



**T.C.**  
**YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**ÖZOFAGEAL SKUAMÖZ PAPİLLOMADA VE ÖZOFAGUSUN MALİGN VE  
PREMALİGN LEZYONLARINDA HPV POZİTİFLİĞİNİN VE GENOTİPİNİN  
PATOLOJİ PREPARATLARINDA ARAŞTIRILMASI**

**Dr. RAHMAN NURMUHAMMEDOV**

**Tıpta Uzmanlık Tezi**

**İSTANBUL 2019**



**T.C.**  
**YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**ÖZOFAGEAL SKUAMÖZ PAPİLLOMADA VE ÖZOFAGUSUN MALİGN VE  
PREMALİGN LEZYONLARINDA HPV POZİTİFLİĞİNİN VE GENOTİPİNİN  
PATOLOJİ PREPARATLARINDA ARAŞTIRILMASI**

**Tıpta Uzmanlık Tezi**  
**Dr. RAHMAN NURMUHAMMEDOV**  
**DANIŞMAN: DOÇ.DR. MELTEM ERGÜN**

**İSTANBUL 2019**

## TEŞEKKÜR

Tez konusunun belirlenmesinde ve sonrasındaki etik kurul ve bilimsel komite gibi bir dizi zorlu süreçte hep yanımda olan, her problemle karşılaştığımda çözüm odaklı düşünerek motivasyon ve moral veren değerli hocam Doç. Dr. Meltem Ergün'e,

Talihsiz olaylardan dolayı kesintiye uğramış olan uzmanlık eğitiminin devam etmesine yardımcı olan, bilgi ve becerileri ile eğitimime her zaman katkı sağlayan ve en önemlisi bir aile gibi kucaklayan Yeditepe İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Gülçin Kantarcı'ya ve saygıdeğer hocalarıma,

Tez sürecinin tüm aşamalarında değerli katkılarını aldığım Mikrobiyoloji A.B.D'nden Prof. Dr. İbrahim Çağatay Acuner'e, Biyolog Zehra Kibritçi'ye ve Patolojiden Prof. Dr. Ferda Özkan'a,

Uzmanlık eğitim süresi boyunca hep beraber olduğumuz, birbirimizi her yerde ve her zaman desteklediğimiz ve onlarca biriktirdiğimiz güzel anıların sahibi olan asistan ve kat hekimi arkadaşlarıma,

Yaşatmak için çıktığım doktorluk yolculuğunda hayatlarından büyük ödünler vererek beni destekleyen babama, arkada bıraktığım gözü yaşlı ANNEME ve kardeşlerime,

Asistanlık gibi nöbetleri çok olan bir süreçte yanımdan hiç ayrılmayan, eğitimimi başarılı bir şekilde tamamlayabilmem için zamanından ve kariyerinden fedakârlık yapan ve memleketimden uzakta beni her halimle seven ve destekleyen iki çocuğumun annesi ömürlük eşim Fatma NURMUHAMMEDOV'a tüm kalbimden sonsuz teşekkür ediyorum.

**Dr. Rahman NURMUHAMMEDOV**

# İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER .....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	v
TABLO LİSTESİ.....	vii
RESİM LİSTESİ.....	vii
ÖZET .....	viii
ABSTRACT.....	x
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Özefageal skuamöz papillom .....	3
2.1.1. Tanımı.....	3
2.1.2. Prevelansı .....	4
2.1.3. Patogenezi ve HPV ile ilişkisi .....	4
2.1.4. Prognozu.....	5
2.2. Barrett Özofagus ve Displazisi.....	6
2.2.1. Tanımı.....	6
2.2.2. Prevelansı .....	7
2.2.3. Barrett özofagus ve Adenokarsinom ilişkisi .....	7
2.2.4. Barrett ve HPV ilişkisi.....	8
2.2.5. Malign tranformasyon mekanizması .....	9
2.3 Özofagus kanserleri.....	10
2.3.1. Genel bakış .....	10
2.3.2. Özofagus kanser tipleri ve epidemiyolojisi .....	10
2.3.3. Etiyolojik faktörler .....	11
2.3.3.1. Özofagus kanserleri ve HPV ilişkisi.....	13
2.4. HPV.....	13
2.4.1. Mikrobiyolojisi .....	13
2.4.2. Genotipleri ve kanser ilişkisi .....	14
2.4.3. Moleküler patogenezi .....	15
2.4.3.1. HPV proteinleri.....	15
2.4.3.2. p53 proteininin rolü .....	15
2.4.3.3. Retinoblastoma proteininin rolü .....	16
2.4.3.4. Malign transformasyon mekanizması .....	16

2.4.4. HPV ve risk faktörleri .....	16
2.4.5. HPV saptama testleri .....	17
2.4.6. HPV epidemiyolojisi ve ilişkili hastalıklar.....	18
2.4.6.1. Anogenital epidemiyolojisi ve kanserleri .....	18
2.4.6.2. Orofarengeal epidemiyolojisi ve kanserleri .....	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	19
3.1 Çalışmaya dâhil edilme kriterleri .....	19
3.2. Verilerin toplanması ve çalışma dizaynı .....	19
3.3. HPV serotiplerinin belirlenmesi.....	20
3.3.1. Örneklerin hazırlanması .....	20
3.3.2. DNA ekstraksiyonunun yapılması.....	20
3.3.3. HPV PCR yöntemi ile örneklerin çalışılması.....	21
3.3.4. Değerlendirme parametreleri: pozitif ve negatiflik .....	22
3.4. İstatistiksel Analiz.....	23
4. BULGULAR.....	23
4.1. Hastaların temel özellikleri .....	23
4.1.1.ÖSP grubunun temel özellikleri .....	23
4.1.2.Malignite grubunun temel özellikleri .....	26
4.2 Bağımsız gruplar arası karşılaştırma .....	27
5. TARTIŞMA .....	33
KAYNAKLAR .....	39

## SİMGELER VE KISALTMALAR

ÖSHK - Özofagusun Skuamöz Hücreli Kanseri

ÖK - Özofagus Kanseri

HPV - Human Papilloma Virüs

BD - Barrett Displazisi

BÖ - Barrett Özofagus

ÖAK - Özofagus Adenokarsinomu

OFK - Orofaringeal Kanser

ABD - Amerikan Birleşik Devletleri

GİS - Gastrointestinal Sistem

EMR - Endoskopik Mukozal Rezeksiyon

GÖB - Gastroözofageal Bileşke

mRNA - Mesajcı Ribo Nukleik Asit

RNA - Ribo Nukleik Asit

DNA - Deoxyribo Nukleik Asit

DDD - Düşük Dereceli Displazi

YDD - Yüksek Dereceli Displazisi

IARC - Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı

GÖRH - Gastroözofageyal Reflü Hastalığı

VLP - Virüs Benzeri Bir Parçacık

HIV - İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü

E - (Early),

L- Geç Bölge (Late)

CIN - Servikal İntraepitelyal Neoplazi

PCR - Polymerase Chain Reaction

FDA - Food And Drug Administration

HC2 - Hybrid Capture 2

BKİ- Beden kitle indeksi

HRC - 16 farklı yüksek risk HPV tipi

Rb - Retinoblastoma

P53 – tümör protein 53

P16 – tümör baskılayıcı protein 16

SPSS 22 - Statistical Package for the Social Sciences

SD – Standart Deviation

$\mu\text{m}$  - mikrometre

mm - milimetre

cm - santimetre

$\mu\text{l}$  - mikrolitre

$^{\circ}\text{C}$  - celsius

rpm- rounds per minute (dakikadaki devir sayısı)

bp – base pair

$\text{kg}/\text{m}^2$  – kilogram/metrekare

## **TABLO LİSTESİ**

Tablo 1 .....	24
Tablo 2 .....	26
Tablo 3 .....	28
Tablo 4 .....	28
Tablo 5 .....	29
Tablo 6 .....	30
Tablo 7 .....	30
Tablo 8 .....	31
Tablo 9 .....	32
Tablo 10.....	32

## **RESİM LİSTESİ**

Resim 1 .....	24
Resim 2.....	24
Resim 3 .....	25
Resim 4 .....	25
Resim 5 .....	25
Resim 6.....	25
Resim 7 .....	27
Resim 8.....	27



## ÖZET

### **Amaç:**

Özofagus kanserleri dünyada en sık kanserler içinde 8.sırada yer almaktadır. Mortalitesinin yüksek olması nedeniyle özofagus kanserlerinin ve premalign lezyonlarının etyolojisinde rol alan faktörlerin önemi daha da artmıştır. Özofagusun skuamöz papillomları da benign olarak bilinmesine karşın son yıllarda yapılan çalışmalarda premalign lezyon olabileceği konusunda dikkatleri üzerine çekmiştir. Araştırmamızın amacı son yıllarda insidansının arttığı gözlenen özofagus papillomalar ile etyolojisinde rol aldığı düşünülen yüksek riskli human papillomavirus (HPV) enfeksiyonunun ilişkisini tespit etmektir. Ayrıca üst gastrointestinal sistem (GİS) endoskopisi ile saptanmış özofagusun adenokasinomu, skuamöz hücreli kanseri, granüler hücreli kanseri ve barrett displazisi ile HPV varlığını ve genotipini belirlemeye çalıştık. HPV'nin coğrafi farklılık göstermesi ve ülkemizde bu konuda yeterli sayıda araştırma yapılmamış olması bu çalışmanın önemini ortaya koymaktadır.

