

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**ÖZOFAGUS KANSERİNDE HUMAN PAPİLLOMA VİRÜS
ENFEKSİYONUNUN POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU TEKNİĞİ
İLE İNCELENMESİ**

Dr. Duriye Özer Türkay

Patoloji Anabilim Dalı

Uzmanlık Tezi

2013

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**ÖZEFAGUS KANSERİNDE HUMAN PAPİLLOMA VİRÜS
ENFEKSİYONUNUN POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU TEKNİĞİ
İLE İNCELENMESİ**

Dr. Duriye ÖZER TÜRKAY

Patoloji Anabilim Dalı

Uzmanlık Tezi

Tez Danışmanı

Yard. Doç. Dr. Çiğdem VURAL

Patoloji Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Cengiz ERÇİN

2013

Etik Kurul Onay Tarihi: 15.01.2013 Proje No:KOU KAEK2013/14

TEŞEKKÜR

İhtisas sürem boyunca benden bilgi-birikimlerini esirgemeyen ve eğitimimde büyük katkıda bulunan tez hocam sayın Yard. Doç. Dr. Çiğdem Vural'a, Anabilim Dalı başkanımız sayın hocam Prof.Dr. Cengiz Erçin'e ve sayın hocalarım Prof. Dr. Nadir Paksoy, Prof.Dr. Kürşat Yıldız, Prof.Dr. Sevgiye Kaçar Özkara ve Prof Dr. Bahar Müezzinoğlu' na,

Özellikle tez hazırlık aşamasındaki katkılarından dolayı sevgili hocam Prof.Dr.Yeşim Gürbüz'e

Her zaman birlikte çalışmaktan zevk aldığım ve ihtisas süremi birlikte geçirdiğim asistan arkadaşlarım ve ismini saymadığım tüm çalışma arkadaşlarıma,

Bu günlere gelmemde büyük emeği olan ve çocukları olmaktan gurur duyduğum sevgili anne ve babama,

Hayatımın her anında yanımda olan canım kardeşime,

Dostlarım Zilha ve Sinan Öztürk , Alev ve Engin Eceviz, Selin Alponat ve İrem Özöver Tuneli'ye,

Eşim ve yol arkadaşım, Mesut Türkay'a

SONSUZ TEŞEKKÜRLERİMİ SUNARIM.

Dr. Duriye Özer Türkay

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ	5
2. GENEL BİLGİLER	7
2.1. Özofagusun Embriyoloji, Anatomi ve Histolojisi	7
2.2. Özofagusun Malign Tümörleri	10
2.2.1. Yassı Epitel Hücreli Karsinom	15
2.2.3. Adenokarsinom	21
2.2.3. Diğer Malign Epitelyal Tümörler	25
2.3. Human Papilloma Virüs	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM	31
3.1. Hastalar	31
3.2. HPV-DNA izolasyonu	31
3.3. İstatistiksel analiz	32
4. BULGULAR	33
5. TARTIŞMA	39
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	45
7. ÖZET	47
8. ABSTRACT	48
9. KAYNAKLAR	49

TABLO DİZİNİ**SAYFALAR**

Tablo-2.1.: Özofagus Kanserlerinde Dünya Sağlık Örgütü 2010 Sınıflaması	11
Tablo-2.2.: Özofagus Tümörlerinde TNM Evrelemesi	14
Tablo-2.3.: Human Papilloma Virüs Tiplerinin Risk Gruplarına Göre Dağılımı	29
Tablo-4.1.: Özofagus Karsinomu Olgularının Histopatolojik Tanılarının Cinsiyete Göre Dağılımı	33
Tablo-4.2.: Özofagusun YEHK ve Adenokarsinomları ile Kontrol Grubunda HPV-DNA Varlığı	34
Tablo-4.3.: YEHK'larda HPV-DNA Durumu ile Klinikopatolojik Özellikler Arasındaki İlişki	37
Tablo-4.4.: Adenokarsinomlarda HPV-DNA Durumu ile Klinikopatolojik Veriler Arasındaki İlişki	38

ŞEKİL DİZİNİ	SAYFALAR
Şekil-2.1.: Özofagusun Histolojik Görünümü	8
Şekil-2.2.: Yassı Epitel Hücreli Karsinomanın “Japon Özofagus Kanser Topluluğu”nun Sınıflamasına göre Makroskopik Kasifikasyonu	16
Şekil-2.3.: HPV Enfeksiyonlarının Konak Hücrede Organizasyonu	28
Şekil-4.1.: Örnek 21 (YEHK) BLAST Analizi	35
Şekil-4.2.: Örnek 22 (YEHK) BLAST Analizi	35
Şekil-4.3.: Örnek 41 (Adenokarsinom) BLAST Analizi	36
Şekil-4.4.: Örnek 68 (Adenokarsinom) BLAST Analizi	36

SİMGELER VE KISALTMA DİZİNİ

AÖS	: Alt Özofagus Sfinkteri
BÖ	: Barrett Özofagus
ESCC	: Esophageal Squamous Cell Carcinoma
GÖB	: Gastroözofageal Bileşke
GÖRH	: Gastroözofageal Reflü Hastalığı
HPV	: Human Papilloma Virüs
LCR	: Long Control Region-Uzun Kontrol Bölgesi
NEC	: Nöroendokrin Karsinom
NET	: Nöroendokrin Tümör
YEH	: Yassı Epitel Hücresi
YEHK	:Yassı Epitel Hücreli Karsinom

1. GİRİŞ

Özofagus kanseri; geç belirti veren, hızla yayılan, kötü prognozlu bir hastalıktır (1, 2). Tüm kanser tipleri arasında %4,2 görülme sıklığı ile sekizinci sırada yer alır (1, 3-5). Özofagusun en sık görülen tümör tipi yassı epitel hücreli karsinom (YEHK) olup ikinci sıklıkta adenokarsinom görülmektedir (3, 6, 7). Bu iki tümör tipi özofagus kanserlerinin büyük kısmını oluşturur ve bunlar arasında belirgin epidemiyolojik / etiyolojik farklılıklar bulunmaktadır (3, 4, 8, 9). YEHK'lar Doğu ülkeleri ve gelişmekte olan ülkelerde daha sık görülürken, geçmiş yıllarda çok daha nadir görülen adenokarsinomların insidansı özellikle endüstrileşmiş batı ülkelerinde her yıl %5-10 oranında artmaktadır (4, 8). Ortalama 65 yaş civarında görülen bu tümörler adenokarsinomalarda belirgin olarak ortaya çıkan erkek baskınlığı gösterirler (8).

Özofagus kanseri coğrafi bölgelere göre çok farklı oranlarda görülebilmektedir (4, 9). Çin, Japonya, Kore, Hindistan, Singapur, Güney Afrika, Rusya, Türkmenistan ve İran dünyada sık görülen ülkeler arasındadır. Ülkemizde düşük-orta insidansa sahip olan özofagus kanseri, özellikle Doğu Anadolu'da daha sık görülmektedir. Yine ülkemizde en sık görülen histolojik alt tip YEHK olmakla birlikte sosyoekonomik düzeyin yükselmesiyle adenokarsinom oranında da son yıllarda artış görülmektedir (1, 10).

Özofagus karsinomlarının etiyolojisinde tütün ve alkol kullanımı, lokal çevresel ve gıdasal karsinojenler, vitamin ve mineral eksiklikleri, akalazya, tilozis, kostik darlıklar, çöliak hastalığı, Plummer-Vilson sendromu, gastroözofageal reflü (GÖR), Barrett özofagusu (BÖ) ve Human Papilloma Virüs (HPV) yer alır (6, 10). Dünya'nın pek çok yerinde HPV enfeksiyonu ile özofagus kanseri arasındaki ilişki belirlenmiş olmakla birlikte ülkemizde, özellikle de bölgemizde HPV enfeksiyonunun özofagus kanseri etiyolojisindeki rolü bilinmemektedir.

Bu çalışmanın amacı; bölgemizde özofagus kanserlerinde HPV-DNA varlığını saptamak, HPV-DNA izole edilen olgularda özellikle hangi tiplerin daha sık görüldüğünü belirlemek ve bunların klinikopatolojik verilerle ilişkisini değerlendirmektir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Özofagusun Embriyoloji, Anatomi ve Histolojisi

Özofagus, gestasyonun 22. gününde, trakea ile birlikte bir orta çizgi divertikülü olarak ilkel farinksin hemen kaudalindeki ön bağırsaktan gelişir ve 4. haftada özofagus, farinks ile mideyi birleştiren bir tüp şeklinde ortaya çıkar. Epitel çoğalarak, kısmen ya da tamamen lümeni tıkar; ancak normal olarak özofagusun yeniden kanalize olması embriyonel dönemin sonunda gerçekleşir (11).

Özofagus yukarıda C6 vertebra hizasında, farenksteki epiglotdan, aşağıda T11 ve T12 vertebralar hizasında gastroözofageal bileşkeye (GÖB) kadar uzanır (1).

Özofagusun uzunluğu, erkeklerde 40 cm (26-50 cm), kadınlarda 37 cm (22-41 cm)'dir. Çocuklarda özofagus uzunluğu boy/kilo'ya göre değişir. Özofagus dışlerden itibaren dört bölüme ayrılmıştır (4):

1. Servikal özofagus: Krikoid kartilaj ile toraks girişi arasındır (Dışlerden itibaren 15- 18. cm arası).

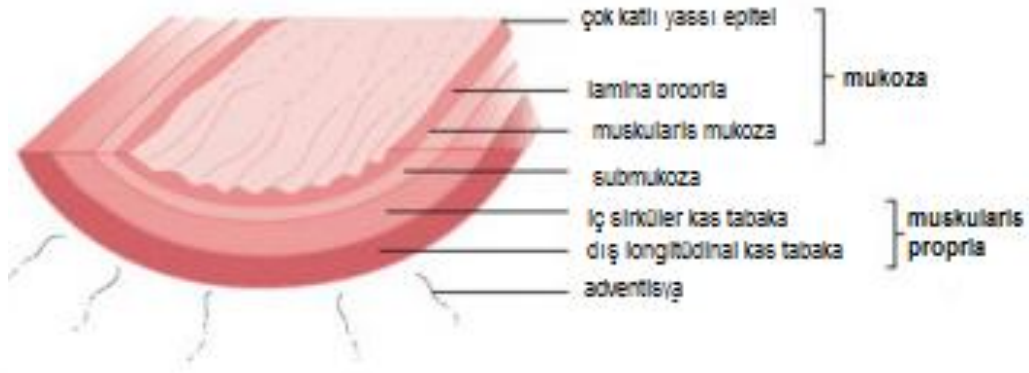
2. Üst torasik özofagus: Torasik giriş ile trakea bifurkasyonu arasındır (Dışlerden itibaren 18-24. cm arası).

3. Orta torasik özofagus: Trakea bifurkasyonu ile 8. torakal vertebra arasındır (Dışlerden itibaren 24-32. cm arası).

4. Alt torasik özofagus: 8. torakal vertebra ile GÖB arasındır (Dışlerden itibaren 32-40. cm arası).

Özofagus duvarı, sindirim kanalının genel yapısını yansıtabilecek şekilde mukoza, submukoza, muskularis propria ve adventisyadan oluşur (Şekil-2.1) (4).

Şekil-2.1.: Özofagusun Histolojik Görünümü



Özofagus mukozası; makroskopik olarak düzgün, parlak, pembe-ten rengi bir yüzeye sahiptir. Yüzeyde nonkeratinize çok katlı yassı epitel, altında lamina propria ve muskularis mukoza olmak üzere üç tabakadan oluşur. Normal özofagusta geniş sitoplazmalı ve veziküle çekirdekli ara tip skuamöz hücreler ve az sayıda piknotik çekirdekli, geniş sitoplazmalı yüzeyel tip skuamöz hücreler görülmektedir (4). Bazal tabaka, 1-4 sıra hücreden oluşmaktadır ve skuamöz epitel tabakasının toplam kalınlığının %10-%15'ini aşmaz (3, 4). Lamina propria; muskularis mukoza üzerinde bulunan, mukozanın epitel dışı (mezenkimal) bölümünü oluşturan, bağ dokusu, damar - sinir yapıları ve dağınık yangısal hücreler içeren, muskularis mukoza ise; boyuna uzanan kalın düz kas demetlerinden oluşan tabakadır (4).

Submukoza; kan damarları, çevre lenfatikler ve dağınık yangısal hücreler ile ilişkili lenfoid folliküller, sinir lifleri (Meissner pleksusu ve ganglion hücreleri) ve submukozal glandları içeren gevşek bağ dokusundan oluşmaktadır. Submukozal glandlar müsin sekresyonu ile özofagusun kayganlığını artırır ve biyolojik aktif peptitleri salgılayarak mukozal korumada ve tamirde rol oynarlar (1).

Muskularis propria; dışta longitudinal tabaka ve içte sirküler kas tabakasından oluşmaktadır. Bu iki tabaka arasında Aurbach pleksusu bulunur. Özofagus kaslarının iki orijini vardır. Özofagusun üst kısmı (1/3 üst kısım) çizgili kas içerir ve krikofaringeal kas hizasında proksimal özofagustaki 3 cm'lik segment "üst özofagus sfinkteri" olarak adlandırılır. Üst özofagus sfinkterinin en önemli görevi, özofagus

içeriğinin larinks ve ağız boşluğuna kaçmasını engelleyerek boğulma ve aspirasyonu önlemektir (3). Özofagusun orta kısmı karışık tipte kas tabakası (düz ve çizgili kas) içerir. Özofagusun alt 1/3 kısmı düz kas tabakası içerir. Diyafragma hizasında, anatomik GÖB'nin hemen proksimalinde 2-4 cm uzunluğundaki segment ise "alt özofagus sfinkteri" olarak isimlendirilir. Her iki sfinkter de fizyolojiktir, çünkü; özofagus kas tabakasında bu yüksek basınç bölgelerini belirleyen herhangi bir anatomik işaret yoktur (1, 4).

Genellikle gastrointestinal kanaldaki diğer organların yapısında bulunan seroza tabakası özofagusta yoktur. Bunun yerine gevşek bir bağ dokusu olan adventisya tabakası bulunur. Sadece intraabdominal özofagusun kısa bir segmenti seroza ile kaplıdır (1, 3, 4).

