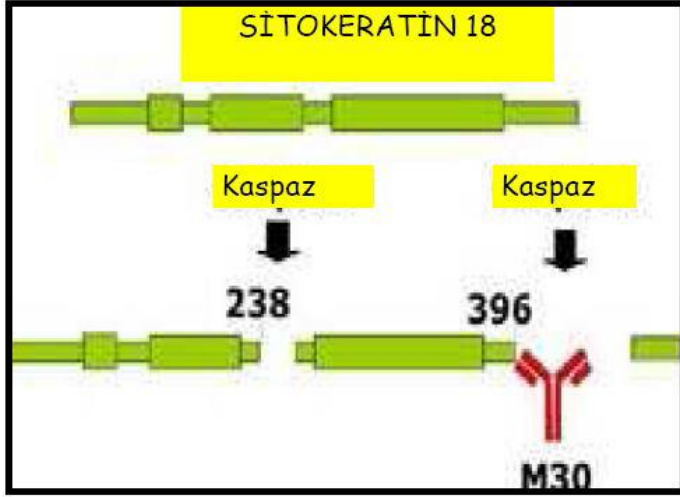
COX-2 , tümör gelişiminde önemli olan apoptozis, hücre adezyonu, invazyon, metastaz ve anjiyogenezis gibi birçok basamakta rol oynar. BÖ ve ÖAK'da COX-2'nin eksprese olduğu gözlenmiştir. Özofageal kanser hücrelerinde COX-2'nin inhibe edilmesi sonucunda apoptozun indüklendiği, proliferatif aktivitenin ve prostaglandin E2'nin sentezinin azaldığı belirlenmiştir. Düzenli olarak aspirin kullanan bireylerde ise COX-2 inhibe olduğundan özofagus kanserinde azalma gözlenmiştir (122, 123).

2.4. Sitokeratinler ve M30-M65

Hücre iskeleti ara filament (Tip I-V), aktin içeren filament ve mikrotübüller olmak üzere üç farklı tip filament sistemi içerir (124). Sitokeratinler ara filament protein ailesindedir. Epitelyal dokularda hücrelerin şekil ve bütünlüğünün desteklenmesine yardım ederler. Bilinen en az 20 çeşit CK vardır ve bunlar tip I ve tip II olarak ayrılır. Tip I sitokeratin 9-20'i içerir ve asidik proteinlerden oluşurken , Tip II sitokeratin 1-8'i içerir ve bazik proteinlerden oluşur (125). CK'ler en çok basit ve keratinleşmemiş çok katlı epitelden ve epitel kaynaklı dokulardan salgılanır. Sağlıklı kişilerde yassı epitelden CK 1-6 ve 9-17 eksprese olurken CK 7, 8, 18-20 basit epitelden eksprese olur. Malignitelere ise CK 8, 18, 19 çok miktarda salgılanır (126). CK-8, CK-19 ve CK-18 aynı zamanda endometriozis, karaciğer sirozu, malign tümörler (kolon, meme, over, akciğer, endometriyal ve servikal kanser) gibi proliferasyondaki dokularda da aşırı miktarda salgılanmaktadır (127). Epitel hücre kanserlerinde tedaviye cevabın hızlı değerlendirilmesinde ve rekürrens erken saptanmasında CK protein fragmanları vücut sıvılarında saptanabilir.

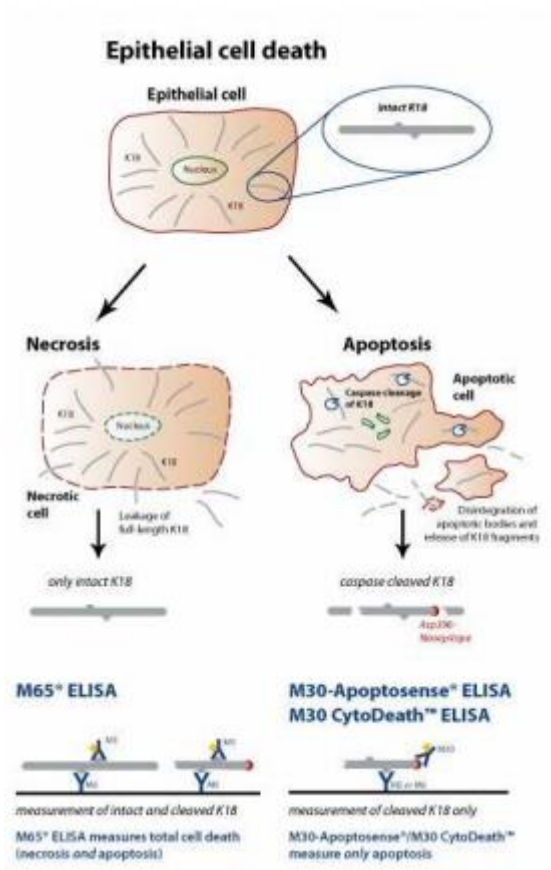
CK18 embriyogenez esnasında eksprese olan ilk sitokeratindir. Erişkinlerde mesane epiteli, ince barsak ve kolon mukozası, hepatositler, ekrin ter bezleri, follop tüpleri, pankreas asiner hücresi, serviks uteri ve endometriumdan salgılanır (128). CK18 hızlı büyüyen tümörlerin epitelyal hücrelerinden aşırı derecede salgılanır. Artmış CK18 düzeyleri proliferasyonla ve hücre turnover ile ilişkilidir CK-18 konsantrasyonları tümör kitlesini değil, tümör aktivitesini yansıtır (129).

Yapılan çalışmalar "kaspazlar tarafından kırılmış CK18/total CK18" oranının hücrenin apoptoza mı yoksa nekroza mı gideceğini belirlemede rol olabileceğini göstermiştir. Total CK 18, proliferasyon halindeki hücrelerde çok miktarda üretilir. Nekroz sırasında membran bütünlüğü bozulunca ekspresyonu artar. Kırılmış CK-18 ise yalnızca apoptozise uğrayan hücrelerde, total CK-18'in kaspazlarla kırılması sonucunda oluşur (Şekil-2.5.).



Şekil-2.5. : Kırılmış sitokeratin 18 (130)

Apoptozis sırasında CK-18, kaspazlarla aspartat 238 ve aspartat 396 noktasında bölünüp, ortaya CK-18Asp396 neoepitopunun (M30 antijeni) çıkmasına sebep olur. Buna karşı geliştirilen monoklonal M30 belirteci özellikle CK-18'in aspartat 396'da bölünmüş fragmanını tanır ve ölçülmesine yardımcı olur. Bununla beraber monoklonal M65 belirteci hem sağlam CK-18'i hem de bölünmüş CK-18'i ölçmektedir. Total CK-18 (M65) tüm hücre ölümlerinde salgılanırken, kırılmış CK-18 (M30) ise apoptozis sırasında oluşur ve hücreler sekonder nekrozise giderken salgılanır. M30 M65 oranının artması apoptoz, azalması nekroz lehinedir (4). Böylece monoklonal M30 ve M65 antikorları apoptotik-nekrotik epitelyal hücre ölümünün belirteçleri olarak kullanılabilir (5,6) (Şekil-2.6.).



Şekil-2.6. : M30 ve M65 (6)

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

Çalışmamıza 2008-2015 yılları arasında Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi gastroenteroloji kliniğine başvuran 18 yaşından büyük ve uygun tıbbi endikasyonlarla üst gastrointestinal endoskopisiyle özofagiyal doku biyopsisi yapıp yeni tanı alan 20 Barrett özofagus, 20 özofagus kanseri hastası ile gastroözofagiyal reflü semptomlarıyla başvurup üst gastrointestinal sistem endoskopisi yapıp alınan özofagiyal dokusu histopatolojik olarak normal saptanan 20 hasta dahil edildi. Hastanemiz patoloji kliniği arşivinden alınan doku örnekleri yeniden değerlendirilip immünohistokimyasal yöntemlerle M30 ve M65 boyandı. Bu şekilde çalışmaya alınan kişiler 3 gruba ayrıldı ve gruplar arasında M30 ve M65 boyanmaları açısından immünohistokimyasal olarak anlamlı bir fark olup olmadığı araştırıldı.

Hastaların demografik verileri, tıbbi özgeçmişleri ve endoskopi raporları dosya taraması ile kaydedildi. Bilinen başka bir malignitesi olanlar, aktif inflamatuvar ve enfeksiyöz hastalığı bulunanlar çalışma dışı bırakıldı.

Retrospektif olan çalışmamız hastanemiz etik kurulunca onaylandı.