### **Materyal ve Metod:**

Hastanemize başvuran ve gastrointestinal semptomlardan dolayı üst GİS endoskopi yapılan hastalardan alınan özofagus biyopsileri incelendi. 5 yılda 256 hastadan özofagus biyopsisi alındığı tespit edildi. Biyopsi sonucuna göre hastalar iki gruba ayrıldı: 1.grup özefageal skuamöz papilloma (ÖSP) grubu (42 hasta), 2.grup ise premalign/malign grubu (17 hasta, (skuamöz hücreli kanser, adenokarsinom, granüler hücreli kanser ve barrett displazi)). Hastaların demografik, endoskopik ve histolojik bulguları kaydedildi. Patoloji preparatlarından örnek alınarak Polimerase Chain Reaction (PCR) yöntemi ile mikrobiyoloji laboratuvarında HPV genotiplendirmesi yapıldı.

### **Bulgular:**

Malignite grubunun ortalama yaşının belirgin yüksek, beden kitle indeksinin düşük ve lezyon çapının büyük olduğu görüldü ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı (yaş,  $p=0.015$ ; BKİ,  $p:0.028$ , Lezyon çapı,  $p<0,01$ ). Sigara kullanımının malignite grubunda daha fazla olduğu ve iki grup arasında istatistiksel olarak da anlamlı fark olduğu saptandı ( $p=0.03$ ). ÖSP hastalarının %4,8'i (2/42) yutma güçlüğüyle prezante olurken malignite grubundaki hastaların %64,7'si (11/17) bu semptomlar ile

başvurduğu görüldü. Malignite grubunda yutma güçlüğü belirgin olarak fazladır ve istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p<0.001$ ). Patoloji preparatlarından PCR yöntemi ile bakılan HPV enfeksiyonu ise ÖSP grubunda tek bir kişide pozitif bulunmuş ve malignite grubunda tespit edilememiştir. Kontrol endoskopi yapılan ÖSP hastaların 2 sinde (2/6, %33,3) tekrar skuamöz papilloma bulunmuştur. Diğer özellikler bakımından gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

### **Sonuç:**

Sonuç olarak, ÖSP lezyonlarının ÖK'leri için premalign lezyon olduğunu iddia eden araştırmacılar olsa da; bizim çalışmamızda ÖSP grubu ile malignite grubunun yaş, cinsiyet ve risk faktörleri açısından birbirinden farklı olduğu gözlenmiştir. Ayrıca ÖSP'lerin etiolojisinde ve malign transformasyon mekanizmasında rol oynadığı düşünülen HPV'nin sadece bir papilloma hastasında saptanmış olması bu hastalığın etiolojisinde rol aldığını düşündürmemektedir. Malignite grubunda ise hiçbir hastada HPV pozitifliği saptanmamış olması malignite gelişiminde rolü olmadığını düşündürmektedir. Ayrıca ÖSP'li 6 hastanın kontrol endoskopisi sonucunda iki hastada papilloma lezyonlarının tekrarlamış olması fakat hiçbirisinde malignite açısından şüpheli lezyon bulunmaması bölgemizdeki ÖSP lezyonlarının benign nitelikte olduğunu düşündürmektedir.

**Anahtar kelimeler:** human papillomavirus, özofageal skuamöz papilloma, özofagus kanseri

## ABSTRACT

### **Objective:**

Esophageal cancers are the 8th most common cancers in the world. Because of the high mortality, the role of the factors involved in the etiology of esophageal cancers and premalign lesions have increased. Although squamous papilloma of the esophagus are known as benign, the studies that have been conducted in recent years have attracted the attention that premalignant lesions may be present. The aim of our study is to determine the relationship between esophageal papilloma and high-risk human papillomavirus (HPV) infection which is thought to play a role in the etiology of the disease. We also attempted to determine the presence and genotype of HPV with adenocarcinoma of the esophagus, squamous cell carcinoma, granular cell carcinoma and barrett dysplasia detected by upper gastrointestinal (GI) endoscopy. The fact that HPV differs geographically and that there is not enough research on this issue in our country reveals the importance of this study.

### **Materials and Methods:**

Esophageal biopsies from the patients who underwent upper gastrointestinal endoscopy due to gastrointestinal symptoms were examined in our hospital. Esophageal biopsy data was obtained from 256 patients in 5 years. The patients were separated into two groups according to the biopsy results: Group 1 esophageal squamous papilloma (ESP) group (42 patients), Group 2 pre-malign / malign group (17 patients, (squamous cell cancer, adenocarcinoma, granular cell cancer and barrett dysplasia)). Demographic, endoscopic and histological findings of the patients were noted. HPV genotyping was performed in the microbiology laboratory with the Polymerase Chain Reaction (PCR) method using samples from pathology slides.

### **Results:**

The mean age of the malignancy group was significantly high, body mass index was low and the lesion diameter was large and this difference was found to be statistically significant (age,  $p = 0.015$ ; BMI,  $p: 0.028$ , lesion diameter,  $p < 0.01$ ). Smoking was more common in the malignancy group and there was a statistically significant difference between the two groups ( $p = 0.03$ ). While 4, 8% (2/42) of the patients with ESP presented with difficulty in swallowing, 64, 7% (11/17) of the patients in the malignancy group presented with these symptoms. In the malignancy group,

swallowing difficulty was significantly higher and a statistically significant difference was found ( $p < 0.001$ ). The HPV infection which was examined by PCR method from pathology slides was found to be positive in only a single person in the ESP group and could not be detected in the malignancy group. Squamous papilloma was found in 2 (2/6, 33.3%) of the patients who underwent control endoscopy. No significant difference was found between the groups in terms of other features.

**Conclusion:**

In conclusion, although there are researchers who claim to have a premalignant lesion for ESP lesions; in our study, it was observed that the age, gender and risk factors were different in the ESP group and the malignancy group. In addition, HPV, which is thought to play a role in the etiology of malignancies and the mechanism of malignant transformation, has been found in only one papilloma patient, therefore eliminating the hypothesis of its role in the etiology of the disease. In the malignancy group, the absence of HPV positivity in none of the patients suggests that there is no such role in the development of malignancy. In addition, two patients with ESP had recurrences of papilloma lesions during control endoscopy in 6 patients, but none of them had suspicious lesion in terms of malignancy, raising the belief of ESP lesions as benign in our region.

Key words: human papillomavirus, esophageal squamous papilloma, esophageal cancer

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Malignite tüm dünyadaki mortalite sıralamasında en sık 2.sırada yer almaktadır. Gelişmiş ülkelerde farklı türlerdeki kanserlerin toplam insidansının gelecek 10 yılda %45 artacağı tahmin edilmektedir. Özofagus kanserleri (ÖK) istatistiki verilere göre tüm dünyada en sık 8, mortalitede ise 6.sırada gelmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde erkeklerde insidans 6, mortalitede ise 4.sırada gelmektedir. Erkeklerde 3-4 kat daha fazla görülmektedir (1,2).

Coğrafi olarak belirgin farklılık göstermekle birlikte ÖK'nin İran, Çin ve merkezi Asya ülkelerinde insidansının yüksek olduğu gözle çarpılmaktadır. Bu yüksek riskli bölgelerde ÖK etiyojisinde yetersiz beslenme, meyve ve sebzelerin az tüketilmesi, aşırı sıcak içeceklerin tüketilmesi gibi bazı faktörler suçlanmaktadır (3-6). Özellikle yüksek riskli bölgelerde yapılan çalışmalarda, Özofagus skuamöz hücreli kanserlerde (ÖSHK) human papilloma virüs (HPV) enfeksiyonunun bulunma sıklığının daha fazla olduğu saptanmıştır. HPV'nin ÖK riskini artırıp artırmadığını belirlemek için daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir(7-10).