Özofagus boyun düzeyinde arteriyel kanı inferior tiroid arterden ve toraks içinde de doğrudan aortanın özofageal dallarından alır. Distal özofagus ise inferior frenik ve sol gastrik arter dallarından beslenir. Özofagusun venöz yapılanması, birçok kollateral ile birlikte arteriyel bağlantılara paralellik gösterir. Lenfatik kanallar longitudinal olarak özofagus duvarları içinde seyreder ve penetrasyonlar aracılığıyla çevre lenf nodüllerine erişir. Özofagusun farklı segmentleri farklı lenf bölgelerine drene olmaktadır. Üst 1/3 lenfatikleri servikal lenf nodüllerine, orta 1/3 lenfatikleri mediastinal lenf nodüllerine ve alt 1/3 lenfatikleri gastrik lenf nodüllerine drene olur. Bu nedenle özofagus tümörleri lokalizasyonuna göre farklı yerlere metastaz yapabilmektedir (11).

2.2. Özofagusun Malign Tümörleri

Özofagusun malign tümörleri, epitelyal (karsinom), mezenkimal (sarkom) ve karışık tipte olmak üzere 3'e ayrılır. Özofagusun tüm maligniteleri arasında en sık görülen tümörleri karsinomlardır (4, 12). Karsinomlar arasında da birinci sırada YEHK'lar, ikinci sırada adenokarsinomlar görülmektedir. Bu iki tümör tipi özofagus kanserlerinin büyük kısmını oluşturur (3, 4, 8, 9).

Dünya Sağlık Örgütü 2010 sınıflamasına göre özofagus kanserlerinin malign tümörlerinin sınıflaması Tablo-2.1 gösterilmiştir.

Tablo-2.1.: Özofagus Kanserlerinde Dünya Sağlık Örgütü 2010 Sınıflaması (8, 13)

Epitelyal tümörler
Premalign lezyonlar Displazi (İntraepitelyal Neoplazi), Düşük dereceli Displazi (İntraepitelyal Neoplazi), Yüksek dereceli Adenokarsinoma premalign lezyonları Displazi (İntraepitelyal Neoplazi), Düşük dereceli Displazi (İntraepitelyal Neoplazi), Yüksek dereceli
Karsinoma Yassı epitel hücreli karsinom Varyantları: Verrüköz karsinoma Bazaloid karsinoma İğsi hücreli karsinoma Adenokarsinoma Adenoskuamoz karsinoma Mukoepidermoid karsinoma Adenoid kistik karsinoma Andiferansiye karsinoma
Nöroendokrin neoplaziler Nöroendokrin tümör (NET) NET G1 (Karsinoid) NET G2 Nöroendokrin karsinoma (NEC) Büyük hücreli NEC Küçük hücreli NEC Mikst adenonöroendokrin karsinoma

Özofagusun malign tümörleri tüm dünyada kanser tipleri arasında %4,2 oranında görülür (5, 7, 8, 14, 15). Özofagus kanserlerinin insidansı ülkelere, hatta aynı ülkede farklı coğrafik yörelere göre değişiklik gösterir (5, 7, 10, 12, 14-18). Çin'de ülke genelinde özofagus kanserinin görülme insidansı yüksektir ve bazı eyaletlerde bu oran 3-4 kat daha fazladır. Özellikle yüksek riskli bölgelerde her 3-5 kişiden biri özofagus kanseri nedeni ile ölmektedir. Yüksek riskli Çin ile düşük riskli batı Afrika arasında görülme sıklığındaki fark 300 kata çıkabilmektedir. Batı ülkelerinde 20/100.000 iken Çin'in Hanan eyaletinde ise 160/100.000 oranında rastlanır. Çin'de ülkenin tamamı özellikle Linxien eyaleti, Güney Afrika'da Transkei, İran'da Gonbat, Golestan ve Hazar Denizi kıyıları, Japonya, Hindistan'da Bombay, Kazakistan, Türkmenistan, Kore, Singapur, Porto Riko, Sri Lanka ve Rodezya insidansın belirgin şekilde yüksek olduğu bölgelerdir (9, 10, 16, 19, 20).

Türkiye de ise özofagus kanserleri tüm kanserlerin %2'sini oluşturmakta ve özellikle Doğu Anadolu'da İpek Yolu olarak adlandırılan antik yol üzerindeki Erzurum, Van, Ağrı, Kars, Gümüşhane, Muş, Hakkari, Artvin, Erzincan ve Bitlis illerinde daha sık görülmektedir (10).

Dünyada ve ülkemizde özofagus kanseri histolojik alt tiplerin görülme sıklığı da ülkeler arasında farklılıklar göstermektedir. Özofagus YEHK'ları Asya'da sık iken, son elli yıldır adenokarsinom oranı batı ülkelerinde özellikle beyaz ırkta hızla artmaktadır (1, 3, 10, 16).

Özofagus karsinomlarının etiyolojisinde pek çok risk faktörü mevcuttur ve bunlar arasında en çok tütün ve alkol kullanımı suçlanmaktadır (9, 16, 19, 21). Özellikle YEHK sigara içenlerde 10-15 kat daha fazla görülmektedir. Diğer risk faktörleri arasında; beslenme ile ilgili faktörler [sıcak yiyecek ve içecekler, vitamin eksikliği (A, C, E, Riboflavin), benzopyrene, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, baharatlar, nitrozaminleri içeren küflenmiş ve salamura yiyecekler, unda bulunan yüksek konsantrasyondaki silika maddesi, çinkodan fakir diyet], radyasyon maruziyeti, genetik faktörler, fungal toksinler, toprakta bulunan nitrit ve nitratlar, mukozal irritasyon, geçirilmiş mide operasyonları ile bazı predispozan hastalıklar (akalazya, Plummer-Vinson sendromu, koroziv striktürler, tilozis, lökoplaki) suçlanmaktadır (1, 3, 9, 16). Ayrıca etiyolojik faktörler arasında bakteri, mantar ve

virüsler de sorumlu tutulmaktadır (15). Human papilloma virüs (HPV) ile özofagus kanserleri arasında farklı çalışmalarda değişen oranlarda (%0-67) ilişki saptanmıştır (15, 20, 22). Obezite, adenokarsinom için bir risk faktörüdür. Batı ülkelerinde adenokarsinom vakalarında hızlı artışın en önemli sebebinin obezite ve buna bağlı gastroözofageal reflü hastalığı (GÖRH) sonucu BÖ olduğu düşünülmektedir (23).

Özofagusun genişleme özelliği nedeniyle, tümörler lümeni belirgin olarak daraltıp, ileri boyutlara ulaşmasına kadar klinik bulgu vermez ve hastalar sıklıkla ilerlemiş hastalık evresinde disfaji, kilo kaybı, regürjitasyon, retrosternal veya epigastrik ağrı, kusma, gibi semptomlarla başvurur (1, 8, 24). Hastaların yarısına yakınında odinofaji bulunur. Regürjitasyon, retrosternal veya epigastrik ağrı ve aspirasyon pnömonisi olabilir. Lokal ilerlemiş hastalıklı olgularda hematemez, melena, trakeoözofageal fistül, hemoptizi ve ses kısıklığı oluşabilir (24).

Özofagus kanserinin tedavisinde tümörün lokalizasyonu, evresi, tümörlü segmentin uzunluğu, hastanın yaşı ve ek hastalıkları yöntem seçiminde rol oynamaktadır. En önemli tedavi seçeneği cerrahidir. Ancak tanı anında özofagus kanserlerinin sadece %20'si rezektabl'dır. Özofagus rezeksiyonu cerrahi morbiditesi ve mortalitesi yüksek bir yöntemdir. Radyoterapi, genellikle özofagusun üst 2/3'ünde görülen tümörlerde kullanılan tedavi seçeneğidir ve alt 1/3 lokalizasyonlu tümörlerde genel yaklaşım cerrahidir (3). Neoadjuvan kemoterapi ve radyoterapinin rezektabiliteyi ve yaşam süresini uzattığı savunulmaktadır (4, 25).

Özofagus kanserlerinde en önemli prognostik parametre tümör evresidir (Tablo-2.2.) (8, 13).

Tablo-2.2.: Özofagus Kanserlerinde TNM Evrelemesi

T-Primertümör Evre gruplaması					
Tx	Primertümör değerlendirilemiyor	Evre	T	N	M
T0	Primertümör için kanıt yok	0	Tis	N0	M0
Tis	Karsinoma in-situ/Yüksek dereceli displazi	IA	T1	N0	M0
T1	Tümör lamina propria, muskularis mukoza veya submukozayı infiltrate ediyor		T2	N0	M0
T1a	Tümör lamina propria veya muskularis mukoza infiltrate ediyor	IB			
T1b	Tümör submukozayı infiltrate ediyor	IIA	T3	N0	M0
T2	Tümör muskularis propriayı infiltrate ediyor	IIB	T1,T2	N1	M0
T3	Tümör adventisyayı infiltrate ediyor	IIIA	T4a	N0	M0
T4	Tümör komşu yapıları infiltrate ediyor	T3	N1	M0	
T4a	Tümör plevra, perikard veya diafragmayı infiltrate ediyor		T1, T2	N2	M0
T4b	Tümör vertebra, aorta veya trakea gibi komşu yapıları infiltrate ediyor				
N-Bölgesel lenf nodülleri					
Nx	Değerlendirilemiyor	IIIB	T3	N2	M0
N0	Lenf nodu metastazı yok	IIIC	T4a	N1,N2	M0
N1	1-2 bölgesel lenf nodu metastazı		T4b	Herhangi bir N	M0
N2	3-6 arası bölgesel lenf nodu metastazı		Herhangi bir T	N3	M0
N3	7 veya daha fazla bölgesel lenf nodu metastazı	IV	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1
M-Uzak metastaz					
Mx	Değerlendirilemiyor				
M0	Uzak metastaz yok				
M1	Uzak metastaz var				

.1

.2

.3

.4

.5 2.2.1. Yassı Epitel Hücreli Karsinom

YEHK, özofagusta en sık görülen karsinom tipi olup tüm özofagus kanserlerinin % 90'ından fazlasını oluşturur (8, 16, 26).

Ortalama görülme yaşı 50 olup 7. dekatta pik yapar (1, 4). Erkek/kadın oranı 2/1 ile 20/1 arasında değişir. Özofagus YEHK'u dünyanın her yerinde görülmekle birlikte sıklığı ülkeler arasında ve aynı ülkenin bölgeleri arasında farklılıklar gösterir (26, 27). Sıklığın yüksek olduğu bölgeler İran, Orta Çin, Güney Afrika ve Güney Brezilya'dır (20, 21). Bu bölgelerdeki prevalansı 100/100.000'dür ve görülme sıklığının fazla olduğu bölgelerde kanserden ölümlerin %20'sini oluşturmaktadır (16). Tüm dünyada beyazlara oranla siyah ırkta risk daha yüksektir (1).

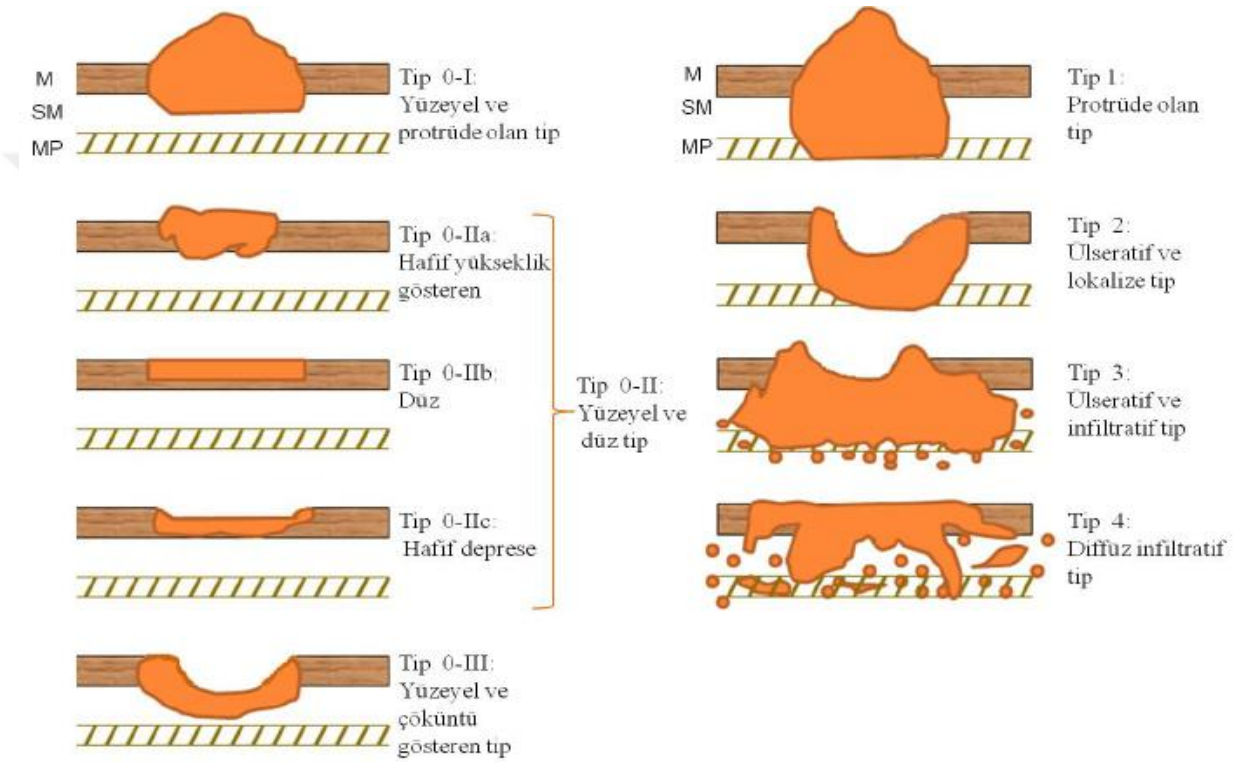
Tüm özofagus kanserlerinde olduğu gibi özofagus YEHK'larında da alkol ve sigara bilinen en önemli risk faktörüdür (1, 3, 4). Ayrıca HPV enfeksiyonunun da özofagus YEHK'larının etiolojisinde rol oynadığı kabul edilmektedir (18, 26).