3.2. İmmünohistokimyasal Yöntem

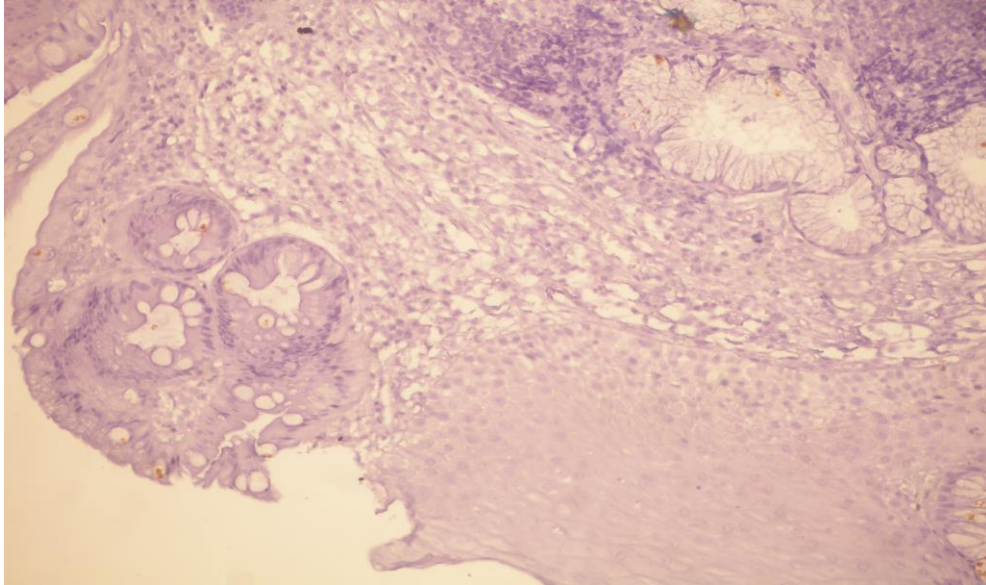
Hastanemiz patoloji kliniği arşivinden alınan parafinli doku bloklarından adezivli lama 0.4 mikron kalınlığında alınan kesitler 60° C'lik etüvde deparafinize edildi. Xylene içine alınan kesitler iki ayrı xylene'de 5'er dakika daha sonra %96 lık alkolde 10 dakika bekletildi. Kesitler daha sonra önce distile su ile sonra da fosfatlı buffer solüsyonu (PBS) ile yıkandı. M30 ile boyanacak kesitler PBS ile 1/10 oranında sulandırılan sitrat ile, M65 ile boyanacak kesitler ise PBS ile 1/10 oranında sulandırılan EDTA ile işleme tabi tutulduktan sonra mikrodalga fırında 600 Watt'da 5 dakika, 360 Watt'da 5 dakika ve Defrost'ta 5 dakika bekletildi. Ardından endojen peroksidazı bloke etmek için PBS ile yıkanan kesitlerin üzerine önce hydrogen peroxide block solüsyonu damlatılıp 10 dakika daha sonra da Ultra V Block solüsyonu damaltılıp yine 10 dakika bekletildi.

M30 ile boyanacak kesitler PBS ile 1/100 oranında sulandırılan M30 CytoDEATH Fluorescein (Peviva Prod. No. 10800) ile M65 ile boyanacak kesitler ise PBS ile 1/250

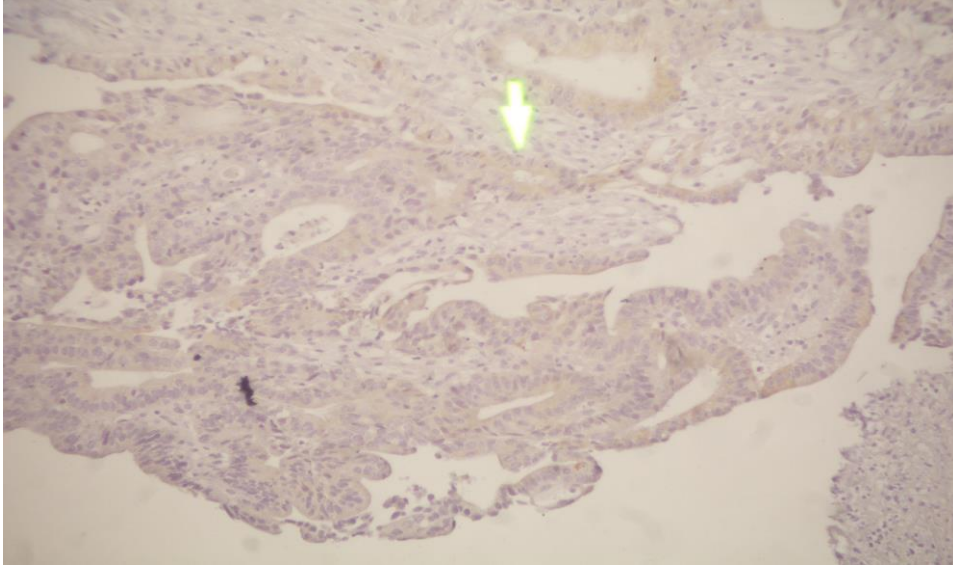
oranında sulandırılan Anti-MHC Class I H-2Ld (public; H-2. m65) Antibody (clone 30-5-7S, FITC) LS-C34612-LSBio ile 90 dakika işeme tabi tutuldu. PBS ile 5 dakika yıkandıktan sonra Biotylated Antibody solusyonu damlatılıp 15 dakika bekletildikten sonra Streptavidin peroxidas solusyonu ile 15 dakika bekletilerek immünohistokimyasal boyama yapıldı. PBS ile tekrar 5 dakika yıkanan kesitlerin üzerine Kromogen solusyonu damlatılıp 1-5 dakika arasında dokular kızarana kadar bekletildi. Kesitler distile su ile yıkandıktan sonra Mayers hematoksilen ile zemin boyaması (zıt boyama) yapıldı.

Çeşme suyunda yıkanıp 2 dakika alkolde, 2 dakika xylende bekletilen lamlar daha sonra kapatıldı ve "Olympus Bx 51" marka ışık mikroskopuyla değerlendirmeye alındı. Boyanma görülmeyen olgular negatif, boyanma görülen olgular pozitif olarak kabul edildi (Resim 3-1, Resim 3-2, Resim 3-3).

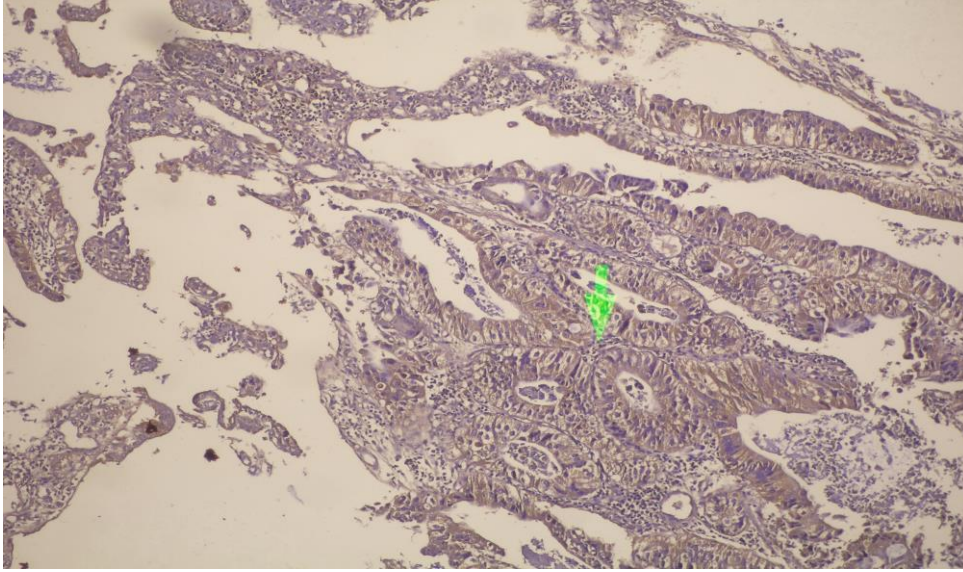
Ayrıca vakalar esnasında pozitif ve negatif kontroller de hazırlandı.



