

80315

T.C  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

ÖZOFAGUS KARSİNOMLARINDA KLİNİKOPATOLOJİK  
PARAMETRELER İLE PROLİFERASYON BELİRLEYİCİLERİNİN  
(MARKER) DEĞERİ VE TÜMÖRE EŞLİK EDEN PREMALİGN  
LEZYONLARDA PROLİFERASYON MARKER' LARININ YERİ

Dr. Aylin (Okçu) Heper  
(Uzmanlık Tezi)

Danışman: Doç. Dr. Işinsu KUZU

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Ankara, 1997

Tez çalışmamda planlanlama aşamasından başlayarak bütün dönemlerde önerilerini ve desteğini esirgemeyen tez danışmanım Doç. Dr. Işınso KUZU' ya, emekliliğinden önce hem tez danışmanım hem de eski Patoloji Anabilim Dalı başkanı ve öğretim üyesi olan Prof. Dr. Orhan BULAY' a, Patoloji Anabilim Dalı başkanı olan Prof. Dr. Özden TULUNAY' a, asistanlık dönemimde eğitimimde emeği bulunan bütün öğretim üyelerine, Patoloji ve İmmünpatoloji laboratuvarı çalışanlarına, materyallerin sağlanması ve hazırlanması aşamalarındaki yardımlarından dolayı Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalına, çalışmanın istatistiksel değerlendirmeleri sırasında yardımları nedeni Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Bilim Dalı öğretim üyelerinden Ergun KARAĞAOĞLU ile Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Bilim Dalı araştırma görevlilerine, asistanlık dönemimde her çeşit yardımları ve destekleri nedeni ile bütün asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

I-	GİRİŞ VE AMAÇ	1
II-	GENEL BİLGİLER	4
	II a - Özofagus' un Embriyolojik Gelişimi	4
	II b - Özofagus' un Normal Yapı ve Fonksiyonu	5
	II c - Özofagus Karsinomu (Ca)	8
	II d - Özofagus Karsinomlarına Eşlik Eden Mukozal Lezyonlar	21
	II e - Hücre Siklusu ve Proliferasyon Belirleyicileri (Marker)	26
	II f - Özofagus Karsinomunda Proliferasyon Marker' ları	35
III-	MATERYAL VE METOD	37
IV-	BULGULAR	43
	IV a - Tümörlerin Klinik ve Histopatolojik Bulguları	43
	IV b - Tümörlerde Proliferasyon Marker' ları ile Elde Edilen Bulgular	58
	IV c - Hastalarda Sağ Kalımı Etkileyen Parametreler	60
	IV d - Tümör Çevresi Alanlarda Malign ve Premalign Lezyonlara Ait Bulgular	63
V-	TARTIŞMA	82
	V a - Tümörlere Ait Klinik ve Histopatolojik Bulguların Değerlendirilmesi	82
	V b - Tümörlerde Proliferasyon Marker' ları ile Elde Edilen Bulguların Değerlendirilmesi	90
	V c - Hastalarda Sağ Kalımı Etkileyen Parametrelerin Değerlendirilmesi	96
	V d - Tümör Çevresi Alanlarda Malign ve Premalign Lezyonlarda Proliferasyon İndeksi	100
VI-	SONUÇLAR	105
VII-	ÖZET	106
VIII-	KAYNAKLAR	108

## I- GİRİŞ VE AMAÇ

Özofagus kanseri dünya genelinde kanserler arasında 6. sırada yer almaktadır ve prevalansı 6.4/100000 olarak bildirilmektedir. (1,2) Ancak görülme oranında coğrafik farklılıklar bulunmakta ve yüksek riskli alanlarda düşük riskli- lere göre 500 misli daha fazla izlenmektedir. (1,3,4) Dünya üzerinde en fazla iz- lenen ve yüksek risk bölgeleri olarak tanımlanan yerler Çin' in kuzey eyaletleri, Portoriko, Güney Afrika, Hindistan, Sri Lanka, Singapur, Orta Asya ve İran' da Hazar Denizi kıyılarıdır. (3,5,6,7) Ülkemizde ise en fazla Doğu Anadolu ve Doğu Karadeniz bölgelerinde izlenmektedir. (8)

Özofagus kanseri, özofagusun anatomik özellikleri nedeni ile çok geç dönemlerde bulgu vermekte, buna karşılık çok erken dönemlerde de özofagus duvarında ve mediastende komşu organlara yayılmaktadır. (9,10,11) Bu neden- le kanser saptandığında hastaların çoğu operasyon şansını kaybetmiş olur. Va- kaların %90' ından fazlasında tümör ileri evrelerdedir. Ayrıca yaklaşık %75 ol- guda lokal tümör invazyonu veya uzak metastaz nedeni ile operasyonlar küratif olmamaktadır. (12,13)

Bu özelliklerinden dolayı özofagus kanseri fatal seyirli, oldukça kötü prognozlu bir neoplazidir. Özellikle insidansın yüksek olduğu ülkelerde ve top- luluklarda yüksek mortalite ve morbiditeye neden olmaktadır. Bu ülkeler başta olmak üzere, hastaların yaşam sürelerini uzatmak ve tedavi imkanlarını arttır- mak amacı ile erken evrelerde yakalanılmasına çalışılmaktadır. (14,15,16) Mu- koza ile sınırlı tümörlerde 5 yıllık yaşam oranı %80' in üzerine çıkmaktadır. (17) İleri evre invaziv özofagus kanserlerinde ise bu oran %0,8-15 arasında bildiril- mektedir. (18,19,20,21,22,23)

Proliferasyon hızı genellikle tümörlerin biyolojik davranışlarını yansıta- bilmektedir. Bu nedenle son yıllarda her türlü organ tümöründe çeşitli prolife- rasyon belirleyicileri (marker) ile çalışılmaktadır. Özofagus kanserlerinde de ö- zellikle prognozu saptayabilmek, her hasta için uygun tedavi yöntemleri geliştir-



mek ve uygulamak amacı ile proliferasyon marker' larının yeri araştırılmaktadır. Bunlardan Ki-67, Proliferating Cell Antigen (PCNA) ve AgNOR üzerinde durulmaktadır. (10,32,33,36,82,83)

Özofagus lümen açıklığı % 75 ve daha fazla oranda azalmadığı sürece fonksiyonel kayıp olmamakta ve tümörün luminal gelişimi geç olduğu için erken bulgu vermemektedir. (11,15) Lezyonların erken dönemlerde saptanabilmesinin tek yöntemi yüksek riskli gruplarda, vital boyaların eşliğinde endoskopi ile tarama programlarının uygulanması ve gerektiğinde biyopsilerin alınmasıdır. Bu sayede tümörler, olası prekanseröz ve perikanseröz lezyonlar saptanabilmektedir. (12,15,24,25,26)

Yassı epitel displazileri perikanseröz lezyonlar olarak kabul edilmekle birlikte, prekanseröz olup olmadıkları halen tartışmalı bir konudur. (7,13,27) Bunların dışında özellikle yüksek riske sahip toplumlarda, özofajit ile atrofinin ve hatta bazal hücre hiperplazisinin (BHH) bile belli oranlarda prekanseröz lezyonlar olabileceği üzerinde durulmaktadır. (5,6,7,16, 18,28)

Yüksek grade' li displaziler ve CİS lezyonlarının invaziv kansere ilerleyebilme olasılıkları yüksektir. Daha düşük grade' li displaziler ve diğer kansere eşlik eden mukozal lezyonlar hiç ilerlemeden yıllarca kalabilmekte ve hatta gerileyebilmektedir. (5)

Vital boyama yöntemleri ile yapılan taramalarla özofagus kanserleri erken dönemlerde saptanabilmekte ve hastaların yaşam süreleri de uzamakla birlikte mide ve diğer gastrointestinal kanal erken dönem kanserlerdeki kadar tatmin edici olmamaktadır. (29) Bu nedenle son yıllarda özofagus kanserinde yapılan çalışmalarda proliferasyon marker' ları sıkça kullanılmaya başlanmıştır. (16,30) Burada amaç diğer insan solid tümörlerinde olduğu gibi, özofagus kanserlerinde de daha agresif seyretme ihtimali olan hasta gruplarını tanıyabilmek ve ek tedavi stratejileri geliştirebilmektir. (10,31,32,33,34) Epitelyal lezyonlarda, hücrelerin proliferatif aktivitesi kantitatif olarak ölçülerek, invaziv kansere ilerleyebilecek olanların saptanabileceği bildirilmektedir. Tümör gelişmeden, endos-

kopik biyopsilerde yüksek riskli hasta gruplarının tanımlanabilmesi ve küratif tedavi yöntemlerinin uygulanabilmesi, bu incelemenin değerinin ortaya konması ile mümkün olabilir. (13,16,35,36)

Bu bilgiler eşliğinde, 27 özofajektomi materyali bulunan çalışmamızda, özellikle YHCa' larda klinik, histopatolojik özellikler ve AgNOR, Ki-67, PCNA proliferasyon marker' ları kullanılarak proliferasyon indekslerinin birbirleri ve prognoz ile ilişkisinin araŐtırılması amaçlanmıŐtır. Ayrıca prekanseröz lezyonlar arasında bulunan displazilerin grade' lendirilmesi ve aynı proliferasyon marker' larının yardımı ile bu lezyonların proliferasyon kapasiteleri ile grade' leri arasındaki ilişkinin açığa çıkarılarak, bu Şekilde tümöre  nc  olabilecek yüksek riskli ve düşük riskli lezyonların belirlenmesi de çalışmanın diğer amacını oluşturmaktadır.



## II- GENEL BİLGİLER

### II a- ÖZOFAGUSUN EMBRİYOLOJİK GELİŞİMİ

Özofagus gelişimin erken dönemlerinde endodermin ön barsak kısmından (foregut) oluşur. Gestasyonun yaklaşık 21. gününde ön barsağın yan duvarlarından septum çıkar ve füzyona uğrar. Daha sonra ön barsak özofagus ve trakea olarak longitudinal ekseninde bölünür. Bu bölünme karinadan başlar ve yukarıya doğru ilerler. Gestasyonun yaklaşık 5-6. haftasında bölünme işlemi tamamlanır. Özofagus dorsal kısım, trakea da ventral kısımdan oluşur. (37)

Özofagus başlangıçta ince, çok sıralı kolumnar bir epitel ile döşelidir. Daha sonra bu epitel proliferasyonla lümeni tamamen doldurur. Bu epitelin vakuolizasyonu ile 6. ve 7. haftalarda lümen yeniden oluşur. Gestasyonun yaklaşık 8. haftasında, 1/3 orta kısımda silialı hücreler ortaya çıkar, yukarıya ve aşağıya doğru ilerleyerek çok sıralı kolumnar epitelin üzerini hemen hemen tamamen örter. Onuncu hafta civarında proksimal ve distal uçlarda tek bir kolumnar hücre tabakası toplanır. Dördüncü ayda bu hücreler lamina propriyaya girerek özofageal kardiak tip bezler oluşur. Daha sonra proliferasyon ve differansiyasyon gerçekleşir. Gestasyonun 5. ayında, özofagus orta 1/3 kısmında çok sıralı yassı epitel gelişmeye başlar ve proksimal ile distal uçlara doğru ilerler. Üst özofagus yassı epitel ile döşenen son bölgedir. Bazen doğumda silialı hücreler kalmış olabilir. Bunlar doğumdan sonra 2 ve 3. günlerde yerini yassı epitele bırakır. Yine doğum sırasında kardiak bezlerin üzerinde kolumnar epitel kalabilir. Bunlarda aynı şekilde, çok kısa bir sürede yerini yassı epitele bırakırlar. Özofagusda yassı epitelin ortaya çıkışından sonra submukozal bezler gelişir ve bu bezlerin muhtemelen yassı epitelten köken aldıkları düşünülmektedir. (37,38)

Gestasyonun yaklaşık 6. haftasında sirküler kas tabakası, 9. haftada da longitudinal kas tabakası gelişir. Başlangıçta muskularis propria tamamen düz kaslardan meydana gelirken , daha sonra üst özofagusta aşamalı şekilde çiz-

gili kas oluşmaya başlar ve yaklaşık 5. ayda düz kaslar ile çizgili kaslar normal oran ve dağılımlarına kavuşurlar. Bu morfogenetik olaylardaki hataların, özofagusun gelişimsel bozukluklarına neden olduğu düşünülmektedir. (38)

## **II b- ÖZOFAGUS' UN NORMAL YAPI VE FONKSİYONU**

Normal özofagus farinks ile mide arasında uzanan uzun, dar bir müsküler kanaldır. Krikoid kartilaj ve servikal 6. vertebra seviyesinde, farinksden başlar. Toraksı arka mediastende geçer. Diyafragmayı geçtikten sonra karın boşluğunda birkaç santim ilerler, mide ile torakal 11-12. vertebra hizasında birleşir. Özofagusun uzunluğu vücuda göre değişmekle birlikte, erişkinde 23-25 cm arasındadır. Yeni doğanda ise 10-11 cm uzunluğundadır. Pratikte endoskopik ölçümler kesici dişlerden itibaren yapılır. Bu durumda uzunluk ortalama 40 cm'dir. (38-42 cm) (38) UICC özofagus malignitelerinin sınıflama, evrelendirme ve rapor etmede kolaylık sağlaması için kesici dişlerden itibaren özofagusu 4 segmente ayırmıştır. (39)

- 1- Servikal özofagus (krikoid kartilaj-toraks girişi; 15.cm-18.cm)
- 2- Üst torasik özofagus (torasik giriş- trakea bifurkasyonu;18.cm-24.cm)
- 3- Orta torasik özofagus (trakea bifurkasyonu-8.servikal vertebra hizası;24.cm-32.cm)
- 4- Alt torasik özofagus (8.servikal vertebra hizası-gastroözofageal bileşke;32.cm-40.cm )

Özofagus mediastende uzanırken, çevre organlarla komşuluğu nedeni ile lümen daralma bölgeleri bulundurur. Bunlar krikoid kartilaj seviyesi, özofagusun sol ana bronkus ve sol atriyum ile çaprazlaştığı yerler ve diyafragmadan geçtiği bölge şeklinde sıralanabilir. Bu bölgelerde luminal daralma nedeni ile besinler durakladığı için kontakt mukozal hasar olasılığı artmaktadır. Bu tür besin duraklamaları en fazla aort kavsı ve sol atriyum seviyesinde olmaktadır. (37, 38,39)

Özofagusta yapılan manometrik çalışmalarda 2 ayrı yüksek basınç bölgesi saptanmıştır. Bu bölgelerde dinlenme halinde bile özofagus kısmen kontraktedir. Bunlardan ilki proksimalde lokalizedir ve üst özofagus sfinkteri (ÜÖS) olarak adlandırılır. Bu bölge krikofarinks kası seviyesinde bulunan, 3 cm' lik bir segmenttir. Alt özofagus sfinkteri (AÖS) olarak adlandırılan diğer bölge de, distalde, özofagusun karın boşluğundaki kısmında, anatomik gastroözofageal bileşkenin hemen proksimalinde yer alan 2-4 cm' lik bir segmenttir. (37,38,39)

Her iki sfinkterde yutma işlemi sırasında önemli rol oynar. Özellikle AÖS anatomik olmaktan çok fonksiyonel bir sfinkterdir. Yutma işlemi peristaltik kontraksiyonlar takip eder. Daha sonra bu kontraksiyonlar özofagusun genişlemesi ile artarlar. Bunun sonucunda AÖS açılır ve yutma refleksi tamamlandıktan sonra kapanır. Özofagus motilitesi nörojenik, myojenik ve hormonal kontrol altındadır. Ancak fizyolojik mekanizmaların hala açıklanamayan bazı özellikleri vardır. (37,39)

Özofagus duvarı gastrointestinal kanala özgün mukoza, submukoza, musküler tabaka ve gastrointestinal kanalın diğer organlarından farklı olarak adventisiyadan meydana gelir. İçte mukoza, submukoza, ortada muskularis propria ve en dışta adventisya' dan oluşur. Mukoza üstte nonkeratinize çok katlı yassı epitel, bunun altında lamina propria ve muskularis mukozadan meydana gelir. Epitelyal tabakanın bazalinde melanositler ve langerhans hücreleri gibi bazı özel hücre tipleri bulunur. Endokrin hücrelerin bulunduğu söz edilmekle birlikte bunların varlığı bazı kaynaklarda tartışmalıdır. Melanositler genellikle epidermiste bulunan ve melanin pigmenti yapımından sorumlu olan hücrelerdir. Langerhans hücreleri de dendirik histiositik hücrelerdir ve antijen prezente ederler. Lamina propria mukozanın epitelyal olmayan kısmını oluşturur. Gevşek bağ dokusundan meydana gelir. İçinde vasküler yapılar, lenfatik damarlar, dağınık az sayıda iltihabi hücreler ve mukus salgılayan bezler bulunur. "Papilla" diye adlandırılan parmaklı çıkıntılar yaparak epitel içine uzanır.

Muskularis mukoza ise özofagus eksenine paralel uzanan düz kas demetlerinden meydana gelen ince bir tabakadır. (37,38,39)

Submukoza gevşek bir bağ dokusu şeklindedir. Burada kan damarları, zengin bir lenfatik ağı, dağınık iltihabi hücreler, yer yer lenfoid folliküller, Meissner pleksusunun da bulunduğu sinir lifleri ve submukozal bezler bulunur. Bu bezler orofarinksdeki tükrük bezlerinin bir devamı olarak kabul edilmektedir ve bütün özofagus boyunca submukozada dağınık şekilde yerleşir. Ancak üst ve alt özofagus segmentlerinde kısmen daha yoğun bulunurlar. (37,38,39)

Muskularis propriya gastrointestinal kanalın diğer pek çok kısımlarında olduğu gibi içte sirküler, dışta ise longitudinal yerleşimli, iki ayrı kas tabakasından meydana gelir. Bu iki tabakanın arasında Auerbach sinir pleksusu bulunur. Proksimal özofagusun 6-8 cm' lik segmentinde, muskularis propriya çizgili kas içerir. Çizgili kas oranı distale doğru giderek azalır ve yetişkinde proksimal 10-12 cm' den sonra normalde izlenmez. (37,38,39)

Gastrointestinal kanaldaki diğer organların tersine, özofagus sadece karın boşluğundaki küçük bir segment dışında serozal tabaka bulundurmaz. Seroza yerine muskularis propriya'nın dışında gevşek bir bağ dokusu ve damarlardan oluşan adventisya tabakası bulunur.(37,38,39)

Torakal özofagus, çevre organları da benzer şekilde saran tabaka şeklinde fasiya ile sarılıdır. Bu nedenle toraks organları ile yakın komşuluk halindedir ve enfeksiyonlar ile tümörler, toraks organlarına kolaylıkla yayılmaktadır. Bu yayılma özellikle arka mediastene olmaktadır. Ayrıca submukoza ile mukozadaki lenfatiklerin, özofagus uzunluğu boyunca zengin bir ağ oluşturması, özellikle tümörlerin erken dönemde yayılımına neden olmaktadır. (39)

Farklı segmentlerin lenfatikleri, farklı lenf nodüllerine döküldüğü için, özofagusda tümörler lokalizasyonlarına göre farklı yerlere metastaz yapabilmektedir. Üst 1/3 özofagusun lenfatikleri servikal lenf nodüllerine, venöz dolaşım da superior vena kavaya ulaşır. Orta 1/3' ün lenfatikleri mediastinal lenf nodüllerine, venleri de azigos sistemine dökülür. Alt 1/3 özofagusun lenfatikleri ise

gastrik lenf nodüllerine, venleri gastrik venlere, daha sonra da vena porta' ya dökülür.(37,38)

## II c- ÖZOFAGUS KARSİNOMU (CA)

Özofagus tümörlerinin çok büyük bir kısmı (% 98) epitelden köken alırlar. Daha önceleri malign tümörlerin % 90' ını yassı hücreli karsinom (YHCa) oluştururken, son yıllarda Adeno karsinomlarda (Adeno Ca) belirgin bir artış saptanmaktadır. Özofagus karsinomu geç bulgu veren, tanı anında genellikle ileri evrede bulunan, kötü prognozlu bir malignitedir. Günümüzde klasik patoloji kitaplarında, özofagus malign tümörlerinin dağılımında değişiklikler belirtilmektedir. Ancak bu oranlar coğrafik bölgelere göre farklılıklar gösterebilmektedir. (1,4,20,37,39) (Tablo 1)

**Tablo 1: Özofagus karsinomlarının son yayınlara göre oranları**

Özofagus Karsinomları (%)
I- Yassı Hücreli Ca (YHCa) (%76)
II- Adeno Karsinoma (Adeno Ca) (%16)
Adeno Karsinoma
Adenoskuamoz Karsinoma
Mukoepidermoid Karsinoma
Adenoid Kistik Karsinoma
III- Diğer Spesifik Karsinomlar (%0.3)
Küçük Hücreli Karsinoma
Undifferansiye Karsinoma
IV- Metastazlar (%7.7)



## Yassı Hücreli Kanser ( YHCa )

### Epidemiyoloji ve Etyoloji:

Özofagus Ca genellikle yetişkinlerde, 50 yaş üzerinde ortaya çıkar. Daha önceki yıllarda kadın/erkek (K/E) oranı 1/20 olarak bildirilirken, son kaynaklarda bu oran yaklaşık olarak 1/2-1/4 arasında saptanmaktadır. (3,20,25,39, 40) Ancak Güney Afrika' daki yüksek riskli popülasyonlarda K/E farkı görülmektedir. (6) Özofagus kanseri, bütün dünya genelinde 6. en sık rastlanan kanserdir. İnsidansında ülkelere, hatta aynı ülkede yörelere göre coğrafik farklılık sergiler. (1,3,41) Kuzey Çin, Portoriko, Güney Afrika, Hindistan, Sri Lanka, Singapur, Orta Asya, İran' da Hazar Denizi kıyıları, insidansın belirgin şekilde yüksek olduğu bölgelerdir. (1,3,5,6,15,25,42,43,44) Aynı ülkede ırklara göre de farklılık bulunabilir. Örneğin ABD' de zencilerde beyazlara göre özofagus kanseri görülme sıklığı 4 misli daha yüksektir. (2,20) Çin' in kuzey bölgelerinde görülme oran 263/100000 şeklinde izlenirken, diğer bölgelerinde 56/100000' e düşmektedir. (25) Yine Çin' in yüksek riskli bölgelerinde, yaklaşık her 3-5 kişiden biri özofagus kanseri nedeni ile ölmektedir. (6,15,16,43,44,45) Avrupa ve ABD' de da genel popülasyonda insidans 3-10/100000 olarak bildirilmektedir. (42,46) Ülkemizde en sık Doğu Anadolu ve Doğu Karadeniz bölgelerinde izlenir. Ancak insidansı henüz tespit edilmemiştir. (8)

Özofagus YHCa etyolojisinin tek bir etkene bağlı değil, multifaktoriyel olduğu düşünülmektedir. Epidemiyolojik çarpıcı farklılıklar, yüksek riskli bazı bölgelerde evcil hayvanlarda da izlenmesi ve E/K oranının azalması, diyet ve çevresel etkenlerin önemini desteklemektedir. (4,11,18,19,25,41,47) Yüksek insidansa eşlik eden faktörler 4 ana grup altında incelenebilir. (Tablo 2) (39)



**Tablo 2: Ana gruplar halinde yüksek insidansa eşlik eden bazı faktörler**

<b>Yüksek İnsidansa Eşlik Eden Faktörler</b>
I- Madde Bağımlılıkları
II- Beslenme Alışkanlıkları
III- Çevresel Etkiler
IV- Eşlik Eden Diğer Hastalıklar

Özofagus kanseri multifaktoriyeldir ve yüksek insidansa eşlik eden faktörlerin birkaçının birden rol oynadığı düşünülmektedir. Özellikle Çin' de evcil hayvanlarda da bulunduğu için çevresel faktörler baskın durumda olarak değerlendirilmektedir. (4,11,19,18,25,40,42,46, 47,48,49,49,50)

Etyolojide en fazla üzerinde durulan risk faktörleri, ABD ve Avrupa ülkeleri başta olmak üzere alkol ve sigara kullanımınıdır. (2,3,18,41,50) Alkolün etkisi tek başına oldukça az olup, sigara ile birlikteliğinde özofagus kanseri riski, doz ve süre bağımlı olarak çok yükselmektedir. (17,25,) Etanolün 80 gr/gün'den ve sigaranın da 40 paket/yıl' dan fazla kullanımında, özofagus kanseri riski, bunları kullanmayan bireylere göre 44 misli artmaktadır. (3,18) Alkol kullanımında sadece süre ve miktar değil, içkinin cinsi de önem kazanmaktadır. Sert likörler bira ve şaraba göre daha yüksek riske sahiptirler. Tütün tipleri arasında da kanser riski açısından farklılıklar bildirilmektedir. Bu tür yüksek riskli alkollü içeceklerde polisiklik hidrokarbonlar ve nitrozaminler gibi karsinojenler bulunmaktadır. Ayrıca alkolün etkisine yöresel beslenme alışkanlıklarının neden olduğu, vitamin yetersizlikleri de eklenmekte ve muhtemelen karsinogenezi hızlandırmaktadır. Meyve ve sebzedden zengin beslenme ile sigara ve alkolün karsinojen etkisinden karşı korunulabileceği öne sürülmektedir. (25,17) Alkolün mukozal mikrozomal enzimleri indüklediği ve sigarada bulunan karsinojenlerin metabolik aktivasyonunu arttırarak, karsinojenik değişikliklere neden olduğu düşünülmektedir. Bir kısım araştırmacıya göre alkol tek başına karsinojen olmayıp, sigara içindeki karsinojenlerin mukoza içine penetrasyonunu sağlamaktadır.(17) Etanolün

etyopatogenezdeki fonksiyonuna yönelik bir çalışmada, karsinojen değil sinkar-sinojen veya kokarsinojen olarak davranabildiği ileri sürülmüştür. Ağızdan alınan etanolün ilk metaboliti olan asetaldehit, hayvanlarda karsinojen olarak bilinmektedir. Asetaldehitin büyük bir kısmı aldehit dehidrogenaz-2 (ALD-2) tarafından metabolize edilir. Uzak doğulularda, bu enzime ait geninin bulunduğu al-lelde mutasyonun sık olduğu saptanmıştır. Bu genetik sebeplerle, özofagus kanseri gelişiminde, asetaldehidin önemli rolü olabileceği düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda alkolik olan ve alkol bağımlısı olmayan özofagus kanserli hastalarda, bu bölgelerde ALD-2 gen mutasyonlarına normal kişilerden daha yüksek oranlarda rastlanılmıştır. Buna ek olarak alkolik olan ve alkol bağımlısı olmayan özofagus kanserli hastalar arasında da istatistiksel olarak, anlamlı mu-tasyon varlığı saptanmıştır. Slaughter ve ark.ının geliştirdiği "alan kanserizasyonu" teorisine göre, üst aerodigestif traktın tüm epitelyal yüzeyi, ortak bir kar-sinojene maruz kalmakta ve kanser riski arttığı gibi multisentrik malignite odak-ları da gelişmektedir. (28, 51,52) Asetaldehidin böyle bir rolü olabileceği düşü-nülmektedir. Özellikle yüzeysel özofagus kanserinin alkolik hasta gruplarında, alkol bağımlılığı olmayan özofagus kanserli hastalara göre 3-4 misli daha fazla saptanması ve alkol kullanan hastalarda mide ve özofagus kanserlerinin daha sık olması, alan kanserizasyon teorisini ve asealdehidin bu süreçteki olası rolünü destekler niteliktedir. (17,53,54) Madde bağımlılıklarından birisi olan opi-atların kullanımında da özofagus kanseri riski artmaktadır. (2,4)

Beslenme alışkanlıklarına bağlı risk faktörleri ise temel olarak eser mi-neral ve vitaminlerin eksikliklerine bağlıdır. Bu mineral ve vitaminlerin büyük bir kısmı hücre proliferasyonunun ve differansiyasyonunun kontrolünde ve hücre savunma mekanizmalarında kullanılmaktadır. Özellikle eser mineral ve metal-lerden çinko, demir, selenyum ve molibden üzerinde durulmaktadır. (25, 39) Hayvan deneylerinde, çinko içermeyen diyetin, özofagusda mukozal değişiklik-leri indüklediği gösterilmiştir. (25) Güney Afrika' da insidansın yüksek olduğu bölgelerde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, besin maddelerinin içinde se-

lenyum miktarının oldukça düşük olduğu bildirilmektedir. (55) A vitaminleri, riboflavin, C vitamini ve bazı B kompleks grubu vitaminlerinin eksikliği, yüksek özofagus kanseri riskli gruplarda genellikle bulunmaktadır. A ve B vitaminleri, özofagus mukozasında proliferasyonun kontrolünde rol oynarlar. Bunlardaki eksikliğin, prekanseröz lezyonların gelişiminde etkisinin olabileceği düşünülmektedir. Ancak A grubu vitaminlerinden olan retinol' ün bulunduğu yiyeceklerin tüketilmesinde kanser riskinin arttığı, karoten içeren yiyeceklerle ise bu riskin azaldığı gözlenmiştir. (25) Bireyin kan folik asit seviyesi normal olsa bile mukozalar, yüzey epitelleri ve hormonal uyarımlardan etkilenen organlarda lokalize folat eksikliği gelişebilmektedir. Ayrıca sigara, alkol ve ilaçlar gibi bazı dışarıdan alınan maddeler, folik asit fonksiyonlarını inaktive etmekte, değiştirebilmekte, doğumsal olarak folik asit metabolizmasında ve alımında bozukluklar olabilmektedir. (55)

Özofagus mukozasının uzun süreli ve sürekli sıcak içeceklere veya kostik ajanlara maruz kalması sonucunda özofajit geliştiği ve özofagus kanserine neden olduğu düşünülmekle birlikte, son zamanlarda bu teorinin geçerliliği kalmamıştır. (2,4,25,39,41)

Yiyecek ve içeceklerin nitrozo bileşikleri gibi karsinojenler, tohumlar ve mikotoksinlerle kontaminasyonu çevresel etkenler arasındadır. (2,3,4,25,40,47, 48,49) Bu karsinojenlerin, DNA' da spesifik mutasyonlara neden olabildikleri ve böylece etyopatogenezde rol oynayabilecekleri öne sürülmektedir. (41,50) Çünkü yapılan çalışmalarda, özofagus kanserinde çok çeşitli genetik değişiklikler saptanmıştır. (Tablo 3) Özellikle sigara dumanındaki karsinojenlerin karakteristik gen mutasyon patternlerine yol açabileceği, bunların arasında p53 tümör süpresör gen mutasyonlarının da bulunabileceğine dair ipuçları vardır. Ancak bu konuda daha fazla çalışmaya gereksinim duyulmaktadır. (9,14,40,56,57)

**Tablo 3:** Özofagus karsinomlarında çeşitli değişikliklerin saptandığı genler ve bu değişikliklerin görülme oranları (9)

GENLER	GÖRÜLME ORANI (%)
hst-1/ int-2/ cyclin D1 (11q13)	50
EGF reseptör	14
c-myc	14
p-53	30-50
APC	66
Rb	48
3p	44
9p	71
9q	35
11q	45
17q	62
MTS1/ CDK41	50

Özofagus mukozasındaki bazı lezyonlarda kanser insidansı yükselmektedir. Özellikle yüksek risk bölgelerinde, toplumun %80' lere kadar varan büyük bir kısmında özofajit saptanmıştır. (5,18,25,26,58) Özofajit termal, mekanik, kostik ajanlar ile radyasyon veya gastroözofageal reflü sonucunda gelişebilmektedir. Genellikle hayatın erken dönemlerinden itibaren çevresel faktörlerin, diyetteki bazı eksikliklerin de eşliğinde, kronik mukozal inflamasyona neden olduğu düşünülmektedir. Ayrıca yiyeceklerin, çeşitli tohumlar ve silika ile kontaminasyonu sonucunda, mekanik irritasyon ile özofajite neden olabilecekleri de ileri sürülmektedir. (25)

Akalazyia özofagus kanserinin gelişme riskinin yüksek olduğu bir hastalıktır. Bu kişilerde, normal popülasyona göre 8-33 katı fazla kanser geliştiği bildirilmektedir. Akalazyia semptomlarının başlangıcından yaklaşık 17-20 yıl sonra kanser gelişmektedir. Sekresyonların ve yiyeceklerin stazı ile retansiyon sonucunda, mukozada kronik inflamasyonun karsinoma zemin hazırladığı bildirilmektedir. (25,59)

Barret özofagus' ta, gastroözofageal bileşkede sıklıkla Adeno Ca, nadirinde YHCa riski artmaktadır. Gastroözofageal reflü varlığında gastrik içeriğin kansere neden olduğu zannedilmekle birlikte, yapılan hayvan deneylerinde gerçekte duodenoözofageal reflünün kansere neden olduğu, duodenel reflü

varlığında, mukozadaki progenitör hücrelerin sadece normal yassı epitel ve YHCa' ya değil, aynı zamanda kolumnar epitel ve Adeno Ca' ya dönüşebilme potansiyeline sahip olduğu gösterilmiştir. (60,61,62)

Özofagus kanserinin sıklıkla eşlik ettiği genetik geçişli bir hastalık da Tylosis' dir. Bu hastalarda kalıtsal bir defekt nedeni ile ayak tabanlarında ve a-  
vuç içlerinde hiperkeratoz olur. En az 28 ayrı formu vardır. Özofagus Ca geliş-  
me riski çok yüksektir. 65. yaşa ulaşan hastaların % 95' inde özofagus Ca gelişt-  
tiği bildirilmektedir. Özofagus epitelinde akut inflamasyon temel anormalliktir.  
Bununla birlikte tek hücre keratinizasyonu da bulunmaktadır. Bu değişiklikler,  
yassı epitel displazisine göre daha erken yaş gruplarında izlenmektedir. Matu-  
rasyon anomalileri de oldukça sık olmaktadır. Özellikle parakeratosis' e eşlik  
eden bazofilik inklüzyonlar ve glikojenik akantosis gibi anomaliler oldukça sık  
bulunmaktadır. Bazofilik cisimcikler, normalde yassı epitelin fonksiyonel taba-  
kasında bulunurlar. Glikoprotein ve asit fosfataz içerdikleri, lizozomal sistemin  
bir parçası olarak dezmozom miktarlarının kontrolünde rol oynadıkları düşünül-  
mektedir. Çok büyük boyutlara ulaştıklarında kerato-hyalen granüllerle karış-  
maktadırlar. İnflamasyonda ve Tylosis' li hastalarda, daha büyük ve çok sayıda  
izlenirler. Bir kısım hastada da şiddetli yüzey keratinizasyonu saptanabilmekte-  
dir. Son çalışmalarda kanser gelişiminde, artmış EGRF' nin rolü olabileceği ileri  
sürülmektedir. (25,58,63,64)

Epidermolysis bülloza, Plummer-Vinson hastalığı ve Gluten Enteropati-  
sinde de özofagus kanseri riski artmaktadır. Ayrıca bu hastalıkların dışında, ö-  
zellikle Çin, İran ve Rusya' da herhangi bir hastalığın bulunmadığı ve özofagus  
kanserinin çok fazla izlendiği ailelerin varlığı bildirilmektedir. (25)