Özofagusun YEHK'ları en sık (%50-60 oranında) özofagus 1/3 orta kısmında görülürken bunu %30 ile alt 1/3 ve %10-20 ile üst 1/3 kısmı takip eder. %7-28 oranında çok odaklı olabilir (4, 8). Makroskopik olarak YEHK'lar "Japon Özofagus Kanseri Topluluğu" nun sınıflamasına göre temel olarak yüzeysel (erken evre) ve ilerlemiş tümörler olmak üzere ikiye ayrılır. İnvazyonu mukoza ve submukozada sınırlı olan tümörler yüzeysel tip (0 tip), invazyonu muskularis propriaya ulaşmış veya aşmış olanlar ise ilerlemiş tip tümörler (Tip 1-5) olarak tanımlanır. Yüzeysel tip tümörler; tip 0-I: yüzeysel-lümeneye doğru gelişen, tip 0-II: yüzeysel-düz ve tip 0-III: yüzeysel-çökük tümörler şeklinde sınıflandırılır. İlerlemiş tümörler ise; tip 1: lümeneye doğru gelişen, tip 2: ülseratif-lokalize, tip 3: ülseratif-infiltratif, tip 4: diffüz-infiltratif, tip 5: sınıflandırılmayan şeklinde gruplandırılır (Şekil-2.2) (8, 13, 28).

Genel olarak ise özofagusun YEHK'ları makroskopik olarak; ülser, keskin sınırlı ve gri-beyaz kesit yüzüne sahiptirler. 5 cm ya da daha büyük boyutta olabilirler. %60 oranında ekzofitik ya da fungatif, %25 oranında ülser ve %15 oranında infiltratif büyüme paterni gösterirler (4). Çevre yumuşak dokulara invaze

görünümde olabildikleri gibi intalüminal büyüyen tümörler total obstrüksiyona sebep olabilirler. Distal özofagus lokalizasyonlu tümörlerde midede de invazyon görülebilir (8, 10, 13).

Şekil-2.2.: YEHK'nın "Japon Özofagus Kanser Topluluğu'nun Sınıflamasına göre Makroskopik Klasifikasyonu (8, 13, 28)



M:Mukoza, SM: Submukoza, MP: Muskularis propria.

Mikroskopik olarak; hücreler arası köprüleşmeler ve/veya tek hücre keratinizasyonu, keratin incileri şeklinde konsantrik keratinizasyon gösteren, yassı epitel hücresi (YEH) yönünde farklılaşma bulunduran malign epitelyal tümörlerdir.

YEH yönünde farklılaşma derecesine, nükleer atipi ve mitoz yoğunluğuna göre YEHK'lar iyi, orta, az diferansiye ve andiferansiye tümörler şeklinde histolojik olarak derecelendirilirler (8). Tümörlerin büyük kısmı iyi-orta derecede diferansiye tümörler grubunda yer alır (3, 8). İyi diferansiye tümörlerde yaygın hücreler arası köprüleşmeler, keratin incileri izlenirken, diferansiyasyon azaldıkça hücrelerde pleomorfizm ve atipi bulguları şiddetlenir ve keratinizasyon kaybı, hücreler arası köprüleşmelerde azalma görülür. İyi diferansiye tümörler geniş-eozinofilik sitoplazmalı, poligonal, epitelooid hücrelerden oluşan adalardan meydana gelir. (3, 4). Özofagusun YEHK'larının yaklaşık olarak 1/3'ü orta derece diferansiye tümörlerdir ve büyük oranda primitif, bazaloid hücrelerden oluşan irregüler adalar ve trabeküller meydana getiren, fokal keratinizasyonun izlendiği bir morfolojiye sahiptirler. Az diferansiye tümörler ise; bizar, pleomorfik hücrelerin de izlendiği büyük solid tabakalardan ya da tek hücrelerden oluşan keratinizasyonun görülmediği tümörlerdir. %20 olguda fokal glandüler ya da müsinöz, nadiren fokal nöroendokrin veya küçük hücreli diferansiyasyon görülebilir (4). Andiferansiye karsinomada ise yassı epitel hücresi yönünde farklılaşma görülmez; ayırıcı tanı zorluğu yaşanan bu grupta immünohistokimyasal inceleme yardımcı olabilir (8).

Özofagus YEHK'ları ve normal özofagus mukozası keratin ile immünreaktivite gösterir. Sitokeratin13, Sitokeratin14, Sitokeratin18 ve Sitokeratin19 pozitifliği yanı sıra tümör hücrelerinde p63 immünreaktivitesi de görülmektedir (4). Bazı tümörlerde nörofilamentlerde fokal vimentin pozitifliği de mevcuttur (3).

YEHK'ların bazı histolojik varyantları mevcuttur;

1- Bazaloid tip YEHK: Tanı sırasında genellikle ileri evrede olan bu tümörler, lenf düğümü metastazı ve hematojen metastazlar gösteren büyük kitleler oluştururlar (8). Gerçek insidansı net olarak bilinmemekle birlikte YEHK'ların %1-11'ini oluşturmaktadırlar (4). Genellikle orta ve distal özofagus yerleşimlidirler (4). Makroskopik olarak büyük, fungatif büyüyen sıklıkla ülser olan bu tümörler mikroskopik olarak; sıkıca bir araya gelmiş, hiperkromatik çekirdekli, dar bazofilik sitoplazmalı hücrelerin oluşturduğu solid adalar, adalar çevresindeki hücrelerde çit şeklinde dizilenim, küçük bez benzeri boşluklar ve komedo nekrozla karakterlidir. Komşuluğunda sıklıkla yassı epitel hücre displazisi, karsinoma in-situ veya klasik

YEHK alanları bulunur (4, 8). Ayırıcı tanıda pür YEHK, adenoid kistik karsinom ve nöroendokrin karsinom akla gelmelidir. Oldukça agresif seyirli olan bu varyantın prognozu klasik YEHK'a göre daha kötüdür (4, 13).

2- Karsinosarkom: İlk olarak 1865 yılında Virchow tarafından tanımlanan bu tümör özofagus tümörlerinin yaklaşık olarak %2'sini oluşturmaktadır. Erkeklerde daha sık görülmektedir. Genellikle orta ve distal özofagus yerleşimlidir. Makroskopik olarak değişen boyutlarda (1-25cm) polipoid kitle oluşturan tümörler mikroskopik olarak; invaziv YEHK veya karsinoma in-situ şeklinde izlenen epitelyal hücrelere, değişken oranda sarkomatoid iğsi hücrelerin eşlik ettiği, bu iki komponent arasında geçişlerin izlendiği seyrek bir varyanttır. İğsi hücreli alanlarda; kemik, kırık yapıyı, çizgili kas gibi mezanşimal yönde farklılaşma görülebilir. Karsinosarkomlar çok agresif gidişli tümörlerdir ve 5 yıllık sağ kalım % 10-15 oranındadır (4, 13).

3- Verrüköz karsinom: Özofagusun oldukça nadir görülen düşük dereceli malign tümörüdür. Ekzofitik papiller bir büyüme paternine sahip bu tümörlerin boyutları genellikle 3 cm'nin üzerindedir. Mikroskopik olarak karakteristik görüntüsü akantoliz, hiperkeratoz ve inflamasyonun eşlik ettiği minimal sitolojik atipi içeren YEH'lerinden oluşan verrüköz ya da papillomatöz proliferasyon şeklindedir. Benign skuamöz papillomdan ayırt edilmelidir. Prognozu iyi olan bu tümörlerde, lenf nodu metastazı nadiren görülebilmekle birlikte uzak metastaz bildirilmemiştir (4, 13).

4- Lenfoepitelyoma benzeri karsinom: YEHK'un seyrek görülen bir tipidir. Bu tümörlerde %3 oranında EBV-DNA saptanmıştır. Histolojik olarak az diferansiye tümörler olup, sıklıkla lenfositik infiltrasyon eşlik eder.

Stromada bulunan yoğun iltihap hücreleri; lenfosit, plazma hücresi, nötrofil ve eozinofillerdir. Lenfositler genelde T hücre karakterinde olup, bu hücreler tümör adacıklarını kuşatacak şekilde yer alırlar. Klasik YEHK'lara göre daha kötü prognozludurlar (4, 13).

YEHK'a Öncülük Eden Lezyonlar:

1- Kronik özofajit: Uzun süreli karsinogene maruz kalma sonucu yaygın olarak görülen kronik özofajit, epitel hücre çoğalmasını arttıran, displaziye ve sonunda karsinoma ilerleyen bir antitedir. Yangı karsinogene maruziyet dışında GÖR, koroziv maddelerin sindirimi sonucu yaralanmalar, iritan yiyecekler, motilite bozuklukları, anatomik anomaliler (diafragma hernisi, infekte divertikül) ve skleroterapi gibi değişik nedenlere bağlı da oluşabilir (1, 8).

2- Displazi (intraepitelyal neoplazi) ve in-situ karsinom: Özofagusun YEHK'larının da deri ve serviksin YEHK'larında olduğu gibi prekanseröz ya da displastik öncü bir lezyondan geliştiğine inanılmaktadır. Displazi sıklıkla çok odaklıdır ve invaziv karsinomların rezeksiyon materyallerinde tümör dışı çevre mukozada değişen derece ve oranlarda displazi saptanmıştır. Ağır displazi ve in-situ karsinomu genellikle invaziv karsinom gelişimi izler (4). Çalışmalarda ağır YEH displazisi olan %25'den fazla vakanın ve in-situ karsinomların invaziv hale geçme süresi ortalama üç ila beş yıl olarak bildirilmektedir (8). Displazi genellikle özofagus orta/alt kısmını tutar. Sınırlı küçük bir lezyon şeklinde olabileceği gibi, %80 oranında sınırları belirsiz frajil, irregüler ve eritematöz bir lezyon olarak görülür. Bazen de makroskopik olarak çok hafif bir mukozal çöküntü dışında bulgu oluşturmaz ve mukoza Lugol solusyonu ile boyanarak, boya almayan displastik odaklar tesbit edilebilir. Histolojik incelemede; epitelde organizasyon ve polarite kaybı gibi yapısal bozuklukların yanı sıra, hücrelerde düzensiz, hiperkromatik çekirdek, çekirdek / sitoplazma oranında artış, pleomorfizm, kromatin kabalaşması ve artmış mitotik aktivite gibi sitolojik değişiklikler görülür. Displazi; düşük ve yüksek dereceli displazi olarak sınıflandırılmaktadır. Düşük dereceli displazide yukarıda tanımlanan hücresel ve yapısal değişiklikler epitel kalınlığının alt ½'sinde sınırlı kalırken, yüksek dereceli displazide bu değişiklikler epitelin üst ½'sinde de görülür. Bu değişikliklerin tüm epitel kalınlığı boyunca izlendiği durumda, yüksek dereceli displazi yerine "yassı epitel hücreli karsinoma in-situ" terimi kullanılır (4, 8, 13).

Özofagus YEHK'larında tümör supressör genlerinde ve hücre adezyon moleküllerinde somatik mutasyonlar ve onkogenlerde epigenetik değişiklikler görülür. Bu tümörün genetik patogenezinde özellikle p53 gen mutasyonu suçlanmaktadır. P16INK4'de mutasyon, Cyclin D1, c-MYC, EGFR amplikasyonu gibi diğer değişiklikler de bu kanserlerde yaygındır (1, 3, 29).

Özofagus YEHK, başlangıç noktasından çevreye bütün doğrultularda penetrasyon ve infiltrasyon yolu ile yayılır. Özofagusun seroza tabakası olmaması tümörün çevre dokulara yayılımını kolaylaştırır; bu sebeple düz kas tabakası daha kolay dilate olduğundan disfaji hastalığının doğal seyri içinde daha geç dönemlerde ortaya çıkar ve disfaji ortaya çıktığında, özofagus lümeninin %60'tan fazlasının tümör ile infiltrasyonu mevcuttur. İnvazyonun submukozada sınırlı olduğu tümörlerde 5 yıllık sağ kalım oranı %70 iken, muskularis propria invazyonu gösterenlerde bu oran %40-50 olup adventisya invazyonu olanlarda ise %25-30'lara düşer (8). Özofagusun mukozal ve submukozal yoğun bir lenfatik ağı mevcut olup, karsinom bu yüzden lenf düğümlerine de kolaylıkla ulaşabilir. Plevra, trakea, ana bronşlar, perikard, büyük damarlar, duktus torasikus ve vertebrayı komşuluk yoluyla invaze eder. Tümör üst özofagus yerleşimli ise nervus rekürrense, alt özofagus yerleşimli ise diafragma, mide ve karaciğere invaze olabilir. Uzak metastazı en sık karaciğer ve akciğere yapar (30).

Özofagus YEHK'larında prognoz oldukça kötüdür. Ortalama yaşam oranı bir yıldan azdır (3). Özofajektomili hastalarda ortalama 5 yıllık sağ kalım oranı %30-40'tır. YEHK'larda prognostik faktörler;

- 1- Klinik evre: En önemli prognostik faktördür (4). TNM sisteminde evre I tümörlerin daha iyi prognoz gösterdikleri bildirilmektedir. Bu hastalarda beş yıllık sağ kalım süresi %75 oranındadır (3).
- 2- Cinsiyet: Erkeklerde yaşam süresinin kadınlara oranla daha kısa olduğu bildirilmektedir (3).
- 3- Lokalizasyon: Üst-orta lokalizasyondaki tümörler daha agresif seyreder (8).
- 4- Lenf düğümü tutulumu: Lenf düğümü metastazı oldukça önemli bir

prognostik parametredir. Lenf düğümü metastazı olmayan vakalarda beş yıllık yaşam süresi %60-70 iken, metastaz olan vakalarda bu oran %10 civarındadır (8).

5- İnvazyon derinliği: Tümörün mukozaya sınırlı olduğu durumlarda lenf düğümü metastazı oranı %20 iken, submukozaya invazyon olduğunda bu oran %50'ye ulaşmaktadır.

6- Histolojik derece ve histolojik varyantların varlığı.

7- Diğer mikroskopik bulgular: Lenfatik damar invazyonu ve tümör nekrozu kötü prognoz ile ilişkilendirilirken tümöre lenfositik yanıt ve peritümöral fibrozis iyi prognoz göstergesi olarak kabul edilmiştir (3).