HPV'nin özofagusun skuamöz hücreli kanserlerindeki rolü ilk kez Syrjanen tarafından 1982'de dile getirmiştir. Benign özofagus epiteli ile özofagusun malign tümör dokularındaki farklı histopatolojik özelliklerden dolayı HPV'nin etiyojide yeri olabileceğini söylemiştir (11). HPV'nin ÖSHK için etiyojik bir ajan olup olmadığını değerlendirmeye yönelik birçok çalışma yapılmıştır. ÖSHK tümör dokusunda HPV Deoxyribo Nukleik Asit'inin (DNA) varlığını test eden çalışmalarda 0 ila yaklaşık% 70 arasında değişen oranlarda prevalanslar bildirilmiştir (12). Bu farklı prevalans sonuçları çalışmaların HPV nin coğrafi olarak yüksek riskli veya düşük riskli bölgelerde yapılmış olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca 10 yıldan daha eski çalışmalarda HPV'nin ÖK ile ilişkisinin zayıf olduğu bildirilmesine karşın son yıllarda yapılan çalışmalar ilişkinin güçlü olduğunu göstermektedir. Son 6 yılda 12 ülkede yapılan 36 çalışmada PCR yöntemi ile HPV tiplendirmesinde %31.1 oranında pozitiflik saptanmıştır. Pozitif olanların %73,8'inde yüksek onkojenik riskli HPV16/18 bulunmuştur (13).Türkiyenin yüksek onkojenik riskli bölge olan İran'a komşu ülke olması ve şu ana kadar bu konuda yeterli çalışma yapılmamış olması dikkat çekmektedir. Özofagus kanserlerindeki HPV prevalansı coğrafi olarak farklılık

gösterdiğinden Türkiye'deki prevalansını ve buna bağlı onkojenik risk artışını araştıran çalışmalara ihtiyaç vardır.

Barrett özofagus (BÖ) özofagusun distal 1/3 skuamöz epitelinin intestinal metaplazi ile yer değiştirmesidir (14). BÖ özofagus adenokarsinomunun (ÖAK) en önemli ve bilinen bir risk faktördür. 1975 den 2001'e kadar Amerika Birleşik Devletlerinde (ABD) BÖ prevalansında %600 artış görülmüştür (15). BÖ (displazisi olmayan) hastalarında kanser gelişiminden önce displastik transformasyon (düşük ve yüksek dereceli displazisi) gerçekleştiği ve bir metaplazi - displazi - kanser sekansının var olduğu öne sürülmektedir. Barrett'in metaplazi - displazi - karsinom dizisinde rol alan risk faktörleri ve moleküler patogenezi tam aydınlatılamamıştır. (16). HPV enfeksiyonu ile orofaringeal kanserler (OFK) arasında ilişki olduğu bazı çalışmalar ile gösterilmiş olup ABD, İsveç ve Avustralya'da baş boyun kanserlerindeki dramatik artış bu virüse bağlanmıştır (17-20). Orofarengeal epitelin özofagus epiteli ile devamlılık göstermesi HPV enfeksiyonunun komşuluk yolu ile özofagusa yayılabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca Rajendra ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada transkripsiyonel olarak aktif yüksek riskli HPV ile Barrett displazisi (BD) ve ÖAK arasında güçlü bir ilişki olduğu ve özofageal karsinogenezde potansiyel rol oynadığı belirtilmiştir (21).

Son yıllarda ÖAK insidansının batı toplumunda arttığını gösteren çalışmalar vardır (22-23). Avustralya da yapılmış bir çalışmada ise HPV-pozitif ve HPV-negatif ÖAK'lar arasında belirgin genomik farklılıklar olduğu ve tümör oluşumunda farklı biyolojik mekanizmaların rol aldığı gösterilmiştir (24). Fakat bu verileri destekleyen yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır.

Özofagusun HPV ile ilişkili olduğu düşünülen bir diğer lezyonu özofageal skuamöz papillomadır (ÖSP). Çok nadir görülen bu benign tümör ilk kez 1959 yılında Adler ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (25). Benign olarak bilinmesine karşın son yıllardaki ÖSP zemininde gelişen kanser bildirimleri ve yıllar içinde görülme sıklığındaki artış nedeni ile ÖK etiyojisinde premalign lezyon olabileceği düşünülmüştür (26-28). Pantham ve arkadaşları ÖSP saptanan 60 hastanın 19'unda yüksek onkojenik riskli HPV 16 ve HPV 18 pozitif olduğunu bildirmişlerdir. Bu hastalardan 9'unda HPV 16 pozitif bulunmuştur. Bu veriler HPV pozitif ÖSP'lerin gelecekte özofagus kanserleri için potansiyel büyüyen bir risk faktörü olacağı yöndedir (28).

Özofagusun skuamöz epiteli orofarinks ile devamlılık göstermektedir. Bu durum orofarengal HPV enfeksiyonunun üst özofagus sfinkterinin ötesine geçmesine ve özofagusu enfekte edebilmesine imkân sağlamaktadır. HPV'nin orofarengal kanser (OFK) ile birlikte özofagus kanserleriyle de ilişkili olduğu iddia edilmiştir (29,30). HPV ile ilişkili OFK'nin artan prevalansı, özofagusta da benzer kaygılar doğurmaktadır.

Bu çalışmanın amacı, özofagus papillomalarının insidansını belirlemek, son birkaç yılda artmış olup olmadığını değerlendirmek ve özofagus papilloma ile yüksek riskli HPV enfeksiyonu arasındaki ilişkiyi tespit etmektir. Ayrıca üst gastrointestinal sistem (GİS) endoskopisi ile saptanmış ÖAK, ÖSHK ve BD hastalarındaki HPV prevalansını ve genotiplerini belirlemeyi amaçladık. HPV'nin coğrafi farklılık göstermesi ve ülkemizde bu konuda yeterli sayıda araştırma yapılmamış olması bu çalışmanın önemini ortaya koymaktadır.

Klinik gözlemlerimize dayanarak, özofagus papilloma insidansı ve prevalansının son on yılda arttığını ve dolayısıyla özofagus kanseri için gelecekte önemli bir etkisi olabileceğini varsayıyoruz.

Ayrıca son yıllarda Barrett displazisi, ÖAK ve ÖSHK etiyolojilerinde HPV'nin risk faktörü olarak sık bahsedilmeye başlaması ve aynı zamanda yüksek riskli onkojenik HPV bölgesine komşu ülke olmamız sebebiyle ülkemizdeki özofagus patolojilerinde HPV sıklığını belirlemek ve malignite ile ilişkisine katkıda bulunmayı amaçladık.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Özefageal skuamöz papillom**

#### **2.1.1. Tanımı**

Özofagus papillomaları, histolojik olarak merkezinde küçük kan damarlarını içeren bir bağ dokusu ve üzeri çok sayıda skuamöz hücreleri ile kaplı parmaklı çıkıntıları olan epitelyal lezyonlardır (31). Çok nadir görülen bu tümör ilk kez 1959 yılında Adler ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (25). Benign olarak bilinmesine karşın son yıllardaki ÖSP zemininde gelişen kanser bildirimleri ve yıllar içinde görülme sıklığındaki artış nedeni ile ÖK etiyolojisinde premalign lezyon şüphesi uyandırmıştır (26-28). Papillomların büyük çoğunluğu soliter lezyonlar olmakla birlikte multiple

lezyonlar şeklinde de görülebilmektedir (32). ÖSP genellikle asemptomatik ve üst gastrointestinal endoskopi sırasında insidental olarak saptanmaktadır (33). Endoskopide, verrucous skuamöz hücreli karsinom, granülasyon dokusu ve papiller lökoplaki gibi diğer benzer lezyonlardan ayırt edilmesi gereken; küçük, beyazımsı-pembe, siğil benzeri egzofitik çıkıntılar içeren lezyon şeklinde görünürler. Genellikle distal özofagusta bulunmakla birlikte tüm özefagusta görülebilmektedir (33-35). Literatürde papillomatozis ve 5 cm'ye ulaşabilen dev özofageal papilloma gibi çoklu formlar tarif edilmiştir (36,37). Endoskopik görünümü genellikle karakteristiktir ancak patognomonik değildir (33). Bu nedenle histolojik tanı ile akantoz, hipergranüloz ve hiperkeratozdan ayırt edilmesi gerekmektedir (38).

### **2.1.2. Prevelansı**

ÖSP nadir görülmekle birlikte çok farklı oranlarda prevelans çalışmaları bildirilmiştir. 2000 yılından eski çalışmalarda prevelansının %0.01 ile 0.43 arasında değiştiği gösterilmiştir (33,40,41). Fakat Pantham ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 14 yılda ÖSP görülme sıklığının 4 kat arttığı saptanmıştır. Bu çalışmaya göre 2000 yılında insidansı %0.13 iken 2013 yılında %0.57 'ye kadar yükseldiği tespit edilmiştir (28). Prevelans çalışmaları genel olarak Avrupa kıtasında, ağırlıklı olarak İtalya'da yapılmıştır (33,40, 42-45). Ülkemizde yapılan klinik incelemelerde özofagus papilloma insidansının ve prevelansının son on yılda arttığını görmekteyiz.