Resim-3.1. : M30 Negatif Barrett Özofagus Odağı



Resim-3.2. : İyi Diferansiye Adenokanser Alanı M30 Pozitif



Resim-3.3. : Adenokanser Alanı M65 Pozitif

3.3. İstatistiksel Yöntem

İstatistiksel analizler SPSS 16.0 programı kullanılarak yapıldı. Normal dağılan sayısal verilerin sunumu $\text{mean} \pm \text{standart deviasyon (SD)}$; normal dağılmayan verilerin sunumu median (minimum-maximum) olarak yapıldı. P değeri 0.05'ten küçük olanlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiyi Ki-Kare analizi ile, gruplar arasında karşılaştırma ise Kruskal-Wallis H testi ile yapıldı.

4.BULGULAR

Çalışmamız 20 Barrett Özofagus ve 20 özofagus adenokanserden alınan doku preparatlarıyla yapıldı. Sağlıklı kontrol grubu 20 örnekten oluştu.

Çalışmaya alınan 60 kişinin 26'sı kadın 34'ü erkekti (Tablo 4.1). Gruplara göre cinsiyet dağılımına bakıldığında sağlıklıların %50'si (10), Barrett özofagusluların %45'i (9) ve adenokanserlilerin %35'i (7) kadındı. Sağlıklıların %50'si (10), Barrett özofagusluların %55'i (11) ve adenokanserlilerin %65'i (13) erkekti. Cinsiyet dağılımı bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ($p=0,622$) (Tablo 4.2).

Tablo 4.1. Çalışmaya Katılanların Cinsiyet Dağılımları

	n	%
Kadın	26	43,3
Erkek	34	56,7
Toplam	60	100

Tablo 4.2. Grupların Cinsiyet Açısından Değerlendirilmesi

		Gruplar								Ki-Kare Analizi
		Barrett		Adenokanser		Sağlıklı		Total		
		n	%	n	%	n	%	n	%	
Cinsiyet	Kadın	9	45,0	7	35,0	10	50,0	26	43,3	0,622
	Erkek	11	55,0	13	65,0	10	50,0	34	56,7	
	Total	20	100,0	20	100,0	20	100,0	60	100,0	

Grupların yaş ortalamaları sırasıyla Barrett özofagus grubu için $55,4\pm 11,2$, özofagus adenokanser grubu için $67,0\pm 12,3$ ve sağlıklı kontrol grubu için $53,8\pm 13,4$ idi. Yaş bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardı ($p=0,03$). Adenokanser grubunda yaş değerleri diğer iki gruba göre anlamlı derecede yüksek görülmekteydi (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Grupların Yaş Bakımından Değerlendirilmesi

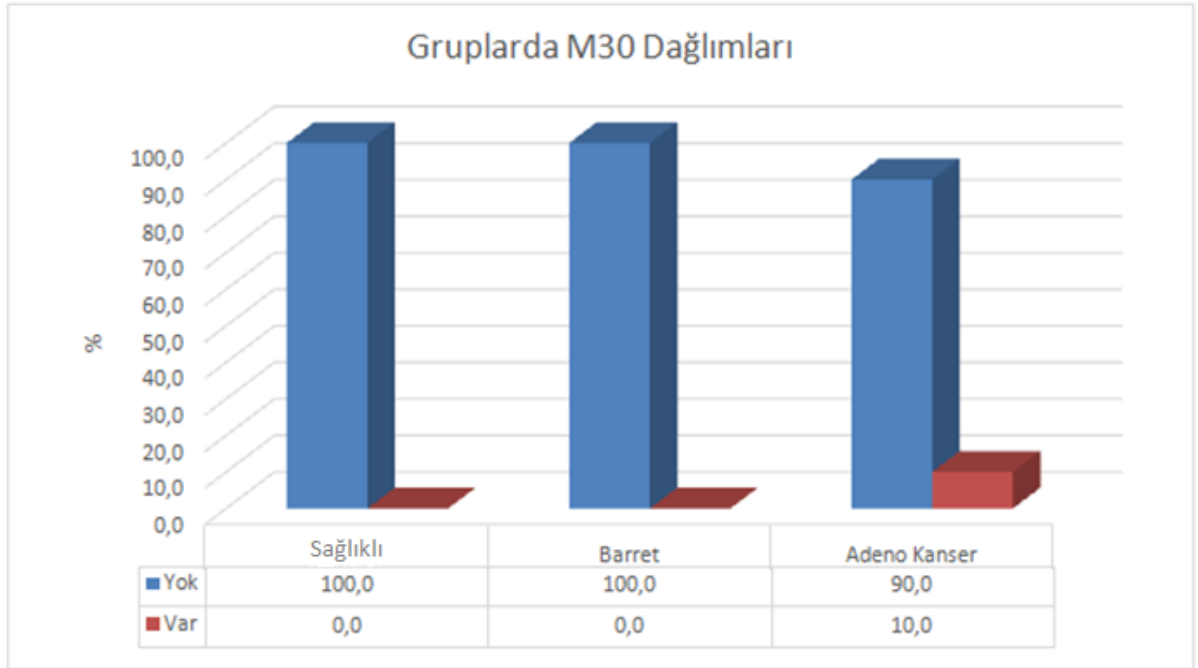
Grup	Yaş						Kruskall-Wallis H testi	
	n	Mea n	Media n	Minimu m	Maximu m	ss	MeanRa nk	p
Barrett	20	55,4	56,0	32,0	72,0	11,2	26,2	0,003
Adenokanser	20	67,0	73,5	40,0	80,0	12,3	41,5	
Sağlıklı	20	53,8	50,0	35,0	79,0	13,4	23,9	
Total	60	58,7	59,0	32,0	80,0	13,5		

Olguların toplam %3,3'ü M30'la boyanma gösterdi. Barrett özofaguslu ve sağlıklı kontrol grubundaki örneklerden hiçbirinde boyanma saptanmazken adenokanserli 2 olguda (%10) M30 ile boyanma saptanıp gruplar arasında M30 pozitifliği açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p=0,329$) (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Gruplara Göre M30 Boyanması

		Gruplar								ki-kare Analizi
		Barrett		Adenokanser		Sağlıklı		Total		
		n	%	n	%	n	%	n	%	
M30	Yok	20	100,0	18	100,0	20	100,0	58	96,7	0,329
	Var	0	0,0	2	10,0	0	0,0	2	3,3	
	Total	20	100,0	20	100,0	20	100,0	60	100,0	

Grafik 4.1. Gruplara Göre M30 Boyanması

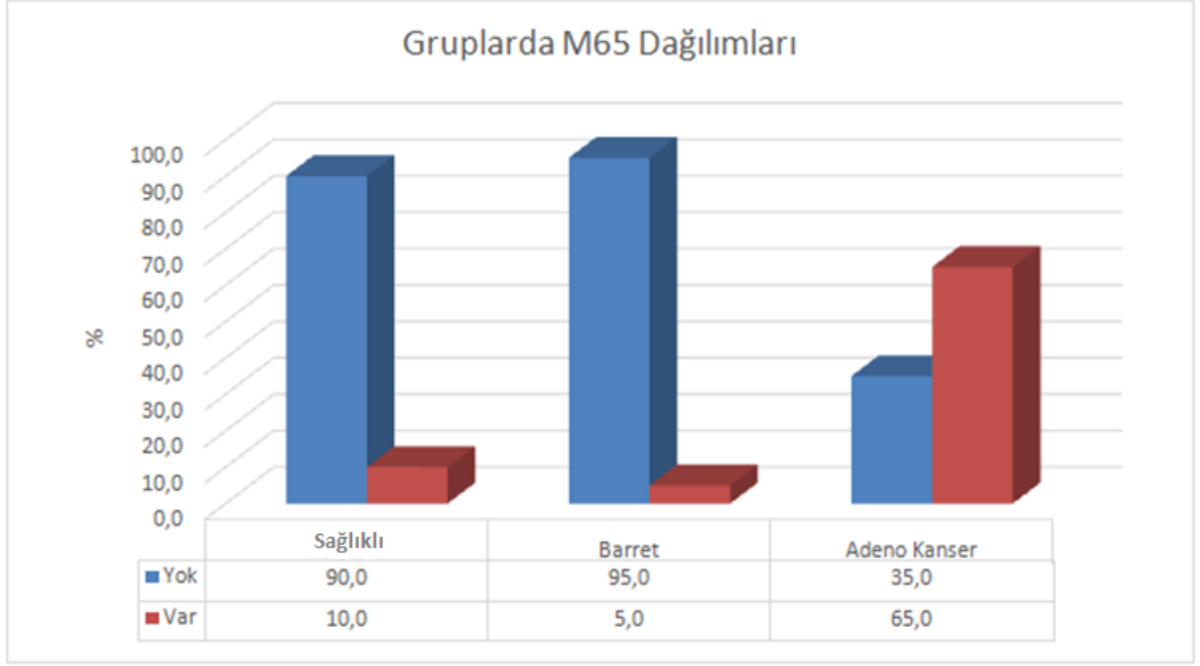


Gruplara göre M65 boyanmaları değerlendirildiğinde olguların toplam %26,7'sinde boyanma saptandı. Sağlıklı 2 örnekte (%10), Barrett özofaguslu 1 örnekte (%5) boyanma saptanırken, adenokanserli 13 olguda (%65) M65 boyanması görüldü. Sağlıklı ve Barrett özofagus grubuyla karşılaştırıldığında adenokanser grubunda M65 pozitifliği istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek bulundu ($p=0,0001$) (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. Gruplara Göre M65 Boyanması