8- Cerrahi sınırlar: Lokal nüks açısından cerrahi sınırların durumu oldukça önemlidir. Cerrahi sınırdaki tümör varlığının, tümörün erken dönemde nükse neden olduğu bildirilmektedir.

9- DNA polipoidisi ve proliferasyon indeksi.

10- EGFR: EGFR'nin overekspresyonu bazı çalışmalarda kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir. Tümörün EGFR ve TGF- α 'yı birlikte eksprese etmesi agresif gidişin göstergesidir.

11- P53: Overekspresyonu ya da mutant p53 varlığı kötü prognoz göstergesi olarak kabul edilmektedir.

12- Tedaviye yanıt.

.6 2.2.3. Adenokarsinom

Özofagus adenokarsinomaları; %95'ten fazlası Barrett özofagusu (BÖ) ile ilişkili, sıklıkla özofagus alt 1/3'ünde yerleşen ve bez epiteli yönünde farklılaşma gösteren malign epitelyal tümörlerdir (4, 8, 31). Nadiren üst özofagus mukozasındaki

heterotopik gastrik mukozadan, mukozal, submukozal bezlerden ve trakeobronşial kalıntılardan gelişebilir (4).

Özofagusta adenokarsinomlar; BÖ ile ilişkili ve BÖ ile ilişkili olmayan adenokarsinomlar olarak iki gruba ayrılabilir (4, 8).

Son yıllarda özofagus adenokarsinomlarındaki artış oldukça dikkat çekicidir. Amerika Birleşik Devletleri'nde tanı almış tüm özofagus tümörlerinin yaklaşık %50'sini BÖ ile ilişkili adenokarsinomlar oluşturmaktadır. %80'den fazlası beyaz ırkta görülmekte olup ortalama yaş 60'tır ve kadın/erkek oranı 1/3-1/7 arasında değişmektedir (4, 13).

Özofagusun adenokarsinomları için en önemli risk faktörü olan BÖ'nun GÖRH olan bireylerde %6-12 oranında görüldüğü ve BÖ zemininden %5-28 oranında adenokarsinom geliştiği gösterilmiştir (4). Endüstrileşmiş ülkelerde batı tipi diyetle beslenmenin yol açtığı GÖRH sıklığındaki artışa paralel olarak özofagus adenokarsinomlarında görülme sıklığı artmaktadır. ABD'de 1975 yılından bu yana özofagus adenokarsinom insidansının %350-600 oranında arttığı bildirilmektedir (31, 32). Adenokarsinomlar için diğer risk faktörleri; obezite ve sigara kullanımındadır (1). Ayrıca HPV enfeksiyonunun hem BÖ hem de adenokarsinom için risk faktörü olduğunu belirten yayınlar mevcuttur (33-36).

Özofageal adenokarsinomlar sıklıkla distal özofagus ve GÖB'yi tutarlar (1, 4, 32, 37).

Erken evrede makroskopik olarak belirgin bir bulgu oluşturmayabilir veya düzensiz mukozal kabarıklık, küçük plak benzeri kalınlaşma şeklinde izlenebilir.

Tanı sırasında tümörler genellikle özofagus duvarında derine infiltre olmuştur. Ülseratif ve daha az sıklıkta da polipoid lezyonlar oluşturur. BÖ ile ilişkili olan adenokarsinomlar daima 1/3 distal özofagus yerleşimlidir ve polipoid (%5-10), flat (%10-15), fungatif (%20-25) ve infiltratif (%40-50) lezyolar olarak sınıflandırılabilirler (4, 8).

Özofagus adenokarsinomları sıklıkla müsin üreten glandüler tümörlerdir (1).

Bez epiteli yönünde farklılaşmanın çok seyrek olarak izlendiği, taşlı yüzük görüntüsünde hücrelerden oluşan diffüz infiltratif tip veya az diferansiye küçük hücreli tipte tümörler de görülebilir (1, 4). Histolojik dereceleme bez yönünde farklılaşma derecesine göre yapılır. Tümörde bez yapılarının oranı > %95 ise iyi diferansiye, %50-95 arasında ise orta derecede diferansiye ve %5-49 arasında ise az diferansiye olarak derecelendirilir. Bazen aynı tümörde farklı diferansiyasyon dereceleri bir arada izlenebilir. Bu durumda en yüksek olan derece tümörün diferansiyasyon derecesi olarak kabul edilmelidir (3, 4, 13).

Tümör hücrelerinde D-PAS, PAS-AB ve müsin ile pozitiflik görülebilir. Yaklaşık olarak %70-90 oranında Sitokeratin7 ile pozitif, Sitokeratin20 ile negatif reaksiyon vermektedir. CDX2 %34-70 oranında pozitif reaksiyon veren diğer bir antikordur. Özofageal adenokarsinomlar ile midenin distal tümörlerinin ayırıcı tanısı oldukça güçtür ve immunhistokimyasal çalışmalar da bu ayırıcı yardımcı değildir (3).

Genellikle BÖ ile ilişkili adenokarsinomlarda moleküler çalışmalar yapılmış olup p16, p27, p53 ve adenomatöz polipozis koli (APC) tümör supressör genlerinde inaktivasyon, cyclinD1 overekspresyonu ya da EGFR ve ERBB2 amplikasyonu izlenmektedir (4).

Adenokarsinomalar ilk olarak özofagus duvarında lokal yayılım gösterir ve tanı aldıklarında büyük kısmı muskularis propria veya daha derine invaze olmuş ileri evre tümörler şeklinde izlenir. Mideye distal yayılım da görülebilir. YEHK'da olduğu gibi mukoza ve submukozada sınırlı tümörler “yüzeyel adenokarsinoma” olarak isimlendirilir (4, 8).

Bölgesel lenf nodüllerine metastaz (periözofageal/perigastrik/çölyak) % 50-60 oranında görülür. Uzak metastazlar geç dönemde gelişir ve karaciğer, akciğer ve diğer gastrointestinal organlara izlenir. Bu tümörlerde özellikle submukozal lenfatikler boyunca yukarı yayılım çok sık olarak görülür, bu nedenle özofagus proksimal cerrahi sınırının intraoperatif frozen inceleme ile değerlendirilmesi önemlidir. Özofageal YEHK için kullanılan TNM evreleme sistemi adenokarsinomalarda da kullanılır. Distal yerleşimli özofagus kanserleri kardiya

veya kardial kanserleri sıklıkla özofagusla yayılabildiğinden, GÖB'yi tutan adenokarsinomlar, "GÖB adenokarsinomları" adı altında ayrı bir grup olarak ele alınır (8, 38). 2010'da yayınlanan 7. AJCC *Cancer Staging Manual* evrelemesine göre GÖB adenokarsinomlarında tümörün merkezi GÖB'den itibaren 5cm'lik aralık içindeyse ve tümör özofagusla uzanım gösteriyorsa özofagus kanseri gibi evreleme yapılır. Tümör merkezinin GÖB'den uzaklığı 5cm'den fazla ise veya 5cm'lik uzaklık içerisinde kalıyor, ancak özofagusla uzanım göstermiyor ise mide kanseri gibi evreleme yapılır. GÖB adenokarsinomları Siewert sınıflamasına göre 3'e ayrılır: Tip I: merkezi GÖB'nin 1-5 cm. üzerinde olan distal özofagus tümörleri, Tip II: merkezi GÖB'nin 1 cm. üzeri ve 2 cm. altı arasında kalan kardialın gerçek karsinomları, Tip III: merkezi GÖB'nin 2-5 cm. altında olan subkardial karsinomlar. Ayrıca YEHK'da olduğu gibi tümör yaygınlığının belirlendiği normal anatomik evreleme yanısıra, histolojik derecenin de kriter olarak alındığı prognostik evreleme yapılır (8, 38-42).

Özofagus adenokarsinomlarında da en önemli prognostik faktör TNM klinik evresidir. Mukoza ve submukozada sınırlı tümörlerde 5 yıllık sağ kalım oranı % 80-100 iken, muskularis propria veya daha derine invazyon gösteren olgularda bu oran % 10-20'ye düşer. Metastatik lenf düğümü sayısı ve lenf nodüllerinde kapsül dışına tümör invazyonu da prognozla ilişkili faktörlerdir. Bu tümörlerde de YEHK'ya benzer şekilde anatomik evreleme yanısıra tümör histolojik derecesinin de değerlendirmeye alındığı prognostik gruplama önerilmektedir (4, 8).

2.2.3. Diğer Malign Epitelyal Tümörler

- .1.1 Mukoepidermoid Karsinoma:** Histolojik olarak solid adalar oluşturan yassı epitel hücreleri, bez yapıları oluşturan veya taşlı yüzük hücresi şeklinde izlenen mukus salgılayan hücreler ve bunlar arasında histolojik özellikler gösteren `intermediate` (geçiş) hücrelerle karakterlidir. Çok seyrek görülen bu tümörlerin özofageal submukozal bezlerden köken aldığı düşünülmektedir. Bu tümörler oldukça kötü prognozludur (8).
- .1.2 Adenoskuamöz Karsinoma:** Seyrek görülen, mikroskopik incelemede YEHK ve adenokarsinoma alanlarının bir arada bulunduğu ve geçişler gösterdiği, agresif seyreden tümörlerdir. Bu tümörler düşük dereceli mukoepidermoid karsinomdan ayırt edilmelidir (4).
- .1.3 Adenoid Kistik Karsinoma:** Sıklıkla özofagus orta kısmında yerleşim gösteren bu tümörler makroskopik olarak submukozada solid nodüller oluşturur (4) ve mikroskopik incelemede epitelyal ve myoepitelyal hücrelerin oluşturduğu, lümeninde eozinofilik bazal membran materyali bulunduran tübüler ve kribriform yapılar ile karakterlidir (8). Sağ kalımın kısa olduğu agresif tümörlerdir (34).
- .1.4 Nöroendokrin Neoplaziler:** Özofageal nöroendokrin neoplaziler tüm gastrointestinal nöroendokrin neoplazilerin % 0,05'ini oluşturur ve genellikle 6-7. dekad erkeklerde görülür. BÖ birlikteliği görülebilir (8). Nöroendokrin karsinoma (NEC) ve mikst adenonöroendokrin karsinoma (MANEC) en sık görülen grubu oluşturur. Nöroendokrin tümör (NET)'ler sıklıkla klinik bulgu vermez ve tesadüfen saptanır. NEC ve MANEC olguları ise tanı alındığında genellikle ileri evrededir ve disfaji, GÖRH, kilo kaybı, hematemez gibi bulgularla başvurur (36).

Makroskopik olarak NET'ler küçük, polipoid, nadiren ülseratif lezyonlar şeklinde izlenir ve BÖ, adenokarsinoma birlikteliği sık olarak görülür. NEC ve MANEC ise çapı 4-10 cm arasında değişen, eksofitik veya ülseratif büyük kitleler

oluşturur ve özofagus duvarında hızla derine infiltre olur (36).

Özofagusta izlenen NEC'ların büyük kısmı büyük hücrelidir. MANEC'lar endokrin komponent olarak en sık NEC, nadiren NET; ekzokrin komponent olarak ise adenokarsinoma veya nadiren YEHK'nın izlendiği komposit tümörler şeklindedir (8).

2.3. Human Papilloma Virüs

Human papilloma virüs (HPV); dünya genelinde hem erkek, hem de kadında en sık cinsel temasla bulaşan ajanlardandır (43). Bildirimi zorunlu olmadığı için gerçek insidans ve prevalansı bilinmemektedir. Buna karşılık yıllık yeni enfeksiyon insidansı 1-5.5 milyon, prevalansı da 20 milyon olarak tahmin edilmektedir (43, 44). Servikal kanser için HPV önemli bir etken olmaya devam etmekte ve enfeksiyon sıklığı hızla artmaktadır. Servikal kanser-HPV ilişkisi ilk olarak 1976 yılında Alman virologist Herold Zun Hausen tarafından tanımlanmış (45) olup günümüzde HPV'nin serviksin YEHK'u ile birlikteliğinin %99.7 olduğu bildirilmektedir (46, 47).

HPV, Papovaviridae olarak bilinen geniş bir ailenin üyesidir (32). Bu aile diğer onkojenik DNA virüsü olan simian virüs40 (SV40) ve polyoma virüsü içerir. Bu gruptaki virüslerin hepsi DNA tümör virüsleridir. DNA baz çifti sekansları ve kapsül antijenleri benzer olmamasına rağmen benzer mekanizmalarla neoplazm oluşmasına neden olurlar.

Papilloma virüsler sıkı sarmallanmış, yaklaşık 8000 baz çifti uzunluğunda (8kb) çift sarmal DNA molekülü içerirler (45, 48, 49). HPV enfekte hücrenin çekirdeğinin epizomunda replike olur. Tam virion merkezde DNA çekirdeği ve çevresinde 45-55 nm çapında protein kapsidden oluşur. Kapsid ikozahedral şekildedir. Papillomavirüsler tüm hayvanlar aleminde bulunan virüslerdir ve sadece insanları değil sığırları, tavşanları, köpekleri, geyikleri, maymunları ve kuşları da enfekte eder. Virüsler yüksek oranda tür spesifiktir. Türler arasında ortaya çıkan çapraz enfeksiyonlar bildirilmemiştir (50). İnsanları enfekte eden ve yüzey antijenlerine göre sınıflandırılan birçok virüsün aksine papillomavirüsler DNA baz çifti

sekanslarına göre sınıflandırılırlar. Viral genomda erken (E1-E7) ve geç (L1-L2) proteinleri kodlayan bölgeler (ORF) bulunur. Bu proteinler genom organizasyonu, gen ekspresyonunun düzenlenmesi ve hücresel taşınmada rol oynamaktadırlar. Ayrıca viral genomda replikasyonun köken aldığı üçüncü bölge kodlama yapmayan LCR (Long Control Region-uzun kontrol bölgesi) bulunmaktadır. LCR bölgesi ise viral transkripsiyon ve replikasyondan sorumludur. Bu bölge üzerinde, virüse ve hücreye ait transkripsiyon ve replikasyonu düzenleyici proteinlerin bağlandığı nükleik asit bölgeleri bulunmaktadır.