### **2.1.3. Patogenezi ve HPV ile ilişkisi**

Yapılan çalışmalarda ÖSP'lerin patogenezi tam olarak bilinmemekle birlikte iki etiyolojik faktörün rol aldığı düşünülmektedir (11,33,35). Birincisi kronik mukozal inflamasyondur. Buna neden olan faktörler reflü hastalığı, alkol tüketimi ve sigara gibi kimyasal ve mekanik nedenlerdir (34,35,42,43,46). Hayvan çalışmalarında da papillomların benzopiren ve nitrozaminler gibi kostik maddeler ile mukozal hasar sonrası oluşabileceğini gösterilmiştir (47,48). İkinci etiyolojik faktör ise kesin olmamakla birlikte, özofagus papillomlarının oluşumunda HPV'nin neden olduğu yöndedir. Macaristan'da ve bazı Avrupa ülkelerinde yapılan çalışmalar, özofagus papillomlarının yüzde 21 ila 46'sında HPV enfeksiyonunun olduğunu göstermiştir (30,41). Finlandiya ve Sloveniya'da yapılan çalışmalar da ise HPV enfeksiyonuna vakaların yüzde 5'inden daha azında rastlanmıştır (49,50). Farklılıkların HPV



enfeksiyonu sıklığındaki coğrafi değişkenlik ile ilgili olabileceği düşünülmüştür. Tiftikçi ve arkadaşlarının 2017 yılında yaptığı çalışmada 38 ÖSP'li hastanın 7 sinde (%19) HPV saptanmıştır. Bunlardan üçü genotip 6 olmasına karşın dördü yüksek onkojenik genotip 16,18, 31, 81 olarak belirlenmiştir (51). Tiftikçi ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışma Türkiyede yapılmış ÖSP hastalarındaki HPV prevelansı konulu ilk ve tek çalışmadır. Pantham ve arkadaşları ÖSP saptanan 60 hastanın 19'unda yüksek onkojenik riskli HPV 16 ve HPV 18 çalışmışlardır. Bu hastalardan 9'unda HPV 16 pozitif bulunmuştur. Bu veriler HPV pozitif ÖSP'lerin gelecekte özofagus kanserleri için potansiyel büyüyen bir risk faktörü olacağı yönünde kagıları arttırmaktadır (28).

HPV enfeksiyonu ile orofaringeal kanserler (OFK) arasında ilişki olduğu bazı çalışmalar ile gösterilmiş olup ABD, İsveç ve Avustralya'da baş boyun kanserlerindeki dramatik artış bu virüse bağlanmıştır (17-20). Orofarengeal epitel ile özofagus epiteli devamlılık göstermesi nedeni ile HPV enfeksiyonunun komşuluk yolu ile özofagusa yayılabileceği düşünülmektedir. Ayrıca bazı çalışmalarda ÖSP saptanan hastaların %5 inde OFK'ninde eşlik ettiği gösterilmiş olması (28) papillomaların da ilerde malign transformasyon gösterebileceğini akla getirmektedir.

Marine Caroline ve arkadaşlarının Fransa da yaptığı bir çalışmada 8 yıllık üst GİS endoskopide saptanmış 78 ÖSP hastasının 2' sinde ÖSHK gelişmiş olması ÖSP'lerin premalign lezyon konusundaki endişelerimizi doğrular niteliktedir (52).

#### **2.1.4. Prognozu**

Özofageal skuamöz papillomalar üst GİS semptomları ile gelen hastalarda yapılan endoskopik işlem sonucu tespit edilmektedir. İşlem sırasında tespit edilen ÖSP'ler farklı yöntemler ile tamamı çıkartılmaktadır. Dolayısıyla, şu ana kadar yapılmış çalışmalarda ÖSP saptanan hastaların uzun dönem takipleri bulunmamaktadır. Ancak üst GİS endoskopi sırasında papillomaları çıkartılan ÖSP'li hastaların endoskopik takipleri mevcuttur (40,53). Sablich ve arkadaşlarının yaptığı 35 ÖSP'li hastanın 1 ila 34 ay arasında değişiklik gösteren takiplerinde lezyonun alındığı yerde veya başka bir yerde ikinci bir ÖSP'ye rastlanmamıştır (40). Mosca ve arkadaşlarının İtalya'da yaptığı çalışma da ÖSP li 9 hastanın 18 ve 48. aylarda endoskopik kontrollerinde herhangi bir lezyona rastlanmamıştır. 9 hastanın çıkartılan skuamöz papillomasında in situ hibridizasyon yöntemi ile bakılan HPV enfeksiyonu negatif bulunmuş olup ayrıca kadın hastaların servikal pap smearlerinde de HPV enfeksiyonuna rastlanmamıştır (53). 15

yıldan daha önce yapılmış olan bu çalışmalarda HPV bakılma tekniğinin yetersiz ve HPV ilişkili ÖSP'lerin çalışmanın yapıldığı coğrafi bölgede daha nadir bulunduğu bilinmektedir. Bu sebeple, bu konuda daha kapsamlı araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda ÖSP sıklığında artış (28) olması, ÖSP ile HPV ilişkisinin daha fazla araştırılması ve ÖSP'li hastaların takibinde malignite gelişen vaka bildirimlerin artması (26.27.55-58) dikkatleri üzerine çekmiştir. Cho ve arkadaşlarının bildirdiği vakada endoskopik mukozal rezeksiyon (EMR) yöntemiyle skuamöz papilloması çıkartılan hasta sunulmuştur. 2 yıl sonrasında reflü şikayeti nedeni ile üst GİS endoskopi yapılmıştır. Yapılan endoskopide papillomanın aynı bölgede tekrar ettiği ve histopatolojik incelemede skuamöz kansere dönüştüğü saptanmıştır (26). Özofageal skuamöz papillamatozis saptanan hastalarda malign transformasyon geliştiğini bildiren vaka bildirimleri daha fazladır (27,55-58). Marine Caroline ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 8 yıllık üst gastrointestinal endoskopide saptanmış 78 ÖSP hastasının 2' sinde ÖSHK ve 2' sinde displazi gelişmiş olması ÖSP'lerin malign transformasyonu konusunda düşündürücüdür (52). ÖSP'lerin ve özellikle de HPV ilişkili ÖSP'lerin prognozu konusunda daha detaylı bilgi için daha uzun süreli güncel takip çalışmalarına ihtiyaç vardır.

## **2.2. Barrett Özofagus ve Displazisi**

### **2.2.1. Tanımı**

Barrett özofagus, normalde distal özofagusu kaplayan skuamöz epitelin yerini hem gastrik hem de intestinal özelliklere sahip olan metaplastik kolumnar epitelin aldığı durumdur. Bu durum, kronik gastroözofageal reflü hastalığının (GÖRH) bir sonucu olarak gelişir ve özofagusta adenokarsinom gelişimine zemin hazırlar (59). BÖ endoskopik olarak gastroözofageal bileşkeden (GÖB) özofagusa doğru karakteristik somon pembesi uzantılar (dil şeklinde) şeklinde görülür (60). Eğer GÖB'den özofagusa doğru olan BÖ uzantısı 3 sm'den uzun ise uzun segment BÖ, eğer daha kısa ise kısa segment BÖ olarak isimlendirilir (61).

BÖ (displazisi olmayan) lezyonlarında kanser gelişiminden önce displastik transformasyon (düşük ve yüksek dereceli displazisi) gerçekleştiği, bir metaplazi - displazi - kanser sekansının var olduğu öne sürülmektedir.

Displazi, bir veya daha fazla hücre klonunun malign transformasyon için yeterli genetik / epigenetik hasar oluştuğunu düşündüren histolojik anormalliklerin tümüdür. BÖ zeminindeki kanserler, hücrelere belirli büyüme avantajları sağlayan ve patologunun displazi olarak tanımlayabileceği ve morfolojik değişikliklere neden olan bir dizi genetik ve epigenetik değişikliklerle gelişir (62). Displazi, hücre yapıtaşına ve sitolojik özelliklerine bağlı olarak düşük veya yüksek dereceli olarak derecelendirilir.

Kısa segment Barrett özofaguslu hastalarda displazi ve adenokarsinom gelişme riski kesin olarak belirlenememiştir. Çok sayıda gözlemsel araştırma, BÖ'nin neoplazi riskinin doğrudan Barrett'in metaplazisinin derecesiyle ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, kısa segment Barrett'i olan hastalarda daha küçük bir alan etkilendiği için displazi insidansı daha düşüktür. (63-65).

### **2.2.2. Prevalansı**

Amerika Birleşik Devletleri'ndeki yetişkinlerin yüzde 5,6'sının Barrett özofagusu olduğu tahmin edilmekle birlikte vakaların büyük çoğunluğunun henüz tespit edilemediği düşünülmektedir (66). BÖ endoskopik muayeneler sırasında farkedilerek tanı konulur. Ortalama tanı yaşı 55 olup genellikle orta yaşlı ve yaşlı erişkinlerde saptanmaktadır (67). Barrett özofagus çocuklarda nadir görülmektedir(68). Bu durum BÖ'nin konjenital bir hastalık olmayıp, sonradan edinilmiş bir durum olduğunu düşündürmektedir. Genel popülasyonda BÖ'nin prevalansı çalışılan popülasyona ve tanı koymak için kullanılan kriterlere bağlı olarak 0,4 ila 20 arasında değişmektedir (63.69-72). Ayrıca BÖ erkeklerde iki - üç kat daha sık görülmektedir (73).