		Gruplar								ki-kare Analizi
		Barrett		Adenokanser		Sağlıklı		Total		
		n	%	n	%	n	%	n	%	
M65	Yok	19	95,0	7	35,0	18	90,0	44	73,3	0,0001
	Var	1	5,0	13	65,0	2	10,0	16	26,7	
	Total	20	100,0	20	100,0	20	100,0	60	100,0	

Grafik 4.2. Gruplara Göre M65 Boyanması



5.TARTIŞMA

Ara filament protein ailesinin bir alt gurubunu oluşturan CK-18 gastrointestinal sistemde özellikle mide karaciğer ve barsak glandüler epitelyal hücrelerinden eksprese edilir. Apoptozis sırasında CK-18 kaspazlarla aspartat 238 ve aspartat 396 noktasında bölünür ve ortaya CK-18Asp396 neoepitopu (M30 antijeni) çıkar. Buna karşı geliştirilen monoklonal M30 antikoru özellikle CK-18'in aspartat 396'da kırılmış fragmanını tanır ve ölçülmesine yardımcı olur. Bununla beraber monoklonal M65 antikoru ise hem sağlam CK-18'i hem de kırılmış CK-18'i ölçmektedir. Böylece monoklonal M30 ve M65 antikorları apoptotik-nekrotik sürecin belirteçleri olarak kullanılabilir (5,6). Literatürü incelediğimizde daha önce yapılan ve değişik malignitelere apoptoz sürecini değerlendiren bir çok çalışmada M30 ve M65'in serum düzeyleri incelenmiştir. Histopatolojik olarak yapılan çalışma sayısı ise daha azdır. Bu çalışmada Barrett Özofagus ve Özofagus Adenokarsinom patogeneğinde apoptozun rolünü belirlemek amacıyla M30 ve M65 'in histopatolojik incelenmesini hedefledik.

Çalışmamızda gruplara göre M30 ekspresyonuna bakıldığında gruplar arasında M30 pozitifliği açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Gruplara göre M65 ekspresyonuna bakıldığında ise adenokanserlilerde M65 istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Kontrol grubunda M30 'un negatif olması sağlıklı özofagus squamöz epiteline M30'un hiç ekspresyonunun olmadığını düşündürmektedir. Barrett özofagus hastalarında M30 pozitifliği olmaması ise BÖ'da ya apoptozun değişik mekanizmalarla baskılandığını ya da programlı hücre ölümünde kaspaz-kırılmış CK-18 yolağının hiç kullanılmıyor olabileceğini akla getirmektedir. Dvorakova ve arkadaşlarının immunohistokimyasal olarak BÖ'da apoptoz direncini araştırdıkları bir çalışmada 10 sağlıklı özofagus squamöz epitelyum, 13 BÖ ve 4 sağlıklı kolon kolumnar epitelden alınan biyopsi örnekleri besiyerlerine ekim yapılarak incelenmiştir. Elektron mikroskopunda (EM) hem squamöz epitel hem de BÖ epiteline herhangi bir apoptotik değişiklik görülmezken besiyerlerine bir safra asidi olan ve apoptoz indükleyici olarak kullanılan deoksikolat (DOK) eklendiğinde EM'de squamöz epitelde apoptotik değişiklikler görülürken BÖ'da yine bir değişiklik

görülmemiştir. Aynı dokular M30 ile boyandığında ise sağlıklı özofagus squamöz epitelinde M30 hiç eksprese edilemezken DOK ile indüklenmiş sağlıklı kolon kolumnar epitelde M30 yüksek oranda, DOK ile indüklenmiş BÖ epitelinde ise düşük oranda ekspresyon izlenmiştir. Boyanan dokularda kript profillerine bakılarak hazırlanan apopitoz indeksi kolumnar epitelde ortalama %91.8 BÖ'da ise %25,2 saptanmış ve M30'un glandüler dokuların erken apopitotik hücrelerine spesifik olduğu squamaöz epitelde salgılanmadığı düşünülmüş ayrıca BÖ epitelinin de apopitoza dirençli olduğu belirtilmiştir(131). Bu bulgular çalışmamızda sağlıklı kontrol grubu ve BÖ olgularında M30 pozitifliği bulunmamasıyla uyumludur.

Fareed ve arkadaşlarının 2012 yılında gastroözofagiyal adenokarsinomlu hastalarda neoadjuvan kemoterapi ile tümör regresyon derecesini belirlemek amacıyla immünohistokimyasal yöntemle M30 ve M65 incelemesi yaptıkları çalışmada 122 gastrik/gastroözofagiyal kanserli hastaya neoadjuvan kemoterapi verilmezken 97 gastrik/gastroözofagiyal/alt özofagus kanserli hastaya ise preopreatif platinum bazlı kemoterapi verilmiştir. Hastaların büyük bir kısmında(%92,6) M65 eksprese(pozitif) edilirken, M30 pozitifliği neoadjuvan kemoterapi verilenlerin %56.7'sinde verilmeyenlerin ise %24,6'sında saptanmıştır. Bu durumun kemoterapiye maruz kalan tümör hücrelerinde apopitotik hücre ölümünün indüklendiği ve apopitoz markerı M30'un ekspresyonunun olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Neoadjuvan kemoterapi verilen hastalarda M30 pozitifliği tümör regresyon cevabı ile korele bulunmuştur(132).

Çalışmamızda adenokanser grubunda M30'un yalnızca 2 hastada eksprese edilmesi ve istatistiksel olarak anlamlı olmaması kanser hücrelerinde programlı hücre ölümünün tümör baskılayıcı bir gen olan p53'teki mutasyonlar, apopitoz mekanizmasında önemli rol oynayan Fas ve FasL moleküllerindeki değişiklikler ve Bcl-2 protoonkogeninin aktive olması gibi değişik mekanizmalarla inhibe edilmesiyle açıklanabilir. Fareed ve arkadaşlarının çalışmalarında (132) da M30'un kemoterapi almayan grupta (%24,6) alan gruba göre (%56,7) daha düşük oranda boyanması ve tümör hücrelerinde inhibe olmuş apopitozun kemoterapiyle indüklenmesi de bu düşüncemizi desteklemektedir. Ayrıca hücre ATP üretiminin yetersiz olduğu durumlarda hücrelerin apopitoz yerine nekroza gittiği bilinmektedir (133). Tümör hücrelerinin hipoksisi nedeniyle de baskın ölüm şekli nekroz olmuş olabilir.

Literatürde gastorintestinal sistem kanserleri ile yapılan ve sonuçlarımıza zıt olarak M30'un serumda yüksek saptandığı veya immünohistokimyasal yöntemle pozitif boyandığı çalışmalar mevcuttur. Brandt ve arkadaşlarının 35 gastrointestinal sistem kanseri hastasında 2010 yılında yaptığı bir çalışmada serum M30 düzeyleri kanserli hastalarda kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Aynı çalışmada koleraktal kanser hastalarının doku örneklerinde yapılan immünohistokimyasal incelemede de M30 ekspresyonu kontrol grubuna göre daha yüksek saptanmıştır. Kanser hastalarında serumda ve dokuda M30'un pozitif olmasının nedeni tümör hücrelerinde apoptozun azalmış olduğu halde devam ettiği fakat artan hücre turnoverı sonucu zamanla apoptoza dayanıklı hücrelerin hayatta kaldığı düşüncesiyle açıklanmıştır (134).

Özofagus adenokanser grubunda baskın ölüm şekli olmasa da değişik oranlarda apoptoz vardır ancak hasta sayımızın bu farklılığı gösterecek kadar çok olmaması, her bir tümörün histolojik örnek alındığı sırada değişik evrelerde olmasından dolayı bizim çalışmamızda M30 ekspresyonu yalnızca 2 hastayla sınırlı kalmış olabilir.