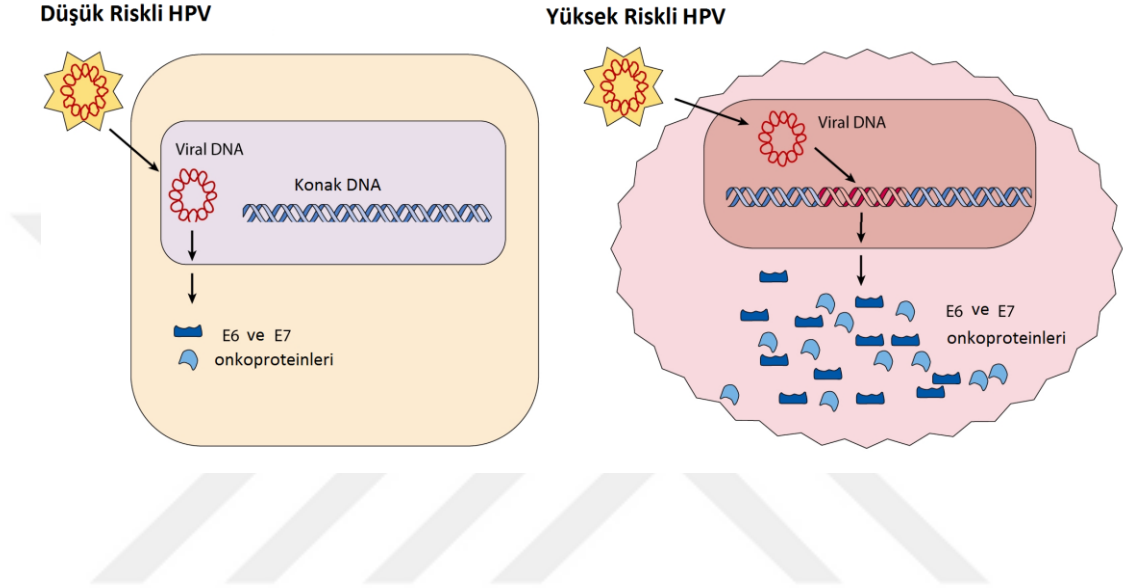
Hayvanlarda Papillomavirüsler sadece epitelial hücreleri ve fibroblastları enfekte edebilmelerine rağmen, insan papillomavirüsleri sadece epiteliotropik organizmalardır ve epitelin hasarına bağlı sekonder etki olarak destek yapılarında değişiklikler oluştururlar. HPV deri ve mukozayı da içeren tüm epitelial yüzeyleri enfekte eder.

Bulaşma direkt temas ya da cinsel yolla olmaktadır. Virus insanda primer olarak YEH'leri ve mukozayı enfekte etmekte; deri ve mukozalarda bazal tabakalardan başlayarak çeşitli lezyonlar oluşturmaktadır (45). Yeni ortaya çıkarılan HPV tiplerinin birçoğu kadın ve erkek anogenital bölgesinde servikal kanser ve kanser prekürsörleri ile ilişkilidir (49).

Bazal keratinositleri hedef alan viral infeksiyonlardaki replikasyon zincirinde, viral proteinlerin yüksek derecede ekspresyonu ve viral yük, skuamöz epitelin stratum granulozumunda ve stratum spinozumun farklılaşan keratinositlerinde ortaya çıkmaktadır. HPV'ler epitel hücrelerinin farklılaşmalarını replikasyonları için kullanırlar. İnfeksiyon bazal tabakadaki kök hücrede başlar ve epizomal DNA replikasyonu olur. Viral çoğalma ile birlikte, bazal tabaka dışındaki bütün epidermal tabakalarda aşırı bir proliferasyon ve sonuçta akantoz, parakeratoz ve hiperkeratoz ortaya çıkmaktadır. E1, E2, E6, E7 proteinlerinin etkisiyle hücre bölünmesi vertikal biçimde ilerler; hücrelerin farklılaşması ve siklusun durması gecikir; hücreler replikasyonu olmayan keratinositlere dönüştüğünden, virüs yapısal proteinleri (L1, L2) sentezlenir. Düşük riskli HPV lezyonlarında viral DNA enfekte hücrenin çekirdeğinde, ancak kromozomun dışında, yani epizomal olarak bulunmaktadır. Ancak displazi ve kanserlerde HPV-DNA'sının genellikle çekirdekle birleşmiş

olduğu görülür (şekil-2.3) (49).

Şekil-2.3: HPV enfeksiyonlarının konak hücrede organizasyonu (51).



Erken proteinlerden E6 ve E7, kanserli hücrelerce sentezlenir ve bunlar HPV'yi transforme edici niteliktedir. E6 ve E7 erken proteinleri, sırası ile Rb ve p53 hücresel proteinleriyle kompleksler oluşturabilirler (45).

HPV'nin bugün için 130'dan fazla genotipi olup, enfeksiyonun lokalizasyonuna göre kutanöz ve mukozal tipler olmak üzere ikiye ayrılmakta; malignite ile ilişkisine göre de yüksek riskli , orta riskli ve düşük riskli tipler olmak üzere üç alt grupta incelenmektedir (Tablo-2.3) (52).

Tablo-2.3.: Human Papilloma Virüs Tiplerinin Risk Gruplarına Göre Dağılımı (33, 49).

Risk sınıflaması	HPVtipleri
Yüksek risk	16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,68,73,82
Orta risk	26,34,53,57,66,83
Düşük risk	6,11,40,42,43,44,54,61,70,72,81

Serviksin YEHK ve premalign YEH lezyonlardaki ilişkisi ispatlanan HPV enfeksiyonunun anal kanal, deri, orofarinks ve özofagusun YEHK'larında da etiyolojide yol oynadığı dünyada yaygın olarak kabul edilmiştir (26). İnsidansın yüksek olduğu bölgelerde özofagus YEHK'larında HPV-DNA'nın sık olduğu saptanmış olup yapılan çalışmalarda bu oran %0-66 arasında değişkenlik göstermektedir (4, 15, 19). HPV prevalansındaki bu farklılığın bölgesel olduğu ve ek olarak HPV izolasyonundaki teknik çeşitlilikten kaynaklandığı düşünülmektedir (9, 19, 53, 54).

Son yıllarda yapılan farklı çalışmalarda HPV ile BÖ arasında farklı oranlarda ilişki saptanmış, bazı çalışmalarda ise ilişkinin olmadığı belirtilmiştir (32, 33, 35, 37). GÖRH nedeniyle kronik asite maruziyetin HPV enfeksiyonunun gelişebilmesi için zemin hazırlayabileceği düşünülmektedir (35). Barrett metaplazisi; GÖRH nedeniyle hasar gören YEH'in kök hücrelerinden köken alan hücrelerde kolumnar epitel değişikliğidir ve bu metaplazi bölgesi uterin serviksin transformasyon zonuna ve anal kanalın dentat çizgisine benzetilmektedir (33). BÖ'da izlenen hücresel değişiklikler ile servikte görülen immatür YEH'nin elektron mikroskop görüntüsünün ayırt edilemediği ve özofagusun adenokarsinomları ile servikal kanserlerde HPV ilişkisinin analog olduğu ileri sürülmektedir (35).

Yapılan çalışmalarda özofageal adenokarsinomlarda HPV enfeksiyonu tespit

oranında farklılıklar mevcuttur (31, 35). Yüksek riskli HPV tipleri E6 ve E7 onkoproteinlerini sentezleyerek ve sırası ile p53 ve RB fonksiyonlarını bozarak displaziye neden olmaktadır. Servikal kanserdeki HLA ekspresyonu ile BÖ arasında benzerlikler tespit edilmiştir. Alt uç özofagustaki HPV enfeksiyonunun seyrini belirleyen faktörlerin asit reflüsü ve HLA yatkınlığı olduğu düşünülmektedir ve kronik HPV enfeksiyonu özofagus epitel hücrelerinde metaplazi-displazi-karsinoma gelişimine neden olmaktadır (35).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hastalar:

Çalışmamızda; 2000-2013 yılları arasında Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda özofagus ve mide rezeksiyon materyalleri incelenen, 33 tanesi YEHK ve 19 tanesi adenokarsinom tanısı almış toplam 52 olgunun Hematoksilen-Eozin boyalı preparatları retrospektif olarak değerlendirildi. Seçilen parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında ortalama 10 kesit alınarak polimeraz zincir reaksiyon tekniği ile HPV enfeksiyonu varlığı belirlenip bu olgulardaki virüsün tip tayini yapıldı. Ayrıca özofajit ön tanısı ile endoskopik biyopsi yapılan ve kesitlerinde nonspesifik değişiklikler saptanan 8 adet olgu kontrol vakası olarak çalışmaya dahil edildi. HPV enfeksiyonu varlığı ile bazı prognostik parametreler arasındaki ilişki değerlendirildi. Hastalara ait klinik bilgiler (hasta yaşı, cinsiyeti) hastaların dosyalarından, prognostik parametreler (tümör lokalizasyonu, lezyonun makroskopik boyutu, tümörün histolojik derecesi, lenf nodu metastazı, invazyon derinliği gibi) patoloji raporlarından retrospektif olarak elde edildi.

3.2. HPV-DNA izolasyonu:

HPV-DNA, manyetik partikül teknolojisi kullanılarak elde edildi (QIA-symphony SP, Qiagen GmbH, Hilden, Almanya). HPV PCR reaksiyonu, real-time platformunda Bosphore HPV Detection Kit v1 ile gerçekleştirildi (Anatolia Geneworks, İstanbul, Türkiye) ve pozitif olarak saptandı. Amplifiye edilen örneklerle

High Pure PCR Product Purification Kit ile PCR sonrası saflaştırması işlemi uygulandı. Ardından dizileme primeri (GP5 ya da GP6) ve Sequence Reagent Mix DYEnamic ET Terminator Cycle Sequencing Kit (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) varlığında dizileme reaksiyonuna alındı. Bu amaçla 0,6 ul dizileme primeri kullanıldı. Dizileme reaksiyonu 95°C/20 sn, 50°C /25 sn ve 60°C /2 dk koşullarında 35 döngüde gerçekleştirildi. DNA dizileme için örnekler; ABIPrism 310 Genetik Analizörüne (Applied Biosystems Inc., California, USA) yüklendi. Sekansın elektroferogramı Vector NTI v5.1 (InforMax, Invitrogen life science software, Frederick, MD 21704, USA) ile elde edildi ve sekans BLAST analizi (Basic Local Alignment Search Tool, BLASTN program 2.2.25, blast.ncbi.nlm.nih.gov) ile tanımlandı.

3.3. İstatistiksel analiz:

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde “SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) for windows 20.0” paket programı kullanıldı. Elde edilen sonuçlar ortalama \pm std. sapma olarak ifade edildi. Gruplar arasında farklılık olup olmadığı Chi-Square testi ile değerlendirildi. $p < 0,05$ ise gruplar arasındaki farkın anlamlı olduğu kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 60 vakanın 33 tanesi özofageal YEHK, 19 tanesi adenokarsinom tanısı almış olup kalan 8 olgu kontrol vakası idi. Özofagus kanseri bulunan hastaların 19 tanesi kadın, 33 tanesi erkekti. Tüm karsinom tanısı alan olguların histopatolojik tanıların cinsiyete göre dağılımı Tablo.4.1’de gösterilmektedir. Tüm özofagus karsinomlarında ortalama yaş $61,92 \pm 11,72$ yıl (20-78 yıl), YEHK’lar için ortalama yaş $59,6 \pm 13,1$ adenokarsinomlar için ortalama yaş $65,95 \pm 7,5$ idi. Tümörlerin ortalama boyutu $4,96 \pm 2,38$ cm. idi. YEHK’lar için ortalama tümör boyutu $4,29 \pm 2,05$ adenokarsinomlar için ortalama tümör boyutu $6,1 \pm 2,53$ idi.

Tablo-4.1.: Özofagus Karsinomu Olgularının Histopatolojik Tanılarının Cinsiyete Göre Dağılımı

Histopatolojik tanı	Erkek n(%)	Kadın n(%)	Toplam (%)
Adenokarsinom	16 (84,2)	3 (15,8)	19 (100)
YEHK	17 (51,5)	16 (48,5)	33 (100)
Toplam	33 (63,5)	19 (36,5)	52 (100)

Tüm lezyonların lokalizasyonlara göre dağılımı değerlendirildiğinde YEHK tanısı alan olgularda 21 olgu ile en sık yerleşim yerinin özofagus alt kısım olduğu (%63,6) dikkati çekti. Bunu 11 olgu (%33,3) ile orta kısım, 1 olgu ile (%3,1) ile üst kısmı takip etti. Adenokarsinom tanısı alan olguların tamamı özofagus alt uç ve proksimal mide (kardia) yerleşimli idi. Siewert sınıflamasına göre 1 olgu (%5,2) Tip I (alt uç yerleşimli), 5 olgu (%26,3) Tip II (GÖB yerleşimli) ve 13 olgu (%68,5) Tip III (kardia yerleşimli) idi.

Çalışmamıza dahil edilen tüm olgularda HPV-DNA varlığını araştırmak amacıyla tümörlü dokuların (52 olgu) ve kontrol grubu olarak alınan normal dokuların (8 olgu) hepsine PCR uygulandı. Buna göre, YEHK tanısı alan 33 olgunun 3 (%9,09) tanesinde, adenokarsinom tanısı alan 19 olgunun 2 (%10,5) tanesinde olmak üzere; toplam 52 özofagus kanserli olgunun 5'inde (%9,6) HPV-DNA pozitifliği tespit edildi. 8 adet kontrol grubunun hiçbirinde HPV-DNA saptanmadı. Yapılan istatistiksel çalışmalarda YEHK, adenokarsinom ve kontrol grupları arasında HPV-DNA ile anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.05$).