BÖ ve özofagus adenokarsinomunun ailesel agregasyon gösterdiği çalışmalar da bildirilmiştir. Özofagus adenokarsinomlu hastaların birinci dereceden akrabalarının yüzde 28'inde BÖ bulunmuştur (74,75). Bunun ortak çevresel etkenlere maruz kalmalarından veya kalıtsal bir yatkınlıktan kaynaklanıp kaynaklanmadığı belirlenememiştir. MSR1, ASCC1 ve CTHRC1 genlerindeki germline mutasyonları ve bazı kromozom anomalileri ile BÖ ve ÖAK'ler ilişkilendirilmiştir (76,77). Bu bulguları doğrulamak için büyük kohort çalışmalarına ihtiyaç vardır.

### **2.2.3. Barrett özofagus ve Adenokarsinom ilişkisi**

Barrett özofagusunun, özofagus ve gastroözofageal bileşke adenokarsinomlarının öncüsü olduğu düşünülmektedir. GÖB'den köken alan adenokarsinomlar saf özofagus adenokarsinomlarından yaklaşık iki kat daha yaygındır. Bu tümörlerin distal özofagus

epitelinden mi yoksa proksimal mide epitelinden mi kaynaklandığını belirlemek oldukça zordur. Çünkü morfolojik olarak birbirlerinden ayırt edilemezler ve epidemiyolojik özellikleri benzerdir (78). Biyokimyasal çalışmalar da BÖ'nin çoğu GÖB tümörü için prekürsör bir lezyon olduğu hipotezini desteklemektedir. Örneğin bir çalışmada immünofloresans mikroskopisi ile tespit edilen barsak spesifik bir protein BÖ'de ve GÖB kökenli 26 adenokarsinom vakasında benzer bulunmuştur. Bu proteinin normal mide ve özofagus mukozasında, peptik özofajitte veya skuamöz hücreli karsinomda görülmediği tespit edilmiştir (79).

Çalışmalarda BÖ'nün ÖAK'ye dönüşme riski yıllık %0,5 olarak bildirilmiştir (80). Rehberlere göre displazisi olmayan BÖ hastalarında; eğer lezyonun maksimum uzunluğu <1 cm ise endoskopik takibe gerek olmadığı yönündedir. Barrett'in uzunluğu 1-3 cm ise 5 yıl, 3-10 cm ise 3 yıl aralıklarla endoskopik takip önerilmektedir. Düşük dereceli displazi (DDD) saptanan hastaların 6 ay ve 1 yıl ara ile iki kez endoskopik biyopsiyle kontrol edilmesi gerekmektedir. Kontrollerde displazisi devam eden hastalara endoskopik ablasyon yapılması desteklenmektedir. Yüksek dereceli displazisi (YDD) olan hastalarının BD konusunda uzman merkezlere yönderilmesi önerilmektedir. BD konusunda uzman merkez kabul edilebilmesi için yılda en az 10 yeni tanı YDD saptıyor olması, en az 30 endoskopik rezeksiyon veya endoskopik ablasyon işlemi yapıyor olması ve ilgili bölümlerle multidisipliner yaklaşım sergiliyor olması gerekmektedir. BÖ'lü tespit edilmiş hastalarda 4 kadrana ek olarak 2 cm aralıklarla lezyon alanının tümünden biyopsi alınması istenmektedir (81).

ÖAK hastalarının sağkalım oranları düşük olması nedeni ile BÖ'nin ilerlemesi için risk oluşturan faktörlerinin belirlenmesi ve olası önleyici işlemlerin yapılması hasta surveyine önemli katkısı olacaktır (82,83).

#### **2.2.4. Barrett ve HPV ilişkisi**

Yapılan çalışmalarda; son yıllarda ÖAK insidansının batı toplumunda arttığını göstermektedir (22-23). Etiyolojisinde kronik özofajit ile başlayan sürecin BÖ ve displazi sonrasında malign transformasyona neden olarak ÖAK geliştiği düşünülmektedir. Displaziden kansere geçişe neden olan mekanizma henüz tam olarak bilinmemektedir (84). Organ transplantasyon kliniğinde yapılmış bazı çalışmalarda T ve B hücrelerinin immunsupresif tedavi sonrası baskılanması ile birlikte BÖ'nin ÖAK'ye hızlı progrese olduğu gösterilmiştir (85-87). Bu konuda çok az sayıda çalışma

yapılmış olmakla birlikte, bazı çalışmalarda HPV ile BÖ ve ÖAK arasında ilişki olmadığı (88,89), bazılarında ise şüpheli pozitif ilişki gösterilmiştir (90). Fakat HPV'nin etnik ve coğrafi olarak prevalans farklılığının olması ve önceki yapılmış olan çalışmalarda kullanılan metodların suboptimal olması nedeni ile daha güncel çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Son yıllarda Rajendra ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada transkripsiyonel olarak aktif yüksek onkojenik HPV ile BD ve ÖAK arasında güçlü bir ilişki bulunmuştur. Bu çalışmada kontrol ve BÖ grubunda HPV oranı sırasıyla %18 ve %22 iken BD ve ÖAK grubunda sırasıyla %68 ve %66 bulunmuştur. Ayrıca E6/E7 mesajcı Ribo Nukleik Asit (mRNA) testinin kontrol ve BÖ grubunda negatif olmasına karşın BD ve ÖAK grubunda sırasıyla 9/22 ve 9/15 hastada pozitif bulunmuştur (21). Bu pozitiflik HPV'nin BD ve ÖAK progresyonunda ve şiddetinde önemli rol oynadığını göstermektedir.

#### **2.2.5. Malign tranformasyon mekanizması**

Metaplastik hücrelerde karsinogenez, proto-onkogenlerin aktive olması veya tümör baskılayıcı genlerin devre dışı bırakılması gibi genetik ve epigenetik değişiklikler ile başlar (91,92). Barrett özofaguslu hastalarda gözlenen malign progresyon genellikle tümör baskılayıcı genler olan p53 (TP53 olarak da bilinir), p16 (CDKN2A olarak da bilinir) ve siklin D1 proto-onkojenindeki değişiklikler ile olur (91,93,94). BÖ'nin ÖAK'ye progrese olmasına neden olan genetik değişikliklerin mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Ancak diploid progenitör hücrelerin ilk önce p53 ve p16'da anormalliklere neden olarak klonal genişleme yaptığı bilinmektedir (95). Daha sonra, 5q, 13q ve 18q kromozomlarında heterozigotluk kaybını içeren bir dizi ek genetik değişiklikler sebep olurlar. Barrett metaplazisindeki çoğu tümör, ilk olarak "genome-doubled pathway" mekanizması ile p53 mutasyonunu oluşturmaktadır. Daha sonrasında tüm genomların iki katına çıkmasıyla birlikte genomik dengesizlik, onkogen amplifikasyon ve malign transformasyon gerçekleşmektedir. Bu yolak kanser gelişimiyle ilgili olan 'genetik değişikliklerin aşamalı birikimi' ile oluşan basamak yoldan çok daha hızlı sonuçlanır (96).

HPV genomu, viral gen regülasyonu ve hücre transformasyonu için 6 Erken (E) protein kodlamaktadır. Bunlardan malign transformasyon patogenezinde önemli rol alan iki HPV proteini E6 ve E7'dir. E6 proteini P53'e bağlanarak işlevini bozmaktadır. Bunun sonucu olarak kontrolsüz hücre çoğalması ve malign transformasyona neden olmaktadır

(97). Dolayısıyla HPV'nin malign transformasyon riski artmış olan BD'de sürecine katkı sağladığı düşünülmektedir.

## **2.3 Özofagus kanserleri**

### **2.3.1. Genel bakış**

ÖSHK ve ÖAK, özofagus malign tümörlerinin yüzde 95'inden fazlasını oluşturmaktadır. 20.yüzyılda batı toplumunda ÖSHK daha sık görülmekte iken günümüzde ÖAK insidansının çarpıcı bir şekilde arttığı görülmektedir. Buna karşılık, dünya genelinde ÖSHK insidansı halen daha fazladır (98). ÖSHK ve ÖAK'leri tümör yerleşimi, histopatolojisi ve predispozan faktörler açısından farklılık göstermektedir. ÖSHK için sigara ve alkol; ÖAK için ise Barrett özofagus, obezite, Gastroözofageyal reflü hastalığı (GÖRH) ve sigara en önemli risk faktörleri olarak bilinmektedir (99).