Çalışmamızda Barrett grubunda M65 1 hastada boyanıp istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bu durum Barrett epitelinde kanser hücresine göre henüz hücresel döngünün normal olması, 20 hastamızda da displazinin saptanmaması ve dolayısıyla kanserogenez mekanizmalarının ilerlememiş olduğunu düşündürmektedir.

Nekrotik süreci yansıtan M65'in adenokanserlilerde kontrol ve Barrett grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olması tümör hücrelerinin hücresel döngülerinin, yapım ve yıkım faaliyetlerinin çok hızlı ve yüksek olması ile açıklanabilir. Bizim çalışmamızla uyumlu olarak kolorektal ve gastrik kanserlerde yapılan daha önceki çalışmalarda da serum M65 değeri kontrol grubuna göre yüksek bulunmuş gastrik ve gastroözofagiyal kanserlerde immünohistokimyasal yöntemle M65 % 92.6 oranında eksprese edilmiştir (132). Kolorektal kanserli 62 hasta ve 27 sağlıklı kontrol bulunan Auch ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada serum M65 düzeyleri kanserli hastalarda daha yüksek bulunurken cerrahi operasyon yapılan alt grupta (19/31) cerrahi sonrası anlamlı bir düşüş saptanmıştır (135). Greystoke ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada ise M30 ve M65 kanser hastalarında daha yüksek bulunurken evre ilerledikçe M65'in artış eğiliminde olduğu gösterilmiştir (136). Gastrointestinal sistemin diğer epitelyal tümörlerinde olduğu gibi özofagus adenokanserlerinde de M65'in prediktif bir değeri olabilir.

Apopitoz sürecini değerlendirmek için geliştirilmiş morfolojik görüntüleme, immünolojik, biyokimyasal ve immünohistokimyasal bir çok yöntem mevcuttur. Epitelyal hücre ölüm markeri olan M30 ve M65 birçok çalışmada hastalık şiddetini, inflamasyon derecesini, değişik malignitelerde potansiyel bir marker olarak veya tümör prognozunu ve kemoterapi yanıtını değerlendirmede daha çok serumda Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELİSA) yöntemiyle çalışılmıştır.

Gastrik kanserlerde prognoz, sağkalım ve tedaviye yanıtı değerlendirmede serum M30 ve M65'in rolünü inceleyen bir çok çalışma yapılmıştır. Yaman ve arkadaşlarının 2010 yılında 38 ileri evre gastrik kanser ve 32 sağlıklı kontrolle yaptıkları bir çalışmada ileri evre kanserli hastalarda serum M30 değerleri kontrol gurubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca M30 seviyeleri yüksek olan hastalarda ortalama sağ kalım düşük olanlara göre daha kısa bulunurken M65'in ortalama sağ kalımı göstermede etkisinin olmadığı saptanmıştır(137). Bu çalışmaya zıt olarak Oyama ve arkadaşlarının 54 gastrik kanser ve 12 sağlıklı kontrolde yapılan çalışmada ise M65'in bağımsız bir prognostik gösterge olarak kullanılabileceği belirtilmiştir(138).

Bilici ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada 34 ileri gastrik kanser hastasıyla 32 sağlıklı kontrol karşılaştırılmış ve sağlıklı guruba göre kanser gurubunda serum M65 düzeyleri daha yüksek bulunmuştur (139). Aynı ekibin 31 ileri gastrik kanserli hastada yaptıkları ve kemoterapi yanıtının incelendiği, tedavi öncesi ve sonrası serum M30 M65 düzeylerinin bakıldığı başka bir çalışmada ise kemoterapi sonrası 48. saatte serum M30 ve M65'teki artışın kötü prognozla ilişkilendirilebileceği ve tedavi sonrası M65 artışının tümör cevabını gösterebileceği saptanmıştır (140).

Çalışmamızı yaş bakımından değerlendirdiğimizde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p=0,003$). Adeno kanser grubunda yaş değerleri diğer iki gruba göre anlamlı derecede yüksek bulundu. Özofagus kanserlerinde risk yaşla birlikte artmaktadır. Yapılan çalışmalarda ortalama tanı alma yaşı 67 olarak saptanmıştır (141). B'lularda yapılan çalışmalar özellikle 70 yaş ve üzerinde yüksek dereceli displazi ve AK gelişim riskinde hızlı bir artış olduğunu göstermiştir.

Çalışmamızda göz önünde bulundurulması gereken bazı kısıtlılıklar mevcuttur. Hasta sayımızın az olması, sağlıklı kontrol grubunun yaş ortalamasının ($53,8\pm 13,4$) hasta grubuna

göre düşük olması, tüm Barrett özofaguslu hastalarımızın displazisiz olması ve dolayısıyla BÖ'dan ÖAK'a geçişte karsinogenez basamaklarında düşük ve yüksek dereceli displazi evrelerinin apoptoz açısından değerlendirilememiş olması çalışmamızı kısıtlayıcı nedenler arasındadır.



6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda M30, kontrol grubu ve Barrett hastalarında hiç boyanmazken 20 adenokanserli hastanın yalnızca 2'sinde (%10) boyanmış olup gruplar arasında M30 ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Gruplara göre M65 ekspresyonuna bakıldığında ise sırayla sağlıklı kontrol grubunda 2 (%10), Barrett özofagusta 1 (%5) , adenokanser grubunda ise 13(%65) hastada boyanma saptanıp adenokanserlilerde M65 istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Barrett özofagus hastalarında M30'un eksprese olmaması BÖ'da apoptozun değişik mekanizmalarla baskılandığı veya programlı hücre ölümünde kaspaz-kırılmış CK-18 yolağının hiç kullanılmıyor olabileceği sonucunu doğurmaktadır. M65'in 1 hastada boyanıp istatistiksel olarak anlamlı olmaması ise displazisiz Barrett epitelinde kanser hücresine göre henüz hücresel döngünün normal olduğunu, dolayısıyla kanserogenez mekanizmalarının ilerlememiş olduğunu akla getirir. Daha geniş hasta gruplarında bu markerların incelendiği çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda M65 özofagus adenokanserlerinde anlamlı oranda yüksek bulundu. Bu durum özofagus adenokanser patogenezinde nekrozun daha baskın olduğunu düşündürmektedir. Özofagus adenokanserlerinde birçok protein-genetik belirteç üzerinde çalışma olmasına rağmen günümüzde klinik kullanıma giren bir marker yoktur. M65 özofagus adenokanserlerinde prediktif bir marker olarak kullanılabilir. Ancak bununla ilgili geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108.
2. Peters JH, Hagen JA, DeMeester SR. Barrett's esophagus. *J Gastrointest Surg.* 2004; 8(1): 1-17
3. Thompson CB. Apoptozis. In: Paul WE (eds). *Fundamental immunology.* Lippincott-Raven Publishers; 1999; 107-38.
4. Kramer G, Erdal H, Mertens HJ, Nap M, Maurmann J, Steiner G et al. Differentiation between cell death modes using measurements of different soluble forms of extracellular cytokeratin 18, *Cancer Res*, 2004; 64: 1751-56.
5. Ueno T, Toi M, Biven K, Bando H, Ogawa T, Linder S. Measurement of an apoptotic product in the sera of breast cancer patient. *Eur J Cancer* 2003; 39: 769-74.
6. <http://www.peviva.se/m30-apoptosense-m65elisa.aspx>
7. Altorki NK, Oliveria S, Schrupp DS. Epidemiology and Molecular Biology of Barrett's Adenocarcinoma. *Seminars in Surgical Oncology* 1997; 13: 270–280.
8. Buttar NS, Wang KK. Mechanisms of Disease: carcinogenesis in Barrett's esophagus. *Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology* 2004; 1(2): 106–112.
9. Younes M, Schwartz MR, Finnie D, Younes A. Overexpression of Fas ligand (FasL) during malignant transformation in the large bowel and in Barrett's metaplasia of the esophagus. *Hum Pathol.* 1999; 30(11): 1309–13.
10. Younes M, Lechago J, Ertan A, Finnie D, Younes A. Decreased expression of Fas (CD95/APO1) associated with goblet cell metaplasia in Barrett's esophagus *Hum Pathol.* 2000; 31(4): 434–8.
11. Goldblum JR, Rice TW. bcl-2 protein expression in the Barrett's metaplasia-dysplasia-carcinoma sequence. *Mod Pathol.* 1995; 8(8): 866-9.
12. Yılmaz K, Tanoğlu A. Barret Özefagus: Tanı, Takip ve Tedavi Güncel Gastroneteroloji 2013; 17/2: 132-143