Tablo-4.2.: Özofagusun YEHK ve Adenokarsinomları ile Kontrol Grubunda HPV-DNA Varlığı

TANI	HPV		TOPLAM
	-	+	
YEHK	30(%90,9)	3(%9,1)	33
ADENOKARSİNOM	17(%89,5)	2(%10,5)	19
KONTROL GRUBU	8 (%100)	0 (%0)	8
TOPLAM	55	5	60

HPV tiplerine özgül primerler ile yapılan PCR sonucunda, HPV-DNA pozitif 5

tümör dokusu örneğinin 4 tanesi tiplendirilebildi. Buna göre; YEHK tanısı alan ve HPV-DNA saptanan 3 olgunun 2 tanesinde (örnek 21 ve 22) HPV tip-39 izole edilirken 1 tanesinde (örnek 1) tiplendirilemedi (Şekil-4.1., Şekil-4.2.). Adenokarsinom tanısı alan ve HPV-DNA saptanan 2 olgunun 1 tanesinde (örnek 68) HPV tip-39 ve diğerinde (örnek 41) HPV tip-16 izole edildi (Şekil-4.3., Şekil-4.4.). Hiçbir örnekte ko-enfeksiyona rastlanmadı.

Şekil-4.1.: Örnek 21 (YEHK) BLAST Analizi

Human papillomavirus type 39 isolate 1

Sequence ID: [gi|25272152|gb|AF548856.1](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/gi|25272152|gb|AF548856.1) Length: 136 Number of Matches: 1

Range 1: 2 to 108 [GenBank](#) [Graphics](#)

▼ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
185 bits(204)	6e-44	106/107(99%)	1/107(0%)	Plus/Minus
Query 1	GCCTGGTATATTCCTTAAACTTAGAAGGATCATATGTAGAAGGTATGGAAGACTCTATAG	60		
Sbjct 108	GCCTGGTATATTCCTTAAACTTAGAAGGATCATATGTAGAAGGTATGGAAGACTCTATAG	49		
Query 61	AGGTAGATAATGTAA-AGTTGGTACTACGGGTAGTATCTACCACAGT	106		
Sbjct 48	AGGTAGATAATGTAAACAGTTGGTACTACGGGTAGTATCTACCACAGT	2		

Şekil-4.2.: Örnek 22 (YEHK) BLAST Analizi

Human papillomavirus type 39 isolate 1

Sequence ID: [gij25272152|gb|AF548856.1](#) Length: 136 Number of Matches: 1

Range 1: 1 to 103 [GenBank](#) [Graphics](#)

▼ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
87.8 bits(96)	1e-14	84/104(81%)	3/104(2%)	Plus/Minus
Query	6	GTGTATTCCTTAAATTTAGAAGGTTTCATATATAGATGGAACTGGATTAGTAGTTGCAG-T	64	
Sbjct	103	GTATATTCCTTAAACTTAGAAGGATCATATGTAGAAGGTA-TGGAAGACTCTATAGAGGT	45	
Query	65	AGATAAGGTAAGA-TTGGTACTACGTGTAGTATCTACCACAGTA	107	
Sbjct	44	AGATAATGTAACAGTTGGTACTACGGGTAGTATCTACCACAGTA	1	

Şekil-4.3.: Örnek 41 (Adenokarsinom) BLAST Analizi

Human papillomavirus type 16 isolate GR13 L1 capsid protein gene, partial cds

Sequence ID: [gij310788197|gb|HM596518.1](#) Length: 381 Number of Matches: 1

Range 1: 73 to 137 [GenBank](#) [Graphics](#)

▼ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
41.0 bits(44)	2.3	62/80(78%)	15/80(18%)	Plus/Minus
Query	9	GTACTCGCTTAAAGTTAGGTATGTCATTATTAGTAGTACGCTATGTCGTGAAGTAGATAT	68	
Sbjct	137	GTACTC-CTTAAAGTTAG-TATTT--TTATATGTAGT-----GTC-TGAAGTAGATAT	90	
Query	69	GGCAGCACACTAATAGACA	88	
Sbjct	89	-GGCAGCACA-TAAT-GACA	73	

Şekil-4.4.: Örnek 68 (Adenokarsinom) BLAST Analizi

Human papillomavirus type 39 isolate 2 L1 (L1) gene, partial cds

Sequence ID: [gi|25272153|gb|AF548857.1](#) Length: 135 Number of Matches: 1

Range 1: 2 to 107 [GenBank](#) [Graphics](#)

▼ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
188 bits(208)	5e-45	105/106(99%)	0/106(0%)	Plus/Minus
Query 1	GCCTGGTATATTCCTTAAACTTAGAAGGATCATATGTAGAAGGTATGGAAGACTCTATAG	60		
Sbjct 107	GCCTGGTATATTCCTTAAACTTARAAGGATCATATGTAGAAGGTATGGAAGACTCTATAG	48		
Query 61	AGGTAGATAATGTAAAGTTGGTACTACGGGTAGTATCTACCACAGT	106		
Sbjct 47	AGGTAGATAATGTAAAGTTGGTACTACGGGTAGTATCTACCACAGT	2		

YEHK tanılı olgularda HPV-DNA pozitif ve negatif vakalar arasında cinsiyet, yaş, lokalizasyon, tümör boyutu, histolojik derece, invazyon derinliği ve lenf nodu durumu ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo-4.3.).

Tablo-4.3.: YEHK'larda HPV-DNA Durumu ile Klinikopatolojik Özellikler Arasındaki İlişki

	Toplam	HPV-	HPV+	P-değeri
Cinsiyet				0,43
Erkek	18	17	1	
Kadın	15	13	2	
Yaş				0,768
≤40	4	4	0	
41-69	12	11	1	
≥70	17	15	2	
Lokalizasyon				0,373
Üst 1/3	1	0	1	
Orta 1/3	11	11	0	
Alt 1/3	21	19	2	
Tümör boyutu				0,035
<4 cm.	22	22	0	

5-8cm	10	7	3	
>9 cm.	1	1	0	
Histolojik Derece				0,88
İyi	12	11	1	
Orta	19	17	2	
Az	2	2	0	
İnvazyon Derinliği				0,438
Submukoza	2	2	0	
Muskularis Propria	9	9	0	
Adventisya	22	19	3	
Lenf Nodu Durumu				0,430
Pozitif	18	17	1	
Negatif	15	13	2	

Adenokarsinom tanılı olgularda da HPV-DNA pozitif ve negatif vakalar arasında cinsiyet, yaş, lokalizasyon, tümör boyutu, histolojik derece, invazyon derinliği ve lenf nodu durumu ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo-4.4.).

Tablo-4.4.: Adenokarsinomlarda HPV-DNA durumu ile klinikopatolojik veriler arasındaki ilişki

	Toplam	HPV-	HPV+	P-değeri
Cinsiyet				0,702
Erkek	16	14	2	
Kadın	3	3	0	
Yaş				0,614
≤40	0	0	0	
41-69	4	4	0	
≥70	15	13	2	
Siewert Tip				0,597
Tip I	1	0	1	
Tip II	5	5	0	

Tip III	13	11	2	
Tümör boyutu				0,322
<4 cm.	5	5	0	
5-8cm	11	10	1	
>9cm.	3	2	1	
Histolojik Derece				0,147
İyi	14	13	1	
Orta	2	1	1	
Az	3	3	0	
İnvazyon Derinliği				0,795
Submukoza	0	0	0	
Muskularis Propria	2	2	0	
Adventisya	17	15	2	
Lenf Nodu Durumu				0,532
Pozitif	5	0	1	
Negatif	14	12	2	

5. TARTIŞMA

HPV enfeksiyonu ilk olarak 1907 yılında siğil etkeni olarak tanımlanmıştır (55). HPV enfeksiyonunun deri, oral kavite, farinks, larinks, akciğer, serviks ve anogenital sistem tümörlerinin karsinogenezisinde etkin bir faktör olduğu kabul edilmektedir (5, 7, 20, 29, 55, 56). İlk olarak 1982 yılında özofagus karsinomu ile HPV enfeksiyonunun ilişkisi saptanmıştır (56, 57). 1996 yılında Sandvik ve arkadaşları, HPV enfeksiyonunun özofagusta papillom ve hiperplaziye neden olduğunu ileri sürmüşlerdir (55).

Günümüzde ise genel olarak HPV enfeksiyonunun özofagusun YEHK'lerinde etiolojide rolü olduğu düşünülmeyle birlikte bu tartışmalı bir görüştür (55). Yahyapour ve arkadaşları; özofagus YEHK insidansının yüksek olduğu İran'ın kuzeyi ve Hazar Denizi çevresini içene alan bölgede yaptıkları çalışmalarında HPV-DNA varlığını %27,7 olarak bulmuşlardır (21). Matsha ve arkadaşları; özofagus

YEHK tanısı almış 50 olgunun 23'ünde (%46) (19), Lu ve arkadaşları ise Çin'de Kazak etnik grubunda yaptıkları çalışmalarında özofageal YEHK'da %30 oranında HPV-DNA izole etmişlerdir (20). Guo ve arkadaşları 600 tümör içermeyen normal özofagustan aldıkları kontrol grubu ve 300 özofagus YEHK'undan oluşan çalışmalarında HPV-DNA varlığını araştırmışlar, kontrol grubunda %6,8, tümörlü olgularda %31 oranında HPV-DNA varlığı saptamışlardır. Tüm bu araştırmacılar HPV enfeksiyonunun özofagus YEHK'unda önemli bir etiyolojik faktör olduğunu savunmaktadırlar (19-22, 27, 54, 55).

Herbster ve arkadaşları; 264 özofagus YEHK'dan oluşan çalışmalarında 38 olguda (%13) HPV pozitifliği saptamışlar, ancak; bu pozitifliğin hastanın kliniği ya da patolojik parametreleri ile ilişkisi olmadığından HPV enfeksiyonunun Brezilya halkında özofagus YEHK karsinogenezisindeki rolünün net olmadığı fikrini savunmuşlardır (14). Liu ve arkadaşları da 3 etnik grubu içine alan 253 olgudan oluşan çalışmalarında; 52 olguda (%20) HPV pozitifliği saptamışlar, HPV enfeksiyonlarının major etiyolojik etken değil de özofageal karsinogeneziste çok sayıda risk faktörlerinden biri olabileceğini ileri sürmüşlerdir (26). Schäfer ve arkadaşları ise 114 özofagus YEHK'dan oluşan çalışmalarında HPV-DNA sıklığını %9 oranında bulmuşlar ve diğer 2 araştırmacı gibi HPV enfeksiyonunun minör etiyolojik faktör olduğunu düşünmüşlerdir (23).

Abdirad ve arkadaşları; özofagus kanserinin sık olarak görüldüğü İran'da 93 vakadan oluşan çalışmalarında 8 vakada (%8,6) HPV-DNA izole etmişler ve özofagus tümörlerinde HPV enfeksiyonunun etiyolojik bir rol oynadığı fikrinin tartışmalı olduğunu savunmuşlardır (12). Benzer şekilde Antonsson ve arkadaşları özofagus YEHK tanısı alan 222 vakalık çalışmalarında 8 vakada (%3,6) HPV-DNA izole etmişler ve özofagus YEHK'da HPV enfeksiyonunun baskın bir etiyolojik rol oynamadığını belirtmişlerdir (9). Qi ve arkadaşları, özofagus YEHK tanılı olguların serum örneklerinde ELİSA yöntemi ile HPV varlığına bakmışlar, ayrıca olguların sigara ve alkol alışkanlıklarını da araştırıp sağlıklı kontrol grubu ile birlikte değerlendirmişlerdir. Özofagus YEHK'larında sigara ve alkol alışkanlığının önemli bir etiyolojik faktör olduğunu, bunların oluşturdukları hasar zemininde HPV enfeksiyonunun özofagus tümörü oluşumuna neden olabileceğini, ancak; tek başına

HPV enfeksiyonunun bağımsız bir risk faktörü olmadığını ileri sürmüşlerdir (6). Noori ve arkadaşları özofagus YEHK tanısı almış 92 vakadan oluşan çalışmalarında HPV-DNA izole edememişler ve yine HPV enfeksiyonunun özofageal YEHK'da önemli bir etiyojik faktör olmadığı sonucuna varmışlardır (16).

Literatürde BÖ ve özofageal adenokarsinomlarda HPV-DNA varlığına yönelik sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Iyer ve arkadaşları 84 adet BÖ, 36 adet GÖB yerleşimli adenokarsinom ve tümör ya da barret metaplazisi içermeyen normal GÖB mukozasından alınan 29 kontrol grubundan oluşan çalışmalarında sırası ile %27, %31, %29 oranlarında HPV-DNA saptamışlardır. BÖ ve GÖB yerleşimli adenokarsinomlar ile kontrol grubundan izole edilen HPV oranlarının benzerlik göstermesinden dolayı HPV enfeksiyonunun BÖ ve GÖB adenokarsinomlarında etiyojik faktör olmadığı fikrini savunmuşlardır (31). Koshiol ve arkadaşları, GÖB yerleşimli adenokarsinom tanılı 108 olguda, Feng ve arkadaşları ise özofageal adenokarsinom tanısı alan 57 olguda HPV-DNA varlığı araştırmışlar, HPV enfeksiyonuna rastlamamışlar ve HPV enfeksiyonunun özofageal adenokarsinomlarda major risk faktörü olmadığını rapor etmişlerdir (32, 58). Serag ve arkadaşları BÖ tanılı olgularda yaptıkları çalışmada HPV-DNA izole edememişler ve HPV enfeksiyonunun displazi içermeyen BÖ etiyojisinde yeri olmadığını rapor etmişlerdir (37). Benzer şekilde Rai ve arkadaşları da 73 vakadan oluşan BÖ tanılı olgulardan 1 tanesinde HPV-DNA izole etmişler ve BÖ etiyojisinde HPV enfeksiyonunun yer almadığı görüşünü savunmuşlardır (33). Bu araştırmacılar BÖ ve BÖ zemininde gelişen adenokarsinomlarda HPV enfeksiyonunun etiyojik bir ajan olmadığını düşünmelerine rağmen Meksika'da yapılan bir çalışmada BÖ tanılı olgularda %90 oranında HPV-DNA saptanmıştır (32, 58). Benzer şekilde Ding ve arkadaşları da kardiala tümörlerinde %29 oranında HPV tespit etmişler ve HPV enfeksiyonunun özofagus ve kardiala adenokarsinomlarında önemli bir risk faktörü olduğunu ileri sürmüşlerdir (47).

Ülkemizde bu konuda yapılan tek çalışma, Kiki ve arkadaşlarının 30 özofageal YEHK ve 10 adet adenokarsinomdan oluşan, Erzurum'da yaptıkları çalışmadır. Araştırmacılar 19 YEHK (%63,3) ve 4 adenokarsinom (%40) olgusunda HPV-DNA izole etmişler, HPV enfeksiyonunun özofagus kanserlerinde etiyojide yer

alabileceğini ileri sürmüşlerdir (18).