Özofagus kanserleri tüm dünyada en sık görülen 8.kanser türü olmakla birlikte mortalitede 6.sırada gelmektedir. Dünyadaki tüm kanserlerin %3 ünü oluşturmaktadır. Erkeklerde kadınlara oranla görülme sıklığı 3-4 kat daha fazladır. Ancak Çin ve İran gibi yüksek riskli bölgelerde cinsiyet farkı bulunmamaktadır (2).

### **2.3.2. Özofagus kanser tipleri ve epidemiyolojisi**

Özofagus kanserleri skuamöz hücreli kanser, adenokarsinom ve küçük hücreli kanser olmak üzere 3 tipe ayrılmaktadır. Özofagusun küçük hücreli kanseri nöroendokrin hücrelerden köken alan çok nadir bir kanser türüdür. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansının (IARC) verilerine göre 2012 yılında yaklaşık 450.000 ÖK vakası olduğu tahmin edilmektedir. Bunlardan % 88 ÖSHK ve% 12 ÖAK vakası olarak bildirilmiştir. ÖSHK sıklığı coğrafi olarak büyük farklılık göstermektedir. Özofagus kanserinin ülkeler arasındaki insidansı 10 kattan daha fazla değişmektedir. En yüksek oranda Doğu Asya ve Güney-Doğu Afrika'da; en düşük oranlarda ise Batı Afrika'da görülmektedir. Hem nüfusunun çokluğu hem de yüksek riskli bölge olması nedeni ile Çin tüm dünyadaki ÖSHK vakalarının yarısından fazlasını oluşturmaktadır.

Tüm dünyadaki ÖSHK'lerin %69 unu erkekler ve %31 ini kadınlar oluşturmaktadır. Fakat bu oran düşük riskli ve yüksek riskli bölgelerde değişkenlik göstermektedir. Örneğin Amerika gibi düşük riskli bölgede erkek- kadın oran 4:1 iken, Çin ve İran gibi yüksek riskli bölgede 1:1 olarak görülmektedir. Avrupa ve Batı ülkelerinde yapılan

çalışmalarda sigara ve alkollü içeceklerin tüketlenmesi ÖSHK etiyojisinde büyük rol oynadığını göstermektedir. Ancak Çin ve İnan gibi yüksek riskli bölgelerde sigara ve alkolün tüketiminin az olmasından dolayı özofagus kanser etiyojisinde çok az rolü olduğu düşünölmektedir. Bu bölgelerde risk faktörleri tam olarak belirlenememiştir.

Son 3-4 dekatta ÖK tiplerinin görölme sıklığında büyük değişiklik olduğu bilinmektedir. Amerika, Avrupa ve Avustralya gibi batı ölkelerinde ÖSHK insidansı giderek azalırken ÖAK insidansında belirgin bir artış görölmektedir. Batı ölkelerindeki ÖSHK insidansındaki azalma muhtemel sigara kullanımının azalmasına bağlanmaktadır. Fakat bu tüm ölkeler için geçerli değildir. Örneğin Uluslararası Kanser Araştırma Ajansının verilerine göre Avustralya, Japonya ve Birleşik Krallıkta ÖSHK görölme sıklığında bir değişiklik olmadığı yöndedir. Buna karşılık ÖAK görölme sıklığı ABD, Avustralya, Fransa ve İngiltere gibi Batı ölkelerinde son yıllarda hızla artmaktadır. Bu durum, obezite, kronik GERD ve BÖ prevalansındaki artışların bir sonucu olarak görölmektedir (2,100).

### **2.3.3. Etiyolojik faktörler**

ÖK etiyojisinde çoklu faktörlerin rol aldığı bilinmekle birlikte kanserin tipine ve bulunduğu coğrafi özelliklerine göre risk faktörlerinde farklılık gözlenmektedir. ABD'de yapılan bir çalışmada sigara, alkollü içecek ve az meyve ve sebze tüketimine bağlı olarak ÖSHK riskinin %89 arttığı gösterilmiştir. Buna karşılık, Çin'in yüksek riskli bölgesinde yapılan geniş bir kohort çalışmasında tütün ve alkol tüketiminin ÖSHK etiyojisinde çok az rol aldığı bildirilmiştir (99,101).

Sosyoekonomik faktörlerin özofagus kanserleri için risk oluşturabileceği yönde yayınlar bulunmaktadır. ABD ve Batı Avrupa gibi sosyoekonomik durumu iyi olan toplumlarda ÖSHK daha az görölmektedir. Buna karşın, Çin, Asya ve Afrika gibi gelir düzeyi düşük, gelişmekte olan ölkelerde ÖSHK'nin daha sık göröldüğu bilinmektedir. Diğer yandan sosyoekonomik durumu iyi olan ölkelerde, obezite sıklığının artması ile körele bir şekilde ÖAK görölme sıklığında artış söz konusudur(100,102).

ABD, Batı Avrupa ve dünyanın diğer bölgelerinde sigara kullanımı ve alkol tüketimi ÖK için ana risk faktörüdür. Tütün ürünleri alkol ile birlikte alındığında sinerjistik etkiyle kanser riskini arttırmaktadır. Sigara ve yoğun alkol tüketen kişilerde sigara içen fakat hiç alkol almayanlara göre ÖK riski 20 kat arttığı saptanmıştır. Cook ve meslektaşlarının yaptığı BEACON çalışmasında (12 çalışmanın analizi- özofageal

adenokarsinomlu 1540 hasta ve 9453 kontrol) sigara içenlerde hiç sigara içmemiş kişilere göre ÖAK riskinin iki kat daha fazla olduğunu bildirmiştir. Daha eski çalışmalarda sigaranın kümülatif etkisi üzerine tutarsız sonuçlar bildirilmiş olsa da, Cook ve meslektaşları sigara kullanımında paket/yıl sayısı ile ÖAK arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermiştir. ÖSHK gelişme riski ise sigara içenler de hiç içmemiş kişilere göre 3-5 kat daha fazla olduğu görülmüştür (103-106).

Alkol ve ÖSHK arasında güçlü bir ilişki vardır. ÖSHK riski alkol tüketenlerde, hiç alkol almayan kişilere göre 3-5 kat daha yüksektir. Özofagus skuamöz hücreli karsinomun aksine, epidemiyolojik çalışmalar alkol tüketimi ile özofagus adenokarsinomu arasında güçlü bir ilişki olmadığı yönündedir (102,103).

Asya'da ÖSHK ile birçok diyet arasında ilişki olduğu bildirilmiştir. N-nitroso bileşikleri de DNA'daki alkileri indükleyerek malign transformasyonda rol oynamaktadır. Yüksek riskli endemik bölgelerde tüketilen bazı turşu sebze türleri ve diğer gıda ürünleri N-nitroso bileşikleri bakımından zengindir (107).

Yüksek sıcaklıktaki içecekler ve yiyecekler, özofagus mukozasında termal hasara neden olarak özofagus kanseri riskini arttırdığı düşünülmektedir. 59 çalışmanın incelemesinde; çalışmaların yüzde 50'sinden fazlasında yüksek sıcaklıklarda sıvı alımının özofagus kanseri riskinde istatistiksel olarak anlamlı bir artışa neden olduğu bulunmuştur (108). Türkiye'de illere göre i kanser dağılımına bakıldığında özofagus kanseri Ağrı ve Artvin'de en sık görülen ilk 5 kanser arasında yer almaktadır. Bununla birlikte en sık görüldüğü iller Erzurum, Van, Ağrı, Kars, Gümüşhane, Muş, Hakkari, Artvin, Erzincan ve Bitlis'tir Türkiye'nin doğu bölgelerinde çok sıcak içecek tüketilmesinin o bölgelerde ÖAK sıklığındaki artıştan sorumlu olduğu düşünülmektedir. Gözlemsel çalışmaların meta-analizi, meyve ve sebze tüketiminin arttırılması ile ÖSHK riskinin azalması arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermiştir (109,110).

Özofagus adenokarsinomu için bağımsız bir risk faktörü olarak kronik reflü'nün rolü, iyi tanımlanamamıştır. Çünkü adenokarsinom vakalarının% 50'sinden fazlasında semptomatik reflü hastalığı öyküsü yoktur. Bununla birlikte, İsveç'te yapılan büyük bir vaka kontrol çalışmasında ÖAK (oran 7,7) ile GÖRH'ün ilişkili olduğu bildirilmiştir. En yüksek risk grubunu ise uzun süren (> 20 yıl) ve ciddi semptomları olan hastalar oluşturduğu raporlanmıştır (111).



Barrett özofagusu olan hastalarda ÖK gelişme riski genel popülasyondan en az 30 kat daha yüksektir. Barrett metaplazili hastalarda mutlak kanser gelişme riski düşük olsa da, yüksek dereceli displazi varlığında riskin arttığı bilinmektedir (112).