Özofagus karsinogenezinde suçlanan bir diğer ajan Human papilloma  
virüs (HPV) dür. Yüksek özofagus Ca riski olan gruplarda, normal epitel ile yas-  
sı epitel hiperplazisinde, kansere eşlik eden hiperplazide, şeffaf hücreli akantoz  
(clear cell achantosis) ile yassı epitel displazilerinde HPV saptanmıştır. Şimdiye  
kadar özofagus Ca' larda HPV 6, 11, 16, 18, 30 ile bir vakada da HPV 73 sap-

tanmıştır. Çalışmalarda özofagus Ca' larına %40-66 oranlarında HPV' nin eşlik ettiği bildirilmektedir. Kesin bir bulgu bulunmamakla birlikte, karsinogenezde HPV' nin p53 proteini üzerinden rol oynadığı ve diğer etyolojik ajanlarla sinerjik etkisi olduğu düşünülmektedir. Özellikle HPV 16 ve 18 üzerinde durulmaktadır. Ayrıca HPV genomu bulunduran ve p53 overekspresyonu gösteren vakalarda, prognoz daha kötü olmaktadır. (4,25,40,46,48,65)

Sonuç olarak özofagus kanserinde, çevresel ve besinsel faktörler sinerjik davranmaktadır. Muhtemelen nutrisyonel eksiklikler, karsinojenlerin tümörojenik etkilerinde, promotor ve potansiyel artırıcı etki yapmaktadır. İnsidansın yüksek olduğu bölgelerde yaşayanlarda, kronik özofajit sık olarak izlenmektedir. Bu duruma karsinojenlerle kronik olarak etkileşme neden olabilmektedir. Kronik özofajit sonucunda, "epitel turnover" ı artmakta, bu karsinojenik ortamda yassı epitel displazisi ve sonrasında kanser gelişebilmektedir. Özofajit, yassı epitel displazisi ve kanser gelişimi muhtemelen, genetik ve irksal faktörler birlikte rol oynamaktadır. Faktörlerden sadece sigara ve daha az oranda da alkolün, malignite ile kesin ilişkisi saptanabilmiştir. Diğer ajanlarda, kesin bir etyolojik-patogenetik birliktelik henüz gösterilememiştir. (37,39)

#### Klinik Bulgular:

Özofagusda karsinom sinsi gidişlidir ve özofagus kanseri terimi ile genellikle YHCa kastedilmektedir. Bunun sebebi, burada en sık (% 60-95) bu tip karsinomun gelişmesidir. (20) Yaklaşık 6-8 ay arasında gelişen ve ilerleyen disfaji ve buna eşlik eden odinofaji ile semptom verir. Yutma güçlüğü, katı gıdalardan sıvılara doğru ilerleme gösterir. Beslenme yetersizliği ile tümörün kendisi, aşırı kilo kaybı ve düşünlüğe neden olur. Tümör ülsere olduğunda, tabloya kanama ve sepsis eşlik eder. Nadiren trakeaözofageal fistül nedeni ile ilk bulgu, gıdaların aspirasyonu olabilir. (37,39,63)

Özofagus kanserinin en olumsuz özelliklerinden birisi, semptomlar ortaya çıktığında kürabil rezeksiyon dönemini genellikle geçmiş olmasıdır. Disfa-



jinin gelişebilmesi için, lümen çapının en az % 30' una kadar azalmış olması gerekmektedir. Rekürrent laringeal sinir basısına bağlı olarak ses kısıklığı gelişebilir. (37,39)

Hastaların ancak % 20-30' una operasyon yapılabilir. Bunların % 20' si hemen operasyon sonrası dönemde sağ kalabilir. Operable özofagus kanserinin prognozu, rezidüel hastalık, invazyon derinliği, lenf nodüllerinin durumu ile yakından ilişkilidir. İnoperable vakalarda palyasyon amacı ile radyoterapi uygulanabilir. (37,39,63,66,67)

Genel olarak özofagus kanserlerinin 5 yıllık yaşam süresi, ilerlemiş kanserlerde % 0.8-15, erken kanserlerde ise % 56-90 arasında değişmektedir. (18,19,20,22,23) Sinsi gidişine rağmen, yüksek riskli gruplarda yapılan taramalar ile rezektabilite oranı % 50' lerin altından % 80' lerin üzerine çıkabilmiştir. Operasyon sonrası lokal ve uzak rekürrens oldukça sıktır. Rezeksiyon sırasında lenf nodülü metastazı olması 5 yıllık yaşam süresini önemli ölçüde azaltmaktadır. (39,66,67)

Özofagusun lenfatik ağının özellikleri nedeni ile malignite erken dönemde, longitudinal ve sirkumferensiyel eksenlerde yayılır. Özofagus duvarında, primer tümörden uzak satellit metastazlar yapabilir. Transmural invazyonu, lenf nodülü metastazı takip eder. Üst özofagusdaki tümörler servikal lenf nodüllerine, orta özofagusdaki tümörler mediastinal, parabronşial veya paratrakeal lenf nodüllerine, alt özofagusdakiler ise gastrik ve çöliak lenf nodüllerine metastaz yaparlar. (37,39)

Özofagus karsinomlarının operasyon sonrası evrelendirilmesinde, "Japanese Committee for Registration of Esophageal Carcinoma" nın geliştirdiği modifiye TNM sistemi son yıllarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu sistemde tümörün duvardaki invazyon derinliği ve lenf nodülü ile uzak metastazlara göre evrelendirme yapılmaktadır. (68) (Tablo 4,5)

**Tablo 4: Operasyon sonrası özofagus karsinomlarının evrelendirilmesi**

Kategori	Lezyonun Yayılımı
<b>Primer Tümör</b>	<p><b>T1</b> Tümör submukozayı invaze etmiş, ancak daha ileriye gitmemiştir</p> <p><b>T2</b> Tümör muskularis propriayı invaze etmiş, ancak daha ileri gitmemiştir.</p> <p><b>T3</b> Tümör adventisyayı invaze etmiştir.</p> <p><b>T4</b> Tümör komşu dokuları invaze etmiştir.</p>
<b>Lenf Nodülleri</b>	<p><b>N0</b> Lenf nodülü metastazı yoktur.</p> <p><b>N1</b> Lenf nodülü metastazı vardır.</p>
<b>Metastaz</b>	<p><b>M0</b> Uzak metastaz yoktur.</p> <p><b>M1 LYN</b> Uzak lenf nodu metastazı vardır.(ör:supraklavikular veya intraabdominal )</p> <p><b>M1</b> Organ metastazı</p>

**Tablo 5: Özofagus karsinomlarının operasyon sonrası evrelendirme grupları**

Evre	T	N	M
I	T1	N0	M0
IIa	T2	N0	M0
	T3	N0	M0
IIb	T1	N1	M0
	T2	N1	M0
III	T3	N1	M0
	T4	N0	M0
	T4	N1	M0
IV	T*	N*	M1

\*Herhangi bir T veya N

Özofagus Ca' sının ilk tanısı genellikle endoskopide biopsi ile konur. Preneoplastik ve prekürsör lezyonların, erken dönemde saptanabilmesi amacı ile yüksek risk gruplarında, endoskopide vital boyalar kullanılmaktadır. Toluidin mavisi ve lugol testi bunlara örnek verilebilir. Lugol testi yüksek risk gruplarında çok fazla kullanılan bir yöntemdir. Hastaların özofageal mukozaları endoskopi sırasında lugol ile boyanmaktadır. İyot ile normal skuamoz epitelin glikojeni arasındaki reaksiyona dayanan bir testtir. Normal epitelde yeşil-kahverengi bir boyanma olur. Bu test ile CİS, yassı epitel displazisi, atrofi, özofajit, glikojenik akantosis ve invaziv Ca alanları normal epitelde ayrılabilir. Glikojenik akantosis alanları normalden daha koyu boyanır. İnvaziv Ca, CİS ve şiddetli displazi alan-



ları genellikle boya almazlar. Hafif ve orta displazi alanları da boya almakla birlikte, normal epitele göre daha soluk boyanırlar. Ancak bazen orta ve ağır displazi, atrofi ile özofajit alanlarının, normal epitel ile aynı şekilde de boyanabildiği saptanmıştır. Bu boya glikojen içeren epitelin kalınlığını yansıtır. Boyanma patterninin iki komponenti vardır. Bunlar boyanma yoğunluğu ile marjinal solukluk derecesidir. Ca ile normal mukoza arasında keskin bir geçiş olur. Bu tür tarama çalışmaları özellikle Çin ve Japonya olmak üzere yüksek risk gruplarında uygulanmaktadır. Ancak Lugol boyanmasında yanlış (+) veya (-) sonuçlar alınabilir ve yanıltıcı sonuçlar verebilir. (11,12)

#### Patoloji:

Özofagusda gelişen kanserlerin genel olarak %90-95 YHCa olduğu bildirilmekle birlikte, son yapılan bir çalışmada bu oran %76 olarak saptanmıştır. Yine aynı çalışmada Adeno karsinoma %16, küçük hücreli karsinomayı da içeren diğer spesifik karsinomalar %0.3, metastazlar %7.7 olarak bildirilmektedir. (Tablo 1) Başka bir çalışmada ise adeno karsinoma' ların, son 5 yıl içinde özofagusda gelişen karsinomaların %40' nı oluşturduğu gözlenmiştir. (20,37,69,70)

Yassı hücreli kanserlerin yaklaşık %56' sı orta özofagusda, %32' si alt özofagusda, %2' si ise üst özofagusda yerleşir. Makroskopik olarak %60' ı polipoid, %25' i ülser, %15' i infiltrate özellikler göstermektedir. Mikst paternler oldukça sıktır. (39)

Mikroskopik olarak tümörler iyi, orta ve kötü differansiye olabilirler. Genellikle orta derecede ve iyi differansiye tümörler daha sık olarak izlenmektedir. Tümörler büyük hiperkromatik nükleuslu, belirgin nükleollü poligonal hücrelerden meydana gelirler. "İntersellüler bridgeler" saptanabilir. Tümörlerin bir kısmında glob korne (keratin incileri) ile karakterli ileri derecede differansiyasyon izlenebilir. (39)

Daha önce açıklanmış anatomik ve histolojik özellikler nedeniyle, mide ve diğer gastrointestinal kanal tümörlerine göre özofagus karsinomunda, lamina propria invazyonundan sonra her zaman lenf nodülü metastazı riski vardır. Ancak bu risk, tümörün invazyon derinliği arttıkça hızla yükselme eğilimi göstermektedir. Örneğin muskularis mukoza invazyonu bulunan olgularda bölgesel lenf nodülü tutulumu %8, submukoza invazyonunda da bu oran %35-40 olarak bildirilmektedir. Duvar invazyonu tümörlerin prognozunu ve biyolojik davranışını yansıtan önemli bir parametre olduğu için özofagus karsinomları invazyon derinliğine göre sınıflandırılmaktadır. Submukoza ile sınırlı tümörler **Yüzeysel (Superficial) özofagus Ca**, muskularis propria ile adventisya invazyonu bulunan tümörler de **İlerlemiş (Advanced) özofagus Ca** olarak sınıflandırılmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda submukozaya henüz ulaşmamış tümörler ile submukoza invazyonu olan tümörlerin prognozları arasındaki farklılıklar nedeni ile, submukoza invazyonu bulunmayan yüzeysel tümörler ile submukozal invazyonu olup lenf nodülü metastazı bulundurmeyen tümörler **Erken (Early) özofagus Ca** olarak adlandırılmaktadır. Bazı araştırmacılar lamina propria ile sınırlı tümörleri **Mikroinvaziv özofagus Ca** şeklinde sınıflandırmışlardır. Batılı ülkelerde Erken özofagus Ca görülme oranı %0.7-4.7 olarak bildirilirken bu oran Japonya' da %24 olarak saptanmaktadır. Yüksek özofagus Ca insidansına sahip Japonya ve Çin' de, son yıllarda Erken ve bir kısım Yüzeysel özofagus Ca, endoskopik mukozal rezeksiyon ile tedavi edilmektedir. Ancak araştırmacıların çoğunluğu, submukoza invazyonu bulunduran tümörlerin, İlerlemiş özofagus Ca ile gibi tedavi edilmeleri, yani özofajektomi ve sistematik bölgesel lenf nodülü disseksiyonunun yapılmasını önermektedirler. (11,13,29,47,71) **Minute kanser** teriminde ise lezyonun 1 cm' den küçük olduğu ifade edilmektedir. Daha önceleri prekürsör lezyon olarak kabul edilen CİS artık Erken özofagus Ca' larının içinde ve **intraepitelyal Ca** olarak kabul görmektedir. CİS' da epitelin bütün kalınlığı boyunca atipik yassı epitel hücreleri vardır ve henüz bazal membran sağlamdır. (42)

Özofagus yassı hücreli kanserin çeşitli varyantları vardır. Her iki antite-  
de duvarda invazyon yapmadığı için prognozları YHCa' dan daha iyidir.(37)

- **Verrüköz Karsinoma** : Lümene doğru gelişen, çok iyi differansiye yassı hücrelerden oluşur. Sitolojik malignite bulguları içermez. Ancak submukoza invazyonu varlığında verrüköz karsinoma tanısı konabilir.(37)

- **Polipoid Karsinoma** : (Psödosarkoma, karsinosarkoma) Atipik spindil şekilli hücrelerden meydana gelir. Elektron Mikroskopide ve İmmünohistokimyasal olarak bu hücrelerde mezansimal özellikler saptanmıştır. Makroskopik olarak özofagus duvarında mukozaya bir sapla tutunmuş kitle olarak izlenir.(37)

#### **Adeno Karsinoma (Adeno Ca):**

Genellikle Barrett özofagusa eşlik eder. Adeno kanserlerin çoğu alt 1/3 özofagusta gastroözofageyal bileşkeye yakın gelişirler. Makroskopik olarak lü-  
mende kitle veya nodül şeklinde bulgu verirler. Barrett özofagus zemininde ge-  
lişen Adeno karsinomlar multifokal olabilirler. Çoğunlukla iyi veya orta derece-  
de differansiye glandüler tümörlerdir. Mikroskopik olarak mide veya barsak a-  
deno karsinomlarına benzerler. Kansere zemin hazırlayan Barrett özofagusda  
çeşitli tiplerde displastik değişiklikler veya intramukozal karsinom olabilir. Ade-  
no karsinomların çeşitli varyantları vardır. (37)

- **Adenoskuamöz karsinoma** : Malign sitolojik özellikler gösteren glandüler ve stromal komponent vardır.

- **Mukoepidermoid karsinoma** : Yassı hücreli kanser odağı içinde glandüler differansiyasyon izlenir.

- **Adenoid kistik karsinom** : Deri ve tükrük bezlerinin kistik kanserine benzer. Tümörlerin 2/3' ü özofagusda yerleşir. "Fungating" kitle şeklinde gelişir. Duktuler ve miyoepitelyal hücrelerden meydana gelirler. Solid, bazoloid veya kribri-  
form patternler gösterebilirler. Submukozal bezlerden köken alırlar.

• **Taşlı yüzük hücreli kanser** : Nadirdir. Midenin linitis plastikası ile ilişkilidir. Makroskopik olarak izlenebilen, luminal bir kitle oluşturmaksızın, malign taşlı yüzük hücreleri tüm özofagus duvarını infiltre eder.

#### **Küçük Hücreli Karsinoma:**

Diğer bölgelerin undifferansiye küçük hücreli kanserlerine benzer. Bazen özofagusdada görülebilir. Tümör hücrelerinde nörosekretuar granüller elektron mikroskopi ile saptanır.(37)

#### **Primer Malign Melanom:**

Genellikle epiteloid veya spindil şekilli hücrelerden oluşan polipoid tümörlerdir. Melanin pigmentasyonunun derecesi değişkenlik gösterir. Prognoz kötüdür. Ortalama yaşam süresi iki aydır.(37)

## **II d- ÖZOFAGUS KARSİNOMLARINA EŞLİK EDEN MUKOZAL LEZYONLAR**

Normal özofagus epitelinde, şeffaf sitoplazmalı matür yassı epitel hücreleri, sıkışmış nükleus fragmanları ve seyrek lenfositler izlenebilir. Bazal membranın üzerinde, glikojen içermeyen kuboidal, bazofilik hücrelerden oluşan bazal tabaka bulunur. Bu tabaka bütün epitel kalınlığının % 10-15' ni geçmez. Epitelin rejeneratif kısmını oluşturmakla birlikte genellikle mitoz saptanması zordur. Hücre turnover süresinin 7 gün kadar uzun olması bu durumun nedeni olabilir. Distal özofagusda yaklaşık 2 cm. lik bir segmentte, bazal tabaka fizyolojik regürjitasyon nedeni ile biraz daha kalın olabilir. Bazal tabakanın üzerinde prickle hücre tabakası, daha yukarıda ise fonksiyonel tabaka vardır. Her iki tabaka hücrelerinde fazla miktarda glikojen bulunur. Prickle hücre tabakasında matürasyon başlamıştır. Fonksiyonel tabakada yüzeydeki hücrelerde sitoplazma kaybı vardır ve bu tabaka muhtemelen lüminal içeriğe karşı bariyer görevi yap-

maktadır. (63,72) Lamina propriyada az sayıda, dağınık mononükleer iltahap hücreleri bulunur. Ayrıca popülasyonun yaklaşık %25' inde, normalin bir varyantı olarak kabul edilen, glikojenik akantoz (Clear cell akantosis) da izlenir. Glikojenik akantozun infeksiyon veya malignite ile ilişkisi yoktur. Makroskopik olarak, mukozada beyaz nodüller veya küçük plaklar şeklinde izlenir. Özellikle özofagusun distal 1/3 kısmında bulunur. Lezyonlarda boyut farklılıkları olabilir. Bir cm' den büyük boyutlara ulaşılabilir ve birleşerek büyük plaklar meydana getirebilir. Makroskopik olarak monilial plak ve lökoplaki ile karışabilir. Mikroskopik olarak çok fazla glikojen içeren prickle ve fonksiyonel tabakada, soluk ve şeffaf görünüm almalarına neden olacak kadar glikojen birikimi olur. Buna akantoz da eşlik etmektedir. (38,73)

Özofagus' da kanser dışında, bazı mukozal lezyonlar saptanabilir. Bu lezyonların bir kısmının kesin olmamakla birlikte çoğunluk tarafından premalign potansiyele sahip olduklarına inanılmaktadır.(Tablo 6)

**Tablo 6:** Özofagus kanserinde karsinogenezde rolü olduğuna inanılan premalign mukozal lezyonlar

#### **Premalign Mukozal Lezyonlar**

- Bazal hücre hiperplazisi
- Özofajit
- Atrofi
- Yassı epitel displazisi
- Atipik epitelyal tomurcuklanma

#### **Bazal hücre hiperplazisi (BHH):**

Bazal tabakanın, epitelin % 15' inden daha fazlasını kaplayacak şekilde kalınlaşmasıdır. Özofajit' ten farklı olarak, lamina propria papillalarında uzama veya başka bir anormallik yoktur. Hastaların endoskopi ile uzun süre takip edildiği bir çalışmada, BHH' nin hafif şiddette displazidekine benzer şekilde, normal mukozaya göre daha yüksek kanser gelişme riski taşıdığı bildirilmektedir. Ayrıca başka bir çalışmada normal mukoza p53 ile boyanmazken BHH' nin boyan-

ması özellikle yüksek risk gruplarında bu lezyonun neoplastik potansiyele sahip olduğu düşüncesini desteklemektedir. (5,74)

Akantoz :

Başka bir anomali olmadan epitelin 5 mm veya daha fazla olmasıdır. (5)

Parakeratoz:

Yüzeyel tabakada aşırı yassılaşıma, hyalen eozinofilik bir görünüm ile buna eşlik eden basıklaşmış koyu homojen nükleuslar bulunur. (5)

Atrofi :

Epitelin 10 hücre tabakasından daha az olmasıdır. (5)

Özofajit:

Aşağıdaki 3 kriterden 1 veya daha fazlası izlenir:

- 1- Epitelin üst 1/3' ünde lamina propriya papillalarında uzama olması ve buna bazal hücre hiperplazisinin eşlik etmesi.
- 2- Epitelin nötrofil ve eozinofil lökositlerce infiltrasyonu.
- 3- Lamina propriyada yoğun, ancak follikül oluşturmeyen mononükleer iltihabi hücrelerin veya nötrofil lökositlerin varlığı.(5)

Atipik epitelyal tomurcuklanmalar:

Mikroinvaziv YHCa' ların çoğu, değişik derecelerde hücresel atipi gösteren epitelyal tomurcuklanmalar bulunduran, intraepitelyal lezyonlarla çevrili olarak gözlenmiştir. Bunlar lamina propriyaya doğru gelişmiş olan atipik epitelyal tomurcuklardır. Bazal membran sağlamdır ve epitelin yüzeyinde matür normal yassı epitel hücreleri vardır. Bu tomurcuklanmalar 3 ayrı tipte olabilir. Tip I' de düzgün ve aynı boyuttadırlar. Tip II' de farklı boyuttadırlar. Tip III' de hem farklı boyutlarda hemde düzensizdirler. Invaziv Ca ile CİS ve şiddetli displazi

komşuluğundaki alanlarda, tip III tomurcuklanmalar saptanmıştır. Mikroinvaziv Ca' ların çoğu epitelyal tomurcuklanmaların ucundan başlamaktadır. Bu atipik epitelyal tomurcuklanmaların histogenezi bilinmemektedir. Hücrel atipinin derecesi, epitel tomurcukların oluşması ve invaziv Ca gelişimi arasında sıkı bir ilişki bildirilmektedir. Bu durum özellikle özofagus biopsi materyallerinde hücrel atipi ve epitelyal yapısal anormallikler bulunduğu önemlidir. Bronş epitelyalinde ve uterus serviksinde, mikroinvaziv kanserlerde benzer değişiklikler bildirilmiştir. Bu tomurcuklanmalar ya anatomik papiller damar bariyeri tarafından engellenmiş, aşağıya doğru gelişen displastik epitel proliferasyonudur ya da non-atipik yassı epitel tomurcuklanmanın yerini alan atipik epiteldir. Non-atipik epitelyal tomurcuklanmalar genellikle kronik özofajitte izlenirler. (42)

#### Skvamöz displazi:

Nükleer atipi (büyüme, pleomorfizm, hiperkromazi), polarizasyonda kayıp, matürasyonda bozukluk bulunmaktadır. WHO' nun 1990 yılındaki sınıflamasına göre, bu değişiklikler epitelin 1/3 alt kısmında ise *hafif*, 2/3 alt kısmında *orta şiddette*, alt 2/3' ünden fazlasında ise *şiddetli displazi* olarak derecelendirilmektedir. Şiddetli displazide, atipik değişiklikler bütün epitelin kalınlığına bulunmamaktadır. Yüzeyde az da olsa matür hücreler vardır. (54) Sıklıkla kanser bulunduran özofaguslarda izlenirler. YHCa' ya eşlik etmekte, Adeno Ca' larda daha az oranda izlenmektedir. Displazinin derecesi arttıkça kanser ile ilişkisinde artmaktadır. (26)

Prekürsör lezyonlar ve kanser gelişme riski açısından farklı toplumlarda farklı sonuçlar elde edilmektedir. Yüksek özofagus kanseri riski bulunan toplumlarda özofajit, atrofi ve displazinin, invaziv kanser için prekürsör lezyon olabileceği bildirilmektedir. Aynı toplumlarda, BHH ile hafif şiddetteki displazi az da olsa, normal mukozaya göre kanser gelişme riski taşımaktadır. Displazinin şiddeti arttıkça kanser gelişme riski de artmaktadır ve bazı araştırmacılar, şiddetli



displazi ile CİS arasında anlamlı bir fark bulunmadığını bildirmektedirler. Atipik hücrelerin epitelin tamamında bulunup bulunmamasına göre iki ayrı grupta incelemenin bir anlamı olmadığı ifade edilerek iki veya üçlü grade' li alternatif sınıflamalar önerilmektedir.(5) Rubio ve arkadaşları ise displazi ve CİS' yu non-invaziv skuamöz neoplastik lezyonlar olarak adlandırılıp bunları iki grup halinde sınıflandırılmışlardır:

I ) Hafif ve orta şiddetteki displazileri düşük grade' li intraepitelyal neoplazi olarak,

II) Şiddetli displazi ve CİS' yu ise yüksek grade' li intraepitelyal neoplazi adı altında toplamışlardır. (42)

Özofagus karsinomunda iki farklı tümör gelişimi dikkati çekmektedir. Bir grup hastada çok sayıda erken kanser odakları ile CİS ve değişik grade' lerden displaziler, invaziv kansere eşlik edebilmektedir. Böyle vakalarda, aralarında sağlam mukozal alanlar bulunduran, birden fazla invaziv kanser odakları olmaktadır. Bazı hastalarda ise tek ve büyük bir tümör kitlesi vardır. Bu invaziv kanser odağının çevresinde, daha az oranda displazi ve CİS gibi erken lezyonlar bulunur. Bazı otörler invaziv kanser komşuluğundaki intraepitelyal kanser odaklarını lateral intraepitelyal yayılım olarak kabul etmektedirler. (24,54)

Özofagus YHCa' da multisentrik gelişme veya alan karsinogenezi teorisi kabul görmektedir. Bu teoride karsinogenez, ilk önce epitelin belli bir alanında başlamakta, daha sonra karsinomatöz transformasyon gerçekleşmektedir. Sonra intraepitelyal Ca. vertikal invazyon göstermektedir. Böylece etrafında intraepitelyal Ca ile devamlılık gösteren, invaziv YHCa gelişmektedir. Çalışmalarda displazi ile karsinomaların multiplisitesi arasında yakın bir ilişki olduğu bildirilmektedir. Kanserli alanlarda sıklıkla displazi izenmekte ve bu displazi alanları da multiple olmaktadır. Aynı özofagusta çok sayıda kanser ve displazi odaklarının olması, bu lezyonların biyolojik olarak benzer özelliklere sahip olduklarını ve etyolojilerinde ortak genetik ve çevresel faktörlerin bulunabileceğini düşündürmektedir. (54)



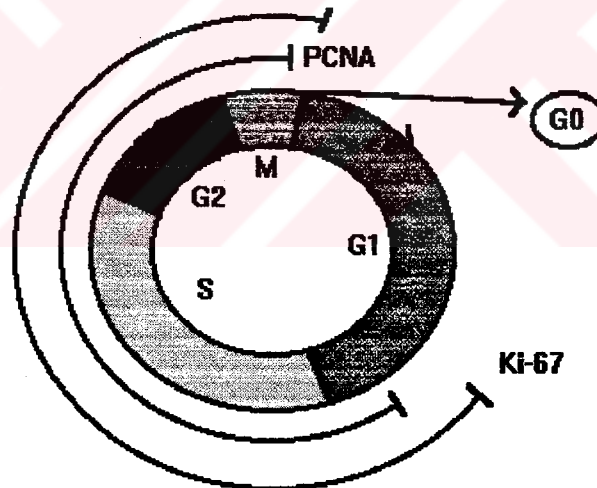
Yüksek ve düşük risk gruplu toplumlarda yapılan tarama çalışmalarında dispazi oranları birbirine çok yakındır. Ancak toplumlar arasında bu lezyonlar davranış farklılıkları göstermektedir. Yüksek riske sahip toplumlarda, displazi daha fazla oranda ilerleme göstermekte ve invaziv kanser gelişimine neden olmaktadır. Ayrıca bu popülasyonlarda prekürsör lezyon olarak kabul edilen özofajitin, düşük riskli toplumlardaki peptik özofajitten, endoskopik görünüm ve mikroskopik özellikler ile davranış açısından çok farklı olduğu düşünülmektedir. Yüksek riskli toplumlarda, kronik özofajitin ilerleyerek atrofiye neden olduğu, daha sonra ise sırası ile displazi ve kanser geliştiği düşünülmektedir. Kanser gelişimi için CIS aşaması gerekli değildir. Yapılan bütün çalışmalara rağmen YHCa histogenezinde displazinin önemi kabul edilmekle birlikte yeri hala kararlıdır ve kesin olarak ispatlanamamıştır. (18,75)

## **II-e HÜCRE SIKLUSU VE PROLİFERASYON MARKER' LARI**

Çok hücreli organizmalarda, apoptozis ve diğer nedenlerle olan hücre kayıplarının yerinin doldurulması için, hücrelerin çoğalması yani bölünmesi gerekmektedir. Hücre siklusu hücre tiplerine göre değişkenlik gösterir. Sinek embriyolarında siklus süresi 8 dakika iken, memeli hepatositlerinde bu süre 1 sene kadar uzamaktadır. Hücre siklusu çeşitli fazlar halinde incelenmektedir. Bunlar içinde en dikkat çekici olanı mitozdur (M fazı). Süre açısından siklusda çok kısa bir yer tutar. Ancak bu fazda nükleer bölünme gerçekleşmektedir. Nükleer kılıf ortadan kalkar, nükleus içeriği kromozomlar halinde yoğunlaşır. Hücredeki mikrotübüllerinde yardımcı ile bu kromozomlarla mitotik spindl oluşur. Mitoz ilerlerken metafaz aşamasında kısa bir duraklama olur. Çift hale gelmiş kromozomlar ayrılmaya başlar. Bu çift kromozomların ayrılması ile anofaz başlar. Anofazda kromozomlar ayrılarak spindlların iki ucuna doğru çekilirler. Burada

tekrar yoğunlaşarak tam bir nükleus oluştururlar. Bundan sonra hücrenin tamamen ikiye bölündüğü "sitokinesis" fazı gerçekleşir. (76)

Siklusda M fazının dışındaki süre genel olarak "interfaz" şeklinde tanımlanmaktadır. Bu süre sırasında hücreler oldukça aktiftir. Belirli bir düzen ve sıra içinde siklus için gerekli hazırlıklar yapılır. Ayrıca interfaz sırasında kısmen DNA replikasyonu olur. Bu nükleer DNA replikasyonu interfazın sadece küçük bir kısmını oluşturur. Bu döneme S (sentez) fazı ismi verilir. Mitoz bitimi ile S-fazı arasındaki süreye G1 (Birinci Gap) ismi verilmektedir. S-fazı sonu ile M-fazının arası ise G2 fazını (İkinci Gap) oluşturmaktadır. G1 ve G2 fazları, hücreye mitoz öncesi yeterli miktarda büyüebilmesi için süre kazandırmaktadır. G2 fazı hücre için güvenlik süresidir, DNA hasarının tamiri gerçekleşir. Mitoza girmeden önce DNA replikasyonunun tamamlanmış olması sağlanır. (Şekil 1) (76)



**Şekil 1:** Hücre siklusu ve Ki-67 ile PCNA' in ekspresyon süreleri

Bu hücre siklusu standart olarak memelilerde en az 12 saat veya daha uzundur. En fazla değişkenlik G1 süresinde izlenmektedir. G1' deki hücreler DNA replikasyonu yapmayıp, dinlenme fazı olan G0' a geçerek sikludan çıkabilirler. G0' da proliferasyon olmadan günler, haftalar veya yıllarca kalabilir. (76)

Kanserlerin çoğunda prognoz ile proliferasyon arasında korelasyon bulunduğu bildirildiği için, tümörlerin proliferasyon hızlarının ölçümü ve buna da-

yanılarak, biyolojik davranışlarının belirlenilmeye çalışılması, son yıllarda patolojide gittikçe önem kazanan bir konu haline gelmiştir. (32)

Tümör hücrelerinin proliferasyonu ve hücreler arasındaki denge, tümörün büyüme hızını belirlemektedir. Hücre siklus zamanı ve proliferasyon hücrelerin oranı tümörün proliferasyon durumunu belirler. Bunun saptanmasında kullanılan en eski yöntem mitoz sayısıdır. Mitoz sayısı tümöral hücre popülasyonunda, sadece M-fazındaki hücrelerin oranı hakkında bilgi verir. Ancak daha önce de belirtildiği gibi M-fazı siklusun çok küçük bir kısmını oluşturmaktadır. Bu yöntemle diğer fazlarda bulunan proliferatif hücrelerin saptanabilmesi mümkün değildir. (36,76)

1960' ların başlarında, DNA sentezinde kullanılan bir madde olan timidin ile S-fazındaki hücreler saptanmaya başlanmıştır. Bu madde tritiated timidin formunda radyoaktif olarak işaretlenebilmektedir. Diğer bir yöntem ise timidin' in artifisiyel bir analogu olan Bromodeoksi Uridin' in (BrdU) kullanılmasıdır. Anti-BrdU antikolar ile S-fazında olup, BrdU kullanan hücreler immünohistokimyasal (IHK) olarak saptanabilmektedir. Her iki yöntemde de sadece S-fazındaki hücreler saptanabilmekte ve bu maddelerin önceden hücrelere uygulanması gibi pahalı ve zaman alıcı hazırlık işlemleri gerektirmektedir. Tritiated timidin ise radyoaktif ve solid dokulara penetrasyonu zor olduğu için pek tercih edilmemektedir. (76,77)

1970' lerin başında flow sitometri kullanım alanına girmiştir. Hücre siklusunu hakkında hızlı ve objektif fikir verebilmektedir. S, G2, M-fazındaki hücreleri saptar. Ancak fazla miktarda tümör dokusu gerektirmekte, küçük biyopsilerde kullanışlı olmamaktadır. Ayrıca G1-fazındaki hücreler saptanamamaktadır. Bir dezavantajı da morfoloji imkanı olmaması ve arada tümör dışı hücrelerinde değerlendirilmesidir. (77,78)

Daha sonraki yıllarda İHK' nin kullanımı oldukça yaygınlaşmıştır. Özellikle hücre siklusuna eşlik eden antijenlerin İHK' sal olarak saptanması, hücre kinetiği ile ilgili çalışmalarda patologlarca daha fazla tercih edilir olmuştur. Bun-

lardan en fazla çalışılanlardan bir tanesi DNA polimeraz- $\alpha$ ' dır. Bu antijen tüm proliferen ökaryotik hücrelerde DNA replikasyonunda anahtar enzim rolündedir. Bu enzim İHK' sal olarak çoğu insan tümöründe çalışılmıştır. Diğer proliferasyon marker' ları ile paralel sonuçlar verdiği ve tümörlerin proliferatif aktivasyonu ile ilişkili olabileceği bildirilmektedir. Ancak frozen materyal gerektirmekte ve değerlendirmeler arasında çok fazla farklılıklar göstermektedir. (30)

Aktif olarak bölünen ve proliferen olan hücrelerde bulunan diğer nükleer antijenlerden Ki-67 ve "Proliferating Cell Nuclear Antigen" (PCNA) en önemlileri arasında sayılabilir. Bu antijenlere karşı geliştirilen antikolar proliferasyon marker' ı olarak kullanılmaktadır. (30)

#### Ki-67:

Ki-67 antijeni non-histon nükleer bir proteindir. 345-395 kD ağırlığında iki polipeptid zincirlerden meydana gelir. Molekül ağırlığı yüksek ve proteazlara çok hassas bir gen ürünüdür. Ki-67 geni 10q25' de lokalizedir. (79) Ki-67 nükleusda kromatin ve mitoz sırasında da kromatidlerle sıkı ilişki halindedir. İleri derecede bazik bir proteindir. DNA' yı bağlama özelliği bulunan yapısal bir protein olduğu ileri sürülmektedir. Fonksiyonu kesin olarak bilinmemektedir. Ancak 3' ve 5' domainlerin düzenleyici fonksiyonlarının bulunabileceği veya diğer non-DNA yapılarla ilişkileri kontrol ediyor olabileceği düşünülmektedir. Prolifere olan bütün canlı hücrelerinde bulunmaktadır. (80)

Ki-67 antikorunu ilk defa 1983' de Gerdes ve arkadaşları tarafından kullanılmıştır. Özellikle 1985' den sonra Ki-67 antikorları ile yapılan çalışmalar hızla artmıştır. Monoklonal Ki-67 antikorunu elde etmek için antijen olarak Hodgkin hastalarından köken alan L428 hücrelerinin nükleer parçaları kullanılmıştır. Kiel' de üretildiği ve antikor üreten klon, 67. kültür plağında olduğu için Ki-67 olarak adlandırılmıştır. Ki-67 antijeni tanımlanmıştır. Ki-67 antijeni, G0 ve erken G1-fazı dışında siklusda bütün fazlarda eksprese edilmektedir. (Şekil 1)