Biz de çalışmamızda; YEHK tanısı alan 33 olgunun 3 (%9,09) tanesinde, adenokarsinom tanısı alan 19 olgunun 2 (%10,5) tanesinde olmak üzere; toplam 52 özofagus kanserli olgunun 5'inde (%9,6) HPV-DNA varlığını saptadık. 8 adet kontrol grubunun hiçbirinde HPV-DNA izole edemedik. Saptama yüzdemiz düşük olmakla birlikte kontrol vakalarında hiç HPV-DNA izole edemememiz nedeniyle HPV enfeksiyonunun özofagus kanserlerinde etiolojide rol oynayabileceği, ancak; minör risk faktörleri arasında sayılabileceği ve bu sonucun daha fazla tümörlü olgu-kontrol grubu ile yapılacak bir başka çalışma ile desteklenmesi gerektiği sonucuna vardık.

Özofageal lezyonlarda HPV'nin varlığı coğrafik olarak değişiklikler göstermektedir (9, 12, 19, 21, 55). Yapılan çalışmalarda özofagus YEHK'larda; farklı ülkelerde farklı oranlar yanı sıra aynı ülkede farklı coğrafik bölgelerde farklı oranlarda HPV-DNA varlığı saptanmıştır (21, 26). Örneğin Çin'in değişik bölgelerinde HPV-DNA tespit oranı farklı çalışmalarda %6,7 ve %83,3 olarak rapor edilmiştir (21). Özellikle özofagus YEHK'larının insidansının düşük ve orta sıklıkta olduğu bölgelerde HPV-DNA'nın tespit oranı oldukça düşüktür ya da hiç izole edilememektedir (9). Ancak hastalığın yüksek insidanslı olduğu bölgelerde (Güney Afrika, Çin) sıklığı farklılık göstermekle birlikte HPV-DNA oldukça sık izole edilmektedir. Bu bulgular; özofagus karsinomlarının yüksek oranda görüldüğü bölgelerde HPV enfeksiyonunun özofageal karsinogenezisteki rolünün daha belirgin olduğunu düşündürmektedir (21, 55). Poljak ve arkadaşları, özofageal karsinom insidansının düşük olduğu bir bölgede 121 olgudan oluşan çalışmalarında 1 olguda (%0,8) HPV-DNA varlığı saptamışlar ve bölgelerinde özofagus kanseri insidansı düşük olduğu için böyle bir sonuca vardıklarını belirtmişler, insidansın yüksek olduğu bölgelerde HPV enfeksiyonunun özofagus YEHK etiolojisinde rol oynayabileceğini ileri sürmüşlerdir (17). Shen ve arkadaşları ise; özofagus karsinomlarının yüksek sıklıkta görüldüğü Güney Çin ve Doğu Guangdong bölgesinde yaptıkları çalışmalarında tümörlü olgularda %60'ın üzerinde HPV-DNA izole etmişler, özellikle yüksek sıklıkta özofagus tümörlerinin görüldüğü bölgelerde HPV enfeksiyonunun önemli bir etiolojik faktör olduğunu savunmuşlardır (55).

Benzer şekilde Zhang ve arkadaşları da bu konuda yaptıkları iki çalışmanın birinde özofagus YEHK'lu 106 olgunun 82 tanesinde (%77,4) HPV-DNA izole etmişlerdir. 2011 yılında özofagus ve servikal kanserli olgularda yaptıkları diğer çalışmada ise özofagus YEHK'da %50 oranında HPV-DNA saptamışlar ve sonuç olarak özofagus kanserlerinin sık olarak görüldüğü bölgelerde yüksek riskli HPV tiplerinin malign transformasyon ile yakından ilişkili olduğu görüşünü ileri sürmüşlerdir (22, 59). Herrera ve arkadaşları ise Latin Amerika'da yaptıkları 60 özofageal YEHK'dan oluşan çalışmalarında 15 olguda (%25) HPV-DNA saptamışlardır. Bu araştırmacılar; Latin Amerika'nın özofageal karsinom insidansının düşük olarak görüldüğü bir bölge olduğunu, olguların 1/4'ünde HPV varlığı saptadıklarını, HPV enfeksiyonunun sadece özofagus karsinomlarının yüksek insidanslı olarak görüldüğü yörelerde değil de düşük insidansa sahip olduğu bölgelerde de önemli bir etiyolojik faktör olabileceğini ileri sürmüşlerdir (60).

Ülkemizde de Sağlık Bakanlığı tarafından yapılan 2006 yılı kanser istatistiklerinde özofageal kanserler en sık tespit edilen ilk 10 kanserin altında yer almış olup sadece Erzurum ili verilerinde özofagus kanseri 5. sırada bildirilmiş ve Türkiye'de bu tümörün düşük-orta sıklıkta olduğu görülmüştür (10). Yine çalışmamızın yapıldığı Marmara Bölgesi, özofagus tümörlerinin düşük-orta sıklıkta görüldüğü bölgelerdendir ve bizim çalışmamızda özofagus tümörlerinde HPV-DNA varlığı %9,6 oranında saptanmış olup bu tümörlerin düşük-orta sıklıkta görüldüğü bölgelerdeki HPV-DNA tespit oranları ile uyumluluk göstermektedir. Kiki ve arkadaşlarının yaptığı özofagus karsinomlarının yüksek insidansla görüldüğü Erzurum Bölgesi'ni temsil eden ve %57,5 oranında HPV-DNA saptadıkları çalışmaları da göz önüne alındığında; literatüre benzer şekilde, yüksek insidanslı özofagus tümörü olan bölgelerde HPV enfeksiyonunun etiyolojide rol oynayabileceği, çalışmamızda olduğu gibi düşük-orta insidanslı bölgelerde ise belki minör etiyolojik ajan olabileceği sonucuna vardık.

Özofagus karsinomlarında en çok izole edilen HPV alt tipi tip-16 olup ikinci sıklıkta tip-18 görülmektedir (5, 9, 14, 19, 22, 26, 27, 29, 47, 55, 60). Çeşitli çalışmalarda özofageal karsinomlarda bunların dışında tip-31, tip-33, tip-35, tip-52 ile tip-58'in de izole edildiği ve özofagus kanserlerinin etiyopatogenezinde yer alan

HPV alt tiplerinin genellikle yüksek riskli grupta yer aldığı rapor edilmiştir (9, 19), 22]. Ayrıca özofagus karsinomlarında çoklu HPV tipleri ile enfeksiyon oranının %16 olduğu belirtilmektedir (12). Dabrowski ve arkadaşları yaptıkları çalışmada en sık izole ettikleri HPV alt tiplerinin düşük riskli olan grupta yer aldığını (%33,9) ve yüksek riskli HPV tiplerini ise %8,9 oranında saptadıklarını rapor etmişlerdir. Düşük riskli HPV-DNA alt tiplerinin özofagus karsinomlarında daha yaygın olarak bulunduğu ve karsinogeneziste ko-faktörlerden biri olduğu ve/veya karsinogenezis basamaklarından birinde yer alabileceği fikrini ileri sürmüşlerdir (15). Matsha ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada en sık HPV tip-11'i, ikinci sıklıkta HPV tip-39'u saptadıklarını ve özofagus kanserlerinde ilk defa HPV tip-39'un bu çalışmada izole edildiğini rapor etmişlerdir (19). Bizim çalışmamızda ise tiplendirme yapılabilen 4 adet özofagus karsinomunun 1 tanesi HPV tip-16 olup en sık izole edilen alt tip literatürden farklı olarak yüksek riskli grupta yer alan HPV tip-39'du ve ko-enfeksiyon görmedik. Çalışmamızda elde edilen tiplerin yüksek riskli HPV grubunda olmaları nedeniyle, olgu sayısındaki kısıtlılık yüzünden yorum yapmak zor olmakla birlikte; özofagus karsinogenezisinde yüksek risk grubundaki HPV alt tiplerinin yer alabileceğini düşündük.

Kiki ve arkadaşları HPV-DNA saptadıkları ve saptayamadıkları olguların klinikopatolojik parametrelerini kıyasladıklarında, iyi diferansiye YEHK'larda az diferansiye tümörlere göre HPV enfeksiyonunun daha sık görüldüğünü bulmuşlardır (18). Bunun dışında literatürdeki tüm çalışmalarda genel olarak YEHK'larda olmak üzere hem YEHK'lar, hem de adenokarsinomlarda klinikopatolojik verilerle HPV-DNA varlığını karşılaştırdıklarında anlamlı sonuç elde edilemediği belirtilmektedir (14, 15),(26, 60). Biz de çalışmamızda literatüre benzer şekilde YEHK ve adenokarsinom tanılı olgularda HPV-DNA pozitif ve negatif vakalar arasında cinsiyet, yaş, lokalizasyon, tümör boyutu, histolojik derece, invazyon derinliği ve lenf nodu durumu gibi klinikopatolojik parametreler ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamadık.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Özofagus YEHK ve GÖB yerleşimli adenokarsinomlarda etiyolojik faktörler arasında sayılan HPV enfeksiyonunun, hastanemizde rezeksiyon materyalleri incelenen özofagus kanserlerindeki insidansını ve klinikopatolojik veriler ile ilişkisini belirlemek amacıyla bu tümörlerde HPV-DNA varlığını araştırdığımız çalışmamızda, şu sonuçlara ulaştık:

YEHK tanısı alan 33 olgunun 3 (%9,09) tanesinde, adenokarsinom tanısı alan 19 olgunun 2 (%10,5) tanesinde olmak üzere; toplam 52 özofagus kanserli olgunun 5'inde (%9,6) HPV-DNA varlığını saptarken 8 adet kontrol grubunda HPV-DNA izole edemedik. Kontrol grubu negatif iken düşük oranda da olsa özofagus kanserlerinde HPV-DNA saptamamız nedeniyle HPV enfeksiyonunun bu tümörlerde etiyolojide rol oynayabileceğini düşündük. Ancak; belki minör risk faktörleri

arasında sayılabileceği ve bu sonucun daha fazla tümörlü olgu-kontrol grubu ile yapılacak bir başka çalışma ile desteklenmesi gerektiği sonucuna vardık.

Çalışmamızın yapıldığı Marmara Bölgesi özofagus tümörlerinin düşük-orta sıklıkta görüldüğü bölgelerdendir. Literatürde genel olarak düşük-orta insidansa sahip bölgelerde HPV-DNA oranının yüksek insidansa sahip bölgelerden daha düşük olduğu belirtilmekte olup bizim çalışmamızda elde edilen %9,6 oranında HPV-DNA varlığı bu bilgilerle uyumluluk göstermektedir. Yüksek insidanslı özofagus tümörü olan bölgelerde HPV enfeksiyonunun etiolojide rol oynayabileceğini, ancak; çalışmamızda olduğu gibi düşük-orta insidanslı bölgelerde ise minör etiyojik ajan olabileceğini düşündük. Yüksek insidansa sahip olduğu bölgelerde özofagus kanserlerinde yüksek oranda saptanan HPV enfeksiyonunun, uterin serviks kanserlerinde olduğu gibi HPV aşuları ile tedavi edilmesinin kanser oluşumunu önlemekte bir ümit olabileceği, düşük-orta insidanslı özofageal tümörlere sahip bölgelerde HPV aşılması ile bu tümörün önüne geçmenin zor olduğu, ancak; bu bulgunun yeni çalışmalarla desteklenmesi gerektiği sonucuna vardık.

HPV-DNA saptanan 5 adet olguya alt tip analizi yaptığımızda, alt tiplere yapabildiğimiz 4 adet özofagus karsinomunda ko-enfeksiyon saptamadık. İzole ettiğimiz tüm alt tiplerin literatür bilgilerine benzer şekilde yüksek riskli grupta olduğunu, ancak; sadece 1 tanesinin özofagus kanserlerinde en sık görülen tip olan tip-16, diğerlerinin ise literatürde özofagus tümörlerinde ikinci defa izole edilen ve nadir görülen tip-39 olduğunu gördük. Özofageal tümörlerin etiolojisinde yüksek risk grubundaki HPV alt tiplerinin yer alabileceğini düşündük.

YEHK ve adenokarsinom tanılı olgularda HPV-DNA pozitif ve negatif vakalar arasında klinikopatolojik parametreler ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamadık ve özofageal tümörlerde HPV-DNA varlığının klinik gidişi etkilemediği sonucuna vardık.

7. ÖZET

Özofagus kanseri; tüm kanser tipleri arasında sekizinci sırada yer alan, kötü prognozlu, en sık görülen alt tipi YEHK olan; sıklığı ülkeler ve coğrafik bölgeler arasında değişiklikler gösteren bir malignitedir. Özofagus kanserinde en önemli risk faktörleri; alkol ve sigara olup viral enfeksiyonlar, özellikle de HPV enfeksiyonu etiyolojik ajanlar arasında sayılmaktadır. Bu çalışmanın amacı; yöremizdeki özofagus kanserlerinde HPV varlığını saptamak ve klinikopatolojik parametrelerle ilişkilerini değerlendirmektir.

Çalışmamızda; 2000-2013 yılları arasında Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 33 tanesi YEHK ve 19 tanesi adenokarsinom tanısı alan toplam 52 özofagus kanseri olgusu ve 8 kontrol vakasında polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tekniği ile HPV-DNA varlığı araştırıldı ve pozitif olgularda alt tip tayini yapıldı. 52 tümörlü örneğin 5 tanesinde (%9,6) HPV-DNA pozitif bulundu. Bunlardan YEHK olgularının %9,09'da (3/33 olgu) ve adenokarsinom olgularının % 10,5'inde (2/19 olgu) HPV-DNA tespit edildi. HPV-DNA pozitif olguların 4 tanesinde alt tip tayini yapılabildi; bunlardan 3 tanesi HPV tip-39 ve 1 tanesi HPV tip-16 idi. Çalışmamızın yapıldığı Marmara Bölgesi, özofagus kanserlerinin görülme sıklığı açısından düşük-orta riskli bir bölge olup, bu tümörlerde HPV-DNA saptama oranımız literatürde düşük-orta riskli bölgelerde saptanan HPV-DNA varlığı oranı ile benzerlik göstermekteydi.