Obezite ile özofagus adenokarsinomu ve Barrett özofagus arasında da güçlü bir ilişki olduğu bilinmektedir. Obezitenin intragastrik basıncı arttırarak özofagus sfinkter fonksiyonunu bozduğu ve buna bağlı olarak BÖ gelişmesinde rol aldığı düşünülmektedir. Diğer bir olasılık ise obezitenin proinflamatuvar etkisi sonucu aşırı sitokin salgılanması ve buna bağlı risk artışıdır (113,114).

### **2.3.3.1. Özofagus kanserleri ve HPV ilişkisi**

Bazı enfeksiyöz ajanların ÖK patogeneğinde rol oynadığı düşünülmektedir. Bunlardan en çok dikkat çekenini ise HPV enfeksiyonudur. Özellikle de son yıllarda HPV16/18 tipleri en fazla incelenenler arasındadır. HPV nin serviks kanserinden sonra ÖK etiolojisinde de önemli rol oynadığı ve özofagus patolojilerine de neden olabileceği araştırılmaya başlanmıştır. 66 vaka kontrol çalışmasının meta-analizinde HPV enfeksiyonu ile ÖSHK arasında anlamlı bir ilişki olduğu sonucuna varılmıştır. Ancak ÖSHK’de HPV prevalansının sadece yüzde 22,4 olduğu ve en sık gözlenen alt tipi olan HPV-16’nın oranı sadece yüzde 11,4 olduğu bildirilmiştir. Çalışmalar arasında önemli heterojenite gözlemlendiği ve farklılığın popülasyonlardaki ve HPV DNA saptama metotlarındaki değişkenlik ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. Bu ilişki servikal ve orofaringeal kanserlerde gözlemlenen ilişki kadar güçlü değildir. HPV ile ÖSHK arasındaki ilişkiyi açıklığa kavuşturmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. IARC şu ana kadar ki kanıtlarının yetersiz olduğunu söylemektedir (115-118).

HPV’nin BÖ ve ÖAK gelişimindeki rolü tam belirlenememiştir. BÖ ve ÖAK etiolojisinde rolü olduğu ancak bu ilişkiyi doğrulamak için epidemiyolojik çalışmaların yetersiz olduğu görülmektedir. Diğer virüs ile ilişkili kanserlerle karşılaştırıldığında ÖAK’lerde viral enfeksiyon prevalansı çok daha düşüktür (% 13 ila %35) (116). 2013 yılında Rajendra ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada HPV ile BD ve ÖAK arasında güçlü bir ilişki olduğu belirtilmiştir. Ancak bunu doğrulayacak çok sayıda çalışma yoktur (21).

## **2.4. HPV**

### **2.4.1. Mikrobiyolojisi**

Papillomavirüsler, Papillomaviridae familyasının Papilloma cinsini oluşturan çift zincirli DNA virüsleridir. Bu virüsler oldukça türe özgüdür; insan papilloma virüsleri sadece insanları enfekte eder. Doku tropizmine bağlı olarak kutanöz ve mukozal kategorilere ayrılabilen 200'den fazla HPV tipi vardır.

Papillomavirüsler sekiz kilobaz ağırlığında dairesel genomlu, küçük, zarfsız, kapsid virüslerdir; bunların küçük boyutlarına rağmen, moleküler yapıları oldukça karmaşıktır. Bu yapı, fonksiyonel olarak erken bölge E (early), geç bölge L (late) ve uzun kontrol bölgesi (LCR) olmak üzere üç bölgeye bölünür. Geç gen bölgesinde L1 ve L2 kodlanmaktadır. L1 geni major kapsid proteini, L2 geni minör kapsid proteinini kodlar. Hücre kültüründe rekombinant olarak eksprese edilen L1 proteini, virüs benzeri bir parçacık (VLP) oluşturmak için viral genomun yokluğunda kendiliğinden birleşir. L1, HPV aşılarda kullanılan immünojenidir. L2 ise L1 ile birlikte HPV bulaşıcılığına aracılık eden küçük kapsid proteinidir (119).

Virüsün replikasyon döngüsü epitelyal farklılaşmayla doğrudan bağlantılıdır. Epiteldeki mikroskobik hasar sonucu bazal kök hücrenin ilk enfeksiyonu oluşur. Enfekte HPV viryonları dokuya özgü heparan sülfat proteoglikanları aracılığıyla bazal kök hücreye bağlanırlar (120,121).

Kanserojen genotipleri de dahil olmak üzere çoğu HPV enfeksiyonu 12 ay içinde kendiliğinden iyileşir. Taramalarda saptanan HPV enfeksiyonu aktif evresindeyken düşük dereceli sitolojik anormalliklere sebep olsa da genellikle geçicidir. Fakat 12 aydan uzun süren kanserojen HPV enfeksiyonları prekanseröz lezyon gelişme olasılığını artırır. ABD'de sitolojik olarak saptanan prekanseröz servikal lezyonların ortalama saptanma yaşının ilk cinsel ilişkiden yaklaşık 10 yıl sonra olduğu gösterilmiştir (122-124).

HPV patojenleri latent döneme girebilmektedir. Human immunodeficiency virus (HİV), yaşlılık gibi immünsüpresif durumlarda servikal HPV reaktivasyonun olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, HPV enfeksiyonlarının tamamının mı yoksa sadece bir grubunun mu latent döneme girebildiği netleşmemiştir. Ayrıca reaktive olan HPV enfeksiyonlarının ne oranda kanser riski taşıdığı da bilinmemektedir (125).

#### **2.4.2. Genotipleri ve kanser ilişkisi**

HPV genotiplerinin kanser ile ilişkisi değişken olmakla birlikte iki ana gruba ayrılmaktadır:

- Yüksek riskli ( onkojenik) – Bu grupta HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, ve 68 yer almaktadır
- Düşük riskli – 6, 11, 40, 42, 43, 44, 53, 54, 61, 72, 73, ve 81

Servikal kanserlerde en sık izole edilen HPV tipleri 16 ve 18'dir. HPV 16 vakaların yaklaşık %50'sinde bulunmaktadır. Ancak HPV 16/18 olan tüm enfeksiyonlar kansere neden olmamaktadır (126).

HPV enfeksiyonunun bazı oral skuamöz hücreli kanserleriyle güçlü ilişkisi vardır. Yüksek riskli (onkojenik) HPV tipleri ile enfekte hastalarda orofarinks kanser riski 2-4 kat artmaktadır. Homoseksüellerde, özellikle de HIV ile enfekte olmuş hastalarda, HPV ilişkili OFK'lerde belirgin bir artış vardır(127).

HPV aynı zamanda anüs kanseriyle de ilişkilidir. Anal kanaldaki HPV tiplerinin spektrumu serviksteki ile benzerlik göstermektedir. Bunlardan HPV 16 anal kanserle ilişkili en sık saptanan HPV türüdür. HPV enfeksiyon peniste de intraepitelyal neoplaziye ve kansere neden olabilmektedir (128,129).

### **2.4.3. Moleküler patogenezi**

#### **2.4.3.1. HPV proteinleri**

HPV genomu viral genin düzenlenmesi ve hücre transformasyonu ile ilişkili altı erken (E) proteini, virüsün kabuğunu oluşturan iki geç (L) proteini ve uzun kontrol bölgesi (LCR) olmak 3 ana protein grubu kodlamaktadır (130).

Malignite patogenezinde rol alan en önemli iki HPV proteini E6 ve E7'dir. Hem E6 hem de E7 proteinleri HPV ile enfekte anogenital kanserlerde devamlı bir şekilde eksprese edilir ve epitel hücrelerinin ölümsüzleştirilmesine neden olurlar. Moleküler seviyede, E6 ve E7 proteinleri kanserojen etkilerini iki hücre içi proteini olan p53 ve retinoblastoma (Rb) ile etkileşerek gösterirler (131).

#### **2.4.3.2. p53 proteininin rolü**

Normal hücrede p53 proteini hücre döngüsündeki G0 / G1'den S fazına geçişi kontrol etmektedir. Kromozomal hasardan sonra hücre büyümesini durduran ve DNA onarım enzimlerinin işlev görmesini sağlayan bir proteindir. E6'nın bağlanmasıyla sonra P53

proteini bu özelliğinin kaybetmektedir. Bunun sonucu kontrolsüz hücresel döngü sağlanır. Bu durum, yüksek riskli HPV içeren hücrelerde DNA onarımı olmadan kromozomal mutasyonların birikmesine ve kromozomal instabiliteye neden olur. E6'nın p53 ile etkileşimi potansiyel olarak enfekte olmuş hücrelerde mitotik aktivitenin uyarılmasında da rol oynamaktadır. E6 proteininin aksine E7 proteini vahşi tip p53 içeren hücreleri apoptozise duyarlı hale getirir. Mutasyona uğramış p53 içeren hücrelerde ise anti-apoptotik bir etki gösterir. (132-140).