Antijenin %90' nı nükleolde, %5-10' u ise nükleoplazmada bulunmakta, metafazda kromozomların yüzeyinde izlenmektedir. (31)

Nükleusdaki Ki-67 antijen miktar ve dağılımı siklus fazına göre değişiklik göstermektedir. Siklus ilerledikçe antijenik ekspresyon artar. Bu artış S-fazının ikinci yarısında başlar, hücre G2 ve M-fazlarında iken Ki-67 antijen ekspresyonu en yüksek seviyelere çıkar. Bu artış hem normal, hem de neoplastik hücrelerde izlenir. Geç G1 fazında Ki-67 antijeni perinükleoler yerleşimlidir. S-fazında nükleoplazmada homojen olarak dağılır. G2-fazında ince granüler, dağınık bir pattern ile perinükleoler bir boyamanın karışımı izlenir. Mitoz sırasında profaz ve metafazda perikromozomal boyanma bulunurken, profazda buna nükleoplazmik, metafazda ise sitoplazmik boyanma da eşlik eder. Anofaz ve telofaz sırasında boyama yoğunluğu hızla azalır. (31)

Ki-67 ekspresyonu hücrenin beslenme durumundan çok fazla etkilenmektedir. Nutrisyonel olarak baskılanmış hücreler daha yavaş büyümekte, hücre siklusu uzamakta ve daha uzun süre Ki-67 ekspresyonu görülmektedir. Ayrıca iyi beslenemeyen tümör hücreleri hücre siklusunun çeşitli fazlarında duraklayabilmektedir. (81,82)

Ki-67 antijeninin sikluskaki gerçek fonksiyonu bilinmemektedir. Ancak bir ayarlayıcı molekül olduğu düşünülmektedir. İnsan da dahil çoğu canlı türünde, normal ve neoplastik hücrelerde saptanmıştır. Bu geniş evrimsel yaygınlık nedeni ile hücre proliferasyonunun regülasyonunda çok önemli rolü olduğu düşünülmektedir. (81)

Ki-67 proteini çok sayıda prolin, glutamik asit, serin, trionin motifi içermektedir. Bu nedenle çok hızlı katabolize olmaktadır. Yarı ömrü çok kısa olup, bu süre yaklaşık 1 saat kadardır. Bu nedenle ve G0 dışında siklusun bütün fazlarında eksprese edildiğinden, sikluskaki hücrelerin saptanması açısından çok yararlı bir belirleyici (marker) olabileceği düşünülmektedir. (83)

Ki-67 antikoru, Ki-67 antijeninin çok labil bir epitopunu tanımaktadır. Bu epitop sadece frozen kesitlerde saptanabilmektedir. Ki-67 antikorunun kullanı-

mını sınırlayan bu özelliği nedeni ile, murine monoklonal antikolar olan ve parafine gömülmüş formalin tespitli dokularda da çalışabilen MIB-1 ve MIB-3 antikoları üretilmiştir. Ki-67 antijeninin, rekombinant parçalarına karşı immünize edilmiş farelerden elde edilen bir antikordur. MIB-1' nin, Ki-67 antikoruна eşdeğer ve daha avantajlı olduğu ispatlanmıştır. MIB-1, optimal morfoloji korunumuна eşlik eden kuvvetli bir immünreaksiyon göstermektedir. Pozitif ve negatif hücreler arasında çok net bir ayırma imkan vermektedir. Yapılan invitro çalışmalarda, MIB-1 boyanması ile hücre siklusu arasında sıkı bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Gerek frozen kesitlerde çalışan Ki-67 antikoru, gerekse MIB-1 ile yapılan çok sayıdaki çalışmalarda tümörlerde proliferatif aktiviteyi oldukça iyi yansıtabilecekleri bildirilmektedir. (31,80,83,84,85)

#### Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA):

İHK' sal olarak çalışılan diğer bir proliferasyon marker' ı ise "Proliferating Cell Nuclear Antigen" (PCNA) dir. PCNA 36 kD ağırlığında, non-histon, asidik bir nükleer proteindir. 262 aa sekanslı bir yapısı vardır ve DNA polimeraz- $\delta$  ' nın kofaktörüdür. İlk defa 1978' de SLE' li hastaların nükleer antijenlerine karşı reaktif serumlarında saptanmıştır. DNA polimeraz- $\delta$ , S-fazında, DNA' nın replikasyonu sırasında rol alır. DNA polimeraz- $\delta$  ' nın, DNA replikasyonunda rolü bulunduğu ve hücre siklusunda düzenleyici bir protein olduğu kabul edilmektedir. Temel olarak S-fazında eksprese edilmekle birlikte geç G1 ve G2/M interfazlarında da daha az oranlarda saptanabilmektedir. (Şekil 1) PCNA' in DNA sentezi ve hücre proliferasyonunun başlatılmasında önemli role sahip olduğu düşünülmektedir. (32,86,87,88,89,90,91)

PCNA hücrede iki çeşit boyanma patterni gösterebilir. Granüler boyanma patterni, muhtemelen replizoma bağlı PCNA kaynaklıdır. Sitoplazmik boyanma patterni ise mitotik hücrelerde saptanmaktadır. S-fazında granüler patterndeki PCNA boyanması subfazlara göre farklılıklar göstermektedir. Erken S-fazında nükleusda, dağılımı homojen olmayan küçük noktacıklar şeklinde izlenir.



Bu noktacıklar nükleus periferinde ve perinükleoler kısımda bulunmazlar. Muhtemelen çok sayıda replizom demetleri bulunduran, replikom domainlerine bağlıdır. S-fazı ilerledikçe noktacıklarda sayıca belirgin artış vardır. Daha sonra nükleus periferinde ve perinükleoler alanda da noktacıklar izlenir. S-fazının sonlarına doğru noktacıkların sayısında ve boyutlarında artış olmaktadır. Bunun nedeni geç replike olan heterokromatin yaklaşmasıdır S-fazının sonunda ise DNA replikasyonu olmaktadır ve noktacıklarda artış sınırlı sayıdadır. Çoğu çift şeklinde dağılım göstermektedir. (92)

Non S-fazındaki PCNA boyamasının ise fiksasyon ve antikor tipine bağlı olduğunu ve deterjanlarla azaltılabileceği bildirilmektedir. Parafin kesitlerde S-fazı spesifik PCNA boyaması ile non S-faz boyanması güvenli bir şekilde ayrılamamaktadır. (93)

PC10, PCNA' ya karşı geliştirilmiş, Wasseem ve Lane tarafından karakterize edilmiş, formalin tespitli, parafine gömülmüş dokularda da başarılı sonuçlar veren monoklonal bir antikordur. Ancak tespit süresinden etkilenmektedir. 24 saatten daha uzun tespitlerde immunreaksiyon azalmakta, 72 saatten daha uzun süre formolde kalmış materyallerde ise boyanma olmamaktadır.(33,94)

PCNA' in proliferasyon markeri olarak kullanılmasında bazı sakıncalar vardır. Bunun nedenlerinden birisi yarı ömrünün uzun olmasıdır. Yaklaşık olarak 20 saatden daha uzun olduğu bildirilmektedir. Bu nedenle sikludan çıkmış olan hücrelerde de PCNA saptanabilmektedir. Diğer bir istenmeyen özelliği ise PCNA' in sitokinler ve growth faktörlerden etkileniyor olmasıdır. İnflamatuvar hücreler veya ortamda bulunan tümöral hücrelerden salınan growth faktörler muhtemelen mRNA stabilitesini artırmakta ve siklusda bulunmayan hücrelerde bile PCNA ekspresyonuna neden olmaktadır. Yapılan son çalışmalar PCNA' in nükleotid eksizyon tamir olayında da rol aldığını göstermektedir. Bu özellikleri nedeni ile siklusda olmayan, DNA' sı hasarlanmış hücrelerde de PCNA ekspresyonu saptanabilmektedir. (94,95,96,97)

Sonuç olarak PCNA' in İHK' sal olarak saptanması, hem aktif DNA replikasyonunu, hemde karsinogenez ile sonuçlanan DNA hasarını göstermektedir. Bunun ekspresyonu düzensiz hücre proliferasyonunun göstergesi olarak kullanılabilir. Ancak diğer proliferasyon marker' ları ile karşılaştırıldığında, özellikleri nedeni ile genellikle daha yüksek sonuçlar vermektedir. (97)

### AgNOR:

Hücre kinetiği ile ilgili araştırmalarda kullanılan bir diğer yöntem ise AgNOR' dur. Gümüş nitrat solüsyonları içeren bazı boyama yöntemleri 1800' lü yıllardan sonra, nöral dokuların incelenmesi amacı ile kullanılmaya başlanmıştır. 1937' de Page ve arkadaşları tümör hücresi nükleollerinde normal hücre nükleollerinden daha fazla gümüş boyanan cisimcik bulunduğunu ve bu yapılar ile tümör malignitesi arasında bir ilişki olabileceğini ileri sürmüştür. Howell ve ark. ile Goodpasture ve ark. 1975' de, insanda D ve G grubu 13,14,15 ve 21,22 no' lu akrosentrik kromozomların kısa kollarının, gümüşleme yöntemi ile boyanabileceğini ve gümüş boyasından sorumlu olan maddenin kromozomlardaki nükleik asitle birlikte bulunan bir takım asidik proteinler olduğunu bildirmiştir. İnsitu hibridizasyon yöntemleri ile boyanan bu bölgelerin rRNA segmentleri içerdiği saptanmış ve bu segmentlere "Nükleoler Organizer Regions:NORs" AgNOR' lar adı verilmiştir. (98,99,100,101,102)

Bu günkü AgNOR tekniğinin temeli sayılan bu yöntemler uzun yıllar genetik bilimi dışında kullanım alanı bulamamıştır. Yöntem 1980' li yıllarda Howell ve ark. ile Ploton ve ark. tarafından teknik açıdan geliştirilerek parafin blok kesitlerde de uygulanır hale getirilmiştir. Benign ve malign lezyonlar arasında AgNOR sayı ve dağılımı yönünden belirgin bir farklılık vardır. Daha sonra bu basit yöntem, Crocker ve ark' nın başlattığı çalışmalar ile patoloji alanına girmiştir. Son yıllar içinde, yöntemin tanısal ve prognostik tümör patolojisinde, hücre proliferasyon marker' ı olarak değerini ele alan çok sayıda çalışma yapıl-



mıştır. Bunların çoğunluğunda, hücre proliferasyon kapasitesinin belirlenmesinde, AgNOR yönteminin değeri vurgulanmaktadır. Son yapılan çalışmalarda AgNOR değerinin, hücrenin ploidisini yansıttığı ve dolaylı olarak proliferatif aktiviteyi gösterdiği ileri sürülmektedir. (35,103,104,105,106,107)

AgNOR yönteminde gümüş ile boyamayı sağlayan ve rRNA ile birlikte bulunan proteinler "Nükleoler Organizer Region Associated Proteins" kısaca NORAPs" veya AgNOR proteinleri" olarak adlandırılmaktadır. AgNOR proteinlerinin tümünün ayrıntılı yapısı tam olarak belirlenememiştir. Ancak bugün AgNOR proteinlerinin genel olarak non-histon yapısında asidik fosfoproteinler olduğu bilinmektedir. (1088)

• Başlıca AgNOR proteinleri :

- 1-RNA polimeraz I: 190 kD' luk bir protein.
- 2-Nükleolin(C23): 110 kD' luk en önemli AgNOR proteini.
- 3-B23: 35 kD' luk nükleoler fosfoprotein.
- 4-100 kD' luk nükleoler fosfoprotein.
- 5-80 kD' luk nükleoler fosfoprotein
- 6-135 kD' luk nükleoler fosfoprotein
- 7-105 ve 116 kD' luk nükleoler fosfoprotein.

Yapılan çalışmalara göre AgNOR proteinleri, rRNA gen bölgesinin veya daha geniş anlamıyla NOR' ların yapısal elemanlarıdır ve onlarla morfolojik bütünlük içindedir. Bu proteinlerin rRNA ve NOR' larla ne gibi bir fonksiyonel bütünlük içinde olduğu araştırılmaktadır. AgNOR proteinlerinden RNA polimeraz I' in, rRNA genlerinin transkripsiyonunu sağlayan enzim olduğu bilinmektedir. Diğer nükleoler proteinlerin, RNA polimeraz I ve rRNA' nın oluşturduğu transkripsiyon kompleksinin davranışlarını düzenlediği düşünülmektedir.(109, 110)

AgNOR değerlendirilirken amaç nükleus başına düşen ortalama NOR sayısının saptanmasıdır. Teknik olarak boya süresinin uzaması AgNOR' ların büyüterek birleşmesine ve gerçekte olduğundan daha düşük sayıda AgNOR

değerinin elde edilmesine neden olabilmektedir. İki ayrı sayım tekniği bulunmaktadır. Crocker sisteminde, nükleusda nükleol içinde ve dışındaki benekçikler tek tek sayılmaktadır. Howatt ve ark. larının geliştirdiği sayım tekniği de optimum boya süresinin uygulanamadığı durumlarda kullanılır. Bu teknikte nükleol içinde ve perinükleoler cisimcikler halinde ayrı ayrı değil ana gruplar halinde sayılmaktadır. (111)

## **I f- ÖZOFAGUS KARSİNOMUNDA PROLİFERASYON MARKER' LARI**

Yüksek proliferasyon hızının, tümörün agresiflik derecesine eşlik etmesi insan solid tümörlerinin ortak bir özelliğidir. Bu nedenle son yıllarda gerek tümörlerin prognozunu belirleyebilmek, gerekse muhtemel erken lezyonların preneoplastik özellikleri ile histogenezdeki yerlerini aydınlatabilmek amacı ile özofagus kanserlerinde proliferasyon marker' ları çalışılmakta ve yöntemler karşılaştırılmaktadır. (81)

Normal özofagus epitelinde Ki-67 ve PCNA bazal ve parabazal hücrelerde saptanırlar. YHCa da Ki-67 heterojen bir boyanma gösterir. İyi ve orta differansiye tümörlerde, tümöral adaların periferinde, differansiasyonun az olduğu hücrelerde pozitif boyanma olurken, santral keratinize adalara komşu hücrelerde boyanma saptanmamaktadır. Az differansiye kanserlerde ise daha diffüz bir boyanma patterni bulunmaktadır. Ki-67 skoru differansiasyon ile korrelasyon gösterirken, genellikle diğer klinikopatolojik parametrelerle korelasyon göstermemektedir. Özofagus kanserlerinin vasküler destekleri çevre normal mukozadan daha azdır. Tümör hücrelerinin proliferatif durumları da tümör kordonlarının tabanındaki mikrosirkülasyona bağlıdır. Yapılan bir çalışmada Ki-67 indeksi ile tümör dokusunun vasküler çatıya olan uzaklığı arasında sıkı bir ilişki saptanmıştır. Bu durum Ki-67 indeksi ile klinik evre arasındaki korelasyon eksikliğine neden olabilir. Ki-67' nin özofagusda, özellikle YHCa' larda histolojik grade' len-dirmede kullanılabileceği, ancak hastaların prognozunun belirlenmesinde evre

ve tümör boyutu ile birlikte değerlendirilmesinin daha efektif olacağı iddia edilmektedir. Ancak Ki-67' nin kuvvetli bir prognostik marker olabileceğini öne süreren yayınlar da vardır. (81,82,112)

Bir başka çalışmada ise submukoza invazyonu ve lenf nodülü metastazı ile MIB-1 skoru arasında ilişki saptanarak, özellikle endoskopik biyopsilerde proliferatif aktivite saptanmasının dışında, tümörün yaygınlık derecesinin belirlenmesinde de faydalı olabileceği öne sürülmektedir. (31)

Özofagus YHCa' larda PCNA indeksi ile lenfatik ve damar invazyonu arasında korelasyon bildirilmektedir. Ayrıca yassı epitel displazilerinin grade' leri ile paralel PCNA ve Ki-67 indeks artışına dikkat çekilmektedir. (32,33) Çalışmalarda AgNOR' un diğer proliferasyon marker' ları ile korrele olduğu ve prognozu iyi bir şekilde yansıtabileceği ancak venöz invazyon gibi başka patolojik parametrelerle kombine edildiğinde daha faydalı olabileceği ileri sürülmüştür. Bu yöntemin özellikle operasyon öncesi endoskopik biyopsilerde uygulanarak tedavi ve takibin yönlendirilmesi önerilmektedir. (36,10)

### III- MATERYAL VE METOD

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Cerrahisi Anabilim dalında 1993-1995 yılları arasında opere edilen ve Patoloji Anabilim dalında incelenen, toplam 27 özofajektomi tez çalışmasının materyalini oluşturmaktadır. Bütün materyallerde operasyondan hemen sonra özofagus lümeni tümörün karşısındaki duvardan longitudinal eksen boyunca açılarak, anatomik ölçülere uygun şekilde mantar veya tahta bloklara gerilmiştir ve fotoğraflanmışlardır.(Resim 1) Göğüs Cerrahisi Anabilim dalında, cerrahi sınırların belirlenmesi amacıyla rutin olarak mukozanın lugol solusyonuyla boyanarak fotoğraflandığı materyaller, daha sonra %10' luk formalin solüsyonu içerisinde 3-10 gün tespit edilmişlerdir. Çekilmiş olan fotoğraflar büyütülerek materyallerin haritaları çıkarılmıştır. Bu haritalarda uzun eksen boyunca 2 cm, horizontal eksen boyunca 0.5 cm' lik (2 cm uzunluğunda, 0.5 cm kalınlığında) işaretlenen bölgelere karşılık gelen alanlar tüm duvar kalınlığını içerecek şekilde örneklenmiş ve ışık mikroskopunda Hematoksilen-Eozin boyasıyla incelenmiştir.(Resim 2) Değerlendirilen tüm kesitlerde gözlenen lezyonlar haritalara işlenmiştir.

Olguların takip süresi 250-1350 gün ( $\cong$  8-45 ay) arasında değişmektedir. Yaşam süresi ile ilgili incelemelerde 1 YHCa olgusu klinik takibi bulunmadığı için, adeno Ca' larda sayıları çok az oldukları için istatistiksel olarak değerlendirilememiştir. İstatistiksel analizlerde YHCa olguları ölen ve yaşayanlar olmak üzere 2 ayrı grupta incelenmiştir.

Her olguda tümörün tipi, differansiyasyon derecesi (grade), invazyon derinliği, lenf nodüllerinin durumu, damar invazyonunun varlığı, tümör çevresindeki iltihabi hücre infiltrasyonunun şiddeti değerlendirilmiştir. Olgular Japanese Committee for Registration of Esophageal Carcinoma' nın yeni TNM klasifikasyonuna göre evrelendirilmiştir. (68) Ayrıca her vakada mukozadaki tümör dışı lezyonlar değerlendirilmiştir.

Değerlendirmede YHCa ve Adeno Ca. lar differansiyasyonlarına göre 4 gruba ayrılmışlardır. İyi differansiye tümörler Grade I, orta derece differansiye tümörler Grade II, az differansiye tümörler Grade III ve indifferansiye tümörlerde Grade IV olarak gruplandırılmışlardır. (112) Differansiyasyon değerlendirilirken YHCa' larda keratinizasyon derecesine ve "glob korne" miktarlarına, Adeno Ca' larda da bez yapılarının ne kadar iyi taklid edilmiş olduklarına bakılmıştır. YHCa' larda, genellikle geniş eozinofilik sitoplazmalı, poligonal atipik yassı hücrelerden oluşan solid tümöral adalar ve merkezlerinde glob korne veya keratinizasyon bulunduran tümörler, iyi differansiye (grade I) olarak değerlendirilmiştir. İyi differansiye olarak kabul edilen tümörlere benzer şekilde atipik yassı hücrelerden oluşan solid adaların bulunduğu, ancak glob korne ile keratinizasyonun çok az olduğu tümörler, orta differansiye (grade II) olarak kabul edilmiştir. Solid adaların daha az olduğu, genellikle küçük gruplar ve kordonlar halinde infiltrasyon bulunduran, glob korne içermeyen, keratinizasyon göstermeyen, daha dar sitoplazmalı yeryer fusiform hücrelerin oluşturduğu tümörler ise kötü differansiye (grade III) şeklinde gruplandırılmıştır. Adeno Ca' larda çoğunluğu iyi taklid edilmiş geniş bez yapılarından meydana gelen tümörler iyi differansiye (grade I); daha küçük kribriform alanlar içeren bezlerin ve yer yer küçük grupların bulunduğu tümörler orta differansiye (Grade II); genellikle büyük tümöral gruplar içinde az sayıda küçük kötü taklid edilmiş bez yapılarının bulunduğu tümörler de kötü differansiye (grade III) olarak değerlendirilmiştir. Hem adeno Ca' larda hem de YHCa' larda, hematoksilen-eozin kesitlerde, herhangi bir differansiyasyon göstermeyen atipik hücrelerden oluşan tümörler de indifferansiye (grade IV) tümörler olarak sınıflandırılmışlardır.

Tümörlerin duvardaki invazyon derinlikleri değerlendirilirken olgular muskularis propriya' ya kadar invazyon göstererek adventisyaya ulaşmamış olanlar ve adventisyal tutulumu olanlar şeklinde iki ayrı gruba ayrılmışlardır. Çevre organ tutulumu bulunanlar istatistiksel değerlendirmeye uygun sayıda

olmadıkları ve prognostik açıdan farklılık göstermedikleri için avantajlı tutulum gösteren grup içinde değerlendirilmişlerdir.

Özofajektomi materyallerinde, rutin olarak sistemli bölgesel lenf nodülü disseksiyonu yapılmadığı için, özofagus çevresindeki ve duvar içindeki lenf nodüllerinde ve eğer varsa ayrıca gönderilen lenf nodüllerinde tümöral invazyonun varlığı değerlendirilmiştir. Buna göre olgular lenf nodülü metastazı olanlar ve olmayanlar şeklinde iki gruba ayrılmışlardır.

Materyaller tespit olduktan sonra tümörlerin en uzun çapları ölçülmüş ve boyutlarına göre, 5 cm' ye eşit ve küçük olanlar ile 5 cm' den büyük olanlar şeklinde iki gruba ayrılmışlardır.

Alınan çok sayıdaki kesitlerde, kas yapısı ve/veya endotel tabakası seçilebilen lümenli yapıların içinde ve tümöral hücrelerin bulunması, damar invazyonu olarak değerlendirilmiştir. Bu şekilde olgular damar invazyonu bulunan ve bulunmayan olarak iki grup şeklinde incelenmişlerdir.

Olgularda tümörün en az differansiye olduğu alanlardan bir tanesinde, hematoksilen-eozin kesitlerde, 10 büyük büyütme alanında (BBA) mitoz sayılmıştır. Bu inceleme sırasında metafaz plağı ve mitotik spindil izlenen, anofaz ve sitokinezis fazlarında bulunan hücreler mitotik olarak kabul edilmiştir. Apoptoz ve mitoz ayrımı yapılamayan, piknotik nükleuslu hücreler değerlendirilmemiştir. Olgular istatistiksel incelemeler için mitoz sayısı 0-4 arasında olanlar ile 5 ve daha fazla olanlar şeklinde 2 grupta incelenmiştir.

Tümöre eşlik eden iltihabi hücre infiltrasyonu şiddetine göre üç grupta incelenmiştir. Normal özofagus duvarındaki miktarda iltihabi hücre infiltrasyonu varsa (-), normal özofagus mukozasından daha fazla diffüz veya gruplar halinde iltihabi hücre infiltrasyonu varsa (+), normal özofagus mukozasından daha fazla ve lenfoid follikül oluşturan iltihabi hücre infiltrasyonu varsa da (++) olarak değerlendirilmiştir. (26)

Kalınlığı 10 hücre sırasından fazla olan, 1-2 sıra halinde bazal tabakası izlenebilen ve atipi özellikleri bulundurmeyen yassı hücrelerden oluşan epitel alanları normal olarak kabul edilmişlerdir. (5)

Displaziler ve CİS' nin değerlendirilmesinde 1990 WHO kriterleri kullanılmıştır. Buna göre mitoz, nükleer pleomorfizm ve hiperkromazi bulunan, proliferatif zonun hafif genişlemesi ile karakterli intraepitelyal lezyonlar hafif (+) displazi; atipik proliferatif zonun epitelin 1/2' ine yayıldığı intraepitelyal lezyonlar orta şiddette (++) displazi; atipik proliferatif zonun epitelin 3/4' üne kadar olduğu intraepitelyal lezyonlar, şiddetli (+++) displazi olarak değerlendirilmiştir. CİS tanısı için ise epitelin üst tabakalarında hiç matür hücre bulunmadan bütün tabakaların atipik hücrelerin bulunması ve invazyon olmaması şartı aranmıştır. (5)

Tümör dokusu ve tümör çevresi lezyonlarda proliferasyon marker' larının incelenmesi amacıyla her olgudan en az differansiye tümör alanını içeren 1 blok ile tümör çevresi mukoza alanlarında gözlenen normal epitel, değişik derecelerde displazi, CİS lezyonlarını içeren bloklardan 4-6 mikrometre kalınlığında kesitler polylysin (Sigma) kaplı lamalar üzerine alınarak hazırlanmıştır.

Proliferasyon marker' ları olarak İHK' sal inceleme için monoklonal anti-PCNA (PC10/ Ylem) ve anti-Ki-67 (MIB-1/ Ylem) antikoları kullanılmıştır. İHK' sal boyama streptavidin-biyotin-peroksidaz yöntemi ile yapılmıştır. (DAKO LSAB 2 Kit ve Immunon Maxitags kit)

**Hazırlanan kesitlere immünohistokimyasal boyama için aşağıdaki basamaklar uygulanarak;**

1- Deparafinizasyon ve rehidratasyon sonrasında

2- Bir litrelik "Antigen Retrieval Solution" (Biogenex) içinde, ağzı kapalı bir kaptaki, beşer dakikalık 5 kez mikrodalga fırında yüksek enerji (750 W) ile antijen retrieval yapılmıştır. Bu basamak sadece MIB-1 antikoru için kullanılmıştır. Her 5 dakikalık seans arasında kesitler mikrodalga içinde 1' er dakika bekletilmiş ve solüsyon azalmış ise distile su eklenmiştir.

3- Oda sıcaklığında soğuma (20 dakika) sonrasında,



- 4- PBS ile yıkama (5 dakika) yapılmıştır.
- 5- %3' lük hidrojen peroksit ile endojen peroksidaz aktivitesinin ortadan kaldırılmıştır. (5 dakika)
- 6- PBS ile yıkama (5 dakika) sonrasında,
- 7- PC10 için "Protein Blocking Solution" 30 dakika uygulanmıştır.
- 8- Bundan sonra primer antikolar uygulanırken PC10 oda ısısında (1/300 dilüsyonda) 40 dakika, MIB-1 (önceden dilüe edilmiş hazır solüsyon) gece boyu kesitlere uygulanmıştır.
- 10- PBS ile yıkama (5 dakika) sonrasında,
- 11- PC10 için biotin konjuge anti-rabbit, anti-mouse, anti-goat polivalan sekonder antikoru 40 dakika, MIB-1 için biyotin konjuge anti-rabbit, anti-mouse polivalan sekonder antikoru 30 dakika uygulanmıştır.
- 12- PBS ile yıkama (5 dakika) sonrasında,
- 13- Streptavidin-peroksidaz kompleksi PC10 için 40 dakika, MIB-1 için 30 dakika uygulanmıştır.
- 14- PBS ile yıkama (5 dakika) sonrasında,
- 15- Amino-etil-karbazol (AEC) kromojen 20 dakika uygulanmıştır.
- 16- PBS ile yıkama (5 dakika) sonrasında,
- 17- Counterstaining (zemin boyaması) için Mayer's hematoksilin 1dakika kadar uygulanmıştır.
- 18- Bunun hemen ardından, musluk suyu ile yıkanan lamalar "Aqueous mounting medium" ile kapatılmıştır.

Her iki antikor içinde pozitif kontrol olarak normal tonsil dokusuna ait kesitler kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak, primer antikor yerine PBS kullanılarak diğer basamaklar uygulanmıştır.

Değerlendirme sırasında hücrelerdeki Ki-67 ve PCNA İHK' sal boyanmanın yoğunluğuna bakılmaksızın, nükleuslardaki kırmızı kahverengi boyanma pozitif olarak kabul edilmiştir. Her lezyonda 1000 hücre sayılarak pozitif hücrelerin yüzdesi bulunmuştur.

**AgNOR tekniği için aşağıdaki işlem basamakları uygulanmıştır;**

1- Deparafinizasyon.

2- Distile su ile rehidratasyon sonrasında,

3- Kesitler 25° C' de, 30 dakika karanlık ortamda, AgNOR çözeltisi içinde bekletilmiştir. AgNOR çözeltisi, % 1' lik formik asit içinde % 2' lik jelatin çözdürölüp, bu solüsyondan 1 ölçü alınarak, 2 ölçü % 50' lik sıvı gümüş nitrat ile karıştırılarak elde edilmiştir.

4- Buradan alınan lamalar distile su ile yıkanıp % 5' lik Na-thiosulphate içinde 3 dakika bekletilmiştir. Bundan sonra,

5- Distile su ile yıkanıp,

6- Xylen ile dehidratasyon' dan sonra zemin boyası yapılmadan kesitler "Mounting medium" ile kapatılmıştır.

Değerlendirme için immersiyon objektifi ile x1000 büyütmede, 100 hücrede NOR' lar sayılmış ve hücre başına düşen ortalama NOR sayısı AgNOR değeri olarak değerlendirilmiştir. Her lamdaki kesit kalınlığı ve kalitesi küçük NOR' ların tek tek sayılmasına olanak vermediği için sayımlarda Howatt ve ark. larının önerdiği küçük NOR' lar büyük NOR' lara eklenerek grup şeklinde sayılması yöntemi uygulanmıştır.

**İstatistiksel analizlerde** olguların sayısı az olduğu için genellikle non-parametrik testler kullanılmıştır. Tümör dokularının AgNOR, Ki-67 ve PCNA sonuçları ile klinikopatolojik parametreler Mann-Whitney U testi ve ki-kare testleri ile değerlendirilmişlerdir. Tümör dokularında proliferasyon marker' larının değerleri ile klinikopatolojik parametrelerin yaşam sürelerine olan etkileri t-testi, ki-kare ve Survival Analysis ile incelenmiştir. Tümör çevresi displazi ve CİS alanlarının proliferasyon marker sonuçları Student-Newman-Keul ile değerlendirilmiştir. Stromal iltahabi reaksiyonun şiddeti ile displazi ve CİS alanlarının arasındaki ilişki Ki-kare ile, lezyonların proliferasyon marker' ları ile iltihabın ilişkisi de Kruskal-Wallis One Way Anova ile incelenmiştir.

## IV- BULGULAR

### IV a- Tümörlerin Klinik ve Histopatolojik Bulguları

Bu çalışmada incelenen 28 özofajektomi materyalinin 1' inde tümör larinks kökenli olduğu ve özofagus invazyonu bulunmadığı için değerlendirilmeye alınmamıştır. 27 vakanın 23' ü (%85) YHCa, 4' ü (%15) Adeno Ca' dır. Olgular differansiyasyonlarına göre grade' lendirildiklerinde YHCa' ların 12' si (%52) grade I ve 11' i (%48) grade II' dir. (Resim 3,4 ve 5) Grade III ve IV olgu saptanmamıştır. Adeno Ca' ların 1' i (%25) grade I, 2' si (%50) grade II ve 1' i (%25) grade III olarak saptanmış, grade IV olguya rastlanmamıştır. (Resim 6,7 ve 8)

Bütün olguların yaş ortalaması 56,7' dir. Tümör tiplerine göre incelendiğinde YHCa için ortalama yaş 59.6, Adeno Ca için ise yaş ortalaması 65 olarak saptanmıştır. YHCa olguların çoğunluğu 6-7. dekatlarda (% 61) bulunmaktadır. Adeno Ca vakalarının 1'i 6. dekatta, ikisi 7. dekatta, biri ise 8. dekattadır. YHCa olgularında erkeklerin yaş ortalaması 59.7, kadınların yaş ortalaması 54.8, Adeno Ca olgularında ise erkeklerin yaş ortalaması 63 olarak saptanmıştır. Adeno Ca' ların tek kadın olgusu 71 yaşındadır. (Tablo 7)

Olguların yaş, cins ve tümör tiplerine göre dağılımları tablo 7' de incelenmiştir. Buna göre 11 kadın olgunun 10' u YHCa, 1' i de Adeno Ca' dır. YHCa' ların 16' sı (%61) 50-69 yaş grubu arasındadır. Toplam 16 erkek olgunun 13' ü (% 75) YHCa, 3' ü (%25) Adeno Ca' dır. Sonuç olarak toplam 23 YHCa olgusunun biri (%4) 30 yaşından küçük, 6' sı (%26) 30-49 yaş arasında, 14' ü (%61) 50-69 yaş arasında, 2' si (%9) 69 yaşından büyüktür. Adeno Ca' lar ayrı olarak incelendiğinde toplam 4 Adeno Ca olgusunun 3' ü (% 75) 50-69 yaş grubu arasında, biri (% 25) 71 yaşındadır. (Tablo 7)

**Tablo 7: Tümör tiplerinin cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı**

CİNSİYET	TM. TİPİ	YAŞ			
		30>	30-49	50-69	69<
Kadın	YHCa (%)	-	3 (13)	7 (30)	-
	Adeno Ca (%)	-	-	-	1 (25)
Erkek	YHCa (%)	1 (4)	3 (13)	7 (30)	2 (9)
	Adeno Ca (%)	-	-	3 (75)	-
Toplam	YHCa (%) n:23	1 (4)	6 (26)	14 (61)	2 (9)
	Adeno Ca (%) n:4	-	-	3 (75)	1 (25)

Olguların yaşadıkları veya köken aldıkları coğrafik bölgeye bakıldığında YHCa için, %39'unun Doğu Anadolu illerinden olduğu saptanmıştır. Orta Anadolu illeri %30 ile 2. sırada bulunmaktadır. En az Kuzey Anadolu kökenliler görülmekte, Batı, olarak birlikte değerlendirilen Ege ve Marmara bölgeleri ile Güney, olarak değerlendirilen Akdeniz bölgesi sıklık açısından 3. ve 4. sıraları almaktadırlar. Olgular cinsiyetlerine göre incelendiklerinde kadınlar arasında en fazla Doğu illerinin hakimiyeti vardır (%26). Tek kadın Adeno Ca'nın Batı Anadolu kökenli olduğu saptanmıştır. Erkek YHCa olgularının %22'sinin Orta Anadolu kökenli olduğu saptanmaktadır. Erkek Adeno Ca olgularının çoğunluğu (%75) Doğu illerinden gelmişlerdir. (Tablo 8)

**Tablo 8: Olguların cinsiyetlerine ve tümör tiplerine göre coğrafik dağılımı**

CİNSİYET	TM. TİPİ	COĞRAFİK DAĞILIM				
		Doğu	Batı	Orta	Kuzey	Güney
Kadın	YHCa (%)	6 (26)	-	2 (9)	1 (4)	1 (4)
	Adeno Ca (%)	-	1 (25)	-	-	-
Erkek	YHCa (%)	3 (13)	3 (13)	5 (22)	-	2 (9)
	Adeno Ca (%)	3 (75)	-	-	-	-
Toplam	YHCa (%) n:23	9 (39)	3 (13)	7 (30)	1 (4)	3 (13)
	Adeno Ca (%) n:4	3 (75)	1 (25)	-	-	-

Tümörlerin özofagustaki lokalizasyonlarına göre olgular gruplandırıldığında 4 Adeno Ca olgusunun hepsi (%100) kardiya yerleşimlidir. 23 YHCa

olgusunun 3' ü (%13) hipofarinks olmak üzere toplam 4' ü (%17) üst özofagusta, 14' ü (%61) orta özofagusta, 5' i (%22) alt özofagustadır.