Sonuç olarak çalışmamızda; özellikle özofagus kanserinin yoğun olarak görüldüğü bölgelerde HPV enfeksiyonunun daha fazla oranda saptanması nedeniyle bu enfeksiyonun özofagus karsinogenezinde yer alabileceği ve daha çok yüksek riskli HPV alt tiplerinin risk faktörleri arasında sayılabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Özofagus kanseri; Human Papilloma Virus; Yassı Epitel Hücreli Karsinom; Adenokarsinom.

8. ABSTRACT

Esophageal cancer is a malignity which ranks eighth among all types of cancer, has bad prognosis, it's most common sub-type is esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) and it's frequency varies among countries and geographical regions. The most important risk factors for esophageal cancer are alcohol and cigarette. Viral infections, especially HPV infection is considered one of the etiological agents. The purpose of this study is to detect the presence of HPV in esophageal cancers in our region and to evaluate the relationship with clinicopathologic parameters.

In our study; using 52 cases of esophageal cancer from Kocaeli University Faculty of Medicine between 2000 and 2013, 33 of which are ESCC and 19 are adenocarcinoma, and 8 cases of control group, the presence of HPV-DNA is investigated by employing polymerase chain reaction (PCR) technique and subtype determination is done for positive cases. HPV-DNA is found to be positive in 5 out of 52 cases with tumor. HPV-DNA is detected at 9.09 percent (3/33) of ESCC cases and 10.5 percent (2/19) of adenocarcinoma cases. Subtype determination could be made for 4 of the HPV-DNA positive cases, 3 of which are HPV type-39 and one is HPV type-16. Marmara region, where this study is performed is a low to moderate risk region in terms of the incidence of esophageal cancer. Our HPV-DNA detection rate in this tumor is similar with other low to moderate risk regions.

In conclusion, since HPV infection is detected more commonly in regions especially where esophageal cancer is intensively seen, it is concluded that this infection can be in esophageal carcinogenesis and high risk HPV subtypes can be considered among risk factors.

Key Words: Esophageal carcinoma; human papillomavirus; squamous-cell carcinoma; Adenocarcinoma.

9. KAYNAKLAR

1. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Robbins Temel Patoloji. Yedinci Baskı. Çeviri Editörü: Çevikbas U. Nobel Tıp Kitapevleri, 2003
2. de Villiers EM, Gunst K, Stein H, Scherubl H. Esophageal squamous cell cancer in patients with head and neck cancer: Prevalence of human papillomavirus DNA sequences. *Int J Cancer*. 2004 Mar 20;109(2):253-8.
3. Rosai, J. and L.V. Ackerman, *Rosai and Ackerman's surgical pathology*. 9th ed. , Edinburgh: Mosby, 2004.
4. Robert D. Odze M and John R. Goldblum. *Surgical Pathology of the GI Tract L, Biliary Tract and Pancreas*, 2nd Edition, Philadelphia, 2009.
5. Lofdahl HE, Du J, Nasman A, et al. Prevalence of human papillomavirus (HPV) in oesophageal squamous cell carcinoma in relation to anatomical site of the tumour. *PLoS One*. 2012;7(10):e46538.
6. Qi Z, Jiang Q, Yang J, et al. Human papillomavirus (HPV) infection and the risk of esophageal squamous cell carcinoma. *Dis Esophagus*. 2013 Jan;26(1):61-7.
7. Tornesello ML, Monaco R, Nappi O, et al. Detection of mucosal and cutaneous human papillomaviruses in oesophagitis, squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the oesophagus. *J Clin Virol*. 2009 May;45(1):28-33.
8. Kankaya D., Kuzu I. Özofagus kanserleri patolojisi Pathology of esophageal carcinomas. *J. Exp. Clin. Med*. 2012; 29:215-S226
9. Antonsson A, Nancarrow DJ, Brown IS, et al. High-risk human papillomavirus in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2010 Aug;19(8):2080-7.

10. Şengül A. T. Özofagus kanserinin epidemiyolojisi (Epidemiology of esophagus cancer). *Deneysel ve Klinik Tıp Dergisi - Journal of Experimental and Clinical Medicine*. 2012;29:203-208.
11. Tuncer I., Tosun M. , Kalkan S. Özofagus Gelişiminin 17 ile 32 Haftalar arasındaki Fetüslerde Histomorfolojik Olarak Değerlendirilmesi. *Erciyes Tıp Dergisi (Erciyes Medical Journal)*. 2005;27 (4):152-57.
12. Abdirad A, Eram N, Behzadi AH, et al. Human papillomavirus detected in esophageal squamous cell carcinoma in Iran. *Eur J Intern Med*. 2012 Mar;23(2):e59-62.
13. Fred T. Bosman, F.C., Ralph H. Hruban, Neil D. Theise, ed. *World Health Organization Classification of Tumours of the Digestive System*. 4 ed. ,edited by E.S.J. Fred T. Bosman, Sunil R. Lakhani, Hiroko Ohgaki. IARC: Lyon, 2010.
14. Herbster S, Ferraro CT, Koff NK, et al. HPV infection in Brazilian patients with esophageal squamous cell carcinoma: interpopulational differences, lack of correlation with surrogate markers and clinicopathological parameters. *Cancer Lett*. 2012 Dec 29;326(1):52-8.
15. Dabrowski A, Kwasniewski W, Skoczylas T, et al. Incidence of human papilloma virus in esophageal squamous cell carcinoma in patients from the Lublin region. *World J Gastroenterol*. 2012 Oct 28;18(40):5739-44.
16. Noori S, Monabati A, Ghaderi A. The prevalence of human papilloma virus in esophageal squamous cell carcinoma. *Iran J Med Sci*. 2012 Jun;37(2):126-33.
17. Poljak M, Cerar A, Seme K. Human papillomavirus infection in esophageal carcinomas: a study of 121 lesions using multiple broad-spectrum polymerase chain reactions and literature review. *Hum Pathol*. 1998 Mar;29(3):266-71.

18. Kiki İ., Polat F., Gündoğdu C. Detection of Human Papillomavirus Infection in Esophageal Carcinomas by the Histopathological Method and Polymerase Chain Reaction Technique. *Turk J Med Sci.* 2002;32:223-30
19. Matsha T, Erasmus R, Kafuko AB. Human papillomavirus associated with oesophageal cancer. *J Clin Pathol.* 2002 Aug;55(8):587-90.
20. Lu XM, Monnier-Benoit S, Mo LZ, et al. Human papillomavirus in esophageal squamous cell carcinoma of the high-risk Kazakh ethnic group in Xinjiang, China. *Eur J Surg Oncol.* 2008 Jul;34(7):765-70.
21. Yahyapour Y, Shamsi-Shahrabadi M, Mahmoudi M, et al. Evaluation of human papilloma virus infection in patients with esophageal squamous cell carcinoma from the Caspian Sea area, north of Iran. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2012;13(4):1261-6.
22. Zhang QY, Zhang DH, Shen ZY, et al., Infection and integration of human papillomavirus in esophageal carcinoma. *Int J Hyg Environ Health.* 2011 Mar;214(2):156-61.
23. Schafer G, Kabanda S, van Rooyen B, et al., The role of inflammation in HPV infection of the Oesophagus. *BMC Cancer.* 2013;13:185.
24. Özçelik M.F. Özofagus Kanseri: Tanı ve Cerrahi Tedavi Tedavi. *Gastrointestinal Sistem Hastalıkları Sempozyumu 11-12 Ocak 2001, İstanbul, 241-51.*
25. Özkan M, Ökten İ. Özofagus kanserinde transtorasik özofagus rezeksiyonu. *Deneysel ve Klinik Tıp Dergisi.* 2012;29:233-36.
26. Liu T, Liu Q, Liang M, et al. Viral load of HPV 16/18 in esophageal squamous cell carcinoma in three ethnic groups living in Xinjiang Autonomous Region, China. *Mol Biol Rep.* 2013 Feb;40(2):2045-52.

27. Guo F, Liu Y, Wang X, et al. Human papillomavirus infection and esophageal squamous cell carcinoma: a case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2012 May;21(5):780-5.
28. Japan Esophageal Society Jcoec, tenth edition: Part I. Esophagus. 6, 1-25.
29. Goto A, Li CP, Ota S, et al. Human papillomavirus infection in lung and esophageal cancers: analysis of 485 Asian cases. *J Med Virol.* 2011 Aug;83(8):1383-90.
30. Sayek İ. Temel Cerrahi. İskender Sayek (Ed.), 3. Baskı.1112-1123 Günes Kitabevi, Ankara, 2004.
31. Iyer A, Rajendran V, Adamson CS, et al. Human papillomavirus is detectable in Barrett's esophagus and esophageal carcinoma but is unlikely to be of any etiologic significance. *J Clin Virol.* 2011 Mar;50(3):205-8.
32. Feng S, Zheng J, Du X, et al., Human papillomavirus was not detected by PCR using multiple consensus primer sets in esophageal adenocarcinomas in Chinese patients. *J Med Virol.* 2013 Jun;85(6):1053-7.
33. Rai N, Jenkins GJ, McAdam E, et al. Human papillomavirus infection in Barrett's oesophagus in the UK: an infrequent event. *J Clin Virol.* 2008 Oct;43(2):250-2.
34. Bell-Thomson J, Haggitt, R.C., Ellis, F.H. Jr. Mucoepidermoid and adenoid cystic carcinomas of the esophagus. *J. Thorac. Cardio. Sur.* 1980;79:438-446.
35. Rajendra S, Robertson IK. Similar immunogenetics of Barrett's oesophagus and cervical neoplasia: is HPV the common denominator? *J Clin Pathol.* 2010 Jan;63(1):1-3.

36. Klöppel G, Rindi, G., Anlauf, M., et al. Site-specific biology and pathology of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Virchows Arch.* 2007;451 Suppl. 1, 9-27.
37. El-Serag, H.B., et al. Human papillomavirus and the risk of Barrett's esophagus. *Dis Esophagus*, 2013;26(5):517-21.
38. Yekeler E., Karaoğlanoğlu N. Özofagus kanserinde klinik ve evreleme (Clinic and staging of esophageal cancer). *J. Exp. Clin. Med.* 2012;29:227-231.
39. Thomas W. Rice M, Eugene H. Blackstone, 7th Edition of the AJCC Cancer Staging Manual: Esophagus and Esophagogastric Junction. *Ann Surg Oncol.*, 2010;17:1721-4
40. Hosokawa Y., Kinoshita T., Konishi M., et al. Clinicopathological Features and Prognostic Factors of Adenocarcinoma of the Esophagogastric Junction According to Siewert Classification: Experiences at a Single Institution in Japan. *Ann Surg Oncol.* 2012;19:677-83
41. Hasegawa S., Yoshikawa T., Aoyama T., et al. Esophagus or Stomach? The Seventh TNM Classification for Siewert Type II/III Junctional Adenocarcinoma, *Ann Surg Oncol.* 2013;20:773-79
42. Zhang H., Cheng Y., Song Y., et al. Adenocarcinomas of the esophagogastric junction: experiences at a single institution in China *World Journal of Surgical Oncology.* 2013;11:155
43. Eileen M. Human Papillomavirus and Cervical Cancer. *Clinical Microbiology Reviews.* 2003;16:1-17
44. Cates, W. Estimates of the incidence and prevalence of sexually transmitted diseases in the United States. *Sex. Transm. Dis.* 1999;26:2-7.

45. Avcı GA. İnsan Papillomavirusunun Genomik Yapısı ve Proteinleri. Mikrobiyol Bul 2012;46(3):507-515
46. Walboomers J.M., Manos M.M., et al., Human Papillomavirüs is a necessary cause of invazive 28 cervical cancer worldwide. J.pathol.(1999) 189:12-19].
47. Ding GC, Ren JL, Chang FB, et al. Human papillomavirus DNA and P16(INK4A) expression in concurrent esophageal and gastric cardia cancers. World J Gastroenterol. 2010 Dec 14;16(46):5901-6.
48. N. Muñoz, X. Castellsagué b, A. Berrington de Gonz'alez, et al. Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer , Vaccine 24 S3 (2006) S3/1–S3/10.
49. Güner H. Serviks Kanserlerinde Epidemiyolojisi ve Human Papilloma Virüs. J Turk Soc Obstet Gynecol. 2007;4(1):11-19
50. IARC. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, volume 90, human papillomaviruses. Lyon.
51. Kleinsmith L.J. Principles of Cancer Biology. 2006; p:352.
52. Özarmağan G., Topkarcı Z. Human Papilloma Virüs Aşıları. ANKEM Derg. 2006;20(Ek 2):56-61.
53. Yong F, Xudong N, Lijie T. Human papillomavirus types 16 and 18 in esophagus squamous cell carcinoma: a meta-analysis. Ann Epidemiol. 2013 Jul 31;1-9
54. Zhang D, Zhang Q, Zhou L, et al. Comparison of prevalence, viral load, physical status and expression of human papillomavirus-16, -18 and -58 in esophageal and cervical cancer: a case-control study. BMC Cancer. 2010;10:650.
55. Shen ZY, Hu SP, Lu LC, et al. Detection of human papillomavirus in esophageal carcinoma. J Med Virol. 2002 Nov;68(3):412-6.

56. Kamangar F, Qiao YL, Schiller JT, et al. Human papillomavirus serology and the risk of esophageal and gastric cancers: results from a cohort in a high-risk region in China. *Int J Cancer*. 2006 Aug 1;119(3):579-84.
57. Yong F, Xudong N, Lijie T. Human papillomavirus types 16 and 18 esophagus cell carcinoma: a meta-analysis. *annal of epidemiology*. 2013;1(3).
58. Koshiol J, Wei WQ, Kreimer AR, et al. No role for human papillomavirus in esophageal squamous cell carcinoma in China. *Int J Cancer*. 2010 Jul 1;127(1):93-100.
59. Zhang J, Tian XY, Wu XJ, et al. Role of papillomavirus in adenocarcinoma of esophagogastric junction. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2010 Aug 24;90(32):2259-62.
60. Herrera-Goepfert R, Lizano M, Akiba S, et al. Human papilloma virus and esophageal carcinoma in a Latin-American region. *World J Gastroenterol*. 2009 Jul 7;15(25):3142-7.