13. Streitz JM, Ellis HE. Barrett's esophagus. In: Shields TW, editor. General thoracic surgery. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 1994; 1612-21.
14. De Palma GD. Management strategies of Barrett esophagus, *World J Gastroenterol* 2012; 18: 6216-25.
15. Shalauta MD, Saad R. Barrett's Esophagus. *Am Fam Physician*. 2004; 69: 2113-8.
16. Sharma P, Morales TG, Sampliner RE. Short segment Barrett's esophagus-the need for standardization of the definition and of endoscopic criteria. *Am J Gastroenterol*. 1998; 93(7): 1033-6.
17. Wild CP, Hardie LJ. Reflux: Barrett's oesophagus and adenocarcinoma: burning questions. *Nat Rev Cancer*. 2003; 3: 676-684.
18. Ödemiş B, Yüksel O, Oğuz D. Barrett özofagus. *Güncel Gastroenteroloji* 2002; 6: 195–199.
19. Vahabzadeh B, Seetharam AB, Cook MB, et al. Validation of the Prague C & M criteria for the endoscopic grading of Barrett's esophagus by gastroenterology trainees: a multicenter study. *Gastrointest Endosc* 2012; 75: 236-41.
20. Yılmaz N, Tuncer K, Tunçyürek M, Ozütemiz O, Bor S. The prevalence of Barrett's esophagus and erosive esophagitis in a tertiary referral center in Turkey. *Turk J Gastroenterol*. 2006; 17: 79-83.
21. Leggett CL, Nelsen EM, Tian J, et al. Metabolic syndrome as a risk factor for barrett esophagus: a population-based case-control study. *MayoClin Proc* 2013; 88: 157-65.
22. Falk JW. Barret's esophagus. *Gastroenterology*. 2002; 122: 1569-9.
23. El-Serag HB, Hashmi A, Garcia J, et al. Visceral Visceral abdominal obesity measured by CT scan is associated with an increased risk of Barrett's oesophagus: a case-control study. *Gut* 2013 Feb 13 (Epub).
24. Thompson OM, Beresford SA, et al. Serum leptin and adiponectin levels and risk of Barrett's esophagus and intestinal metaplasia of the gastroesophageal junction. *Obesity (Silver Spring)* 2010; 18: 2204-11.
25. Duggan C, Onstad L, Hardikar S, et al. Association between markers of obesity and progression from Barrett's esophagus to esophageal adenocarcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2013 Mar 1; S1542-3565(13)00274-7.

26. Jochem VJ, Fuerst PA, Fromkes JJ. Familial Barrett's esophagus associated with adenocarcinoma. *Gastroenterology*. 1992; 102: 1400-2.
27. Romero Y, Cameron A, McDonnell SK. Barrett's esophagus: prevalence in relatives with and without frequent symptoms. *Am J Gastroenterol*. 2002; 97: 1127-32.
28. Guillem PG. How to Make a Barrett Esophagus: Pathophysiology of Columnar Metaplasia of the Esophagus. *Digestive Diseases and Sciences* 2005; 50: 415-424
29. Göral V. Barrett Özofagus; Patogenez, Tanı ve Tedavi. *Güncel Gastroenteroloji*. 2010; (14/1): 28-34.
30. DeMeester TR, Attwood SE, Smyrk TC, Therkildsen DH, Hinder RA. Surgical therapy in Barrett's esophagus. *Ann Surg* 1990; 212: 528– 540; discussion 540–522
31. Orlando RC, Bryson JC, Powell DW. Mechanisms of H⁺ injury in rabbit esophageal epithelium. *Am J Physiol* 1984; 246: 718–724
32. De Backer A, Haentjens P, Willems G. Hydrochloric acid. A trigger of cell proliferation in the esophagus of dogs. *Dig Dis Sci* 1985; 30: 884– 890
33. Kauer WK, Peters JH, DeMeester TR, Ireland AP, Bremner CG, Hagen JA. Mixed reflux of gastric and duodenal juices is more harmful to the esophagus than gastric juice alone. The need for surgical therapy re-emphasized. *Ann Surg* 1995; 222: 525–531
34. Fein M, Ireland AP, Ritter MP, Peters JH, Hagen JA, Bremner CG, DeMeester TR. Duodenogastric reflux potentiates the injurious effects of gastroesophageal reflux. *J Gastrointest Surg* 1997; 1: 27–33
35. Dent J, Bremner CG, Collen MJ. Working party report to the World Congresses of Gastroenterology Sidney 1990 Barrett's esophagus. *J Gastroenterol Hepatol*. 1991; 6: 1-22.
36. Li H, Walsh TN, O'Dowd G, Gillen P, Byrne PJ, Hennessy TP. Mechanisms of columnar metaplasia and squamous regeneration in experimental Barrett's esophagus. *Surgery* 1994; 115: 176–181
37. Levine DS, Rubin CE, Reid BJ, Haggitt RC. Specialized metaplastic columnar epithelium in Barrett's esophagus. A comparative transmission electron microscopic study. *Lab Invest* 1989; 60: 418–432
38. Wright NA. Migration of the ductular elements of gut-associated glands gives clues to the histogenesis of structures associated with responses to acid hypersecretory state: the

origins of “gastric metaplasia” in the duodenum of the specialized mucosa of Barrett’s esophagus and of pseudopyloric metaplasia. *Yale J Biol Med* 1996; 69: 147–153

39. Glickman JN, Chen YY, Wang HH, Antonioli DA, Odze RD. 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; 25: 569–578

40. Bhardwaj A, McGarrity TJ, Stairs DB, Mani H. Barrett's esophagus. Emerging knowledge and management strategies. *Patholog Res Int* 2012; 2012: 814146

41. Krishnadath KK, Wang KK. Molecular Pathogenesis of Barrett Esophagus *Gastroenterology Clinics of North America* 2015; 44(2): 233–247

42. Tytgat GN. Recent developments in gastro-esophageal reflux disease and Barrett's esophagus. *J Dig Dis* 2012; 13: 291-5.

43. Sampliner RE. Practice guidelines on the diagnosis, surveillance, and therapy of Barrett's esophagus. The Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 1028-32

44. Csendes A. Surgical treatment of Barrett’s esophagus. 1980-2003. *World J Surg.* 2004; 28: 225-31

45. DeMeester TR. Surgical therapy for Barrett’s esophagus: prevention, protection and excision. *Dis Esophagus.* 2002; 15: 109-16.

46. Katzka DA, Castell DO. Successful elimination of reflux symptoms does not insure adequate control of acid reflux in patients with Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol* 1994; 89: 989-91

47. Dent J. Barrett's esophagus: A historical perspective, an update on core practicalities and predictions on future evolutions of management. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 (Suppl 1): 11-30

48. Shaheen NJ, Overholt BF, Sampliner RE, et al. Durability of radiofrequency ablation in Barrett’s esophagus with dysplasia. *Gastroenterology* 2011; 141: 460-8.

49. Rahman AA, Singh R, Sharma P. Management of Barret’s esophagus. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2013; 59: 13-23.

50. Qumseya BJ, David W, Wolfsen HC. Photodynamic therapy for Barrett's esophagus and esophageal carcinoma. *Clin Endosc* 2013; 46: 30-7.

51. Guarner-Argente C, Buoncristiano T, Furth EE, et al. Long-term outcomes of patients with Barrett's esophagus and high-grade dysplasia or early cancer treated with endoluminal therapies with intention to complete eradication. *Gastrointest Endosc* 2013; 77: 190-9.
52. Pickens A, Orringer MB. Geographical distribution and racial disparity in esophageal cancer. *Ann Thorac Surg.* 2003; 76: 1367-1369.
53. Koruk M, Onuk MD, Gürsan N, et al. Özofagus kanseri: Klinik, endoskopik ve histopatolojik özellikleri. *Endoskopi* 2000; 11: 1-5.
54. Levine MS, Halvorsen RA. Carcinoma of the esophagus. In: Gore RM, Levine MS, editors. *Textbook of gastrointestinal radiology*. Philadelphia: WB Saunders, 2000; 403-433.
55. Mao WM, Zheng WH, Ling ZQ. Epidemiologic risk factors for esophageal cancer development. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011; 12: 2461-6.
56. Rubenstein JH, Shaheen NJ, Epidemiology, Diagnosis, and Management of Esophageal Adenocarcinoma, *Gastroenterology*, doi: 10.1053/j.gastro. 2015; 04.053
57. Rubenstein JH, Taylor JB. Meta-analysis: the association of oesophageal adenocarcinoma with symptoms of gastro-oesophageal reflux. *AlimentPharmacol Ther* 2010; 32: 1222-7.
58. Hvid-Jensen F, Pedersen L, Drewes AM, Sørensen HT, Funch-Jensen P. Incidence of adenocarcinoma among patients with Barrett's esophagus. *N Engl J Med* 2011; 365: 1375-83.
59. Brown LM, Devesa SS, Chow WH. Incidence of adenocarcinoma of the esophagus among white Americans by sex, stage, and age. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100: 1184-7
60. Kubo A, Corley DA. Marked multi-ethnic variation of esophageal and gastric cardia carcinomas within the United States. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 582-8.
61. Crabb DW, Berk MA, Hall TR, Conneally PM, Biegel AA, Lehman GA. Familial gastroesophageal reflux and development of Barrett's esophagus. *Ann Intern Med* 1985; 103: 52-4.
62. Poynton AR, Walsh TN, O'Sullivan G, Hennessy TP. Carcinoma arising in familial Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol* 1996; 91: 1855-6.