Tümörlerin boyutları ele alındığında, en küçük uzun çaplı tümör 2 cm iken, en büyük uzun çaplı tümör 11 cm. olarak saptanmıştır. YHCa' lar ortalama 5,5 cm (2-9,5 cm), Adeno Ca lar ortalama 7,5 cm (3,5-11 cm) uzun çaplıdır. Genel olarak olguların yarısından fazlası (% 52) 5 cm' ye eşit veya küçük boyutludur. Bunların 13' ü (%48) YHCa, 1' i (%4) Adeno Ca' dır. 10 YHCa (%43) ve 3 (%75) Adeno Ca olgusu 5 cm' den büyüktür. (Tablo 9)

Olguların özofagus duvarındaki invazyon dereceleri değerlendirildiğinde, hepsinin lamina propriya ve submukozayı geçerek kas tabakasına ulaşmış oldukları dikkati çekmiştir. Dört (%17) YHCa ve 1 (%25) Adeno Ca olgusunda in-vazyonun kas tabakası ile sınırlı olduğu görülmüştür. 19 (%83) YHCa ve 3 (%75) Adeno Ca olgusunda tümörler adventisyaya ulaşmıştır. Adeno Ca vakalarında mide duvarında serozal invazyon varlığında saptanmaktadır. İki hipofarinks yerleşimli olan 4 (%17) YHCa olgusunda tümör komşu organ ve dokuları infiltre etmiştir. Bunlardan bir olguda trakea ve tiroid, bir olguda farinkse ait kas dokusu, bir olguda plevral, bir olguda ise perikardial invazyon bulunmuştur. (Tablo 9)

Olguların tümör boyutu ve özofagus duvarındaki invazyon dereceleri karşılaştırıldığında, toplam 4 (%17) muskularis propriya da sınırlı YHCa olgusunun 3' ü (%13) 5 cm.den küçük, 1' i (%4) 8 cm uzun çaplıdır. Muskularis propriya ile sınırlı 1 (%25) Adeno Ca olgusu ise 8 cm' dir. Adventisya invazyonu olan toplam 19 (%83) YHCa olgusunun 10' unda (%43) boyut 1-5 cm arasında, 9 (%39) YHCa olgusunun boyutu 5 cm' den büyüktür. Adventisyal ve serozal tutulumu olan Adeno Ca olgularında 1' i (%25) 4.5 cm, 2' si (%50) 5 cm' den büyüktür. (Tablo 9) YHCa' larda duvarda invazyon derecesi ile tümör boyutu istatistiksel olarak karşılaştırıldığında muskularis propriya invazyonu ile sınırlı olan olguların tümör boyutu ile adventisya invazyonu olan olguların tümör boyutu arasında anlamlı bir farklılık izlenmemiştir. (Ki-kare, p:0.41)

**Tablo 9:** Olguların tümör boyutu ve duvar invazyonuna göre dağılımları

Duvar invazyonu	Tm. Tipi	Boyut	
		1- 5 cm	5cm<
Muskularis propriya	YHCa (%)	3 (13)	1 (4)
	Adeno Ca (%)	-	1 (25)
Adventisya ve çevre dok.	YHCa (%)	10 (43)	9 (39)
	Adeno Ca (%)	1 (25)	2 (50)
Toplam	YHCa (%) n:23	13 (57)	10 (43)
	Adeno Ca (%) n:4	1 (25)	3 (75)

Toplam 27 olgunun 14' ünde (% 52) lenf nodülü metastazı vardır. (Resim 6) YHCa' ların 11' inde (% 48), Adeno Ca' ların ise 3' ünde (% 75) lenf nodülü metastazı saptanmıştır. Buna ek olarak lenf nodülü metastazı (-) olarak kabul edilen 3 YHCa ve 1 Adeno Ca olgusunda lenf nodülü disseksiyonu yapılmamıştır. (Tablo 10) (Resim 9,10)

Olgular vasküler invazyon açısından değerlendirildiğinde ve YHCa' ların 6' sında (% 26), Adeno Ca' ların 1' inde (%25) vasküler invazyon saptanmıştır. (Tablo 10) (Resim 9 ve10)

Olgularda tümör çevresinde iltihabi hücre infiltrasyonunun şiddeti değerlendirildiğinde, YHCa' ların 12' sinde (%52) (+) iltihap, 11' inde (%48) (++) iltihap saptanmıştır. Adeno Ca olgularının 2' sinde (+), 2' sinde (++) iltihap varlığı saptanmıştır. Genel olarak vakaların hepsinde normal mukozaya göre daha fazla iltihap vardır. (Tablo 10) (Resim 12)

**Tablo 10:** Olguların lenf nodülü metastazı, vasküler invazyon ve stromal iltihabi reaksiyonun şiddetine göre dağılımı

Tümör tipi	Lenf Nodülü		Vask. Invaz.		İltihap	
	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(++)
YHCa (%)	11 (48)	12 (52)	6 (26)	17 (74)	12 (52)	11 (48)
Adeno Ca (%)	3 (75)	1 (25)	1 (25)	3 (75)	2 (50)	2 (50)
Toplam (%)	14 (52)	13 (48)	7 (26)	20 (74)	14 (52)	13 (48)

Olgular "Japanese Committee for Registration of Esophageal Carcinoma" nın TNM sınıflandırmasına göre evrelendiğinde YHCa ların 11' i (%48) evre IIa, 11' i (%48) evre III ve 1' i (%4) evre IV' bulunmuştur. Adeno Ca' lardan 1' i (%25) evre IIb, 3' ü (%75) evre III olarak değerlendirilmiştir. Hiçbir olguda evre I tümör yoktur. (Tablo 11)

**Tablo 11:** Evrelere göre tümörlerin dağılımı

Tümör tipi	Evre I	Evre II	Evre III	Evre IV	Toplam
<b>YHCa (%)</b>	-	11 (48)	11 (48)	1 (4)	23
<b>Adeno Ca (%)</b>	-	1 (25)	3 (75)	-	4

Olgularda tümörün boyutu ve lenf nodüllerinin ilişkisi Tablo 12' de gösterilmiştir. Lenf nodülü metastazı bulunmayan YHCa olgularının 8' inde (%35) tümör 1-5 cm arasında, 4' ünde (%17) 5 cm' den büyüktür. Lenf nodülü metastazı bulunan YHCa olgularının ise 5' inde (%22) tümör 1-5 cm arasında, 6' ında (%26) 5 cm' den büyüktür. Lenf nodülü metastazı bulundurmeyen tek adeno Ca olgusu 5 cm' den büyüktür. (Tablo 12) Yapılan istatistiksel analizlerde lenf nodülü metastazı olanlar ile metastaz bulundurmeyen olgular arasında anlamlı bir boyut farklılığı saptanmamıştır. (Ki-kare, p:0.31)

**Tablo 12:** Tümör boyutlarına göre olgularda lenf nodülü tutulumu

Lenf nodülü	Tm. Tipi	Boyut	
		1- 5 cm	5cm <
(-)	YHCa (%)	8 (35)	4 (17)
	Adeno Ca (%)	-	1 (25)
(+) )	YHCa (%)	5 (22)	6 (26)
	Adeno Ca (%)	1 (25)	2 (50)
Toplam	YHCa (%) n:23	13 (57)	10 (43)
	Adeno Ca (%) n:4	1 (25)	3 (75)

Tümör boyutunun vasküler invazyon ile ilişkisi incelendiğinde, vasküler invazyon bulunan 6 (%26) YHCa olgusunun 5' i (%22) 5 cm' den büyük, 1' i (%4) 5 cm boyutundadır. Adeno Ca' ların vasküler invazyon bulunduran tek ol-



gusunun (%25) boyutu 4.5 cm' dir. Vasküler invazyonun bulunmadığı 3 (%75) Adeno Ca olgusunda tümör boyutu 5 cm' den büyüktür. (Tablo 13) Tümör boyutu büyük olan olgularda vasküler invazyonun, küçük olanlardan anlamlı olarak fazla bulunduğu saptanmıştır. (Ki-kare, p:0.02)

**Tablo 13: Tümör boyutu ve vasküler invazyon ilişkisinin karşılaştırılması**

Vasküler invazyon	Tm. Tipi	Boyut	
		1- 5 cm	5cm <
(+)	YHCa (%)	1 (4)	5 (22)
	Adeno Ca (%)	1 (25)	-
(-)	YHCa (%)	12 (52)	5 (22)
	Adeno Ca (%)	-	3 (75)
Toplam	YHCa (%) n:23	13 (57)	10 (43)
	Adeno Ca (%) n:4	1 (25)	3 (75)

Olguların tümör uzun çapları ve evreleri tablo 14' de karşılaştırılmıştır. 11 (%48) evre IIa YHCa olgusunun 7' si (%30) 1-5 cm arasında, 4' ü (%17) 5 cm' den büyük boyutludur. Evre IIb de adeno Ca olan tek bir olgu (%25) 8 cm uzun çaplıdır. Evre III YHCa olgularının 6' sı (%26) 1-5 cm arasında, 5' i (%22) 5 cm' den büyüktür. Evre III Adeno Ca olgularından 1' i (%25) 1-5 cm arasında, diğer 2' si (%50) 5 cm' den büyüktür. Çalışmanın tek evre IV olgusu YHCa olup, 8 cm uzun çaplıdır. (Tablo 14)

**Tablo 14: Olgularda evrelere göre tümör boyutlarının karşılaştırılması**

Evre	Tm. Tipi	Boyut	
		1- 5 cm	5 cm <
IIa	YHCa (%)	7 (30)	4 (17)
	Adeno Ca (%)	-	-
IIb	YHCa (%)	-	-
	Adeno Ca (%)	-	1 (25)
III	YHCa (%)	6 (26)	5 (22)
	Adeno Ca (%)	1 (25)	2 (50)
IV	YHCa (%)	-	1 (4)
	Adeno Ca (%)	-	-
Toplam	YHCa (%) n:23	13 (57)	10 (43)
	Adeno Ca (%) n:4	1 (25)	3 (75)

Tümör grade' i ve boyutu karşılaştırıldığında, Grade I YHCa olgularının 7' si (%30) 1-5 cm arasında, 5' i (%22) 5 cm' den büyüktür. Grade II YHCa olgularının 6' sı (%26) 1-5 cm arasında, 5' i (%22) 5 cm' den büyüktür. Tek (%25) grade I Adeno Ca olgusu 11 cm' dir. Grade II Adeno Ca ların 1' i (%25)1-5 cm arasında, diğeri (%25) 5 cm' den büyüktür. Grade III tek Adeno Ca olgusu (%25) da 4,5 cm boyutundadır. (Tablo 15) YHCa olgularında Grade I ve II olgu grupları arasında tümör boyutları açısından anlamlı bir istatistiksel farklılık saptanmamıştır. (Ki-kare, p. 0.84)

**Tablo 15: Olguların grade' leri ile tümör boyutlarının karşılaştırılması**

Grade	Tm. Tipi	Boyut	
		1- 5 cm	5 cm <
I	YHCa (%)	7 (30)	5 (22)
	Adeno Ca (%)	-	1 (25)
II	YHCa (%)	6 (26)	5 (22)
	Adeno Ca (%)	1 (25)	1 (25)
III	YHCa (%)	-	-
	Adeno Ca (%)	-	1 (25)
Toplam	YHCa (%) n:23	13 (57)	10 (43)
	Adeno Ca (%) n:4	1 (25)	3 (75)

YHCa olgularının içinde hafif şiddette (+) iltihap bulunanların (%52), 7' si (%30)1-5 cm arasında, 5' i (%22) 5 cm' den büyük boyutludur. Orta şiddette (++) iltihap bulunduran (%48) YHCa olgularının ise 6' sı (%26) 1- 5 cm arasında, 5' i (%22) 5 cm' den büyüktür. (+) iltihaba sahip Adeno Ca' larda (%50), 1' i (%25) 4.5 cm, diğeri (%25) de 7 cm boyutundadır. (++) iltihaplı Adeno Ca olgularının (%50), 2' si de 5 cm' den büyüktür. (Tablo 16) (+) iltihap gösteren YHCa olguları ile (++) iltihap gösteren YHCa olgularının boyutları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur. (Ki-kare, p:0.85)

**Tablo 16:** Olguların tümör boyutları ile stromal iltihabi reaksiyonunun karşılaştırılması

İltihap	Tm. Tipi	Boyut	
		1- 5 cm	5 cm <
(+)	YHCa (%)	7 (30)	5 (22)
	Adeno Ca (%)	1 (15)	1 (25)
(++)	YHCa (%)	6 (26)	5 (22)
	Adeno Ca (%)	-	2 (50)
Toplam	YHCa (%) n:23	13 (57)	10 (43)
	Adeno Ca (%) n:4	1 (25)	3 (75)

Tablo 17' de tümörlerin duvardaki invazyon dereceleri ve lenf nodüllerinin durumu ayrıntılı olarak verilmiştir. Buna göre YHCa olgularında invazyonları muskularis propriya ile sınırlı olan olguların (%17) hiçbirisinde lenf nodülü metastazı bulunmazken, adventisya invazyonu olan olgularda (%83) ise 11' inde (%48) lenf nodülü tutulumu vardır. Adeno Ca' larda invazyonu muskularis propriya ile sınırlı tek olguda (%25) lenf nodülü metastazı vardır. Diğer 3 olguda (%75) adventisya invazyonu bulunup, 2' sinde (%50) lenf nodülü metastazı varken, 1' inde (%25) lenf nodülü metastazı yoktur. Olguların hiçbirisinde sistemik lenf nodülü disseksiyonu yapılmamıştır. Muskularis propriya ile sınırlı 4 YHCa olgusundan ayıklanan lenf nodülü sayısı 0-20 arasında değişmektedir. YHCa' ların 3 olgusunda hiç lenf nodülü disseksiyonu yapılmamıştır. 14 YHCa olgusunda 1-10 lenf nodülü; 5 YHCa olgusunda 11-20 lenf nodülü; 1 YHCa olgusunda 21 lenf nodülü ayıklanmıştır. Muskularis propriya ile sınırlı olan 1 Adeno Ca olgusunda 9 lenf nodülü ayıklanmış olup, adventisya invazyonu bulunan 3 Adeno Ca' da ayıklanan lenf nodülü sayısı 0-10 arasında değişmektedir. (Tablo 17) Duvar invazyonu ile lenf nodülü metastazı istatistiksel olarak karşılaştırıldığında invazyonu muskularis propriya ile sınırlı olan olgular ile adventisya invazyonu bulunan olguların lenf nodülü metastazı açısından farklılık gösterdikleri, adventisya invazyonu bulunan olgularda lenf nodülü metastazının anlamlı derecede daha fazla bulunduğu saptanmıştır. (Ki-kare, p:0.03)

**Tablo 17: Duvar invazyonu ve lenf nodülü metastazlarına göre olguların dağılımı**

Duvarda invazyonu	Tm. Tipi	Lenf nodülü (+)	Lenf nodülü (-)	Lenf nodülü sayısı			
				0	1-10	11-20	21
Muskularis propria	YHCa (%)	-	4 (17)	1	-	3	-
	Adeno Ca (%)	1 (25)	-	-	1	-	-
Adventisya-çevre doku	YHCa (%)	11 (48)	8 (35)	2	14	2	1
	Adeno Ca (%)	2 (50)	1 (25)	1	2	-	-
Toplam	YHCa (%) n:23	11 (48)	12 (52)	3	14	5	1
	Adeno Ca (%) n:4	3 (75)	1 (25)	1	3	-	-

Tablo 18' de incelenen duvar invazyonu ve vasküler invazyon durumu karşılaştırıldığında, invazyonu muskularis propriya ile sınırlı 4 (%17) YHCa olgusunun 1' inde (%4) vasküler invazyon varken, 3' ünde (%13) vasküler invazyon bulunmamaktadır. Adventisya invazyonu bulunan YHCa olgularının (%83) 5' inde (%22) vasküler invazyon vardır. Adeno Ca' ların 3' ünde (%75) adventisya invazyonu vardır. Bu olguların 1' inde (%25) vasküler invazyon bulunmaktadır. (Tablo 18) İstatistiksel analizlerde invazyonu muskularis propriya ile sınırlı YHCa olguları ve adventisya invazyonu olan olgular arasında vasküler invazyon açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. (Ki-kare, p:0.95)

**Tablo 18: Olguların duvar invazyonu ve vasküler invazyona göre dağılımı**

Duvarda invazyon derecesi	Tm. Tipi	Vasküler inv. (+)	Vasküler inv. (-)
Muskularis propria	YHCa (%)	1 (4)	3 (13)
	Adeno Ca (%)	-	1 (25)
Adventisya ve çevre doku	YHCa (%)	5 (22)	14 (61)
	Adeno Ca (%)	1 (25)	2 (50)
Toplam	YHCa (%) n:23	6 (26)	17 (74)
	Adeno Ca (%) n:4	1 (25)	3 (75)

Tümörün histolojik grade' i ve duvarda invazyon derecesi incelendiğinde, muskularis propriya ile sınırlı YHCa olgularının 2' si (%9) grade I, 2' si (%9) grade II' dir. Adeno Ca' larda muskularis propriya ile sınırlı tek olgu (%25) grade III' dür. Adeno Ca' ların 3' ünde (%75) advendisya invazyonu vardır ve bunların

1' i (%25) grade I, 2' si (%25) grade II' dir. Adventisya invazyonu olan YHCa' ların 10' u (%43) grade I, 9' u (%39) grade II' dir. (Tablo 19) Grade ve tümörün duvarda invazyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlenmemiştir. (Ki-kare, p:0.92)

**Tablo 19:** Olguların duvar invazyonu ve grade' lerine göre dağılımı

Duvarda invazyon derecesi	Tm. Tipi	Grade		
		I	II	III
Muskularis propria	YHCa (%)	2 (9)	2 (9)	-
	Adeno Ca (%)	-	-	1(25)
Adventisya ve çevre doku	YHCa (%)	10 (43)	9 (39)	-
	Adeno Ca (%)	1 (25)	2 (50)	-
Toplam	YHCa (%) n:23	12 (52)	11 (48)	-
	Adeno Ca (%) n:4	1 (25)	2 (50)	1 (25)

Olgularda tümör çevresindeki iltihabi hücre infiltrasyonu, tümörün duvardaki invazyon derecesi ile karşılaştırılmıştır. İnvazyonu muskularis propria ile sınırlı olan 4 YHCa olgusunun 3' ü (%13) (+), 1' i (%4) de (++) iltihap göstermektedir. Adventisyaı invaze eden 19 (%83) YHCa olgusunun 9' unda (%39) (+) iltihap, 10' unda (%42) (++) iltihap vardır. (+) iltihap bulunduran YHCa olgularının (%52) 3' ü (%13), (++) iltihap bulunduran YHCa olgularının (%42) ise 1' inde (%4) invazyon muskularis propria ile sınırlıdır. (+) iltihap gösteren Adeno Ca olgularının 2' sinde (%50), (++) iltihap gösteren adeno Ca olgularının 1' inde (%25) invazyon muskularis propria ile sınırlıdır. (Tablo 20) Adventisya invazyonu bulunan ve adventisya invazyonu bulunmayan YHCa olgularında stromal iltihabi reaksiyon açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. (Ki-kare, p:0.31)

**Tablo 20:** Olguların invazyon derecesi ve stromal iltihabi reaksiyonunun karşılaştırılması

Duvarda invazyon derecesi	Tm. Tipi	İltihap (+)	İltihap (++)
Muskularis propria	YHCa (%)	3 (13)	1 (4)
	Adeno Ca (%)	-	1 (25)
Adventisya ve çevre doku	YHCa (%)	9 (39)	10 (43)
	Adeno Ca (%)	2 (50)	1 (25)
Toplam	YHCa (%) n:23	12 (52)	11 (48)
	Adeno Ca (%) n:4	2 (50)	2 (50)

Lenf nodülü metastazı bulunan YHCa' ların 5' inde (%22) vasküler invazyon da vardır. Lenf nodülü metastazı olmayan YHCa olgularının 1' inde (%4) vasküler invazyon vardır. Lenf nodülü metastazı olan adeno Ca olgularının 1' inde (%25) vasküler invazyon bulunurken, lenf nodülü tutulumu olmayan tek Adeno Ca olgusunda (%25) vasküler invazyon da yoktur. (Tablo 21) İstatistiksel karşılaştırmalarda lenf nodülü metastazı bulunduran olguların, bulundurmeyen olgulara göre anlamlı derecede daha fazla vasküler invazyon gösterdikleri saptanmıştır. (Ki-kare, p:0.04)

**Tablo 21:** Lenf nodülü metastazı ve vasküler invazyon varlığının olgularda karşılaştırılması

Lenf Nodülü	Tm. Tipi	Vasküler invazyon (+)	Vasküler invazyon (-)
(+)	YHCa (%)	5 (22)	6 (26)
	Adeno Ca (%)	1 (25)	2 (50)
(-)	YHCa (%)	1 (4)	11 (49)
	Adeno Ca (%)	-	1 (25)
Toplam	YHCa (%) n:23	6 (26)	17 (74)
	Adeno Ca (%) n:4	1 (25)	3 (75)

Olguların lenf nodülleri ile grade' leri karşılaştırıldığında YHCa olgularında lenf nodülü metastazı olan (%48) vakaların 7' sinde (%31) tümörler grade I, 4' ünde (%17) grade II' dir. Lenf nodülü metastazı bulundurmeyen Adeno Ca olgularında ise lenf nodülü metastazı bulunan 3 olguyu (%75), 1' er grade I, II, III vaka oluşturmaktadır. Lenf nodülü metastazı bulundurmeyen YHCa

olgularının (%52), 8' i (%35) grade I, 4' ü (%17) grade II' dir. (Tablo 22) İstatistiksel olarak lenf nodülü metastazı olan ve metastaz bulunmayan YHCa olguları arasında histolojik grade açısından anlamlı bir fark görülmemiştir. (Ki-kare, p:0.14)

**Tablo 22:** Tümörlerde histolojik grade ve lenf nodülü metastazının karşılaştırılması

Lenf Nodülü	Tm. Tipi	Grade		
		I	II	III
(+) YHCa (%)	YHCa (%)	4 (17)	7 (31)	-
	Adeno Ca (%)	1 (25)	1 (25)	1 (25)
(-) YHCa (%)	YHCa (%)	8 (35)	4 (17)	-
	Adeno Ca (%)	-	1 (25)	-
Toplam	YHCa (%) n:23	12 (52)	11 (48)	-
	Adeno Ca (%) n:4	1 (25)	2 (50)	1 (25)

Olguların evreleri histolojik grade' leri ile karşılaştırıldığında, toplam 12 olan grade I YHCa olgusunun (%52) 7' si (%30) evre IIa, 5' i (%22) evre III' dedir. Adeno Ca olgularının 1' i (%25) grade I olup, evre III' de bulunmaktadır. Grade II olan 11 YHCa olgusunun (%48), 4' ü (%17) evre IIa, 6' ı (%26) evre III ve 1' i de (%4) evre IV' dür. İki (%50) grade II Adeno Ca olgusu evre III' dür. Grade III tek vaka olan 1 Adeno Ca olgusu aynı zamanda Adeno Ca' ların tek evre II olgusunu oluşturmaktadır. Evre II de bulunan YHCa' ların çoğunluğunu (%30) grade I olgular oluşturmaktadır. Evre III YHCa olgularının yarısından biraz fazlası grade II' dir. (Tablo 23)

**Tablo 23:** Olguların histolojik grade' leri ve evrelerine göre dağılımları

Grade	Tm. Tipi	Evre		
		II	III	IV
I	YHCa (%)	7 (30)	5 (22)	-
	Adeno Ca (%)	-	1 (25)	-
II	YHCa (%)	4 (17)	6 (26)	1 (4)
	Adeno Ca (%)	-	2 (50)	-
III	YHCa (%)	-	-	-
	Adeno Ca (%)	1 (25)	-	-
Toplam	YHCa (%) n:23	11 (48)	11 (48)	1 (4)
	Adeno Ca (%) n:4	1 (25)	3 (75)	-



Olgularda lenf nodülü tutulumu ile iltihabi infiltrasyon derecesi karşılaştırıldığında lenf nodülü metastazı olan YHCa' ların (%48) 6' sında (%26) (+), 5' inde (%22) (++) iltihap vardır. Lenf nodülü tutulumu bulundurmeyen YHCa olgularında (%52) ise (+) ve (++) iltihap bulunduran olgular eşit olarak dağılmışlardır. (+) iltihap bulunduran Adeno Ca olgularının (%50) yarısında lenf nodülü metastazı varken, diğer yarısında da yoktur. Orta şiddette (++) iltihap bulunduran 2 Adeno Ca (%50) olgusunun ikisinde de lenf nodülü metastazı vardır. (Tablo 24) YHCa' larda lenf nodülü metastazı olan olguların stromal iltihabi reaksiyonu ile metastaz bulunmayan olguların stromal iltihabi reaksiyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. (p:0.82)

**Tablo 24:** Olgularda lenf nodülü metastazı ve stromal iltihabi reaksiyonun karşılaştırılması

Lenf Nodülü	Tm. Tipi	İltihap (+)	İltihap (++)
(+)	YHCa (%)	6 (26)	5 (22)
	Adeno Ca (%)	1 (25)	2 (50)
(-)	YHCa (%)	6 (26)	6 (26)
	Adeno Ca (%)	1 (25)	-
Toplam	YHCa (%) n:23	12 (52)	11 (48)
	Adeno Ca (%) n:4	2 (50)	2 (50)

Tümörlerin histolojik grade' leri ile vasküler invazyonları karşılaştırıldığında, vasküler invazyon bulunduran YHCa olgularının 4' ü (%17) grade I, 2' si (%9) grade II' dir. YHCa' ların vasküler invazyon yapmayan olgularının (%74) 8' i (%35) grade I, 9' u (%39) grade II' dir. Grade II Adeno Ca' ların 1' i (%25) vasküler invazyon göstermezken, diğerinde vasküler invazyon saptanmaktadır. (Tablo 25) Vasküler invazyon bulunduran YHCa olgularının histolojik grade' leri ile bulundurmeyen olguların histolojik grade' leri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmemiştir. (p:0.40)

**Tablo 25:** Olguların vasküler invazyon durumu ve histolojik grade' lerine göre karşılaştırılması

Vasküler invazyon	Tm. Tipi	Grade		
		I	II	III
(+) YHCa (%)	YHCa (%)	4 (17)	2 (9)	-
	Adeno Ca (%)	-	1 (25)	-
(-) YHCa (%)	YHCa (%)	8 (35)	9 (39)	-
	Adeno Ca (%)	1 (25)	1 (25)	1 (25)
Toplam	YHCa (%) n:23	12 (52)	11 (48)	-
	Adeno Ca (%) n:4	1 (25)	2 (50)	1 (25)

Olguların evreleri ve vasküler invazyon varlığı incelendiğinde, vasküler invazyon bulunan YHCa' ların (%26) 4' ü (%17) evre III, 1' i (%4) evre II ve diğeri (%4) evre IV' dür. Adeno Ca lerin evre III olan tek olgusunda vasküler invazyon vardır. Vasküler invazyon bulundurmeyen YHCa olgularınının 10' u (%43) evre II, 7' si (%30) evre III' de dir. Evre II de olan bir (%25) Adeno Ca olgusu ve evre III de bulunan 2 (%50) Adeno Ca olgusunda vasküler invazyon yoktur. (Tablo 26)

**Tablo 26:** Olguların vasküler invazyon durumu ve tümör evrelerine göre dağılımı

Vasküler invazyon	Tm. Tipi	Evre		
		II	III	IV
(+) YHCa (%)	YHCa (%)	1 (4)	4 (17)	1 (4)
	Adeno Ca (%)	-	1 (25)	-
(-) YHCa (%)	YHCa (%)	10 (43)	7 (30)	-
	Adeno Ca (%)	1 (25)	2 (50)	-
Toplam	YHCa (%) n:23	11 (48)	11 (48)	1 (4)
	Adeno Ca (%) n:4	1 (25)	3 (75)	-

Stromal iltihabi reaksiyona göre olgular incelendiğinde, (+) iltihap bulunduran YHCa ların (%52) 3' ünde (%13), (++) iltihap bulunduranların (%48) da 3' ünde (%13) vasküler invazyon vardır. Vasküler invazyon yapmayan 17 YHCa olgusunun (%74) ise 9' unda (%39) (+), 8' inde (%35) (++) iltihap vardır. Vasküler invazyon bulunduran tek Adeno Ca olgusunda (%25) (+) iltihap, vasküler invazyon bulundurmeyen 3 Adeno Ca olgusunun (%75) 2' sinde (%50) (++) iltihap

vardır. (Tablo 27) Vasküler invazyon bulunduran YHCa olguları ile vasküler invazyon bulundurmeyen YHCa olguları arasında stromal iltihabi reaksiyon açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. (Ki-kare, p:0.90)

**Tablo 27:** Olguların vasküler invazyon ve stromal iltihabi reaksiyona göre dağılımı

Vasküler invazyon	Tm. Tipi	İltihap (+)	İltihap (++)
(+)	YHCa (%)	3 (13)	3 (13)
	Adeno Ca (%)	1 (25)	-
(-)	YHCa (%)	9 (39)	8 (35)
	Adeno Ca (%)	1 (25)	2 (50)
Toplam	YHCa (%) n:23	12 (52)	11 (48)
	Adeno Ca (%) n:4	2 (50)	2 (50)

Grade I olan 12 (%52) YHCa olgusunun yarısı (%26) (+) iltihap, diğer yarısında (++) iltihap bulundurmaktadır. Grade II YHCa' larında (%48) 6' sı (%26) (+) iltihap göstermektedir. Diğer 5 vakada (%22) (++) iltihap vardır. (+) iltihap bulunduran YHCa olgularının 6' ı (%26), (++) iltihap bulunduran YHCa olgularının da 6' ı (%26) grade I' dir. (++) iltihap bulunduran 2 Adeno Ca (%50) vakasının 1' i (%25) grade II, diğeri (%25) grade III dür. (+) iltihap bulunduran Adeno Ca olgularının (%50) ikisi de grade II' dir. (Tablo 28) İstatistiksel analizlerde stromal iltihabi reaksiyonu (+) olan olgular ile (++) olan olgular arasında histolojik grade açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. (Ki-kare, p:0.82)

**Tablo 28:** Olguların histolojik grade' leri ve stromal iltihabi reaksiyona göre dağılımı

Grade	Tm. Tipi	İltihap (+)	İltihap (++)
I	YHCa (%)	6 (26)	6 (26)
	Adeno Ca (%)	-	1 (25)
II	YHCa (%)	6 (26)	5 (22)
	Adeno Ca (%)	2 (50)	-
III	YHCa (%)	-	-
	Adeno Ca (%)	-	1 (25)
Toplam	YHCa (%) n:23	12 (52)	11(48)
	Adeno Ca (%) n:4	2 (50)	2 (50)

YHCa olgularında (+) iltihap gösterenlerin (%52) 6' sı (%26) evre II, diğ er yarısı da evre III' dedir. (++) iltihap bulunduran YHCa olgularının (%48) 5' i (%22) evre II, 5' i (%22) evre III, 1' i de (%4) evre IV' dedir. Evre II' de olan YHCa ların 6' sı (%26) (+) iltihap göstermektedir. Evre IV' de olan tek (%4) YHCa olgusunda ise (++) iltihap vardır. Evre II' de olan 1 (%25) Adeno Ca vakasında (++) iltihap, evre II' de olan Adeno Ca (%75) vakalarınında 1' inde (%25) (++) iltihap vardır. (Tablo 29)

**Tablo 29:** Olguların evreleri ve stromal iltihabi reaksiyona göre dağılımı

Evre	Tm. Tipi	İltihap (+)	İltihap (++)
II	YHCa (%)	6 (26)	5 (22)
	Adeno Ca (%)	2 (50)	1 (25)
III	YHCa (%)	6 (26)	5 (22)
	Adeno Ca (%)	-	1 (25)
IV	YHCa (%)	-	1 (25)
	Adeno Ca (%)	-	-
Toplam	YHCa (%) n:23	12 (52)	11 (48)
	Adeno Ca (%) n:4	2 (50)	2 (50)

#### IV b- Tümörlerde Proliferasyon Marker' ları ile Elde Edilen Bulgular

Olgularda tümörlerin mitoz sayısı incelendiğinde YHCa' ların ortalama mitoz sayısı 4.6 ( $\pm 2.4$ ), Adeno Ca' ların da 1.7 ( $\pm 3.5$ ) olarak saptanmıştır. İstatistiksel incelemelerde sayılarının azlığı nedeni ile Adeno Ca' lar değerlendirilmeye alınmamıştır. YHCa' ların 12' sinde (%52) mitoz sayısı 0-4 arasında, 11' inde (%48) 5 ve üzerinde bulunmuştur.

Olgularda tümör boyutu (p:0.63), duvar invazyon derinliği (p:0.92), lenf nodülü metastazı (p:0.82), vasküler invazyon durumu (p:0.28), tümör grade' i (p:0.53) ve stromal iltihabi cevabın şiddeti (p:0.53) açısından, 0-4 arasında mitoz sayısına sahip olgular ile 5 ve daha fazla mitoz sayısına sahip olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlenmemiştir.

Mitoz sayısı diğer proliferasyon marker' ları ile karşılaştırıldığında AgNOR (p:0.45), Ki-67 (p:0.78) ve PCNA (p:0.15) sonuçları açısından iki mitoz grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

İHK' sal olarak proliferasyon marker' larının incelenmesinde, tespit süresinin uzunluğu nedeni ile PCNA ile 19 olguda (16 YHCa, 3 Adeno Ca) tümör dokusunda pozitif (+) boyanma elde edilebilmiştir. (Resim 10a ve 10b) AgNOR ve Ki-67 ile bütün olgularda sonuç alınmıştır. (Resim 13, 14 ve 15) Tümörlere ait AgNOR değerleri YHCa' larda ortalama  $3.59 (\pm 1.12)$ , Adeno Ca' larda ise  $2.33 (\pm 0.68)$ ; Ki-67 değerleri YHCa' larda %  $44.82 (\pm 10.60)$ , Adeno Ca' lar için ise %  $38.23 (\pm 11.28)$ ; (Resim 13) PCNA değerleri ortalama YHCa' larda %  $54.46 (\pm 12.30)$ , Adeno Ca' larda ise %  $46.66 (\pm 9.05)$  olarak saptanmıştır. (Resim 17,18)

AgNOR değerlendirilirken tümörün differansiyasyonu azaldıkça ve hücrel atipi arttıkça NOR' ların nükleus içinde çok sayıda ve dağınık olarak buldukları gözlenmiştir. (Resim 11) Differansiyasyon arttıkça ve hücrel atipi azaldıkça NOR' lar daha az sayıda ve gruplar halinde izlenmiştir. Ki-67 ve PCNA' de ise YHCa' larda solid adaların merkezinde ve "glob korne" yapılarında boyanmanın hiç olmadığı veya şiddetinin az olduğu saptanmıştır. Genellikle her iki antikorda da tümörlerin tabanında ve solid adaların periferinde daha fazla ve kuvvetli boyanma dikkati çekmiştir.

YHCa olgularında tümör proliferasyon marker sonuçları ile klinik ve histopatolojik bulguların ilişkisi istatistiksel olarak Mann-Whitney-U testi ile incelenmiştir. Tümör boyutuna göre iki grup halinde incelenen YHCa' larda 1-5 cm ile 5 cm' den büyük olgular arasında PCNA (p:1.00), AgNOR (p:0.70) ve Ki-67 (p:0.47) değerleri açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

YHCa olgularından duvar invazyonu muskularis propria ile sınırlı olgularla, adventisya invazyonu olan olguların PCNA (p:0.75), AgNOR (p:0.14) ve Ki-67 (p:1.00) değerlerinde istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık izlenmemiştir.

Lenf nodülü metastazı olan ve metastazı bulunmayan YHCa olgularının Ki-67 (p:0.5), AgNOR (p:0.14) ve PCNA (p:0.18) değerlerinde; vasküler invazyonu olan YHCa olguları ile invazyon bulunmayan olguların ortalama Ki-67 (p:0.94), AgNOR (p:0.18) ve PCNA (p:0.28) değerleri arasında istatistiksel olarak bir farklılık saptanmamıştır.

Grade I ve II YHCa olgularının arasında AgNOR (p:0.82), Ki-67 (p:0.34) ve PCNA (p:0.63) değerlerinde; evre II ve evre III-IV YHCa olgularının AgNOR (p:0.82), Ki-67 (p:0.35) ve PCNA (p:0.18) değerlerinin arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

#### **IV c- Hastalarda Sağ Kalımı Etkileyen Parametreler**

Olgulardan 1 YHCa ile 1 Adeno Ca' nın klinik takibi yoktur. YHCa' lardan 6 olgu (%26) operasyon sonrası, mide perforasyonu, solunum yetmezliği, hipotansiyon, trakeogastrik fistül gibi nedenlerden dolayı ilk bir ay içinde ölmüştür. 4 YHCa, 1 Adeno Ca, olgusu 259-1570 gün arasında takip edilmişler ve hastalığa bağlı nedenlerden ölmüşlerdir. YHCa' lardan 10' u (%43), Adeno Ca' lardan 2' si (%50) 690-1570 gün arasında hastaliksız ve sağ olarak halen takip edilmektedir. 1 (%4) YHCa olgusu lokal nüks ile operasyon sonrası 1090 gün takip ile halen yaşamaktadır. 1 (%4) YHCa olgusu ise anastomoz darlığı tedavisi sırasında tedavi komplikasyonuna bağlı mide perforasyonu ile 1041. gününde hastalığı dışı bir nedenle ölmüştür. YHCa olgularının 7' si (%32) ilk yılda, 3' ü (%14) ikinci yılda hastalık nedeni ile ölmüşlerdir. Bir olgu (%4) üçüncü yıl içinde hastalık dışı bir neden ile ölmüştür. Dört yıldan fazla takip edilen 5 (%23) YHCa olgusu hastaliksızdır. Altı (%27) YHCa olgusu üç yıl takip süresine sahiptir. Bunlardan biri (%4) hastalıklı, 5' i (%23) hastaliksızdır. Yaşam süresi ile ilgili istatistiksel analizlerde Adeno Ca' ların sayısı az olduğu için değerlendirmeye alınmamıştır. (Tablo 30)

**Tablo 30: YHCa olgularının klinik takip sürelerine göre dağılımları**

n:22		Takip Süresi (gün)				Toplam
		1-365	366-730	731-1095	1096-1460	
Sağ	Hastalık (+)	-	-	1 (%4)	-	1 (%4)
	Hastalık (-)	-	-	5 (%23)	5 (%23)	10 (%46)
Ölü	Hastalık (+)	7 (%32)	3 (%14)	-	-	10 (%46)
	Hastalık (-)	-	-	1 (%4)	-	1 (%4)

Bulgularda sağ kalımı etkileyen parametreler univariyant analizlerle (t-testi ve ki-kare) incelendiğinde, yaşayan ve ölen hasta grupları arasında, sadece tümör boyutu ve stromal iltihabi reaksiyon durumunda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmıştır. Diğer parametrelerde iki grup arasında bir fark görülmemiştir. (Tablo 31)

Ölen olguların ortalama tümör uzun çapları 6,5 ( $\pm$  2,5) cm iken, yaşayan olguların ortalama tümör uzun çapları ise 4,5 ( $\pm$  1,6) olarak saptanmıştır. Yine ölen olguların % 72.7' inde (8/11) (+) iltihap varken, yaşayanlarında % 72.7' inde (8/11) (++) iltihap vardır.

Bu proliferasyon marker' ları da dahil parametrelerden hangisinin yaşam süresini en fazla etkilediği multivariyant analizler (survival analysis) ile araştırılmış ve "probability for entry" değeri 0.05 ( $P$ :0.05) ve "probability for removing" değeri de 0.05 ( $P$ :0.05) olarak alındığında en fazla tümör uzun çapının ( $p$ :0.0298) olguların yaşam süresini etkilediği bulunmuştur. Olguların sayısının az olması nedeni ile "probability for entry" değeri 0.05 ( $P$ :0.05) ve "probability for removing" değeri de 0.10 ( $P$ :0.10) alındığında ise tümörlerin uzun çapının ( $p$ :0.0176) yanı sıra vasküler invazyon ( $p$ :0.0620) ile Ki-67 değerlerinin ( $p$ :0.0293) olguların yaşam süresini en fazla etkileyen parametreler olduğu saptanmıştır. (Tablo 32)



**Tablo 31:** YHCa' larda klinikopatolojik parametrelerin sağ kalım sürelerine olan etkilerinin univaryant analizlerle (t-testi ve ki-kare) ile karşılaştırılması

Parametreler	Gruplar	n	Ölenler (%)	Yaşayanlar (%)	(p)
Cinsiyet	Erkek	12	6 (54.5)	6 (54.5)	1.00
	Kadın	10	5	5	
Yaş		22	56 (±12.81)	54 (±12.36)	0.84
Lokal.	Üst	4	-	4 (36.4)	0.84
	Orta	14	9 (81.8)	6(54.5)	
	Alt	5	2 (18.2)	1 (9.1)	
Boyut		22	6.5 (± 2.5)	4.5 (± 1.6)	0.05 ✓
Duv. inv.	Kas	4	2 (18.2)	2 (18.2)	1.00
	Adv-çev dok	19	9 (81.8)	9 (81.8)	
Lenf nod.	(+)	11	6 (54.5)	4 (36.4)	0.39
	(-)	12	5 (45.5)	7 (63.6)	
Vask. inv.	(+)	6	4 (36.4)	2 (18.2)	0.33
	(-)	17	7 (63.6)	9 (81.8)	
İltihap	(+)	12	8 (72.7)	3 (27.3)	0.03 ✓
	(++)	11	3 (27.3)	8 (72.7)	
Grade	I	12	5 (45.5)	6 (45.5)	0.66
	II	11	6 (54.5)	5 (54.5)	
Evre	II	11	5 (45.5)	6 (54.5)	0.57
	III	11	5 (45.5)	5 (45.5)	
	IV	1	1 (9.1)	-	
Prolif. marker.	Ki-67	22	%45.04(±11.08)	%44.83(±11.11)	0.96
	AgNOR	22	3.69(±1.22)	3.55(± 1.10)	0.78
	PCNA	15	%52.84(±3.80)	%56.0(±15.23)	0.35
	Mitoz	0-4	12	8 (72.7)	4 (36.3)
5-7		11	3 (27.7)	7 (63.6)	

**Tablo 32:** Multivariant analizlerde yaşam süresini anlamlı ölçüde etkileyen parametreler (Survival Analysis/ P entry: 0.05; P removal: 0.10)

Parametreler	n	Ölü	Sağ	p	
Boyut	22	6.5 (±2.5)	4.5 (±1.6)	0.01	
Ki-67	22	45.04 (±11.08)	44.83 (±11.11)	0.02	
Vasküler inv.	(+)	6	4 (%36)	2 (%18)	0.04
	(-)	17	7 (%64)	9 (%82)	

#### IV d- Tümör Çevresi Alanlarda Malign ve Premalign Lezyonlara Ait

##### Bulgular

Olguların 26' sında (+) displazi, 25' inde (++) displazi, 20' sinde (+++) displazi ve 14' ünde CİS alanları bulunmuştur. 11 olguda her üç grade' den displazi ve CİS alanları bir arada bulunmuştur. YHCa olgularının hepsinde de displazi ve CİS alanları tümör ile komşuluk halindedir.

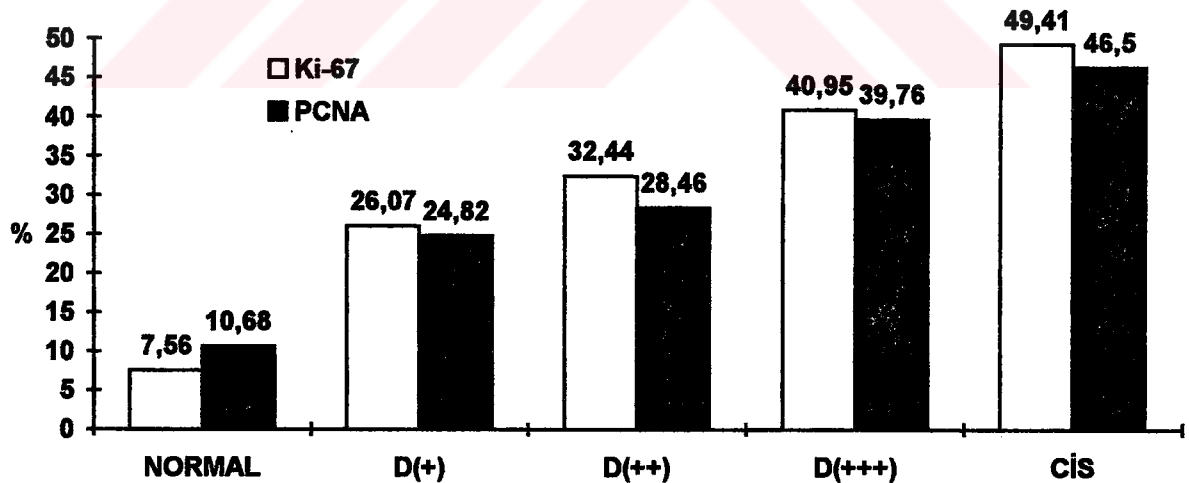
İHK' sal olarak her 3 grade' den displazi ve CİS ile her olgudan seçilen normal mukoza alanlarına proliferasyon marker' ı olarak Ki-67, PCNA ve AgNOR uygulanmıştır. Genellikle normal, (+) ve (++) displazi alanlarında Ki-67 ve PCNA boyanmaları bazal tabakanın hemen üzerindeki hücrelerde daha fazla olarak izlenmiştir. Şiddetli (+++) displazi ve CİS alanlarında ise PCNA ve Ki-67 boyanmasının özellikle CİS' da bütün epitel kalınlığını içerecek şekilde bazal tabakadan itibaren homojen bir şekilde olduğu dikkati çekmiştir. AgNOR da ise tümörlerdekine benzer şekilde hücresele atipi arttıkça daha çok sayıda, nükleusda dağınık şekilde NOR' lar görülmüştür.

Normal mukozanın ortalama AgNOR değeri 1.49 ( $\pm$  0.29), Ki-67 değeri % 7.56 ( $\pm$  2.85), PCNA değeri de 10.68 ( $\pm$  8.25); (Resim 19,20,21,22) (+) displazi alanlarının ortalama AgNOR değeri 1.93 ( $\pm$  0.37), Ki-67 değeri 26.07 ( $\pm$  5.66), PCNA değeri de 24.82 ( $\pm$  7.42); (Resim 23,24,25) (++) displazi alanlarının ortalama AgNOR değeri 2.22 ( $\pm$  0.48), Ki-67 değeri 32.44 ( $\pm$  9.09), PCNA değeri de 28.46; (Resim 26,27,28,29) (+++) displazi alanlarının ortalama AgNOR değeri 2.83 ( $\pm$  0.74), Ki-67 değeri 40.95 ( $\pm$  9.12), PCNA değeri de 39.76 ( $\pm$  12.84); (Resim 30,31,32,33,34) CİS alanlarının ise ortalama AgNOR değeri 3.02 ( $\pm$  0.57), Ki-67 değeri 49.41 ( $\pm$  9.92), PCNA değeri de 46.50 ( $\pm$  14.01) olarak bulunmuştur. (Tablo 33) (Resim 35,36,37)

**Tablo 33:** Farklı grade' lerdeki displaziler, CİS ve normal mukozalardaki ortalama proliferasyon marker değerleri

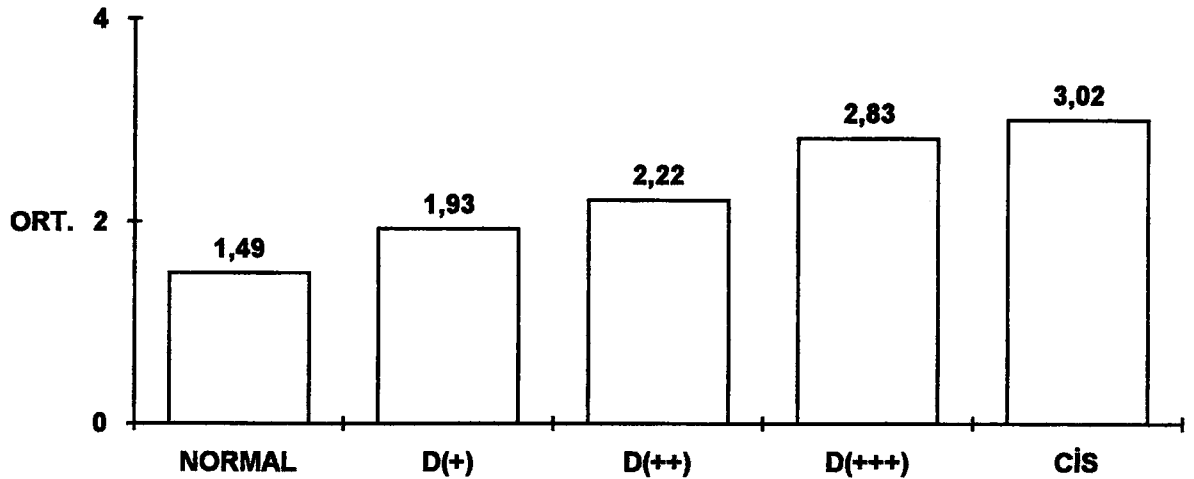
	Normal	(+) displazi	(++) displazi	(+++ displazi	CİS
<b>AgNOR(ort)</b>	n: 27 1.49 (±0.29)	n:26 1.93 (±0.37)	n: 25 2.22 (±0.48)	n: 20 2.83 (±0.74)	n:14 3.02 (±0.57)
<b>Ki-67 (%)</b>	n:27 7.56 (±2.85)	n: 26 26.07 (±5.66)	n: 25 32.44 (±9.09)	n: 20 40.95 (±9.12)	n: 14 49.41 (±9.92)
<b>PCNA (%)</b>	n: 11 10.68 (±8.25)	n: 13 24.82 (±7.42)	n: 11 28.46 (±.09)	n: 5 39.76 (±12.84)	n: 7 46.50(±14.01)

Normal mukoza, (+) displazi, (++) displazi, (+++) displazi ve CİS alanlarının Ki-67 değerleri istatistiksel olarak Student-Newman-Keuls testi ile karşılaştırıldığında, Ki-67 ile bütün alanların birbirlerinden anlamlı şekilde farklı olduğu saptanmıştır. PCNA sonuçları karşılaştırıldığında ise (+) displazi ve (++) displazi ile ayrıca (+++) displazi ve CİS arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür. (Şekil 2)



**Şekil 2:** Tümör çevresi lezyonlar ile normal mukozal alanların Ki-67 ve PCNA sonuçlarının karşılaştırılması

AgNOR sonuçları ile yapılan değerlendirmelerde (+++) displazi ve CİS arasında fark izlenmezken, diğer alanlar arasında anlamlı bir farklılık dikkati çekmiştir. (Şekil 3)



**Şekil 3:** Tümör çevresi lezyonları ile normal mukozal alanların AgNOR değerlerinin karşılaştırılması

Tümör çevresi, CİS ve normal epitele sahip mukozal alanların komşuluğundaki stromal iltihabi reaksiyonun şiddeti incelendiğinde, 27 normal mukozanın 12' sinde (%44) (-) iltihap, 12' sinde (%44) (+) iltihap, 3' ünde (%12) (++) iltihap izlenmiştir. Olguların 26' sında (%96) (+) displazi saptanmıştır. Bunların 9' unda (%33) (-) iltihap, 11' inde (%41) (+) iltihap, 6' sında (%22) (++) iltihap dikkati çekmiştir. (++) displazi saptanan 25 (% 92) olgunun 8' inde (%30) (-) iltihap, 12' sinde (%44) (+) iltihap, 5' inde (%19) (++) iltihap görülmüştür. Çalışmadaki 27 olgunun 20' sinde (%74) (+++) displazi izlenmiştir. Bunların 7' sinde (%26) (-) iltihap, 8' inde (%30) (+) iltihap, 5' inde (%19) (++) iltihap saptanmıştır. Tümör komşuluğunda CİS bulunduran 14 (%52) olgunun 2' sinde (%8) (-) iltihap, 8' inde (%30) (+) iltihap, 4' ünde (%17) (++) iltihap saptanmıştır. (Tablo 34) Stromal iltihabi reaksiyonun derecesi ile lezyonların ağırlığı arasındaki ilişki Ki-kare testi ile incelenmiştir. Normal mukoza ile (+), (++) , (+++) displazi ve CİS alanları arasında iltihabi reaksiyon açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. (Ki-kare, p:0.75)

**Tablo 34:** Normal epitele sahip mukoza ile (+), (++) , (+++) displazi ve CİS alanları arasında iltihabi reaksiyonun karşılaştırılması

İltihap	Normal	(+) disp.	(++) disp.	(+++ )disp.	CİS
(-) (%)	12 (44)	9 (33)	8 (30)	7 (26)	2 (8)
(+) (%)	12 (44)	11 (41)	12 (44)	8 (30)	8 (30)
(++) (%)	3 (11)	6 (22)	5 (19)	5 (19)	4 (17)
<b>Toplam</b>	<b>27</b>	<b>26</b>	<b>25</b>	<b>20</b>	<b>14</b>

CİS ile (+), (++) , (+++) dispazi ve normal epitele sahip mukozalarda (-), (+) ve (++) iltihap gösteren alanların proliferasyon marker değerleri incelenmiştir. Ortalama AgNOR değerleri, normal mukozal alanlardan (-) iltihaplılarda 1.5 ( $\pm 0.3$ ), (+) iltihaplılarda 1.4 ( $\pm 0.2$ ), (++) iltihaplılarda 1.6 ( $\pm 0.5$ ); (+) displazili alanlardan (-) iltihaplılarda 2.1 ( $\pm 0.4$ ), (+) iltihaplılarda 1.9 ( $\pm 0.4$ ), (++) iltihaplılarda 1.8 ( $\pm 0.3$ ); (++) displazili alanlardan (-) iltihaplılarda 2.3 ( $\pm 0.5$ ), (+) iltihaplılarda 2.2 ( $\pm 0.6$ ), (++) iltihaplılarda 2.2 ( $\pm 0.3$ ); (+++) displazili alanlardan (-) iltihaplılarda 2.9 ( $\pm 0.5$ ), (+) iltihaplılarda 2.8 ( $\pm 1.0$ ), (++) iltihaplılarda 2.6 ( $\pm 0.6$ ); CİS alanlarından (-) iltihaplılarda 3.6 ( $\pm 0.8$ ), (+) iltihaplılarda 2.7 ( $\pm 0.4$ ), (++) iltihaplılarda 3.3 ( $\pm 0.5$ ) olarak saptanmıştır. (Tablo 35)

**Tablo 35:** Tümör komşuluğundaki mukozal lezyonların ortalama AgNOR değerleri ile stromal iltihabi reaksiyonun karşılaştırılması

İltihap	Normal epitel	AgNOR			CİS
		(+) disp.	(++) disp.	(+++ )disp.	
(-)	1.5 ( $\pm 0.3$ )	2.0 ( $\pm 0.4$ )	2.3 ( $\pm 0.5$ )	2.9 ( $\pm 0.5$ )	3.6 ( $\pm 0.8$ )
(+)	1.4 ( $\pm 0.3$ )	1.9 ( $\pm 0.4$ )	2.2 ( $\pm 0.3$ )	2.8 ( $\pm 1.0$ )	2.7 ( $\pm 0.4$ )
(++)	1.6 ( $\pm 0.5$ )	1.8 ( $\pm 0.3$ )	2.2 ( $\pm 0.3$ )	2.6 ( $\pm 0.6$ )	3.3 ( $\pm 0.5$ )
<b>p:</b>	<b>0.26</b>	<b>0.73</b>	<b>0.59</b>	<b>0.31</b>	<b>0.09</b>

Tümör çevresi mukozalarda ortalama Ki-67 değerleri, normal epitele sahip mukozal alanlardan (-) iltihaplılarda %6.3 ( $\pm 2.2$ ), (+) iltihaplılarda %8.9 ( $\pm 3.1$ ), (++) iltihaplılarda %4.1 ( $\pm 2.5$ ); (+) displazili alanlardan (-) iltihaplılarda %28.1 ( $\pm 5.4$ ), (+) iltihaplılarda %25.9 ( $\pm 5.2$ ), (++) iltihaplılarda %23.7 ( $\pm 6.7$ );

(++) displazili alanlardan (-) iltihaplılarda %31.5 ( $\pm 7.2$ ), (+) iltihaplılarda %31.8 ( $\pm 9.5$ ), (++) iltihaplılarda %35.6 ( $\pm 11.8$ ); (+++) displazili alanlardan (-) iltihaplılarda %41.5 ( $\pm 12.1$ ), (+) iltihaplılarda %41.2 ( $\pm 8.8$ ), (++) iltihaplılarda %39.8 ( $\pm 6.0$ ); CİS alanlarından (-) iltihaplılarda %36.1 ( $\pm 4.9$ ), (+) iltihaplılarda %53.8 ( $\pm 7.6$ ), (++) iltihaplılarda %47.3 ( $\pm 10.3$ ) olarak saptanmıştır. (Tablo 36)

**Tablo 36:** Tümör komşuluğundaki mukozal lezyonların ortalama Ki-67 değerleri ile stromal iltihabi reaksiyonun karşılaştırılması

İltihap	Ki-67				
	Normal epitel	(+) disp.	(++) disp.	(+++disp.	CİS
(-)	%6.3( $\pm 2.2$ )	%28.1( $\pm 5.4$ )	%31.5( $\pm 7.2$ )	%41.5( $\pm 12.1$ )	%36.1( $\pm 4.9$ )
(+)	%8.9( $\pm 3.1$ )	%25.9( $\pm 5.2$ )	%31.8( $\pm 9.5$ )	%41.2( $\pm 8.8$ )	%53.8( $\pm 7.6$ )
(++)	%7.1( $\pm 2.5$ )	%23.7( $\pm 6.7$ )	%35.6( $\pm 11.8$ )	%39.8( $\pm 6.0$ )	%47.3( $\pm 10.3$ )
p:	0.07	0.43	0.75	0.95	0.08

Olgularda tümör komşuluğundaki lezyonlar ve normal mukozada ortalama PCNA değerleri ile stromal iltihabi reaksiyon karşılaştırılmıştır. PCNA değerleri, normal epitele sahip mukozal alanlardan (-) iltihaplılarda %9.4 ( $\pm 5.7$ ), (+) iltihaplılarda %8.6 ( $\pm 7.8$ ), (++) iltihaplıda %27.3 ( $\pm$ ); (+) displazili alanlardan (-) iltihaplılarda %26.7 ( $\pm 8.5$ ), (+) iltihaplılarda %25.1 ( $\pm 7.9$ ), (++) iltihaplılarda %19.9 ( $\pm 1.5$ ); (++) displazili alanlardan (-) iltihaplılarda %27.3 ( $\pm 5.6$ ), (+) iltihaplılarda %30.8 ( $\pm 10.9$ ), (++) iltihaplılarda %24.9 ( $\pm 5.0$ ); (+++) displazili alanlardan (-) iltihaplılarda %36.0 ( $\pm 0.3$ ), (+) iltihaplılarda %32.3 ( $\pm 8.3$ ), (++) iltihaplıda %61.3 ( $\pm 6.0$ ) saptanmıştır. PCNA boyanan CİS alanlarından hiçbirisinde (-) iltihap izlenmemiştir. CİS alanlarından (+) iltihaplılarda %46.9 ( $\pm 17.1$ ), (++) iltihaplılarda %45.6 ( $\pm 1.6$ ) olarak bulunmuştur. (Tablo 37)

**Tablo 37:** Tümör komşuluğundaki mukozal lezyonların ortalama PCNA değerleri ile stromal iltihabi reaksiyonun karşılaştırılması

İltihap	PCNA				CIS
	Normal	(+) disp.	(++) disp.	(+++disp.	
(-)	%9.4(±5.7) n:5	%26.7(±6.5) n:4	%27.3(±5.6) n:4	%36.0(±0.3) n:2	-
(+)	%8.6(±7.88) n:5	%25.1(±7.9) n:7	%30.8(±10.9) n:5	%32.3(±8.3) n:2	%46.9(±17.1) n:5
(++)	%27.3 n:1	%19.9(±1.5) n:2	%24.9(±5.0) n:2	%61.3 n:1	%45.6(±1.6) n:2
p:	0.27	0.47	0.88	0.36	0.69

CIS ve (+), (++) , (+++) displazi ile normal epitele sahip mukozaların proliferasyon indeksleri, stromal iltihabi reaksiyonun varlığı ve şiddeti ile karşılaştırıldığında, bütün lezyonlarda ve normal epitele sahip mukozalarda AgNOR, Ki-67 ve PCNA değerlerinin iltihabi olayın şiddeti arttıkça istatistiksel olarak bir arttığı saptanmamıştır. (Kruskal-Wallis 1-Way Anova)



## RESİMLER



**Resim 1:** Tümör (ok) ve komşuluğundaki lugol almayan, çeşitli derecelerde displazi ve CIS alanları (yıldız) içeren, lugolle boyanmış özofajektomi materyali

**Resim 2:** Resim 1' deki olgunun haritalanma yöntemi

**Resim 3:** Yaygın "glob korne" yapıları bulunduran solid adalardan (ok) oluşan grade I YHCa (H.Ex 4)

**Resim 4:** Keratinizasyonun izlendiği (ok), ancak daha az "glob korne" yapıları bulunduran solid adalardan oluşan grade II YHCa (H.Ex 4)

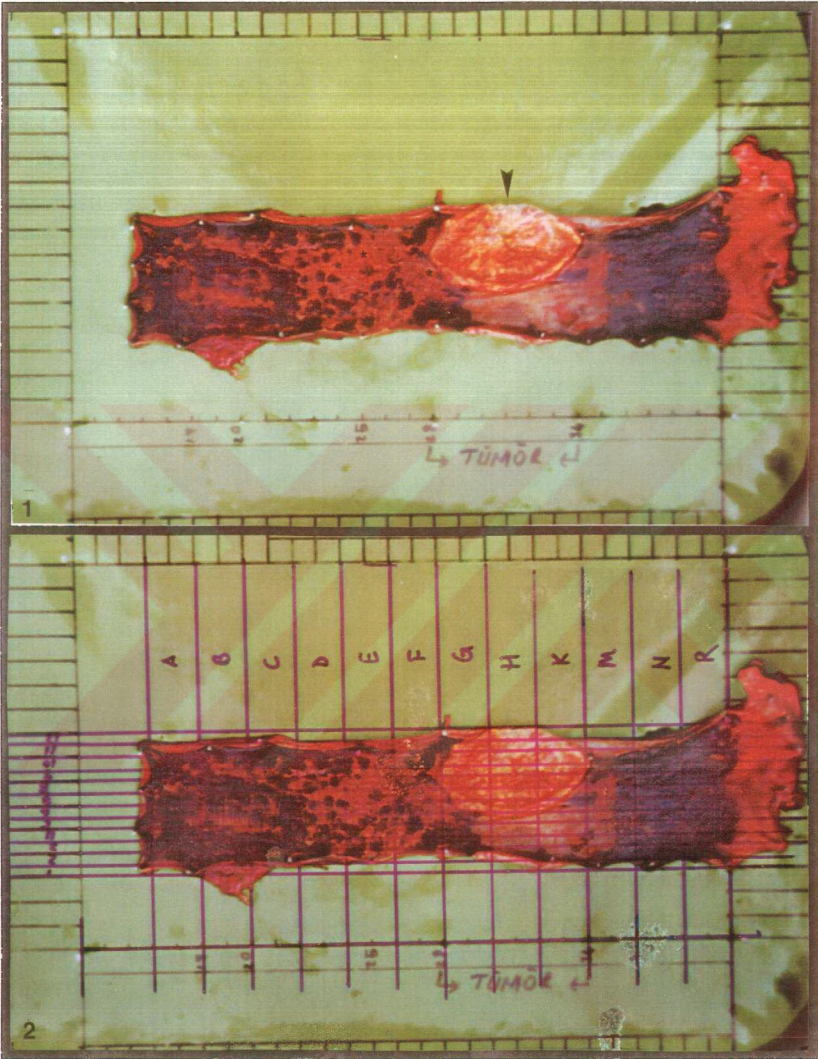
**Resim 5:** Grade II YHCa' da glob korne' nin yakından görünüşü (H.Ex40)

**Resim 6:** Büyük adenoid yapıların (ok) izlendiği grade I Adeno Ca (H.Ex 4)

**Resim 7:** Daha küçük, bez yapıları (ok) bulunduran grade II Adeno Ca (H.Ex 4)

**Resim 8:** Yaygın infiltrasyon gösteren küçük hücre gruplarının oluşturduğu abortif bez yapıları (ok) izlenen grade II Adeno Ca (H.Ex 4)

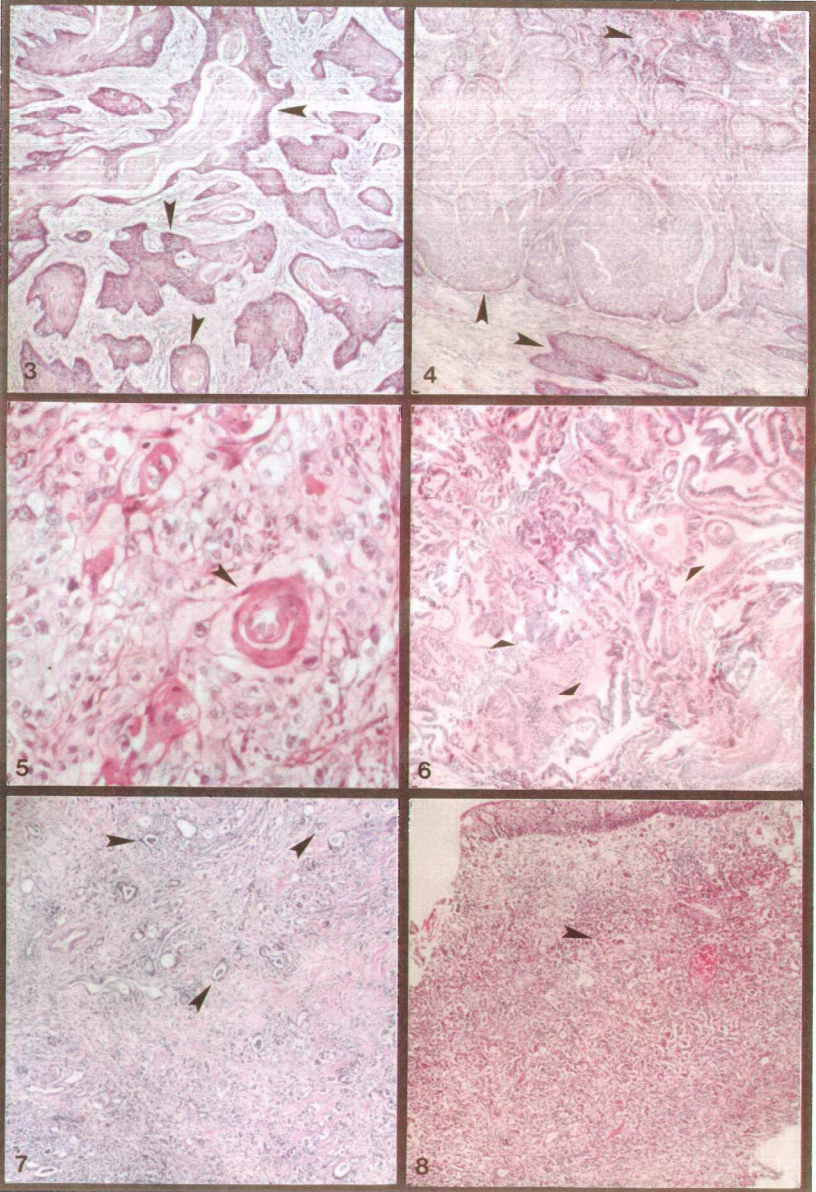
## RESİMLER



**Resim 1:** Tümör (ok) ve komşuluğundaki lugol almayan, çeşitli derecelerde displazi ve CİS alanları (yıldız) içeren, lugolle boyanmış özofajektomi materyali

**Resim 2:** Resim 1' deki olgunun haritalanma yöntemi

## RESİMLER





**Resim 9:** Adventisyada lenf nodülü metastazı (ok) ile vasküler invazyon (yıldız) (H.E.x 10)

**Resim 10:** Lamina propriyada lenfatik içinde tümör kitlesi (ok) (H.Ex 10)

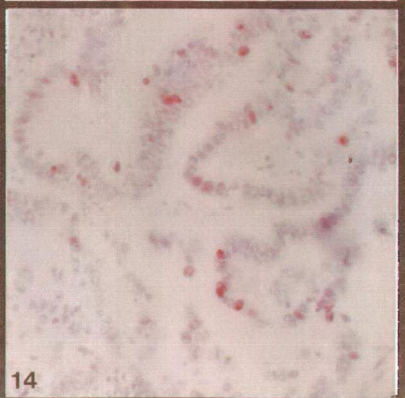
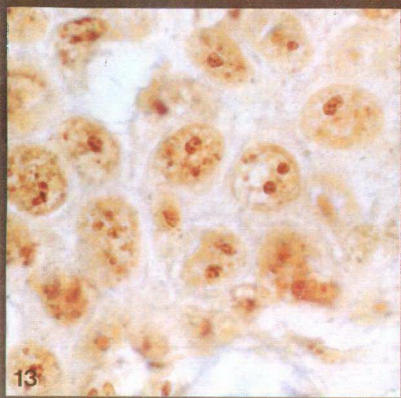
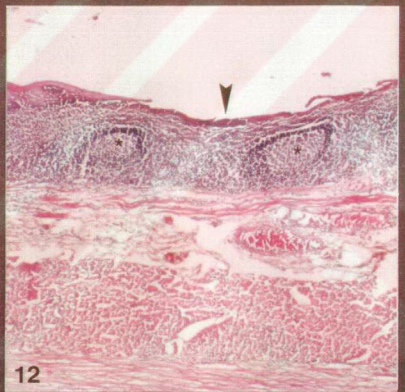
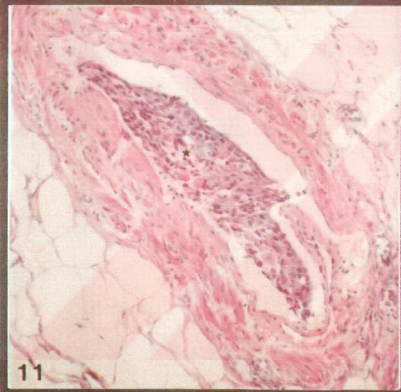
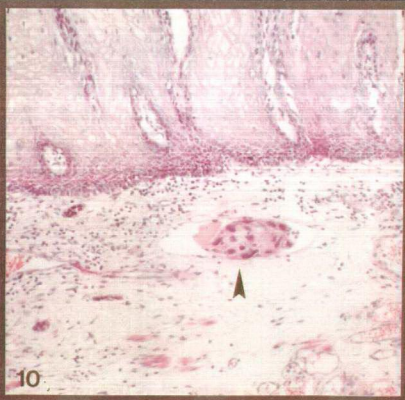
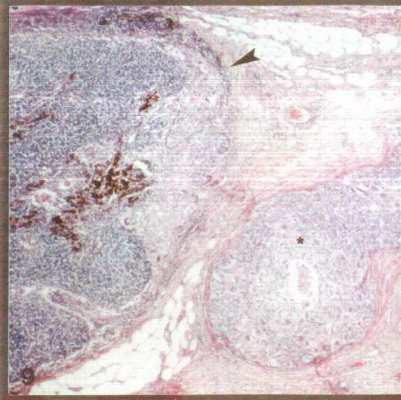
**Resim 11:** Adventisyal yağ dokusunda damar içinde tümör dokusu (yıldız) ile karakterli vasküler invazyon (H.Ex 10)