63. Chak A, Lee T, Kinnard MF, Brock W, Faulx A, Willis J, et al. Familial aggregation of Barrett's oesophagus, oesophageal adenocarcinoma, and oesophagogastric junctional adenocarcinoma in Caucasian adults. *Gut* 2002; 51: 323-8.
64. Orloff M, Peterson C, He X, Ganapathi S, Heald B, Yang YR, et al. Germline mutations in *MSR1*, *ASCC1*, and *CTHRC1* in patients with Barrett esophagus and esophageal adenocarcinoma. *JAMA* 2011; 306: 410-9
65. Merry AH, Schouten LJ, Goldbohm RA, van den Brandt PA. Body mass index, height and risk of adenocarcinoma of the oesophagus and gastric cardia: a prospective cohort study. *Gut* 2007; 56: 1503-11.
66. Hoyo C, Cook MB, Kamangar F, Freedman ND, Whiteman DC, Bernstein L, et al. Body mass index in relation to oesophageal and oesophagogastric junction adenocarcinomas: a pooled analysis from the International BEACON Consortium. *Int J Epidemiol* 2012; 41: 1706-18.
67. Duggan C, Onstad L, Hardikar S, Blount PL, Reid BJ, Vaughan TL. Association between markers of obesity and progression from Barrett's esophagus to esophageal adenocarcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013; 11: 934-43.
68. Nie S, Chen T, Yang X, Huai P, Lu M. Association of *Helicobacter pylori* infection with esophageal adenocarcinoma and squamous cell carcinoma: a meta-analysis. *Dis Esophagus* 2014; 27: 645-53.
69. Rokkas T, Pistoras D, Sechopoulos P. Relationship between *Helicobacter pylori* infection and esophageal neoplasia: a meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 1413-7
70. Wang C, Yuan Y, Hunt RH. *Helicobacter pylori* infection and Barrett's esophagus: a systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 492-500.
71. Coleman HG, Bhat S, Johnston BT, McManus D, Gavin AT, Murray LJ. Tobacco smoking increases the risk of high-grade dysplasia and cancer among patients with Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 2012; 142: 233-40.
72. Olliver JR, Hardie LJ, Gong Y, Dexter S, Chalmers D, Harris KM, et al. Risk factors, DNA damage, and disease progression in Barrett's esophagus. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 620-5.

73. El-Serag HB, Lagergren J. Alcohol drinking and the risk of Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma. *Gastroenterology* 2009; 136: 1155-7.
74. Kubo A, Corley DA, Jensen CD, Kaur R. Dietary factors and the risks of oesophageal adenocarcinoma and Barrett's oesophagus. *Nutr Res Rev* 2010; 23: 230-46
- 75 . Pandeya N, Williams G, Green AC, Webb PM, Whiteman DC. Alcohol consumption and the risks of adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the esophagus. *Gastroenterology* 2009; 136: 1215-24.
76. Sharp L, Carsin AE, Cantwell MM, Anderson LA, Murray LJ, FINBAR Study Group. Intakes of dietary folate and other B vitamins are associated with risks of esophageal adenocarcinoma, Barrett's esophagus, and reflux esophagitis. *J Nutr* 2013; 143: 1966-73.
77. O'Doherty MG, Cantwell MM, Murray LJ, Anderson LA, Abnet CC. Dietary fat and meat intakes and risk of reflux esophagitis, Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma. *Int J Cancer* 2011; 129: 1493-502.
78. Falk GW. Barrett's oesophagus: Frequency and prediction of dysplasia and cancer *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 2015; 29: 125-138
79. Desai TK, Krishnan K, Samala N, Singh J, Cluley J, Perla S, et al. The incidence of oesophageal adenocarcinoma in nondysplastic Barrett's oesophagus: a meta-analysis. *Gut* 2012; 61: 970-6.
80. Coleman HG, Bhat SK, Murray LJ, McManus DT, O'Neill OM, Gavin AT, et al. Symptoms and endoscopic features at Barrett's esophagus diagnosis: implications for neoplastic progression risk. *Am J Gastroenterol* 2014; 109: 527-34.
81. LiuW, Hahn H, Odze RD, Goyal RK. Metaplastic esophageal columnar epithelium without goblet cells shows DNA content abnormalities similar to goblet cell-containing epithelium. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 816-24.
82. Bandla S, Peters JH, Ruff D, Chen SM, Li CY, Song K, et al. Comparison of cancer associated genetic abnormalities in columnar-lined esophagus tissues with and without goblet cells. *Ann Surg* 2014; 260: 72-80
83. Sharma P, Falk GW, Weston AP, Reker D, Johnston M, Sampliner RE. Dysplasia and cancer in a large multicenter cohort of patients with Barrett's esophagus. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 566-72.

84. Altorki NK, Oliveria S, Schrump DS. Epidemiology and Molecular Biology of Barrett's Adenocarcinoma. *Seminars in Surgical Oncology* 1997; 13: 270–280.
85. Fitzgerald RC. Molecular basis of Barrett's oesophagus and oesophageal adenocarcinoma. *Gut* 2006; 55: 1810–1820.
86. Krishnadath KK, Tilanus HW, Blankenstein M, Hop WCJ, Teijgeman R, Mulder AH et al. Accumulation of Genetic Abnormalities during Neoplastic Progression in Barrett's Esophagus. *Cancer Research* 1995; 55: 1971–1976.
87. Wijnhoven BPL, Tilanus HW, Dinjens WNM. Molecular Biology of Barrett's Adenocarcinoma. *Annals Of Surgery* 2001; 233: 322–337.
88. Finley JC, Reid BJ, Odze RD, Sanchez CA, Galipeau P, Li X et al. Chromosomal Instability in Barrett's Esophagus Is Related to Telomere Shortening. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; 15(8): 1451–7.
89. Doak SH, Jenkins GJS, Parry EM, D'Souza FR, Griffiths AP, Toffazal N, et al. Chromosome 4 hyperploidy represents an early genetic aberration in premalignant Barrett's oesophagus. *Gut* 2003; 52: 623–628.
90. Eads CA, Lord RV, Kurumboor SK, Wickramasinghe K, Skinner ML, Long TI et al. Fields of Aberrant CpG Island Hypermethylation in Barrett's Esophagus and Associated Adenocarcinoma. *Cancer Research* 2000; 60: 5021–5026.
91. Vallböhmer D, Brabender J, Schneider PM, Schröder W, Hölscher AH. Epidemiology, Risk Factors, and Clinical Manifestations of Esophageal Cancer. *Shackelford's Surgery of the Alimentary Tract* Chapter 31, 375-381
92. Enzinger PC, Mayer RJ: Esophageal cancer. *N Engl J Med* 2003; 349:2241
93. De Silva N, Fitzgerald R. Barrett's oesophagus and oesophageal adenocarcinoma. *Medicine*, 2015-04-01; 43(4): 202-209
94. Dobrucalı A. Özefagus Hastalıkları. Yazarlar: Yazıcı H, Hamuryudan V, Sonsuz A. *Cerrahpaşa İç hastalıkları. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık, 2005; 742- 781.*
95. Labenz J, Koop H, Tannapfel A, Kiesslich R, Hölscher AH. The Epidemiology, Diagnosis, and Treatment of Barrett's Carcinoma. *Deutsches Ärzteblatt International Dtsch Arztebl Int* 2015; 112: 224–34