**Resim 12:** Ülsere olmuş epitel altında (ok), lamina propriyada (++) iltihap (yıldız) (H.Ex 4)

**Resim 13:** YHCa' larda atipik hücrelerdeki NOR' lar (x 1000)

**Resim 14:** Grade I Adeno Ca' da Ki-67 boyanması (x 20)

## RESİMLER



**Resim 15:** YHCa' larda Ki-67 boyanması. Mitoz plağında sitoplazmik boyanma (ok) (x20)

**Resim 16:** Resim 15' deki olguda başka bir alanın yakından görünüşü (x40)

**Resim 17:** YHCa' da PCNA boyanması (x10)

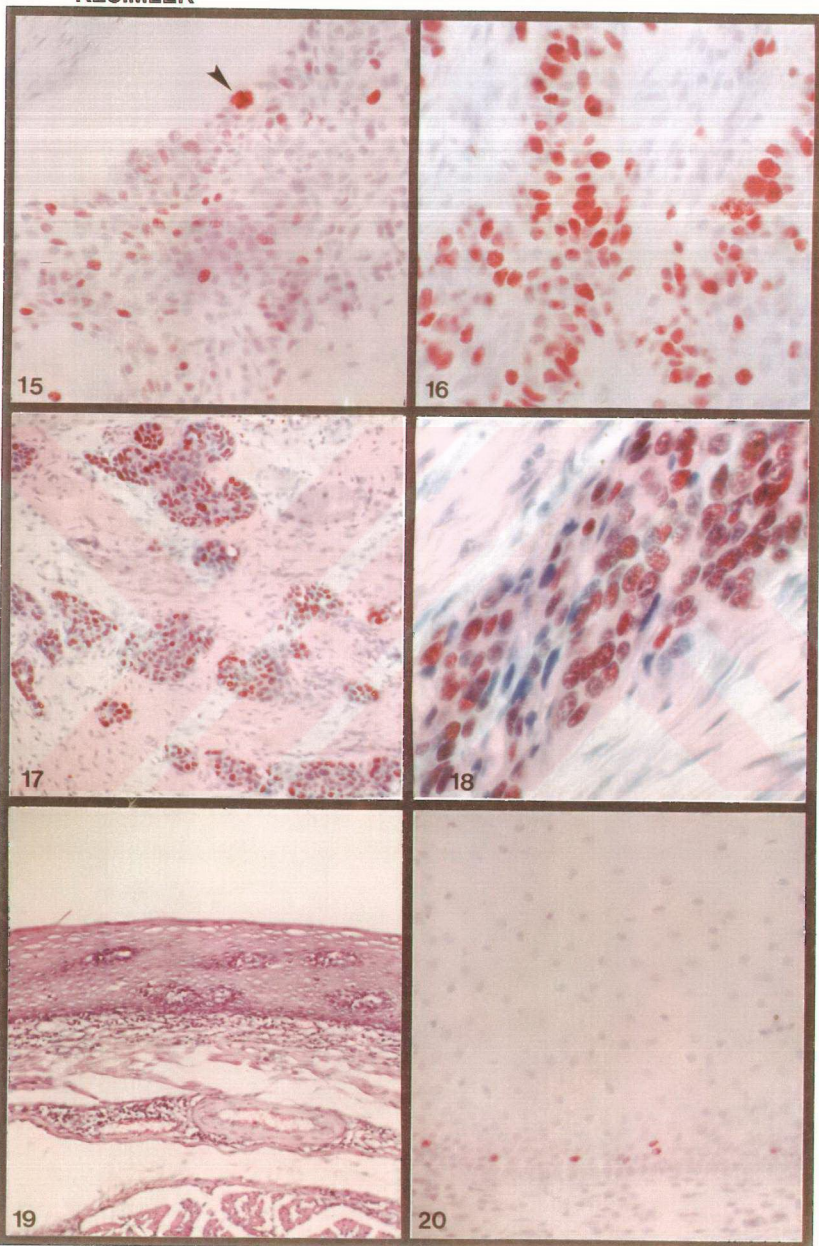
**Resim 18:** Resim 17' deki olguda başka bir sahanın yakından görünüşü (x40)

**Resim 19:** Normal özofagus epiteli (H.Ex 10)

**Resim 20:** Normal özofagus epitelinde bazal hücrelerde Ki-67 boyanması (x10)



## RESİMLER



**Resim 21:** Normal özofagus epitelinin bazal tabaka hücrelerindeki büyük ve genellikle tek veya ikili izlenen NOR' lar (ok) (AgNOR x1000)

**Resim 22:** Normal özofagus epitelinde yüzeysel hücrelerde nükleolle sınırlı tek veya ikili izlenen NOR' lar (ok) (AgNOR x1000)

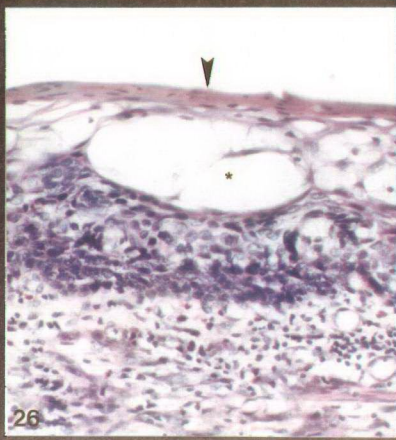
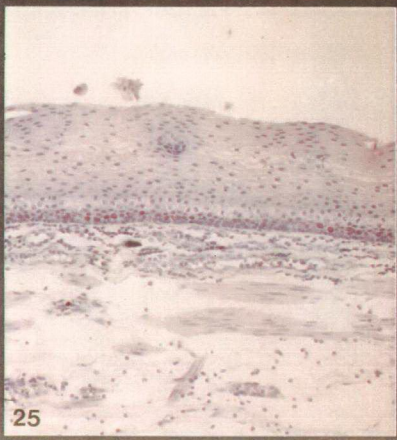
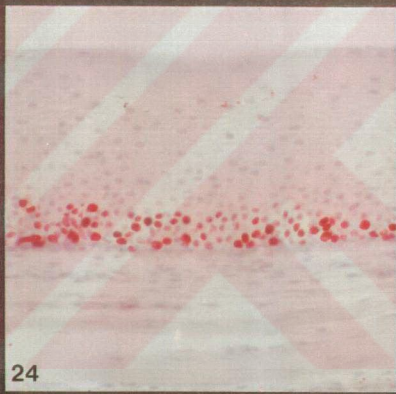
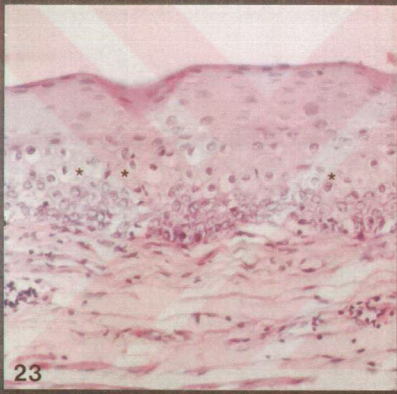
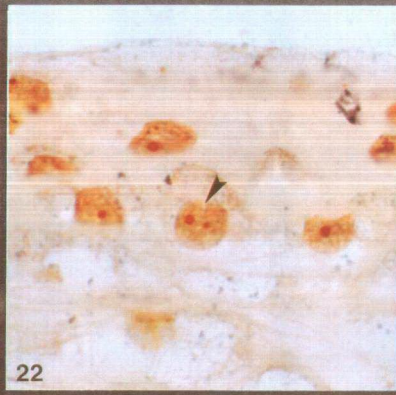
**Resim 23:** Glikojenik akantoz (yıldız) ve (+) displazi bulunduran çok katlı yassı epitel (H.Ex 20)

**Resim 24:** (+) displazide Ki-67 boyanması (x 20)

**Resim 25:** (+) displazide PCNA boyanması (x 10)

**Resim 26:** İntraepitelyal bül (yıldız), parakeratoz (ok) ve (++) displazi bulunduran özofagus epiteli (H.Ex 20)

## RESİMLER



**Resim 27:** Lamina propriyada (+) iltahap bulunduran (yıldız) ve (++) displazi gösteren özofagus mukozası (H.E x10)

**Resim 28:** (++) displazide Ki-67 boyanması (x 20)

**Resim 29:** (++) displazide PCNA boyanması (x 20)

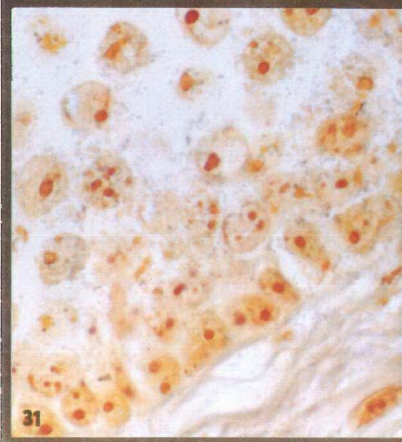
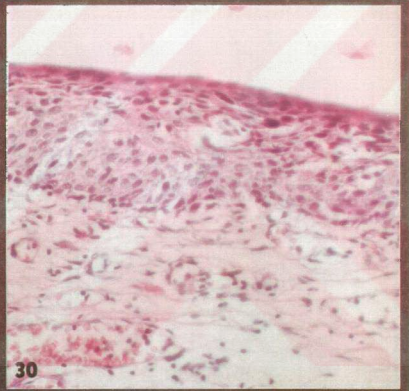
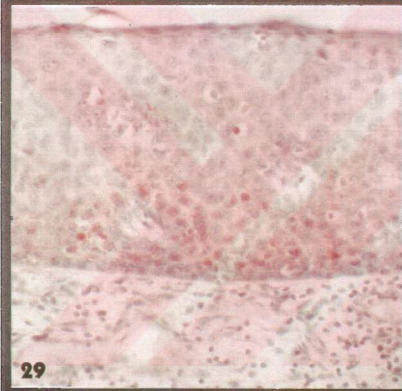
**Resim 30:** Yüzeyde matür hücrelerin izlendiği, (+++) displazi bulunduran özofagus epiteli (H.Ex 20)

**Resim 31:** (+++) displazide bazal ve parabazal tabaka hücrelerinde sayıları artmış ve küçük gruplar oluşturan NOR' lar (AgNOR x 1000)

**Resim 32:** (+++) displazide yüzeysel matür hücrelerin altında, atipik hücrelerde sayıları artmış ve küçük gruplar oluşturan NOR' lar (AgNOR x1000)



## RESİMLER



**Resim 33:** (+++) displazide Ki-67 boyanması (x20)

**Resim 34:** (+++) displazide PCNA boyanması (x20)

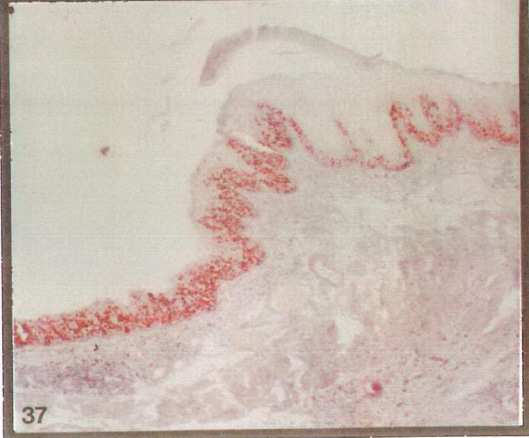
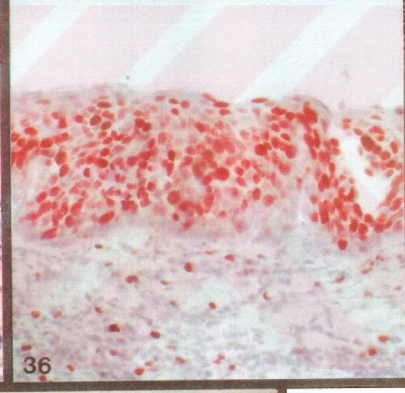
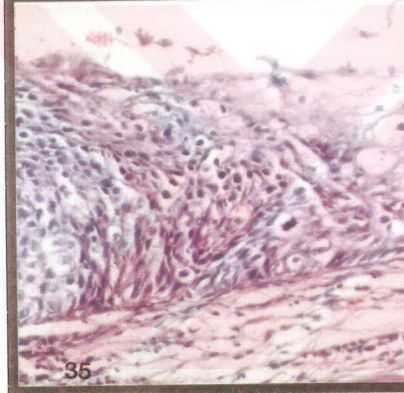
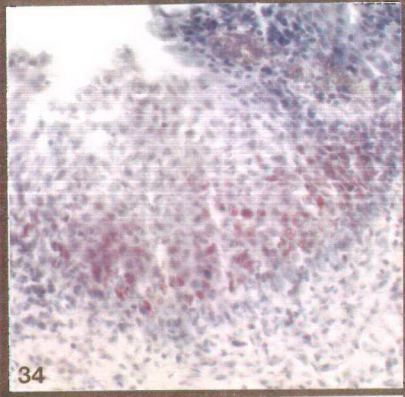
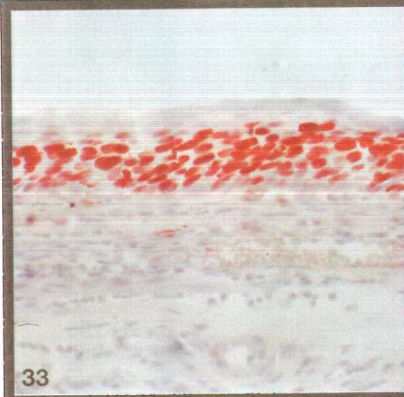
**Resim 35:** CİS ve normal komşuluğunun sınırı (H.Ex20)

**Resim 36:** CİS alanında Ki-67 boyanması (x20)

**Resim 37:** CİS (yıldız) ve (+),(++),(+++) displazi alanları arasındaki geçişlerin izlendiği özofagus mukozasında Ki-67 boyanması (x4)



## RESİMLER





## V- TARTIŞMA

Özofagus kanseri dünya genelinde kanserler arasında 6. sırada yer alan ve anatomisi nedeni ile erken yayılıp, geç bulgu veren bir malignitedir. Coğrafik ve kültürel farklılıklar sergilediğinden özellikle görülme oranının yüksek olduğu toplumlarda mortalitesi ve morbiditesi fazla olmaktadır. (1,3,4) Özofagus kanserlerinde 5 yıllık yaşam süresi ilerlemiş olgularda % 0.8-15, erken kanserlerde ise % 56 ile 90 arasında değişmektedir. (18,19,20,21,22,23) Ancak aynı evrede bulunan olgularda da yaşam oranlarında farklılıklar bulunmakta bazı hastaların daha kötü ve hızlı seyrettiği izlenmektedir. Bu nedenle son yıllarda çalışmalar özofagus kanserini erken dönemde yakalamak ve ayrıca prognozu daha kötü olabilecek olguları saptayarak, bunlara kombine tedavi yöntemlerini uygulama yönünde olmaktadır. (14,15,16)

### V a- Tümörlere Ait Klinik ve Histopatolojik Bulguların Değerlendirilmesi

Özofagus Ca ile ilgili yapılan epidemiyolojik çalışmalarda insidansının 50 yaş ve üzerinde arttığı bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda yaş ortalamaları 57-63 arasında değişmektedir. (32,33,113,114,115) Bizim çalışmamızda literatür ile uyumlu bir yaş dağılımı saptanmış olup olguların çoğunluğu (% 74,1) 6. dekad ve üzerinde bulunmuştur. (Tablo 7) YHCa' ların yaş ortalaması (59.6) Adeno Ca' ların yaş ortalamasından (65) biraz daha küçük olmakla birlikte Adeno Ca' ların sayıca çok az olması bu konuda bir genelleme yapılmasına olanak vermemektedir. Literatürde kesin bir rakam bildirilmemekle birlikte Adeno Ca' ların görülme sıklığında YHCa' lara göre daha geç yaşlarda artış olduğu ifade edilmektedir. Aynı çalışmalarda erkek hakimiyeti olup, kadın/erkek oranı YHCa' larda 1/2, Adeno Ca' larda de 1/7 olarak bildirilmektedir. (3,20,31,32,33,35,36, 113,114,115,116,117) Cinsiyetlere göre yaş ortalamaları kadınlarda 51-64, erkeklerde de 50-61 arasında değişmektedir. (3,31) Bizim çalışmamızda YHCa'

larda kadın/erkek oranı 10/13, adeno Ca' larda ise 1/3 olarak bulunmuştur. Kadın olguların yaş ortalamaları YHCa' lerde 54.8' dir ve tek Adeno Ca olgusu 71 yaşındadır. Erkeklerin yaş ortalamaları YHCa' lerde 59.76, Adeno Ca' lerde de 63 olarak saptanmıştır.

Dünya genelinde olduğu gibi ülkemizde de özofagus Ca' larının bazı coğrafik bölgelerde daha sık görüldüğü saptanmıştır. Ülkemizde en fazla Doğu Anadolu ve Doğu Karadeniz bölgelerinde izlendiği bildirilmektedir. (8) Bu çalışmada olguların doğum yerleri incelendiğinde birinci sırada %44,4 ile Doğu Anadolu' nun, ikinci sırada ise %25,9 ile Orta Anadolu' nun olduğu dikkati çekmektedir. (Tablo 8) Bu yığılımın nedeni diğer ülkelerde olduğu gibi muhtemelen genetik faktörler ile bazı beslenme alışkanlıklarına eşlik eden besinsel yetersizliklerin henüz kesin olarak bilinmeyen bir kısım çevresel faktörlere eşlik etmesi olabilir. (4,11,18,19,25,41, 47)

Özofagus kanserlerinin çoğunluğu epitelyal kökenli olmakta özellikle de YHCa çok sık izlenmektedir. Klasik bilgilere göre Adeno Ca , özofagus kanserlerinin yaklaşık % 10' unun oluşturmaktadır. Son 20 yılda Batı ülkelerinde ve Japonya ' da mide korpus ve antrumunun tersine, alt özofagusun ve gastroözofageal bileşkenin adeno karsinomunda belirgin bir artış olduğu ve Adeno Ca' nın özofagus kanserleri içindeki payının %40' lara ulaştığı bildirilmektedir (37,60,61,118,119,120,121,122,123,124) Son yıllara ait verilerde YHCa' ların insidansının sabit kalması Adeno Ca' lardaki artışın daha çarpıcı olmasına neden olmaktadır. (20) Bu artışın sebebi kesin olarak bilinmemekle birlikte değişik toplumlarda gastroözofageal reflü artışına bağlı olabilir. (60) Ayrıca gelişen endoskopik yöntemler sayesinde, tümörler henüz erken dönemde mide ve özofagusa tamamen yayılmadan saptanabilmektedir. Bu sayede tümörlerin orjinal lokalizasyonları ve kökenleri tespit edilebilmektedir. Bizim serimizin %85' i YHCa' olgularından, %15' i ise Adeno Ca olgularından meydana gelmektedir.

Serimizde elde ettiğimiz oranlar, 1995 yılında yayınlanan 10000' den fazla vakalık bir epidemiyolojik çalışmada verilen % 16' lık Adeno Ca oranına oldukça yakın olmakla birlikte, daha fazla olguyu içeren bir seride bunun tartışılması gerçekçi olacaktır. (20) Ülkemizde endoskopik incelemelerin gelişmesi ve sıklaşması ile, bizim serilerimizde de tümörlerin daha erken dönemlerde yakalanması mümkün olabilecektir. Adeno Ca gelişiminde risk faktörleri arasında bulunan gastro-özofageal reflü ve Adeno Ca için prekürsör lezyonlardan Barrett metaplazisi ile displazinin tanısı ve tedavisi ile tümör gelişiminin önlenmesi mümkün olabilecektir.

Klasik bilgilere göre özofagus kanserlerinin %56' sı orta özofagusda, %32' si alt özofagusda ve %2' side üst özofagusda yerleşmektedir. (39) Oldukça geniş serilerde yapılan epidemiyolojik bir çalışmada bu oranlar %15.9 üst özofagus, %40.4 orta özofagus ve %43.6 alt özofagus şeklinde bildirilmektedir. Üst özofagusda ki tümörlerin %90.7' si, orta özofagusdakilerin %86.9' u ve alt özofagusdakilerin ise %50.7' si YHCa olarak bildirilmektedir. (20) Bizim çalışmamızda tümörler olguların %15' inde üst özofagusda, %52' sinde orta özofagusda, %33' ünde ise alt özofagusda yerleşmiştir. Alt özofagusdaki tümörlerin %56' sını YHCa oluşturmaktadır. Üst özofagusdaki vakaların %75' ini hipofarinks karsinomları oluşturmaktadır. Bu çalışmada literatürdeki bilgilere göre orta özofagusda yerleşen tümör sayısı alt özofagusda yerleşen tümör sayısına göre biraz daha fazladır. Alt özofagusdaki tümörlerde YHCa ve Adeno Ca oranları literatür oranlarına yakın olarak izlenmektedir. (20)

Özofagus Ca' larında tümörlerin boyutu diğer gastrointestinal kanal tümörlerinin çoğunda olduğu gibi hastanın doktora başvurma zamanına bağlıdır. Özofagus Ca' ları oldukça geç bulgu verdikleri için genellikle tümörler saptandığında büyük boyutlara ulaşmıştır. Çalışmamızdaki olgularda tümörlerin boyutu incelendiğinde YHCa' ların ortalama 5.5 cm (2-9.5 cm), Adeno Ca' ların da ortalama 7.6 cm (2.4-11 cm) olduğu saptanmıştır. Adeno Ca' ların ortalama boyutu

YHCa' ların ortalama boyutundan daha büyüktür. Ancak YHCa ve Adeno Ca olgularının serideki oranları homojen olmadığı için böyle bir sonuca varmak uygun olmamaktadır. Türkiye' de endoskopik incelemenin yaygın olmaması ve bu nedenle olguların geç tanı alması da tümör boyutlarının büyük olmasına neden olduğu şeklinde açıklanabilir..

YHCa olguları 5 cm' ye eşit ve küçük olanlar ile 5 cm' den büyük boyutlular şeklinde iki gruba ayrılarak diğer klinikopatolojik bulgularla karşılaştırılmışlardır. Toplam 23 adet YHCa olgusunun %57' si 5 cm' ye eşit veya küçük iken, %43' ü 5 cm' den büyüktür. (Tablo 9) Tümör boyutu ile duvardaki invazyon derecesi (Tablo 9), lenf nodüllerinin durumu (Tablo12), differansiyasyon (Tablo15) ve stromal iltahabi reaksiyonunun şiddeti (Tablo 10) karşılaştırılmış ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Literatürde bunların arasındaki ilişkinin araştırıldığı geniş serilere rastlanmamıştır.

YHCa' larda tümör boyutu 5 cm' den büyük olanların 5 cm' den küçük olanlara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazla vasküler invazyon gösterdikleri saptanmıştır. (Tablo 13) Literatürde boyut ile vasküler invazyon arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak tümörlerin tanı alma süresi geciktikçe infiltratif özelliklerinin artması beklenen bir durumdur. Tümörlerin vasküler metastaz kapasiteleri ile bazı özel adezyon molekülleri ile enzimlerin ekspresyonuna veya kaybına bağlıdır. Bütün malign tümörlerde, her malign hücre metastaz yeteneğine sahip değildir. Genellikle tümöral hücrelerin genomları çok labil olduğu için, tümör gelişimi sırasında çeşitli mutasyonlar sonrasında, metastaz için gerekli özellikleri kazanan malign hücreler gelişmektedir. (39) Genel bir düşünce olmakla birlikte, tanı alma süresi uzadıkça tümörlerin metastatik kapasiteleri de artmaktadır. Bu özellikler, büyük boyutlu tümörlerde daha fazla oranda vasküler invazyonun izlenmesini açıklayabilmektedir.

Özofagus Ca' larında evre, hastaların prognozunu belirleyen en önemli parametrelerden biri olarak bildirilmektedir. (37,39,63,66,67) Evreyi oluşturan iki parametre vardır. Bunlar tümörün duvardaki invazyon derecesi ve lenf nodüllerinin durumudur. Sağlıklı bir evrelendirmenin yapılabilmesi için dikkat edilmesi gereken en önemli nokta, özofagusu drene eden çeşitli lenf nodülü gruplarının sistematik olarak çıkarılarak incelenmesidir.

Özofagus Ca' ları duvardaki invazyon derecelerine göre farklı biyolojik davranışlar sergilemektedir. (3,32,34,66,113,) Bu nedenle genel olarak, yüzeysel ve ilerlemiş özofagus Ca olarak iki ana grup halinde incelenmektedir. Erken özofagus Ca, yüzeysel özofagus Ca grubu içinde yer alıp, lenf nodülü metastazı olsun veya olmasın, invazyonu muskularis mukoza ile sınırlı olan ve submukoza invazyonu gösterip, lenf nodülü metastazı bulundurmayan tümörleri içermektedir. Özellikle endoskopik tarama programlarının uygulandığı yüksek insidansa sahip ülkelerde diğer ülkelere göre erken özofagus Ca daha fazla oranlarda bildirilmektedir. Bu oranlar Batılı ülkeler için %0.7-4.7 olarak saptanırken, Japonya' da bir seride %24 olarak ifade edilmektedir. (13) Bizim çalışmamızda hiç erken olgu bulunmayıp, olguların hepsi de ilerlemiş Ca' lardan meydana gelmektedir. YHCa' ların %13' ü, Adeno Ca' ların %25' i muskularis propriya ile sınırlıdır. (Tablo 13) Bu durumun nedeni tümörün geç belirti vermesi olduğu gibi, ülkemizde yüksek risk bölgelerinde ve riskli ailelerde sağlık politikası olarak düzenli endoskopik taramanın uygulanmamasıdır.

Çalışmamızda YHCa olguları duvardaki invazyon derecesi açısından muskularis propriya ile sınırlı olan olgular ve adventisya invazyonu bulunduran olgular şeklinde iki gruba ayrılarak diğer klinikopatolojik parametrelerle karşılaştırılmıştır. Bu iki grup arasında tümör boyutu (Tablo 9), grade' i (Tablo 19), vasküler invazyon (Tablo 18) ve stromal iltahabi cevabın şiddeti (Tablo 20) açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Bununla birlikte adventisya invazyonu bulunan olguların, muskularis propriya ile sınırlı olgulara göre daha fazla lenf nodülü metastazı bulundurdukları izlenmiştir. (tablo 17)



Muskularis propriya ile sınırlı olgularda hiç lenf nodülü metastazı bulunmazken, adventisya invazyonu olan olguların %48' inde lenf nodülü metastazı bulunduğu görülmüştür. Olgularımızda sistemik lenf nodülü disseksiyonu yapılmadığı ve muskularis mukoza ile sınırlı 4 YHCa' nın 1' inde, adventisya invazyonu olan YHCa' ların da 2' sinde hiç lenf nodülü örneklenmemiş olmasına rağmen istatistiksel olarak iki grup arasında fark saptanmış olması, özofagus Ca' larında literatürlerle paralel bir şekilde duvardaki invazyonun derecesinin tümörün davranışında ve dolaylı olarak hastanın prognozunda önemli bir yeri olduğunun göstergesidir. (3,36,66,113)

Özofagus Ca' nun prognozunu etkileyen bir diğer faktör, evre' nin de diğer bir parametresini oluşturan lenf nodüllerinin durumudur. Özofagus Ca' unda submukazada sınırlı tümörlerde bile %30-40 lenf nodülü metastazı gözlenmektedir. (11,13,29,47,71) Bir seride genel olarak özofagus Ca lenf nodülü metastaz oranı %62.7 olarak bildirilmektedir. (113) Bizim çalışmamızda ise olguların tümünde muskularis propriya invazyonu bulunduğu halde bunların sadece %48' inde lenf nodülü metastazı saptanmıştır. Literatüre göre oldukça az olan bu oran, serimizdeki hastalarda en büyük eksikliğin sistemli bölgesel lenf nodülü disseksiyonunun yeterince uygulanmamış olduğunu ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda olgular lenf nodülü metastazı bulunduran ve metastaz olmayanlar şeklinde iki gruba ayrılarak diğer klinikopatolojik parametrelerle karşılaştırılmıştır. Tümör boyutu (Tablo 12), grade' i (Tablo 22) ve stromal iltahabi reaksiyonun şiddeti (Tablo 24) ile yapılan karşılaştırmalarda lenf nodülü metastazı bulunduran ve metastaz olmayan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olmadığı görülmüştür. Literatürde bu parametrelerin karşılaştırıldığı geniş bir seriye rastlanmamıştır.

Lenf nodülü metastazı ile boyut (tablo 12), duvar invazyon derinliği (Tablo 17), vasküler invazyon (Tablo 21), grade (Tablo 22) ve stromal iltihabi cevabın (Tablo 24) karşılaştırıldığı inceleme sırasında, lenf nodülü metastazı

bulunan olgular ile metastaz bulunmayan olgular arasında, vasküler invazyon açısından, istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (p:0.04). Lenf nodülü metastazı bulunmayan olguların %4'ünde, lenf nodülü metastazı bulunan olguların da %22'sinde damar invazyonu izlenmiştir. (Tablo 32) Lenf nodülü metastazında da vasküler invazyonda olduğu gibi, mutasyonlar sonucunda, tümör hücrelerinde bazı adezyon moleküllerinin ve enzimlerin kazanılması veya kaybedilmesinin rolü bulunmaktadır. (39) Tümörlerin tiplerine göre daha sıklıkla izledikleri metastaz yolları olmakla birlikte, lenf nodülü metastazı bulunan bir tümörde vasküler invazyonun da bulunması bu nedenle beklenebilir bir özelliktir.

Çalışmamızın tümörlerdeki klinikopatolojik parametrelerin karşılaştırıldığı ve değerlendirildiği bu kısmında vasküler invazyon ile duvar invazyonu (Tablo 18), grade (Tablo 25) ve stromal iltihabi reaksiyonun şiddeti arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Literatürde bu parametrelerin karşılaştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Serimizdeki bütün olguların ilerlemiş Ca' lar olmalarının vasküler invazyon ile ilişkisinin bulunmamasının nedeni olabileceği düşünülmektedir. Çünkü duvar invazyonu için gerekli moleküler ve enzimatik özellikleri kazanan bir tümörün, vasküler invazyon için de gerekli moleküler ve enzimatik değişikliklere sahip hücreler içermesi muhtemeldir. Ancak özellikle erken ve ilerlemiş özofagus karsinomlarının karşılaştırılmalarında, vasküler invazyon açısından anlamlı sonuçların elde edilebileceği düşünülmektedir. Bu nedenle endoskopik tarama yöntemleri ile erken olgular saptanıp geniş serilerde ilerlemiş olgularla karşılaştırılmalı ve değerlendirilmelidir. Stromal iltihabi reaksiyonu, tümörün antijenik özelliği, konakçının immün durumu ve tümörün mukozal bariyeri tahrip etmesi nedeni ile luminal antijenlerle direk etkileşme gibi çok sayıda faktörden etkilenebileceği bildirilmektedir. (21,26,114) Bu nedenle vasküler invazyon ile stromal iltihabi reaksiyonun tek başlarına anlamlı bir ilişki sergilemeleri beklenmemektedir.



Bütün solid neoplazilerde differansiyasyon azaldıkça tümörlerin daha hızlı ve kötü bir seyir sergileyecekleri görüşü vardır. Klasik kitaplara göre özofagus YHCa genellikle orta ve iyi differansiye tümörlerden oluşmaktadır. Ancak özofagusun anatomik ve histolojik özellikleri prognozu kötü yönde etkilemektedir. (39) Yapılan çalışmalarda oranlar %32 grade I, %51 grade II, %17 grade III olarak bildirilmektedir. (32) Bizim çalışmamızda da YHCa olgularının %52.2' si grade I ve % 47.8' i grade II olarak saptanmıştır. Adeno Ca' ların % 25' i grade I, % 50' i grade II, % 25' i ise grade III' dür. YHCa olgularında grade ile diğer klinikopatolojik parametrelerin ilişkisi araştırıldığında grade I ve grade II olgular arasında boyut (Tablo 25), lenf nodülleri ( Tablo 22) ile vasküler invazyon durumu (Tablo 25), iltihabi cevabın şiddetinde (Tablo 28) istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Grade' i düşük olgularda tümörün çoğalma hızı yavaş, yüksek grade' lilerde ise hızlıdır. Bunlar tümörün yayılım zamanının hızlanmasını etkileyebilecek özellikler olabilir. Ancak burada önemli olan hastanın tümörünün hangi evrede yakalandığıdır. İki yılda submukozaya yayılan differansiye bir tümörle, 6 ayda ilerleyen az differansiye tümör arasında vasküler invazyon, lenf nodülü metastazı yönlerinden anlamlı fark bulunması doğaldır. Burada tümörün derinliği arttıkça lenfatik invazyonun artacağı ve lenf nodülü metastazının da yüksek olacağı bellidir. Ancak tümörün davranışını etkileyen yukarıda sayılan adeziv özelliklerde göz önünde tutulmalıdır. Ayrıca WHO' nu histolojik grade' lendirmesi yerine Sarbia ve ark.' nın (114) önerdiği gibi keratinizasyon derecesi, nükleer pleomorfizm, mitotik aktivite ve inflamatuvar cevabın değerlendirildiği bir skorlama sistemi ile yapılacak grade' leme sisteminin ile agresif davranış belirtisi olarak değerlendirilen vasküler invazyon ile ilişki saptanabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle daha geniş ve homojen serilerde klinikopatolojik parametrelerin karşılaştırılması gerekmektedir.

## **V b- Tümörlerde Proliferasyon Marker' ları ile Elde Edilen Bulguların Değerlendirilmesi**

Proliferasyon marker' ları son zamanlarda çeşitli benign ve malign olaylarda proliferasyon hızını ölçmek amacı ile kullanılmaktadır. Bu amaçla teknik olarak basit bir yöntem olan AgNOR ile son yıllarda üzerinde çok fazla durulan İHK' sal proliferasyon belirleyicileri olan Ki-67 ve PCNA oldukça sık kullanılmaktadır.

Bir tümörün proliferasyon durumunun belirlenmesi amacıyla kullanılan en eski yöntem mitoz sayısının saptanmasıdır. Ancak bilindiği gibi mitoz sayısı sadece siklusun M-fazındaki hücreler hakkında bilgi verebilmektedir. M-fazı siklusun oldukça kısa bir döneminde gerçekleşmektedir. (76) Bu yöntem ile diğer fazlardaki, proliferasyon hücreler saptanamamaktadır. Ayrıca mitotik hücre sayısı diğer proliferasyon belirleyicilerine göre daha subjektif bir yöntem olmakta, apoptotik hücrelerin ayırımında sıkıntı çekilmektedir. Sağlıklı bir mitoz sayımı için standart tespit ve takip işlemlerini gerekmektedir. Bu dezavantajları nedeniyle, özofagus Ca' larda mitoz sayısı proliferasyon belirleyicisi olarak çok fazla tercih edilmemekte, daha çok yeni grade' leme sistemlerinde başka patolojik bulgularla birlikte kullanılmaktadır. (114)

Bu çalışmada YHCa' larda tümör boyutu, lokalizasyonu, duvar invazyon derinliği, tümör grade' i, lenf nodülü metastazı, vasküler invazyon varlığı ve stromal iltihabi cevabın şiddeti açısından, mitoz sayısı 0-4 arasında olan olgularla, mitoz sayısı 5 ve daha fazla olan olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Literatürde son yıllarda özofagus Ca' larında mitoz sayısının incelendiği çalışmalar çok sınırlı olduğu gibi diğer patolojik bulgularla karşılaştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bununla birlikte mitoz sayısının proliferasyon belirleyicisi olarak daha önce bahsedilmiş olan dezavantajları nedeni ile, diğer patolojik bulgularla herhangi bir ilişkinin bulunmamış olması beklenen bir sonuçtur.

AgNOR tekniğinde amaç gümüşleme yöntemi ile NOR' ları görünür hale getirmektir. Hücre proliferasyonunun ve protein sentezinin kontrolünde nükleolün önemli bir yeri vardır. NOR' lar nükleol ile ilişkili rRNA kodlayan DNA halkalarıdır. Yapılan çalışmalarda tümörlerin AgNOR değerlerinin, yani nükleol başına düşen ortalama NOR sayılarının hücrenin kinetiği ve malignite derecesi ile korrele olduğu düşünülmektedir. Miller ve ark., AgNOR' lardaki ak-rosetrik kromozom sayıları ile hücre başına düşen kromozom sayısı arasında pozitif bir ilişki olduğunu göstermiştir. Anöploid hücrelerde akrosetrik olanlar da dahil kromozomların sayısının diploid hücrelerden daha fazladır. Böylece anöploid hücrelerde daha yüksek AgNOR değerleri beklenilmektedir. Suresh ve ark.'nın trofoblastik dokularda yaptığı bir çalışmada AgNOR değerinin proliferasyondan çok ploidy ile alakalı olduğunu ve indirekt olarak proliferasyon kapasitesini yansıttıklarını bildirmişlerdir. (10,35,36)

Meme, mide, kolon kanserleri ile karaciğer hastalıklarında yapılan önceki çalışmalarda AgNOR skorunun malignite göstergesi olabileceği bildirilmektedir. (10)

Özofagus Ca' larında yapılan çalışmalarda AgNOR değerleri ile grade ve vasküler invazyon arasında ilişki bildirilmektedir. Ancak tümör boyutu ve invazyon derinliği ile lenf nodülü metastazı ile AgNOR değerleri arasında paralellikten bahsedilmektedir. (36)

Bizim çalışmamızda olgularımızda genellikle hücresel atipi arttıkça NOR' larında sayısının arttığı ve nükleus içinde dağınık bir şekilde buldukları izlenmiştir. Hücresel atipi azaldıkça NOR' lar az sayıda ve genellikle grup halinde gözlenmiştir. YHCa' larda ortalama AgNOR değerleri  $3.59 (\pm 1.12)$ , Adeno Ca' da  $2.33 (\pm 0.68)$  olarak saptanmıştır.

Olgularımızda literatür ile paralel şekilde vasküler invazyon ve grade ile AgNOR değerleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır. Literatürde anlamlı ilişki bildirildiği halde, serimizde tümör boyutu, invazyon derinliği ve lenf nodülü metastazı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki izlenmemiştir.

(10,36) Çalışmamızı meydana getiren olguların hepsinde de muskularis propriya invazyonunun bulunup, ilerlemiş Ca olmaları ve aynı şekilde erken tanı yöntemleri olmadığı için küçük boyutlu tümörlerin bulunmaması bu uyumsuzluğu açıklar niteliktedir. Yapılan çalışmaların hepsinde de lenf nodülü disseksiyonunun yapılmış olması ve olgularımızda bu yöntemin eksikliği literatür ile uyumsuz bulunan sonuçlara neden olmaktadır. Ayrıca son zamanlarda AgNOR değerlendirmelerinde görüntü analizi teknikleri ile NOR alanları hesaplanıp nükleus alanına oranlandığı daha objektif bir yöntem önerilmektedir. (10) Bu yöntemin kullanıldığı çalışmalarda daha farklı ve literatür ile uyumlu sonuçların elde edileceği düşünülmektedir.

Ki-67 hücre siklusunda G0 dışında her fazda eksprese edilen ve hücre proliferasyonunda mutlaka gerekli olan bir nükleer antijendir. (80) PCNA ise DNA polimeraz delta' nın kofaktörü olup, temel olarak S- fazında sentezlenen ama geç G1 ve G2/M interfazlarında da daha az oranlarda saptanabilen bir nükleer antijendir. Hem PCNA hem de Ki-67' nin proliferasyonu inceleme açısından rutin kullanım sırasında bazı iyi ve kötü yönleri vardır. PCNA, hücre siklusunda değilken DNA hasarının tamiri sırasında da sentezlenmektedir. Ayrıca İltihabi hücrelerden ve tümör hücrelerinde salınan sitokinler ve çeşitli growth faktorler hücre siklusunda olmasa bile PCNA ekspresyonuna neden olabilmektedir. Bir diğer kullanımını sınırlayan özelliği ise formalin tespitinden çok fazla etkilenmesidir. Tespit süresi 24 saati geçtikten sonra PCNA immünreaksiyonu hızla azalmakta ve 72 saatlik tespitten sonra hemen hemen hiç boyanma olmamaktadır. Bu nedenle her preparatta ve matereyalde güvenilir bir sonuç elde edilememektedir. Ki-67, PCNA 'e göre daha geniş spektrumlu bir antikor olup yukarıda sayılan dezavantajları bulunmamaktadır. Ancak Ki-67 immünboyanması formalin tespiti ile maskelendiği için primer antikor uygulanmadan önce bazı tampon solüsyonları içerisinde mikrodalga uygulanması gerekmektedir.

Özofagus Ca' larında Ki-67 ile yapılan çalışmalarda tümör boyutu, evre ve grade ile Ki-67 indekslerine bakılmış ve boyut ve evre ile proliferasyon indeksi arasında bir ilişki bildirilmemiştir. Grade ile Ki-67 indeksi arasında bir seride anlamlı bir ilişki olduğu, tümörün differansiyasyonu arttıkça Ki-67 indeksinin de düştüğü bildirilirken, başka bir çalışmada da benzer bir ilişki saptanmış ancak istatistiksel olarak anlamlı düzeylere çıkmadığı vurgulanmıştır. (31,32)

Olgularımızda Ki-67 değerleri YHCa' larda %44.82 ( $\pm 10.60$ ), Adeno Ca' larda da %38 ( $\pm 11.28$ ) olarak saptanmıştır. Ki-67 değerleri diğer klinikopatolojik parametrelerle karşılaştırıldığında literatürle uyumlu olarak, boyut ile evreyi oluşturan parametreler olan lenf nodülü metastazı ile duvar invazyon derecesi arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Literatürden farklı olarak grade ile de Ki-67 değerleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Ki-67 değerlerinin saptandığı alanların seçimindeki farklılığın bu sonuca neden olduğu düşünülmektedir. Olgularımızda diğer yayınlarda da vurgulandığı gibi tümörlerde keratinize alanlardaki hücrelerde Ki-67 boyanmamış olup, adaların periferindeki hücrelerde ve differansiyasyonun az olduğu infiltratif alanlara yaygın şekilde Ki-67 boyanması saptanmıştır. Ancak olguların Ki-67 değerlerini tespit edebilmek için tümörlerin en az differansiye alanları seçilmiş ve değerlendirilmiştir. Bu yöntemin tercih edilmesinin nedeni tümörün proliferasyon kapasitesini ve biyolojik davranışını bu alanlarca yönlendirildiği düşüncesidir. Grade ile Ki-67 indeksleri arasında ilişki saptanan serilerde Ki-67 değerlendirmeleri tümörlerin en baskın differansiyasyon sahalarında yapılmıştır. (32)

Olgularımızda vasküler invazyon ve stromal iltahabi reaksiyonun şiddeti ile Ki-67 değerleri arasında da anlamlı bir ilişki izlenmemiş olup, literatürde bu parametrelerin karşılaştırıldığı geniş serilere rastlanmamıştır.

Genel olarak vasküler invazyon ve lenf nodülü metastazının tümörlerin agresif davranışlarının bir göstergesi olduğuna inanılmaktadır. Aynı şekilde yüksek proliferatif kapasitenin de benzer davranış özelliklerine işaret edebileceği düşünülmektedir. Ancak çalışmamızdaki ve literatürdeki sonuçlar bunu

desteklememektedir. Daha önce de vurgulandığı gibi tümöral hücrelerin lenfatik veya başka bir vasküler yapıya ulaşmaları ve metastaz oluşturabilmeleri için genomlarındaki mutasyonlarla bazı adezyon moleküllerini eksprese etmeleri ve bazı enzimleri salgılamaları gerekmektedir. (39) Proliferatif kapasitenin yüksek olması, yani daha çok hücrenin siklusda bulunması bu mutasyonların gerçekleşme olasılığını arttırmaktadır. Bununla birlikte, proliferatif kapasite yüksek olsa bile, aynı zamanda tümörde lenf nodülü metastazı ve vasküler invazyonu gerçekleştirebilecek tümöral hücrelerin bulunmaması olasılığı da vardır. Proliferasyonun yüksek olmasının muhtemelen lokal invazyonu daha fazla etkilediği ve yüksek Ki-67 değerleri ile duvar invazyonu arasında bir paralelliğin bulunmasının gerektiği düşünölebilir. Ancak yapılan çalışmalarda, özofagus Ca' ında tümör adalarında Ki-67 ekspresyonunun mikrosirkülasyondan çok etkilendiği, iyi beslenemeyen hücrelerin bir kısmının siklusun çeşitli fazlarında duraklayarak Ki-67 değerlerini yükseltmesine veya hiç siklusa girmeyerek değerlerin düşmesine neden olabileceği bildirilmektedir. (31,81,82) Bütün bu bulgular ve özellikle Ki-67 indeksleri ile vasküler invazyon, duvar invazyonu, lenf nodülü metastazı ve dolayısı ile evre arasında beklenen ilişkinin saptanamamasına neden olduğu düşünölmüştür.

Çalışmamızın tümörlere ait anti-PCNA (PC-10) değerlerinin incelendiği kısmında, YHCa olgularının %70' i, Adeno Ca olgularının da %75' inde teknik olarak verimli sonuç alınabilmiştir. YHCa' ların PCNA değerleri sadece 16 olgu üzerinden değerlendirilebilmiştir. Bu nedenle çalışmamızda PCNA, özofagus Ca' larında proliferasyon derecesinin saptanması açısından verimli bir yöntem olmamıştır. Bunun nedeni çalışmamızı oluşturan olguların haritalanarak örneklenmeleri ve en az 48 saat formalinde tespit edilmiş olmalarıdır. Bu bulgular olguların sadece %22' sinin boyanabildiği bildirilen bir seri ile uyumludur. (32) Serimizde YHCa' ların ortalama PCNA değeri %54.46 ( $\pm 12.30$ ), Adeno Ca' ların da % 6.66 ( $\pm 9.05$ ) olarak saptanmıştır.



Özofagus Ca' larında PCNA' in değerlendirildiği bir seride PCNA indeksi grade, evre, lenf nodülü metastazı ve duvar invazyonu ile karşılaştırılmış, aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Aynı seride adventisya invazyonu bulunan olguların PCNA değerleri, adventisya invazyonu bulunmayanlara göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. (33)

Bizim çalışmamızda, literatür ile uyumlu bir şekilde tümör boyutu, grade' i, lenf nodülü metastazı ile PCNA ekspresyonu arasında bir ilişki saptanmamıştır. Ayrıca literatürden farklı olarak duvar invazyonu ile anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Bu duruma olguların arasında erken Ca' ların bulunmaması ve adventisya invazyonu olan tümörler ile muskularis propria ile sınırlı tümörlerin sayısal olarak homojen dağılmamaları ve istatistiksel değerlendirme için uygun bir seri olmamasının neden olduğu düşünülmektedir. Bunun dışında PCNA indekslerinin değerlendirilebildiği olgu sayısının azlığı muhtemelen böyle bir sonuca neden olmuştur.

PCNA proliferatif hücrelerin dışında DNA hasarının tamirinde ve sitokinlerle growth faktörlerinin etkisi ile de eksprese edilebilmektedir. Ayrıca yarı ömrü oldukça uzun olduğu için henüz sikludan çıkmış olan hücrelerde de saptanabilmektedir. PCNA ekspresyonunun bu özelliklerinin de klinikopatolojik bulgularla arasında anlamlı bir ilişkinin izlenmemesine etkisi olabileceği bildirilmektedir. (94,95,96,97)

Sitokinler ile Growth faktörlerin PCNA ekspresyonu üzerindeki etkisi göz önüne alınarak, PCNA değerleri ile stromal iltihabi reaksiyonun arasındaki ilişkiye bakıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır. Sitokinler ve growth faktörler sadece iltihabi hücrelerden değil, tümöral hücrelerden de salgılanabilmektedir. Bu durum iltihabi infiltrasyon ile PCNA değerleri arasında bir ilişkinin bulunamamasını açıklayabileceği gibi PCNA boyanabilen olguların sayıca çok az olmasının da buna sebep olabilmesi mümkündür.

### V c- Hastalarda Sağ Kalımı Etkileyen Parametrelerin Değerlendirilmesi

Özofagus Ca, özofagusun anatomik özellikleri nedeniyle kötü bir prognoza sahiptir. Farklı evrelerdeki tümörlerin biyolojik davranışları çok farklı olmaktadır. Bununla birlikte aynı evredeki olgularda bile farklı klinik seyirler izlenebilmektedir. Bu nedenle yaşam süresine etkisi olabilecek klinikopatolojik parametreler üzerinde durulmaktadır. Aynı amaçla tümörlerin proliferasyon kapasitesinin prognostik değerleri üzerinde de çalışılmaktadır. (10,31,32,33,36,81, 82,112)

Çalışmamızda YHCa olguları sayıları sınırlı olduğu için yaşayan ve ölen olgular şeklinde iki gruba ayrılmışlardır. YHCa olgularından biri klinik takibi bulunmadığı için yaşam süresi ile ilgili istatistiksel incelemelerde değerlendirilmemiştir. Olgular 250-1350 gün ( $\cong$  8-45 ay) arasında takip edilmişler, bu süre içinde %26' sı ilk bir ay içinde olmak üzere toplam olarak %50' si ölmüştür. (Tablo 30)

Dünya genelinde ve özellikle risk gruplarında yapılan çalışmalarda 5 yıllık yaşam, ilerlemiş YHCa olgularında %0.08-15 olarak bildirilmektedir. Bu serilerde 2 yıllık yaşam oranları %16-55 arasında olup, özellikle 2 yıldan sonra yaşam oranlarının hızla düştüğü dikkati çekmektedir. (3,10,29,31,32,33,35,36, 66,67,113,114,115,116) Bizim serimizde de 2 yıllık yaşam %55 olarak saptanmıştır. Olgularımızın hiçbirisinde henüz 5 yıllık klinik takip bulunmadığı gibi, 3 yıldan fazla yaşayan olgu sayısı 4 (%23) olarak bulunmuştur. Daha uzun takiplerde bu yaşam oranının düşmesi beklenmektedir.

Özofagus Ca' larında hastaların prognozunu etkileyen en önemli klinikopatolojik parametre duvar invazyonu, lenf nodülü metastazı ve dolayısıyla evre ile rezidüel tümör varlığının olduğu artık ortak bir görüş olarak kabul edilmektedir. (3,32,36,113,66) Bir seride bunlara ek olarak tümör boyutunun da hastaların yaşam süresini etkileyebildiği bildirilmektedir. Proliferasyon marker' ları ile

yapılan çalışmalarda AgNOR, Ki-67 ve PCNA' nin direk olarak hastaların prognozları üzerine etkilerinin bulunmadığı bildirilmekle birlikte, AgNOR' un duvar invazyonu ile Ki-67' nin ise evre ile kombine edilerek değerlendirildiğinde, PCNA' de AgNOR değerleri ile birlikte incelendiğinde hastaların yaşam sürelerine ait önemli ipuçları verebilecekleri bildirilmektedir. (10,31,32,33,36,81,82, 112)

Bizim çalışmamızda hastaların cinsiyeti, yaşı, tümör boyutu, lokalizasyonu, grade' i, lenf nodülü metastazı, duvar invazyon derecesi, vasküler invazyon durumu, stromal iltahabi reaksiyonun şiddeti, ayrıca evre ile mitoz sayısı, AgNOR, Ki-67 ve PCNA değerleri yaşayan ve ölen hasta gruplarında karşılaştırılmıştır. Bu parametreler univaryant analizlerle tek tek incelendiğinde boyut ve iltihabi reaksiyonun iki hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği izlenmiştir. Ölen olgularda tümör boyutu, yaşayan olgulara göre anlamlı derecede büyüktür (p:0.05). (Tablo 31) Bu konuda çalışılan bir seride de bizim çalışmamızla paralel şekilde tümör boyutunun yaşam süresini etkileyebildiği bildirilmektedir. (32) Gastrointestinal sistem tümörlerinde lezyonların büyük boyutlu olması genellikle tanı süresinin gecikmesine bağlı olmaktadır. Özofagus Ca' da özellikle ilerlemiş olgularda aynı özelliği sergilemektedir. Bununla birlikte erken özofagus Ca' ları duvarda yüzeysel bir şekilde lateral olarak ilerleyip ve tümör komşuluğunda geniş CIS alanları bulundurarak tümör boyutunu oldukça büyütebilmektedirler. Erken özofagus Ca' nın bu özelliği geniş serilerde boyutun yaşam süresi üzerine olan etkisini değiştirebilmektedir. Çalışmamızda erken ve yüzeysel özofagus Ca bulunmadığı için böyle bir etki incelenememiştir. Bu nedenle bizce boyutun yaşam süresine olan etkilerini incelerken erken ve ilerlemiş özofagus Ca' larının bulunduğu geniş seriler incelenmelidir.

Sonuç olarak özofagus Ca' larının tanı alma süresi uzadıkça tümörlerin boyutu büyümekte ve aynı zamanda klinik seyiri etkileyebilecek diğer bazı özellikleri kazanabilmekte ve metastaz yapabilmektedirler.

Çalışmamızda ayrıca yaşayan hastaların stromal iltahabi reaksiyonunun, ölen hastalara göre daha yoğun olduğu saptanmıştır (p.0.03). (Tablo 31) Tümörlerdeki lenfomononükleer iltihabi hücre infiltrasyonunun kısmen malign tümöre karşı stromal cevabı ve konakçı immün sistemi ile tümör arasındaki ilişkiyi yansıttığına inanılmaktadır. İmmüfenotiplendirme sonucunda tümörlerin çevresindeki infiltrasyonun çoğunlukla T-lenfositlerden ve az sayıda da B-lenfositler, natural killer hücreler ve makrofajlardan meydana geldiği gösterilmiştir. Meme, serviks uteri, mide ile baş ve boyun kanserlerinde inflamatuvar infiltrasyonun şiddeti arttıkça daha iyi bir klinik gidişin gözlemlendiği bildirilmektedir. (26, 114) Özofagus karsinomlarında prognozun kötü oluşunda immün sistemde oluşan bazı eksikliklerin de rolü olabileceği bildirilmektedir. Kanserlerin çoğunda inflamatuvar cevap oluşmaktadır. Ancak buna neden olan etken tam olarak bilinmemektedir. Bazı durumlarda tümör antijenleri, bazı durumlarda ise tümör nekrozu ve mukozal bariyerin hasarlanmış olması iltihabi infiltrasyon nedeni olabilir. Yapılan çalışmalarda özofagus karsinomlarında tümör çevresinde toplam veya aktif T-lenfosit sayısında azalma saptanmıştır. Özofagus karsinomlarında YHCa veya adeno Ca hücrelerinin TGF-beta-1 gibi immünespresörler veya interferon-delta gibi sitokin üretimini inhibe veya antagonize eden ürünler salgıladıklarından şüphelenilmektedir. (21)

Sonuçlarımız özofagus Ca' larında stromal iltahabi reaksiyonun hastaların prognozuna dair bilgi verebileceğini işaret etmektedir. Bu nedenle özofagus Ca' larında olgular rapor edilirken, çok kolay değerlendirilebilen bir parametre olan stromal iltahabi infiltrasyonun da vurgulanması, prognostik açıdan faydası olacaktır.

Çalışmamızda univaryant analizlerde literatür ile uyumlu şekilde cinsiyet, yaş, tümör lokalizasyonu ve grade ile yaşam süresi arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. (Tablo 31) Ancak literatürde evre, lenf nodülü ve duvar invazyonu ile yaşam süresi arasında ilişki bulunduğu bildirilirken böyle bir ilişkiye

serimizde rastlanmamıştır. (10,32,35,36,66) Çalışmayı meydana getiren olgularda sistematik lenf nodülü diseksiyonunun yapılmamış olması ve bütün olguların muskularis propriya invazyonu bulunduran ilerlemiş Ca' lardan meydana gelmesi bu durumun en büyük sebebi olarak düşünülmüştür.

Çalışmamızda multivaryant analizler yapılarak klinikopatolojik parametreler ile proliferasyon marker' ları AgNOR, Ki-67 ve PCNA' den en çok hangilerinin yaşam süreleri üzerine etkisi olduğu araştırılmıştır. Bu inceleme sonucunda hastaların yaşam süresini en fazla tümör boyutunun etkilediği (p:0.01), daha sonra ise Ki-67 değerleri (p:0.02) ve vasküler invazyonun (p:0.04) etkilediği saptanmıştır. Ölen hastaların tümör boyutu ortalama 6.5(±2.5) cm, Ki-67 değeri de %45.04(±11.08), yaşayan hastaların tümör boyutu 4.5 (±1.6) cm, Ki-67 değeri de % 44.83(± 11.11) olarak saptanmıştır. Vasküler invazyon açısından olgular değerlendirildiğinde ölenlerin %36' sında, yaşayanların da %18' inde vasküler invazyon bulunmuştur. (Tablo 32)

Literatürde bulunan geniş serilerde hastaların yaşam süreleri ile Ki-67 değerleri arasında kesin ve net bir ilişki saptanamamıştır. (31,32) Bizim çalışmamızda ise olgu sayısı ve klinik takip sınırlı olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır.

Sonuç olarak daha geniş ve homojen bir dağılımı olan ve klinik takibi 5 yılın üzerinde bulunan serilerde alınacak sonuçların eşliğinde Ki-67 değerlerinin prognostik açıdan faydalı olabileceği düşünülmüştür. Bizim çalışmamızda hastaların yaşam süresi ile ilişkisi saptanamamış olsa bile özellikle, duvar invazyonu, lenf nodülü metastazı ve evrenin eşliğinde değerlendirildiğinde Ki-67 indeksi tedavi ve takibi yönlendirebilecek özelliklere sahiptir. Ayrıca daha çok yüzeysel yayılım gösterme eğiliminde olan erken Ca ve ilerlemiş Ca olguları ayrı olarak incelendiğinde tümör boyutunun da faydalı bilgiler verebilecek bir parametre olabileceği sonucuna varılmıştır. AgNOR, çalışmamızda hastaların yaşam süreleri ile ilişkili bulunmamış olmakla birlikte, daha geniş serilerde ve ya-

yınlarda önerildiği gibi diğer parametrelerle birlikte uygulandığında faydalı olabilir. PCNA ise bir takım teknik ve ekspresyonu ile ilgili sakıncaları nedeni ile özofagus Ca' larında prognostik bir marker olarak faydalı bulunmamıştır.

Bu çalışmada mitoz sayısı 0-4 arasında olan olgularla, bu sayı 5 ve daha fazla olan olgular arasında sağ kalım oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlenmemiştir. (p:0.08) Ayrıca mitoz sayısı ile AgNOR, Ki-67 ve PCNA sonuçları arasında anlamlı bir ilişkinin olmaması, bu proliferasyon marker' larına göre siklusun daha küçük bir bölümünü yansıtmaması nedeniyle olmakta ve mitoz sayısının proliferasyon marker' ı olarak yetersizliğini desteklemektedir.

#### **V d- Tümör Çevresi Alanlarda Malign ve Premalign Lezyonlarda Proliferasyon İndeksi**

Özofagus karsinomu ne kadar erken dönemde yakalanırsa prognozu ve küratif tedavi imkanı o kadar fazla artmaktadır. Günümüzde yapılan çalışmalar lezyonları daha premalign dönemde yakalayıp, invaziv karsinom gelişmeden tedavi ve takip programları geliştirmeye yöneliktir. Yassı hücre displazileri serviks uteride premalign bir lezyon olarak kabul edilmekle birlikte özofagus displazilerinin karsinogenezdeki rolü ve yeri hakkında hala tartışmalar vardır. (7, 13,27)

Yüksek riskli olarak kabul edilen toplumlarda yapılan endoskopik tarama ve uzun süreli takipli çalışmalarda yassı epitel displazisinin malignite riskinin çok yüksek olduğu ve özellikle şiddetli displazinin mutlaka premalign kabul edilip ona göre tedavi ve takibin uygulanması gerektiği bildirilmektedir. Yine bu çalışmalarda karsinom gelişimi öncesi lezyonların özofajit, atrofi, displazi, CIS basamaklarından geçtiği düşünülmektedir. Yassı epitel displazilerinin derecelendirilmesinde kullanılan yöntemler son derece subjektiftir. Özellikle şiddetli displazilerin karsinomaya ilerledikleri, hafif ve bazen de orta şiddette



displazilerin geri dönebildikleri göz önüne alınırsa, displazilerin objektif bir şekilde derecelendirilmesinin ve karsinom gelişme riski yüksek olan hastaların tanımlanabilmesinin önemi ortaya çıkmaktadır. (5,11,18,24,26,42,54,75,125) Grade' lendirilmesi subjektif olan displazilerin değerlendirilmesinde daha objektif kriterlerin belirlenmesine gerek duyulmaktadır. Bu nedenle bazı araştırmacılar displaziler ile intraepitelyal Ca olan CIS' yu skuamoz intraepitelyal neoplazi tanımına sokmuşlardır. Bunları invaziv Ca gelişimi riski düşük olan "düşük grade' li intraepitelyal neoplazi" ve bu riskin fazla olduğu "yüksek grade' li intraepitelyal neoplazi" şeklinde gruplandırmışlardır. WHO sınıflamasına göre hafif ve orta şiddetteki displaziler düşük grade' li intraepitelyal neoplazi grubuna, şiddetli displazi ve CIS yüksek Grade' li intraepitelyal neoplazi grubuna dahil edilmişlerdir. (42) Bu noktada son yıllarda proliferasyon marker' ları kullanarak lezyonların proliferatif kapasitelerinin ölçümlerinde objektif parametrelerin belirlenmesi önem kazanmaktadır. Bu amaçla çeşitli çalışmalarda özofagus yassı epitel displazilerinde DNA içeriğine bakılmış ve PCNA antikoru da uygulanmıştır. Bunlarda şiddetli displazi ve CIS alanlarının yakın sonuçlar gösterdikleri bildirilmektedir. (97,125)

Bu çalışmada da özofajektomi materyallerinde tümör çevresi mukozal alanlarda çeşitli şiddetlerde displaziler, artık bir intraepitelyal karsinom olduğu kabul edilen CIS alanları ile normal mukozalara AgNOR, Ki-67 ve PCNA uygulanmış ve değerlendirilmiştir. Ayrıca her lezyona eşlik eden iltihabi cevabın şiddeti de derecelendirilmiş ve lezyonlar arasında iltihabi reaksiyondaki farklılığın AgNOR, Ki-67 ve PCNA değerlerine etkilerinin olup olmadığına bakılmıştır.

AgNOR değerlendirmeleri sırasında normal yassı epitel hücrelerinin genellikle sadece nükleol ile onun çevresinde 1-2 NOR bulundurduğu görülmüştür. Hücrenin atipisi arttıkça önce gruplar halinde küçük NOR' ların sayıca arttığı ve ileri derecede bizzare hücrelerde ise (bu hücreler genellikle (+++)) displazi ile CIS alanlarında izlenmiştir) nükleus içinde dağınık şekilde diffüz çok

sayıda NOR' ların bulunduğu dikkati çekmiştir. Her kesitin kalitesi ve inceliği her küçük NOR' u tek tek saymaya elverişli olmadığı için NOR grupları sayılmıştır.

Bu değerlendirmelerin sonucunda AgNOR değeri normal mukozada 1.49 ( $\pm$  0.29), (+) displazide 1.93 ( $\pm$  0.37), (++) displazide 2.22 ( $\pm$  0.48), (+++) displazide 2.83 ( $\pm$  0.74) ve CİS' da 3.02 ( $\pm$  0.57) olarak saptanmıştır. Bu ortalama değerler karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan normal mukoza ile (+) displazi, (++) displazi ve (+++) displazi alanları arasında anlamlı derecede fark olduğu, normalden başlayarak AgNOR değerinin giderek arttığı bulunmuştur. CİS alanları ile (+++) displazi arasında anlamlı bir farklılık izlenmemiştir. Bu iki lezyonda da diğer alanlardan daha yüksek AgNOR değerleri bulunmakla birlikte, birbirleri arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Yani CİS ile (+++) displazi lezyonlarında proliferasyon kapasitesi birbirine yakın bulunmuştur.

Aynı alanlara Ki-67 ve PCNA uygulanıp değerlendirildiğinde, Ki-67 ile yapılan boyamalarda bir kısım hücrelerde nükleollerin baskın şekilde boyandıkları, bir kısım hücrede ise nükleus içinde dağınık granüler bir boyanma patterninin olduğu dikkati çekmiştir. Mitotik hücrelerde ise mitoz plağı daha koyu boyanıp yer yer sitoplazmik boyanma gösterdikleri izlenmiştir. Farklı hücrelerde farklı boyanma yoğunlukları ve patternleri olduğu dikkati çekmiştir. Şiddetli (+++) displazi ile CİS alanları dışında genellikle boyanan hücrelerin parabazal tabaka ve üzerinde oldukları saptanmıştır. CİS ile (+++) displazide de epitelin hemen hemen bütün tabakalarında yaygın şekilde boyanma izlenmiştir.

Yapılan değerlendirmelerin sonucunda ortalama Ki-67 değerleri normal mukozada % 7.56 ( $\pm$  2.85), (+) displazide % 26.07 ( $\pm$  5.66), (++) displazide % 32.44 ( $\pm$  9.09), (+++) displazide % 40.95 ( $\pm$  9.12), CİS' da da 49.41 ( $\pm$  9.92) olarak saptanmıştır. Bu alanların ortalama Ki-67 değerleri karşılaştırıldığında, hepsininde birbirlerinden farklı ve normal mukozadan başlayarak CİS' a doğru giderek arttıkları görülmüştür.

PCNA değerlendirilmeleri sırasında da bazal ve parabazal boyanma patternlerinin Ki-67 ile aynı özellikte olduğu saptanmıştır. Yapılan değerlendirmelerin sonucunda ortalama PCNA değerleri normal mukozada % 10.68 (8.25), (+) displazide % 24.82 ( $\pm$  7.42), (++) displazide % 28.46 ( $\pm$  8.09), (+++) displazide % 39.76 ( $\pm$  12.8), CİS' da % 46.50 ( $\pm$  14.01) olarak saptanmıştır. Bu ortalama değerler karşılaştırıldığında (+) displazi değerleri ile (++) displazi değerleri arasında ve ayrıca (+++) displazi ile CİS değerleri arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Lezyonların hepsi de anlamlı derecede normal mukozadan daha yüksek PCNA değerlerine sahiptirler.

PCNA' in sitokinler ve growth faktörlerden etkilendiği bildirildiği için çalışmamızda, lezyonlara eşlik eden iltihabi infiltrasyonun şiddeti ile ortalama sonuçlar karşılaştırılmış ancak iltihabın proliferasyon kapasitesini etkilemediği saptanmıştır. Bu duruma olgularımızda tespit süresinin uzunluğunun ve PCNA boyanabilen ve değerlendirilebilen alanların sayısının daha az olmasının neden olması mümkündür.

Olgularda normal mukoza, (+) displazi, (++) displazi, (+++) displazi ve CİS alanlarına eşlik eden iltihabi hücre infiltrasyonunun şiddeti karşılaştırılmış, bu konuda yapılmış olan bir çalışmanın sonuçlarının tersine lezyonlar arasında bir farklılık saptanmamıştır. (26) Nagamatsu ve ark. larının yaptığı bu çalışmada displazinin derecesi arttıkça ve CİS alanlarında normal mukozaya göre daha şiddetli bir iltihabi hücre infiltrasyonu saptadıklarını bildirmektedirler. Bizim çalışmamızda lezyonların sayıca az olması nedeniyle iltihabi infiltrasyon ve lezyonların şiddeti arasında ilişki saptanamamıştır.

Sonuç olarak farklı marker' lar ile farklı sonuçlar elde edilmekle birlikte displaziler proliferasyon değerlerine göre objektif bir şekilde gruplandırılmaktadır. PCNA teknik olarak çok güvenilir bir proliferasyon belirleyicisi olmakla birlikte, hem AgNOR hem de PCNA değerlerinde literatür ile uyumlu bir şekilde şiddetli displazi ve CİS arasında anlamlı bir proliferasyon farklılığının

olmaması, ayrıca AgNOR sonuçlarında hafif displazi ile orta şiddette displazi arasında da benzer bir birlikteliğin bulunması, yüksek ve düşük grade' li intraepitelial neoplazi kavramları ve sınıflandırmasını destekler niteliktedir. Bu noktada sorgulanması gereken daha kullanışlı ve teknik avantajlara sahip olan Ki-67' de gruplar arasında AgNOR ve PCNA' deki gibi herhangi bir yakınlığın olgularımızda saptanmamış olmasıdır. Olgularda proliferasyon kapasiteleri değerlendirilen sahaların sayıca az olması nedeni ile proliferasyon marker' ları arasında böyle zıt sonuçlar elde edilebilir. Ek olarak lezyonların proliferasyon değerlerinin geniş bir yelpazeye yayılmış olmaları, gruplar arasında üstüste binmelere neden olduğu için bu durum, geniş serilerin incelenmesinin, daha güvenilir ve anlamlı sonuçlar elde edilmesini sağlayacağını düşündürmüştür.

Proliferasyon marker' ları yassı epitel displazileri değerlendirilirken, histopatolojik kriterlerle birlikte kullanılabilecek güvenilir ve objektif yöntemlerdir. Bunlar kullanılarak yüksek ve düşük malignite riski taşıyan premalign lezyonların ayrımında objektif yöntemler geliştirilebilir. Bütün bunların saptanabilmesi için özellikle yüksek risk gruplarının tanımlanması, mutlaka bu gruplarda endoskopik taramaların yapılması ve takip edilmesi gerekmektedir.

## VI- SONUÇLAR

### 1- Epidemiyoloji:

Türkiye' de genel popülasyonda özofagus karsinomu coğrafik olarak Doğu Anadolu bölgesinde sık olarak görülmektedir. Cinsiyetlere göre incelendiğinde de kadınlarda Doğu Anadolu bölgesinde, erkeklerde ise Orta Anadolu bölgesinde daha fazla saptanmaktadır.