96. Hölscher AH, Bollschweiler E, Schröder W, Metzger R, Gutschow C, Drebber U. Prognostic impact of upper, middle and lower third mucosal or submucosal infiltration in early esophageal cancer. *Ann Surg* 2011; 254: 802–7
97. Koop H, Fuchs KH, Labenz J, et al. S2k Leitlinie. Gastroösophageale Refluxkrankheit. *Z Gastroenterol* 2014; 52: 1299–346.
98. Moehler M, Al-Batran SE, Andus T, et al. German S3-guideline Diagnosis and treatment of esophagogastric cancer. *Z Gastroenterol* 2011; 49: 461–531.
99. Kasper S, Schuler M. Targeted therapies in gastroesophageal cancer. *Eur J Cancer* 2014; 50: 1247–58.
100. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis A basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics. *Am J Physiol*, 1995; 269: 1295-1304.
101. Wyllie AH, Duvall E. Cell death. In: McGee JO'D, Issacson PGR, Wright N (eds). *Oxford Textbook of Patology*, vol 1. USA: Oxford University pres; 1992; 142-147.
102. Öktem S, Özhan MH, Özol D. Apoptozisin önemi. *Toraks Dergisi* 2001; 2: 91-95
103. Cooper GM. Programmed cell death. Cooper GM (ed) *The Cell*. Chapter 14. 592-96.
104. Perkins AS, Stern DF, Apoptozis. In: Devita VT, Hellman S, Rosenberg SA (eds). *Cancer Principle and Practice of Oncology*. Lippincott-Raven; 1997; 96-100.
105. Thompson CB. Apoptozis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 1995; 267: 1456-62.
106. Pole RJ, Qi BQ, Beasley SW. Patterns of apoptosis during degeneration of the pronephros and mesonephros. *J Urol* 2002; 167: 269-71.
107. Dhar P. Measuring tobacco smoke exposure: quantifying nicotine/cotinine concentration in biological samples by colorimetry, chromatography and immunoassay methods. *J Pharm Biomed Anal*. 2004; 35: 155–68.
108. Hirose Y, Yoshimi N, Suzui M, et al. Expression of bcl-2, bax, and bcl-XL proteins in azoxymethane-induced rat colonic adenocarcinomas. *Mol Carcinog* 1997; 19: 25-30.
109. Rodenburg RJT, Raats JMH, Pruijn GJM, van Venrooij WJ. Cell death: a trigger of autoimmunity? *Bioessays* 2000; 22: 627-36.35.
110. An in-depth information source about Barrett's esophagus. [online] 2007; [cited 2007 Nov]. Available from: URL : www.barrettsinfo.com

111. Sanders EJ, Torkkeli PH, French AS. Patterns of cell death during gastrulation in chick and mouse embryos. *Anat Embryol.* 1997; 195: 147-54.
112. Aral H. Apoptosis. *Sendrom* 1996; 33-7.
113. Afford S, Randhawa S. Apoptosis. *Mol Pathol* 2000; 53: 55-63.
114. Zhang HJ, Zhang Y. Caspases, apoptosis and aging. *Ageing Research Reviews*, 2003; 2: 357-366.
115. Petak I, Houghton JA, Kopper L. Molecular targeting of cell death signal transduction pathways in cancer. *Current Signal Transduction Therapy* 2006; 1: 113- 131.
116. Behnia M, Robertson KA, Martin WJ. Lung infections: role of apoptosis in host defense and pathogenesis of disease. *Chest* 2000; 117: 1771- 1777.
117. Gibson RM. Does apoptosis have a role in neurodegeneration? *BMJ*, 2001; 322(7301): 1539-40.
118. Jankowski JA, Wright NA, Meltzer SJ, Triadafilopoulos G, Geboes K, Casson AG. Molecular Evolution of the Metaplasia-Dysplasia-Adenocarcinoma Sequence in the Esophagus. *American Journal of Pathology* 1999; 154 (4): 965-973
119. Casson AG, Mukhopadhyay T, Cleary KR, Ro JY, Levin B, Roth JA. p53 Gene Mutations in Barrett's Epithelium and Esophageal Cancer. *Cancer Research* 1991; 5: 4495-4499.
120. Schneider PM, Casson AG, Levin B, Garewal HS, Hoelscher AH, Becker K et al. Mutations of p53 in Barrett's esophagus and Barrett's cancer: a prospective study of ninety-eight cases. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1996; 111(2): 323-31.
121. van der Woude CJ, Jansen PL, Tiebosch AT, Beuving A, Homan M, Kleibeuker JH, Moshage H. Expression of apoptosis-related proteins in Barrett's metaplasia-dysplasia carcinoma sequence: a switch to a more resistant phenotype. *Hum Pathol* 2002; 33: 686-92.
122. Wijnhoven BPL, Tilanus HW, Dinjens WNM. Molecular Biology of Barrett's Adenocarcinoma. *Annals Of Surgery* 2001; 233: 322-337.
123. Funkhouser EM, Sharp GB. Aspirin and reduced risk of esophageal carcinoma. *Cancer.* 1995; 76(7): 1116-9.
124. Ueno T, Toi M, Linder S. Detection Of Epithelial Cell Death In The Body By Cytokeratin 18 Measurement. *Biomed Pharmacother* 2005; 59 Suppl 2: 359-62.

125. Moll R, Franke WW, Schiller DL, Geiger B, Krepler R. The catalog of human cytokeratins: Patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell* 1982; 31: 11-24.
126. Sundstrom BE, Stigbrand TI. Cytokeratins and tissue polypeptide antigen. *Int J Biol Markers* 1994; 9: 102-8.
127. Starzinski-Powitz A, Gaetje R, Zeitvogel A, et al. Tracing cellular and molecular mechanisms involved in endometriosis. *Hum Reprod Update* 1998; 4: 724-9.
128. Quinlan RA, Schiller DL, Hatzfeld M, et al. Patterns of expression and organization of cytokeratin intermediate filaments. *Ann NY Acad Sci*, 1985; 455: 282-306.
129. Barak V, Goike H, Panaretakis WK, Einarsson R. Clinical utility of cytokeratins as tumor markers. *Clin Biochem*, 2004; 37: 529-540.
130. Ku NO, Omary MB. Effect of mutation and phosphorylation of type I keratins on their caspase-mediated degradation. *J Biol Chem* 2001; 276: 26792-8.
131. Dvorakova K, Payne C, Ramsey L. Apoptosis Resistance in Barrett's Esophagus: Ex vivo Bioassay of Live Stressed Tissues *American Journal of Gastroenterology* 2005; 100: 424-431
132. Fareed KR, Soomro IN. Caspase-cleaved cytokeratin-18 and tumour regression in gastro-oesophageal adenocarcinomas treated with neoadjuvant chemotherapy *World J Gastroenterol* 2012 April 28; 18(16): 1915-1920
133. Leist M, Single B, Castoldi Af, Kuhnle S, Nicotera P. Intracellular Adenosine Triphosphate(ATP) Concentration: A Switch In The Decision Between Apoptosis And Necrosis. *J Exp Med* 1997; 185: 1481-6.
134. Brandt D, Volkmann X Serum biomarkers of cell death for monitoring therapy response of gastrointestinal carcinomas *European Journal of Cancer* 2010; 46: 1464-1473
135. Ausch C, Ausch VB. Circulating Cytokeratin 18 Fragment M65-A Potential Marker of Malignancy in Colorectal Cancer Patients *J Gastrointest Surg* 2009; 13: 2020–2026
136. Greystoke A, Dean E. Multi-level evidence that circulating CK18 is a biomarker of tumour burden in colorectal cancer *British Journal of Cancer* 2012; 107: 1518–1524
137. Yaman E, Çoşkun U. Serum M30 levels are associated with survival in advanced gastric carcinoma patients *International Immunopharmacology* 2010; 10: 719–722

138. Oyama K, Fushida S. Serum cytokeratin 18 as a biomarker for gastric cancer *Clinical and Experimental Medicine* 2013; 13(4): 289-295

139. Bilici A, Ustalioglu BBO. Is there any impact of plasma M30 and M65 levels on progression-free survival of patients with advanced gastric cancer? *Cancer Chemother Pharmacol* 2011; 68: 309-316

140 . Bilici A, Ustalioglu BBO. The prognostic significance of the increase in the serum M30 and M65 values after chemotherapy and relationship between these values and clinicopathological factors in patients with advanced gastric cancer *Tumor Biology* 2012; 33: 2201–2208

141. Zhang Y. Epidemiology of esophageal cancer *World J Gastroenterol* 2013 September 14; 19(34): 5598-5606