### 2- Genel Histopatolojik Özellikler:

**A-** Tümör boyutu ve lenf nodülü metastazı arttıkça vasküler invazyon görülme sıklığı da artmaktadır.

**B-** Tümörün duvar invazyon invazyon derinliği arttıkça lenf nodülü metastazı oranı da artmaktadır.

**C-** Ca' larda rezeksiyon yapılan olgularda mutlaka sistemik bölgesel lenf nodülü disseksiyonu da yapılmalıdır.

### 3- Prognuzu Etkileyen Parametreler:

Özofagus Ca' larında tümör boyutu, tümöre karşı iltihabi reaksiyonun şiddeti, vasküler invazyon ve tümör proliferasyon kapasitesini belirleyen Ki-67, prognozu etkileyebilecek önemli parametrelerdir.

### 4- Tümör Dışında Özofagus Mukozasının Premalign ve Malign Lezyonları

**A-** Özofagusda görülen değişik derecelerdeki yassı epitel displazileri, normal mukoza ile karşılaştırıldığında, mukoza altındaki iltihabi reaksiyondan bağımsız olarak farklı proliferasyon kapasitesine sahiptir.

**B-** Proliferasyon indeksinin belirlenmesinde, AgNOR ve PCNA kullanılmasıyla yassı epitel displazileri, yüksek proliferasyon kapasiteli, yani invaziv karsinom için yüksek riskli veya düşük proliferasyon kapasiteli, yani invaziv karsinom için düşük riskli lezyonlar şeklinde ayrılabilirler.

**C-** Lezyonlarda proliferasyon kapasitesinin değerlendirilmesinde tek bir proliferasyon marker' ının kullanılması yerine birden fazla marker' ın kullanılması daha güvenilir sonuçlar elde edilmesini sağlayacaktır.

## VII- ÖZET

Çalışmamızda özofagus kanseri bulunduran 27 özofajektomi materyali incelenmiştir. Bunların 23'ü Yassı Hücreli karsinom, 4'ü Adeno karsinom tanısı almıştır. Vakalarda coğrafik dağılım, yaş, cinsiyet gibi epidemiyolojik özellikler ile tümör lokalizasyonu ve boyutu, grade, duvar invazyon derecesi, lenf nodülü metastazı, vasküler invazyon, stromal iltihabi reaksiyonun şiddeti ve evre gibi histopatolojik parametreler incelenmiştir. Ayrıca tümörlere mitoz sayısı, AgNOR, Ki-67 ve PCNA proliferasyon marker'leri uygulanarak, proliferasyon kapasiteleri araştırılmıştır. Tümöre eşlik eden, premalign lezyonlardan olan yassı epitel displazisi ve malign lezyon olan CIS alanlarının AgNOR, Ki-67 ve PCNA ile proliferasyon kapasiteleri araştırılmış ve eşlik eden iltihabi reaksiyon ile ilişkileri incelenmiştir.

Olgularda coğrafik olarak, hem YHCa'larda ( %39 ), hem de Adeno Ca'larda ( %75 ) Doğu Anadolu Bölgesi ilk sırada yer almaktadır. Cinsiyete göre ayrıldığında kadınlarda Doğu Anadolu ( %26 ), erkeklerde de Orta Anadolu Bölgesi ( %22 ) sıklık sırasında başta gelmektedir.

Tümörlere ait histopatolojik bulgulardan tümör boyutu ve lenf nodülü metastazı arttıkça vasküler invazyonun görülme sıklığı da artmaktadır. Ayrıca tümör invazyon derinliği ile lenf nodülü metastazı arasında da paralellik vardır. Bulgularımızın da vurguladığı gibi özofagus karsinomunda, güvenilir bir değerlendirme için sistematik bölgesel lenf nodülü disseksiyonunun yapılması gerekmektedir.

Klinikohistopatolojik bulgular ve proliferasyon marker'leri sonuçlarının hastaların sağ kalımı üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bunlardan tümör boyutu, stromal iltihabi reaksiyonun şiddeti, vasküler invazyon ve Ki-67 değerleri yaşayan hastalarda, ölen hastalara göre anlamlı derecede farklılık göstermiştir. Yani bu 4 parametre prognozu etkileyebilecek öneme sahiptir.



Özofagus mukozasında tümöre eşlik eden premalign ve malign lezyonlar olan yassı epitel displazileri ile CIS eşlik eden iltihabi reaksiyondan bağımsız olarak normal mukozadan farklı proliferasyon kapasitesine sahiptirler. Proliferasyon marker'leri kullanılarak, yassı epitel displazileri, yüksek proliferasyon kapasiteli yani invaziv Ca için yüksek riskli veya düşük riskli lezyonlar şeklinde ayrılabilirler. Lezyonların proliferasyon kapasitesi değerlendirilirken birden fazla proliferasyon marker'inin kullanılması daha güvenilir sonuçlar elde edilmesini sağlayacaktır ve mitoz sayısı proliferasyon marker' i olarak yetersiz kalmaktadır.



**VIII- KAYNAKLAR**

- 1- Wang LD, Shi ST, Zhou Q, Goldstein S, Hong JY, Shao P, Qui SL, Yang CS; Changes In p53 and Cell Proliferation in Different Stages of Human Esophageal and Gastric-Cardia Carcinogenesis. *Int.J.Cancer.* 59:514-519, 1994
- 2- Gates EC, Reed CE, Bromberg JS, Everett ET, Baron PL; Prevalence of p53 Mutations in Patients with Squamous Cell Carcinoma of the Esophagus. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* 108:148-151, 1994
- 3- Wang DY, Xiang YY, Tanaka M, Li XR, Shen Q, Sugimura H, Kino I; High Prevalence of p53 Protein Overexpression in Patients with Esophageal Cancer in Linxian, China and Its Relationship to Progression and Prognosis. *Cancer* 74:3089-3096, 1994
- 4- West B., Soloway G.N., Lizarrage G., Tyrrell L., Longley J.B.; Type 73 Human Papillomavirus in Esophageal Squamous Cell Carcinom. *Cancer.* 77: 2440-4, 1996
- 5- Dawsey SM, Lewin KJ, Path FRC, Wang GQ, Liu FSL, Nieberg RK, Yu Y, Li JY, Blot WJ, Li B, Taylor PR; Squamous Esophageal Histology and Subsequent Risk of Squamous Cell Carcinoma of the Esophagus. *Cancer.* 74:1686-92, 1994
- 6- Jaskiewicz K, Banach L, Mafungo V, Knobel GJ; Esophageal Mucosa in a Population at Risk of Esophageal Cancer: Post-mortem Studies. *Int.J.Cancer.* 50:32-35, 1992
- 7- Kuwano H, Morita M, Matsuda H, Mori M, Sugimachi K; Histopathologic Findings of Minute Foci of Squamous Cell Carcinoma in the Human Esophagus. *Cancer.* 68:2617-2620, 1991
- 8- Ökten İ.; Özofagus kanseri ve Doğu Anadolu bölgesindeki görünümü. Atatürk Üniversitesi 20. kuruluş yılı Genel Tıp Kongresi. Erzurum, 1986
- 9- Tahara E; Genetic Alterations in Human Gastrointestinal Cancers. The Application to Molecular Diagnosis. *Cancer.* 75:1410-7, 1995

- 10- Yoshida Y, Okamura T, Ezaki T, Shirakusa T; Predictors of Postoperative Distant Recurrences in Esophageal Carcinoma. *Ann.Thorac.Surg.* 57:886-889, 1994
- 11- Steinbach G, Hong WK; Early Detection of Esophageal Cancer by Chromoendoscopy. *Cancer.*76:919-921, 1995
- 12- Mori M., Adachi Y., Matsushima T., Matsuda H., Kuwano H., Sugimachi K, Lugol Staining Pattern and Histology of Esophageal Lesions. *Am. J. Gastroenterol.*(88)5:701-5, 1993
- 13- Kitamura K., Kuwano H., Yasuda M., Sonodo K., Sumiyoshi K.; What is the Earliest Lesion in the Esophagus? *Cancer.* 77:1614-9, 1996
- 14- Sasono H, Miyazaki S, Gooukon Y, Nishihira T, Sawai T, Nagura H; Expression of p53 in Human Esophageal Carcinoma: An Immunohistochemical Study With Correlation to Proliferating Cell Nuclear Antigen Expression. *Hum Pathol.* 23:1238-1243, 1992
- 15- Dawsey SM, Wang GQ, Weinstein WM, Lewin KJ, Liu FS, Wiggett S, Nieberg RK, Li JY, Taylor PR; Squamous Dysplasia and Early Esophageal Cancer in the Linxian Region of China: Distinctive Endoscopic Lesions. *Gastroenterology.* 105:1333-1340, 1993
- 16- Liu FS, Dawsey SM, Wang GQ, Rao M, Lipkin M, Lewin KJ, Li JY, Li B, Taylor PR; Correlation of Epithelial Proliferation and Squamous Esophageal Histology in 1185 Biopsies from Linxian, China. *Int.J.Cancer.* 55:577-579, 1993
- 17- Yokoyama A, Ohmori T, Makuuchi H, Maruyama K, Okuyama K, Takahashi H, Yokoyama T, Yoshino K, Hayashida M, Ishii H; Successful Screening for Early Esophageal Cancer in Alcoholics Using Endoscopy and Mucosal Iodine Staining. *Cancer.* 76:928-34, 1995

- 18- Jacop P., Kahrilas P.J., Desai T., Hidvegi D., Walloch J.; Natural History and Significance of Esophageal Squamous Cell Dysplasia. *Cancer*. 65: 2731-39, 1996
- 19- Huang Y, Boynton RF, Blount PL, Silverstein RJ, Yin J, Tong Y, McDaniel TK, Newkirk C, Resau JH, Sridhara R, Reid BJ, Meltzer SJ; Loss of Heterozygosity Involves Multiple Tumor Suppressor Genes in Human Esophageal Cancers. *Cancer Res*. 52:6525-6530, 1992
- 20- Thomas RM, Sobin LH; Gastrointestinal Cancer. *Cancer*. 75:154-70, 1995
- 21- Rocket J.C., Darnton S.J., Crocker J., Matthews H.R. Lymphocyte infiltration in esophageal carcinoma: lack of correlation with MHC antigens, ICAM-1, and tumor stage and grade. *J.Clin.Pathol*. 49:264-267, 1996
- 22- Ikeda Y, Kuwano H, Baba K, Ikebe M, Matushima T, Adachi Y, Mori M, Sugimachi K; Expression of Sialyl-Tn Antigens in Normal Squamous Epithelium, Dysplasia, and Squamous Cell Carcinoma in the Esophagus. *Cancer Res*. 53:1706-1708, 1993
- 23- Ohno S., Mori M., Tsutsui S., Matsuura H., Kuwano H., Growth Patterns and Prognosis of Submucosal Carcinoma of the Esophagus. *Cancer*. 69:335-40, 1991
- 24- Anani PA, Gardiol D, Savary M, Monnier P; An Extensive Morphological and Comparative Study of Clinically Early and Obvious Squamous Cell Carcinoma of the Esophagus. *Path.Res.Pract*. 187:214-219, 1991
- 25- Moses FM; Squamous Cell Carcinoma of the Esophagus. Natural History, Incidence, Etiology, and Complications. *Gastroenterol.Clin.North.Am*. 20(4): 703-716, 1991
- 26- Nagamatsu M, Mori M, Kuwano H, Sugimachi K, Akiyoshi T; Serial Histologic Investigation of Squamous Epithelial Dysplasia Associated with Carcinoma of the Esophagus. *Cancer*. 69:1094-1098, 1992
- 27- Bennett WP, Hollstein MC, Metcalf RA, Welsh JA, He A, Zhu S, Kuster I, Resau JH, Trump BJ, Lane DP, Harris CC; p53 Mutation and Protein

Accumulation during Multistage Human Esophageal Carcinogenesis. *Cancer Res.* 52:6092-6097, 1992

28- Wang L.D., Zhou Q., Hong J.Y., Qui S.L., Yang C.S.; p53 Protein accumulation and gene mutations in multifocal esophageal precancerous lesions from symptom free subjects in a high incidence area for esophageal carcinoma in Henan, China. *Cancer.* 77:1244-9, 1996

29- Haraguchi Y, Baba M, Takao S, Yoshinaka H, Hase S, Aikou T; Flow Cytometric Analysis of DNA Heterogeneity in Superficial Carcinoma of the Esophagus. *Cancer* 75:914-9, 1995

30- Sasano H, Miyaaki S, Nishihira T, Sawai T, Nagura H; The Proliferative Cell Fraction in Cytology Specimens. A Study of Human Esophageal Carcinoma. *Am. J.Clin.Pathol.* 98:161-166, 1992

31- Youssef EM, Matsuda T, Takada N, Osugi H, Higashino M, Kinoshida H, Watanabe T, Katsura Y, Wanibuchi H, Fukushima S; Prognostic Significance of the MIB-1 Proliferation Index for Patients with Squamous Cell Carcinoma of the Esophagus. *Cancer.* 76:358-66, 1995

32- Lam KY, Law SY, So MK, Fok M, Ma LT, Wong J; Prognostic Implication of Proliferative Markers MIB-1 and PC10 in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Cancer* 77:7-13, 1996

33- Morisaki Y, Shima S, Yoshizumi Y, Sugiura Y, Tanaka S, Tamai S; PCNA Immunostaining Combined with AgNOR Staining in Esophageal Squamous Cell Carcinoma to Identify Patients with a Poor Prognosis. *Surg.Today.* 25:389-395, 1995

34- Kawamura T, Goseki N, Koike M, Takizawa T, Endo M; Acceleration of Proliferative Activity of Esophageal Squamous Cell Carcinoma with Invasion beyond the Mucosa. Immunohistochemical Analysis of Ki-67 and p53 Antigen in Relation to Histopathologic Findings. *Cancer.* 77:843-9, 1996

- 35- Morita M, Kuwano H, Tsutsui S, Ohno S, Matsuda H, Sugimachi K; Cytophotometric DNA Content and Argyrophilic Nucleolar Organiser Regions of Oesophageal Carcinoma. *Br.J.Cancer.* 67:480-487, 1993
- 36- Morita M, Kuwano H, Matsuda H, Moriguchi S, Sugimachi K; Prognostic Significance of Argyrophilic Nucleolar Organizer Regions in Esophageal Carcinoma. *Cancer Res.* 51:5339-5341, 1991
- 37- Chifec G.; Esophagus. *Anderson's Pathology.* ( Vol. 2 )I.Danzenov, J.Linder.,10. baskı, 1996, Mosby, St.Louis, Sayfa 1647
- 38- DeNardi F.G, Riddell R.H; Esophagus. *Histology for pathologists,* Steinberg S.S., 1992, Raven Press., New York, Sayfa 515
- 39- Dayal Y, Dellelis R.A; Esophagus; *Robbins Pathologic Basis of Disease;* Cotton R.S., Kumar V., Robbins S.L.; 1989, 4.baskı, W.B.Saunders, Philadelphia, Sayfa 755
- 40- Stemmermann G, Heffelfinger SC, Noffsinger A, Hui YZ, Miller MA, Fenoglio-Preiser CM; *The Molecular Biology of Esophageal and Gastric Cancer and Their Precursors: Oncogenes, Tumor Suppressor Genes, and Growth Factors.* *Hum Pathol.* 25:968-981, 1994
- 41- Galiana C, Fusco A, Martel N, Nishihara T, Hirohashi S, Yamasaki H; Possible Role of Activated ras Genes in Human Esophageal Carsinogenesis. *Int.J.Cancer.*54:978-982, 1993
- 42- Rubio C.A., Fu-shang Liu, Hang-Zang Zhao; *Histological Classification of Intraepithelial Neoplasias & Microinvasive squamous Ca. of the Esophagus.* *Am.J.Surg.Pathol.* 13(8):685-90, 1989
- 43- Mark SD, Liu SF, Li JY, Gail MH, Shen Q, Dawsey SM, Liu F, Taylor PR, Li B, Blot W; *The Effect of Vitamin and Mineral Supplementation on Esophageal Cytology: Results from the Linxian Dysplasia Trial.* *Int.J.Cancer.* 57:162-166, 1994



- 44- Liu SF, Shen Q, Dawsey SM, Wang GQ, Nieberg RK, Wang ZY, Weiner M, Zhou B, Cao J, Yu Y, Guo WD, Li JY, Blot WJ, Li B, Taylor PR. *Int.J.Cancer.* 57:775-780, 1994
- 45- Dawsey SM, Yu Y, Taylor PR, Li JY, Shen Q, Shu YJ, Liu SF, Zhao HZ, et al; Esophageal Cytology and Subsequent Risk of Esophageal Cancer. A Prospective Follow-up from Linxian, China. *Acta Cytol.* 38:183-192, 1994
- 46- Fidalgo PO, Cravo ML, Chaves PP, Leitao CN, Mira FC; High Prevalence of Human Papillomavirus in Squamous Cell Carcinoma and Matched Normal Esophageal Mucosa. *Cancer.* 76:1522-8, 1995
- 47- Nakagawa H, Zukerberg L, Togawa K, Meltzer SJ, Nishihara T, Rustgi AK; Human Cyclin D1 Oncogene and Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Cancer.* 76:541-549, 1995
- 48- Chang F, Syrjanen S, Tervahauta A, Kurvinen K, Wang L, Syrjanen K; Frequent Mutations of p53 Gene in Esophageal Squamous Cell Carcinomas with and without Human Papillomavirus (HPV) Involvement Suggest the Dominant Role of Environmental Carcinogens in Esophageal Carcinogenesis. *Br.J.Cancer.* 70:346-351, 1994
- 49- Casson AG, Mukhopadhyay T, Cleary KR, Ro JY, Levin B, Roth JA; Oncogene Activation in Esophageal Cancer. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* 102:707-709, 1991
- 50- Kanda Y, Nishiyama Y, Shimada Y, Imamura M, Nomura H, Hiai H, Fukumoto M; Analysis of Gene Amplification and Overexpression in Human Esophageal-Carcinoma Cell Lines. *Int.J.Cancer.* 58:219-297, 1994
- 51- Chung KY, Mukhopadhyay T, Kim J, Casson A, Ro JY, Goepfert H, Hong WK, Roth JA; Discordant p53 Gene Mutations in Primary Head and Neck Cancers and Corresponding Second Primary Cancers of the Upper Aerodigestive Tract. *Cancer Res.* 53:1676-1683, 1993
- 52- Slaughter D.P., Southwick H.W., Smejkal W.; "Field Cancerization" in oral stratified squamous epithelium. *Cancer.* 6:963-68, 1953

- 53- Yokoyama A., Muramatsu T., Ohmori T., Makuuchi L., Higuchi S.; Multiple Primary Esophageal and Concurrent Upper Aerodigestive Tract Cancer and the Aldehyde Dehydrogenase-2 Genotype of Japanese Alcoholics. *Cancer*.77: 1986-90, 1996
- 54- Morita M, Kuwano H, Yasuda M, Watanabe M, Ohno S, Saito T, Furusawa M, Sugimachi K; The Multicentric Occurrence of Squamous Epithelial Dysplasia and Squamous Cell Carcinoma in the Esophagus. *Cancer*. 74:2889-95, 1994
- 55- Heimbürger DC; Localized Deficiencies of Folic Acid in Aerodigestive Tissues. *Annals New York Academy of Sciences*.p:87-93, 1987
- 56- Maesawa C, Tamura G, Suzuki Y, Ogasawara S, Ishida K, Saito K, Satodate R; Aberrations of Tumor-Suppressor Genes (p53, apc, mcc and Rb) in Esophageal Squamous-Cell Carcinoma. *Int.J.Cancer*. 57:21-25, 1994
- 57- Hibi K, Nakamura H, Hirai A, Fujikake Y, Kasai Y, Akiyama S, Ito K, Takagi H; Loss of H19 Imprinting in Esophageal Cancer. *Cancer Res*. 56:480-482, 1996
- 58- Ashworth M.T., Nash J.R.G., Ellis A. Abnormalities of differentiation & maturation in the esophageal squamous epithelium of patients with tylosis: morphological features. *Histopathology*. 19:303-310, 1991
- 59- Porschen R, Molsberger G, Khün A, Sarbia M, Borchard F; Achalasia-Associated Squamous Cell Carcinoma of the Esophagus: Flow-Cytometric and Histological Evaluation. *Gastroenterology*. 108:545-549, 1995
- 60- Peters FTM, Kleibeuker JH; Barrett's Oesophagus and Carcinoma. Recent Insights into its Development and Possible Prevention. *Scand.J. Gastroenterol*. 28 Suppl 200:59-64, 1993
- 61- Potet F, Flejou J-F, Gervaz H, Paraf F; Adenocarcinoma of the Lower Esophagus and the Esophagogastric Junction. *Semin.Diag.Pathol*. 8(3):126-136, 1991

- 62- Miwa K, Segawa M, Takano Y, Matsumoto H, Sahara H, Yagi M, Miyazaki I, Hattori T; Induction of Oesophageal and Forestomach Carcinomas in Rats by Reflux of Duodenal Contents. *Br.J.Cancer* 70:185-189, 1994
- 63- Whitehead R, Li L; Tumours of the Cardia and Oesophageal Glands; *Gastrointestinal and Oesophageal Pathology*; Whitehead R, 1995, 2. bası, Churchill Livingstone, Edinburg, sayfa 784
- 64- Marger R.S., Marger D.; Carcinoma of the Esophagus and Tylosis. *Cancer*. 72:17-9, 1993
- 65- Furihata M, Ohtsuki Y, Ogoshi S, Takahashi A, Tamiya T, Ogata T; Prognostic Significance of Human Papillomavirus Genomes (Type-16,-18) and Abberant Expression of p53 Protein in Human Esophageal Cancer. *Int.J.Cancer*. 54:226-230, 1993
- 66- Patil P., Redkar A., Patel S.G., Mistry R.C., Deshpande R.K., Mitra I., Desai P.B.; Prognosis of Operable Squamous Cell Carcinoma of the Esophagus. *Cancer*. 72:20-4,1993
- 67- Sarbia M, Poschen R, Borchard F, Horstmann O, Willers R, Gabbert HE; p53 Protein Expression and Prognosis in Squamous Cell Carcinoma of The Esophagus. *Cancer*. 74:2218-23, 1994
- 68- Bains B.S, Shields T.W; Squamous Cell Carcinoma of the Esophagus; *General Thorasic Surgery (vol 2)*; Shields T.W; 1994, 4. bası, Williams & Wilkins, Molvern, sayfa 1633
- 69-Rosai J.; Esophagus. *Ackerman's Surgical Pathology ( Vol.1 )* 8.Baskı, 1996, Mosby, St.Louis, Sayfa 589
- 70- Ashley D.J.B; Epithelial Tumours of Oesophagus; *Evans' Histological Appereances of Tumours*; Ashley D.J.B; 1990, 4. bası, Churchill Livingstone, Edinburg, sayfa 631
- 71- Kawamura T., Goseki N., Koike M., Takizawa T., Endo M.; Acceleration of Proliferative Activity of Esophageal Squamous Cell Carcinoma with Invasion beyond the Mucosa. *Cancer*. 77:843-9, 1996

72- Liu F.S; Squamous Cell Carcinoma of the Esophagus; Pathology of the Gastrointestinal Tract; Ming& Goldman; 1992, W.B.Saunders, Philadelphia, sayfa 439

73- Correa P.; Precursors of Gastric and Esophageal Cancer. Cancer. 50:2554-65, 1982

74- Wang LD, Hong JY, Qiu SL, Gao H, Yang CS; Accumulation of p53 Protein in Human Esophageal Precancerous Lesions: A Possible Early Biomarkers for Carcinogenesis. Cancer Res. 53:1783-1787, 1993

75- Kuwano H, Nagamatsu M, Tsutsui SI, Matsuda H, Sugimachi K; Origin and Spread of Intra-epithelial Carcinoma of the Esophagus. Histopathologic Investigation of the Junctions between Intraepithelial Carcinoma and Non-cancerous Epithelium. Int.Surg. 78:185-188, 1993

76- Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson J.D;The Cell Division Cycle; Molecular Biology of The Cell; Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson J.D; 1994, 3.Baskı, Garland Pub.Inc, New York & London, Sayfa 863

77- Sabattini E, Gerdes J, Gherlinzoni F, Poggi S, Zucchini L, Melilli G, Grigioni F, Del VecchioMT, Leoncini L, Falini B, Pileri SA; Comparison Between the Monoclonal Antibodies Ki-67 and PC10 in 125 Malignant Lymphomas. J.Pathol. 169:397-403, 1993

78- Sahin A.A., Ro J.Y., El-Naggar A.E., Wilson P.L., Teague K., Blick M., Ayala A.G.; Tumor Proliferative Fraction in Solid Malignant Neoplasms. Am.J.Clin.Pathol. 96:512-19, 1991

79- Gerdes J., Li L., Schlueter C., Duchrow M., Wohlenberg C., Gerlach C.; Immunobiochemical and Molecular Biologic Characterization of the Cell Proliferation-associated Nuclear Antigen That Is Defined by Monoclonal Antibody Ki-67. Am.J.of Pathol. 138:867-73, 1991

80- Sawhney N, Hall PA; Ki-67 Structure, Function, and New Antibodies. J.Pathol. 168:161-162, 1992

- 81- Brown D.C., Gatter K.C. Monoclonal antibody Ki-67:its use in histopathology. *Histopathology*. 17:489-503, 1990
- 82- Porshen R, Classen S, Piontek M, Borhard F; Vascularization of Carcinomas of the Esophagus and Its Correlation with Tumor Proliferation. *Cancer Res*. 54:587-591, 1994
- 83- McCormick D., Chong H., Hobbs C., Datta C., Hall P.A.; Detection of the Ki-67 antigen in fixed and wax-embedded sections with the monoclonal antibody MIB1. *Histopathology*. 22: 355-60, 1993
- 84- Gee JMW, Douglas-Jones A, Hepburn P, Sharma AK, McLelland R, Ellis IO, Nicholson RI; A Cautionary Note Regarding The Application of Ki-67 Antibodies to Paraffin-embedded Breast Cancers. *J of Pathol*. 177:285-293, 1995
- 85- Katoh R., Bray C.E., Suzuki K., Komiyama A., Hemmi A.; Growth Activity in Hyperplastic and Neoplastic Human Thyroid Determined by an Immunohistochemical Staining Procedure Using Monoclonal Antibody MIB-1. *Hum.Pathol*. 26:139-146, 1995
- 86- Mittal KR, Memopoulos RI, Sunanda G. Proliferating Cell Nuclear Antigen (Cyclin) Expression in Normal and Abnormal Cervical Squamous Epithelia. *Am.J.Surg.Pathol*. 17(2):117-122, 1993
- 87- Harrison RF, Reynolds GM, Rowlands DC; Immunohistochemical Evidence for the Expression of Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) by Non-Proliferating Hepatocytes Adjacent to Metastatic Tumours and in Inflammatory Conditions. *J.Pathol*. 171:115-122, 1993
- 88- Sebo TJ, Roche PC, Witzig TE, Kurtin PJ; Proliferative Activity in Non-Hodgkin's Lymphomas. A Comparison of the Bromodeoxyuridine Labeling Index with PCNA Immunostaining and Quantitative Image Analysis. *Am.J.Clin.Pathol*. 99:668-672, 1993
- 89- Teixeira C, Tanaka S, Haruma K, Yoshihara M, Sumii K, Kojiyama G; Proliferating Cell Nuclear Antigen Expression at the Invasive Tumor Margin

Predicts Malignant Potential of Colorectal Carcinomas. *Cancer*. 73:575-9, 1994

90- Czyz W, Joensuu H, Pylkkanen L, Klemi PJ; p53 Protein, PCNA Staining, and DNA Content in Follicular Neoplasms of the Thyroid Gland. *Am.J.Pathol.* 174:267-274, 1994

91- Siitonen SM, Isola JJ, Rantala IS, Helin HJ; Intratumor Variation in Cell Proliferation in Breast Carcinoma as Determined by Antiproliferating Cell Nuclear Antigen Monoclonal Antibody and Automated Image Analysis. *Am.J.Clin.Pathol.* 99:226-231, 1993

92- Van Dierendonck JH, Wijsman JH, Keijzer R, Van de Velde CJH, Cornelisse CJ; Cell-Cycle-Related Staining Patterns of Anti-Proliferating Cell Nuclear Antigen Monoclonal Antibodies. Comparison with BrdUrd Labeling and Ki-67 Staining. *Am.J.Pathol.* 138:1165-1172, 1991

93- Wijsman JH, Van Dierendonck JH, Keuzer R, Van de Velde JH, Cornelisse CJ; Immunoreactivity of Proliferating Cell Nuclear Antigen Compared With Bromodeoxyuridine Incorporation In Normal And Neoplastic Rat Tissue. *J of Pathol.* 168:75-83, 1992

94- Wrobel K., Bickel D., Kujat R.; Immunohistochemical study of seminiferous epithelium in adult bovin testis using monoclonal antibodies against Ki-67 protein and proliferating cell nuclear antigen (PCNA). *Cell Tissues Res.* 283:191-201, 1996

95- Oya M, Yao T, Nagai E, Tsuneyoshi M; Metastazing Intramucosal Gastric Carcinomas. Well Differentiated Type and Proliferative Activity Using Proliferative Cell Nuclear Antigen and Ki-67. *Cancer*. 75:926-35, 1995

96- Kamel D, Turpeenniemi-Hujanen T, Vahakangas K, Paakkö P, Soini Y; Proliferating Cell Nuclear Antigen but not p53 or Human Papillomavirus DNA Correlates with Advanced Clinical Stage in Renal Cell Carcinoma. *Histopathology.* 25:339-347, 1994



- 97- Koga Y, Kuwano H, Sugimachi K; Biologic Characteristics of Esophageal Epithelial Dysplasia Assessed by Proliferating Cell Nuclear Antigen. *Cancer* 77:237-44, 1996
- 98- Them K.T., Page D.L.; AgNOR & Ki-67 in breast lesions. *Am.J.Clin.Pathol.* 92:518-20, 1989
- 99- Howell W.M., Denton T.E., Diamond J.R.; Differential staining of satellite regions of human acrocentric chromosomes. *Experientia.* 31:260-1, 1975
- 100- Goodpasture C., Bloam S.E.; Visualization of nucleolar organizer regions in mammalian chromosomes using silver staining. *Chromosome.* 53:37-50, 1975
- 101- Hsu T.C., Spinto S.E., Pardue M.L.; Distribution of 18+28s ribosomal genes in mammalian genomes. *Chromosoma.* 53:25-36, 1975
- 102- Howell W.M., Black D.A.; Controlled silver staining of nucleolar organizer regions with a protective colloidal developer, A 1-step method. *Experientia.* 36:1014-15, 1980
- 103- Platon D., Menager M., Jeannesson P. et al.; Improvement in staining and in the visualization of argyrophilic proteins of the nucleolar organizer region at optical level. *Histochemical J.* 18:5-14, 1986
- 104- Crocker J., Ayres J., McGovern J.; Nuclear organizer regions in small cell carcinoma of the bronchus. *Thorax.* 42:972-5, 1987
- 105- Crocker J., Nor P.; Nuclear organizer regions in lymphoma. *J.Pathol.* 151:111-18, 1987
- 106- Crocker J., Skilbek N.; Nucleolar organizer region associated proteins in cutaneous melanotic lesions: A quantitative study. *J.Clin.Pathol.* 40:885-889, 1987
- 107- Fakan S., Hernandez-Verdun D.; The nucleolus and nucleolar organizer regions. *Biology of the cell* 56:189-206, 1986

- 108- Williams M.A., Kleinschmit J.A., Krohne G. et.al.; Argyrophilic nucleolar and nucleolar proteins of *Xenopus Laevis* oocytes identified by gel electrophoresis. *Exp.Cell.Res.* 137:341-51, 1982
- 109- Jordan E.G.; At the heart of the nucleolus. *Nature.* 329:489-90, 1987
- 110- Thiel J., Fischer R.; Bone marrow tissue and proliferation markers: result and general problems. *Virchow Archiv A.Pathol.Anat.* 423:409-16, 1993
- 111- Hubbel H.R.; Silver staining as indicator of active ribosomal genes. *Stain Technology.* 60:258-94, 1985
- 112- Porschen R, Kriegel A, Langen C, Classen S, Hilse M, Lohe B, Hengels KJ, Borchard F; Assessment of Proliferative Activity in Carcinomas of the Human Alimentary Tract by Ki-67 Immunostaining. *Int.J.Cancer.* 47:686-691, 1991
- 113- Itakura Y, Sasano H, Shiga C, Furukawa Y, Shiga K, Mori S, Nagura H; Epidermal Growth Factor Receptor Overexpression in Esophageal Carcinoma. An Immunohistochemical Study Correlated with Clinicopathologic Findings and DNA Amplification. *Cancer.* 74:795-804, 1994
- 114- Sarbia M, Bittinger F, Porschen R, Dutkowski P, Willers R, Gabbert HE; Prognostic Value of Histopathologic Parameters of Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Cancer.* 76:922-7, 1995
- 115- Shimaya K, Shiozaki H, Inoue M, Tahara H, Monden T, Shimano T, Mori T; Significance of p53 Expression as a Prognostic Factor in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Virchows Archiv.A.Pathol.Anat.* 422:271-276, 1993
- 116- Van Overhagen H., Berger M.Y., Meijers H., Tilanus H.W., Kok T.C., Stijnen T., Lamerius J.S.; Influence of Radiologically and Cytologically Assessed Distant Metastases on the Survival of Patients with Esophageal and Gastroesophageal Junction Carcinom. *Cancer.* 72:25-31, 1993
- 117- Reid B.J. Barrett's Esophagus and Esophageal Adenocarcinoma. *Gastroentero. Cl.of N.Am.* (20)4:815-34, 1991

- 118- Filipe MI, Jankowski J; Growth Factors and Oncogenes in Barrett's Esophagus and Gastric Metaplasia. *Endoscopy*. 25(suppl):637-641, 1993
- 119- Casson AG, Manolopoulos B, Troster M, Kerkvliet N, O, Malley F, Inculet R, Finley R, Roth JA; Clinical Implications of p53 Gene Mutation in the Progression of Barrett's Epithelium to Invasive Esophageal Cancer. *Am.J.Surg*. 167:52-57, 1994
- 120- Hamelin R, Flejou JF, Muzeau F, Potet F, Laurent-Puig P, Flekete F, Thomas G; TP53 Gene Mutations and Immunoreaktivite in Malignant and Premalignant Barrett's Esophagus. *Gastroenterology*. 107:1012-1018, 1994
- 121- Clark GWB, Smyrk TC, Burdiles P, Hoeft SF, Peters JH, Kiyabu M, Hinder RA, Bremmer CG, DeMeester TR; *Arch.Surg*. 129:609-614, 1994
- 122- Haggitt RC; Barrett's Esophagus, Dysplasia, and Adenocarcinoma. *Hum.Pathol*. 25:982-993, 1994
- 123- Rusch VW, Levine DS, Haggitt R, Reid BJ; The Management of High Grade Dysplasia and Early Cancer in Barrett's Esophagus. A Multidisciplinary Problem. *Cancer*. 74:1225-1229, 1994
- 124- Jankowsky J, McMenemin R, Hopwood D, Wormsley KG; Proliferating Cell Nuclear Antigen in Esophageal Diseases; Correlation with Transforming Growth Factor Alpha Expression. *Gut*. 33:587-591, 1992
- 125- Kuwano H, Baba K, Ikebe M, Adachi Y, Toh Y, Sugimachi K; Histopathology of Early Esophageal Carcinoma and Squamous Epithelial Dysplasia. *Hepato-Gastroenterol*. 40:222-225, 1993