#### **2.4.3.3. Retinoblastoma proteininin rolü**

Rb proteini pozitif büyüme düzenlemesini inhibe ederek hücre büyümesini durdurur veya DNA hasarına cevaben hücre apoptozusunu uyarır. Rb'nin fonksiyonlarından biri, E2F transkripsiyon faktörüne bağlanarak onu inaktif hale getirmektir. E2F hem DNA sentezini hemde siklin fonksiyonunu kontrol etmektedir. E7 bu E2F / Rb protein kompleksi vasıtasıyla Rb proteini ile etkileşime girer. E7, Rb proteinine bağlandığında, E2F ortama salınır ve siklin A'nın hücre döngüsünü ilerletmesine izin verir. E7'nin Rb ile etkileşimi, zarar görmüş DNA'lı hücrelerin G1 kontrol noktasının bypass etmesine neden olur . Bu işlemler, malign değişime yol açabilecek genomik instabilite durumunda kontrolsüz hücre büyümesine yol açar (141-143).

#### **2.4.3.4. Malign transformasyon mekanizması**

İnsan hücrelerinin in vitro ortamda HPV E6 veya E7 ile ölümsüzleştirilebilir. E6 ve E7 birlikteliği bu etkiyi arttırmaktadır. Ancak ne bireysel genler ne de birkaç genin etkileşimleri normal hücrelerin malign transformasyonu için yeterli değildir. Hücreler arası sitokinlerin malign transformasyonun baskılanmasında önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Malign fenotipe ilerleme hücre içi veya hücreler arası sinyalleşmeyi kontrol eden yollardaki genetik bir değişikliğe bağlı olduğu varsayılmaktadır. HPV enfeksiyonunun neden olduğu kromozomal instabilite, bu genetik değişikliklere yol açan bir mekanizma olabileceği düşünülmektedir (144).

#### **2.4.4. HPV ve risk faktörleri**

Genital HPV enfeksiyonları korunmasız cinsel ilişkiyle veya enfekte olmuş bir bölgeye yakın fiziksel temas ile yayıldığı düşünülmektedir (145). Fomit, dijital / anal ve dijital / vajinal temas muhtemel virüsün yayılmasına da neden olan faktörlerdir. Fakat bununla ilgili yeterli kanıt yoktur. HPV prevalansı bakirelerde çok daha düşüktür. İsveç'te

yapılan bir çalışmada bakirelerde prevalansı %4 iken cinsel olarak aktif kadınlarda % 22 bulunmuştur (146).

Bazı çalışmalarda geçirilmiş enfeksiyonun göstergesi olan anti-HPV antikorlarının varlığı gösterilmiştir. Bu antikorların koruyucu bağışıklık potansiyeli olduğu ve aynı tip HPV ile enfekte olma riskinin azalması ile ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte, bu korumanın kapsamı ve süresi bilinmemektedir ve çoğu kadın enfeksiyondan sonra antikor geliştirmemektedir (147-149).

Erkeklerde orofaringeal HPV enfeksiyonu prevalansı kadınlardan daha yüksektir. Kadınlarda olduğu gibi erkeklerde de Orofarengeal HPV prevalansı cinsel partner sayısı ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca yaşlılık ve sigara (tütün ve esrar) gibi faktörlerinde rol aldığı bildirilmiştir (150,151).

#### **2.4.5. HPV saptama testleri**

Moleküler biyolojideki son gelişmelerle birlikte HPV'nin de saptanması daha kolay hale gelmiştir. Bu testler hastaların klinik takiplerinde oldukça önemlidir. HPV testlerini üç ana kategoriye ayırabiliriz:

- HPV DNA testi - Rutin klinik testler için geliştirilen ilk testlerden biridir. Birçok çalışmada bu testin servikal intraepitelyal neoplazi (CIN) 2 ve 3 gibi prekanseröz lezyonların tespitinde sensitivitesinin yüksek olduğu gösterilmiştir. Ancak spesifitesi düşük olması nedeniyle kadınların gereksiz yere kolposkopi için yönlendirilmesine neden olmuştur.
- HPV RNA testi – Bu test aktif onkogenik HPV'nin göstergesi olan E6 ve / veya E7 RNA'nın ekspresyonunu göstermektedir. HPV DNA testi ile bezer sensitiviteye fakat daha iyi spesifiteye sahiptir. HPV DNA testi ile karşılaştırıldığında "yanlış-pozitif" HPV sayısını azalttığı görülmüştür.
- Hücresel belirteçlerin tespiti – HPV'nin kodladığı E7 proteini hücre döngüsünü bozarak hücresel p16 protein ekspresyonunda artışa yol açar. Yüksek dereceli CIN lezyonları çok miktarda p16 içermektedir. Patologlar bu belirteci yüksek dereceli CIN lezyonlarını HPV ile ilişkili olmayan skuamöz metaplazilerden ayırt etmede kullanırlar. Ancak mevcut p16 bazlı testlerin hiçbiri tarama programları için FDA onaylı değildir.

Klinik kullanım için şu anda FDA tarafından onaylanmış birkaç HPV DNA testi vardır. Bunlar arasında Hybrid Capture 2 (HC2), Cervista ve PCR (Polymerase Chain Reaction) tabanlı Cobas 4800 testi bulunur. HC2 ile 13 farklı onkojenik HPV tipi tespit edilebilmektedir. Cervista ve Cobas testleriyle ise HC2 tarafından tespit edilen 13 HPV tipine ek olarak HPV 66 tespit edilir. Aptima HPV testi ise FDA onaylı bir RNA bazlı testtir (152,153).

#### **2.4.6. HPV epidemiyolojisi ve ilişkili hastalıklar**

##### **2.4.6.1. Anogenital epidemiyolojisi ve kanserleri**

Anogenital HPV enfeksiyonu tüm dünyada cinsel yolla bulaşan en yaygın enfeksiyondur. HPV enfeksiyonunun en yüksek prevalansı cinsel ilişkiden sonraki ilk on yılda ortaya çıkar. Genellikle 15 - 25 yaş arasında görülür. Cinsel olarak aktif kadın ve erkeklerin en az %80'inde hayatlarının bir döneminde HPV enfeksiyonuna maruz kaldığı tahmin edilmektedir. Birçok uzman ise cinsel olarak aktif olan yetişkinlerin hemen hemen hepsinin HPV ile enfekte olduğuna inanmaktadır. Çünkü çoğu HPV enfeksiyonu geçicidir ve alt genital sisteme bulaşan 40'tan fazla HPV tipi vardır (154).

Normal servikal sitolojiye sahip 150.000'den fazla kadını kapsayan meta-analiz çalışmasında HPV'nin dünyadaki sıklığının% 10 civarında olduğunu gösterilmiştir. En yüksek bölgesel prevalans ise %22 ile Afrika olduğu belirtilmiştir. Dünyada en sık görülen tipleri ise HPV 16 ve 18'dir. Homoseksüel erkeklerde anogenital HPV sıklığı daha yüksektir(155-157).

##### **2.4.6.2. Orofarengeal epidemiyolojisi ve kanserleri**

Orofarengeal HPV prevalansı anogenital HPV enfeksiyonundan daha düşüktür. Ayrıca erkeklerdeki orofarengeal HPV enfeksiyonu prevalansı kadınlardan daha yüksektir. HPV DNA örnekleme yapılan kesitsel bir çalışmada 4493 erkeğin %7.3'ünde ve 4641 kadının %1.4'ünde yüksek riskli HPV enfeksiyonu saptanmıştır. Homoseksüel erkeklerde ise bu oran %22,2'dir. Orofarengeal HPV prevalansı hem erkeklerde hem de kadınlarda daha fazla cinsel yolla (oral seks dahil) ve öpüşme aracılığı ile bulaştığı düşünülmektedir (166).

Öncesinde HPV ile ilişkili hastalık öyküsü olmayan 18-70 yaş arasındaki 1626 erkeğin katıldığı bir çalışmada onkojenik HPV tipi %1,7 olduğu bildirilmiştir. Çalışma ortalama

13 ay sürmüştür. Yeterli süre takip edilen oral onkojenik HPV enfeksiyonlarının %75'inin 6-7 ay içinde spontan olarak temizlendiğini görülmüştür (159,160).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1 Çalışmaya dâhil edilme kriterleri

Çalışma tek merkezli kesitsel klinik bir çalışma olarak planlandı. Ocak 2014 – Aralık 2018 yılları arasında Yeditepe Üniversitesi Hastanesinin Gastroenteroloji kliniğine başvuran ve gastrointestinal semptomlardan dolayı üst GİS endoskopi yapılan hastalar retrospektif olarak incelendi. Üst GİS endoskopi sırasında özofagusta görülen şüpheli lezyonlardan alınan biyopsi raporlarına hastane veri sisteminden ulaşıldı. Biyopsi sonucunda skuamöz papillom, barrett dispazisi, skuamöz hücreli kanser, adenokanser ve granüler hücreli kanser tespit edilen hastalar çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya Yeditepe Üniversitesinin Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'ndan 887 sayılı onayı alınarak başlandı.

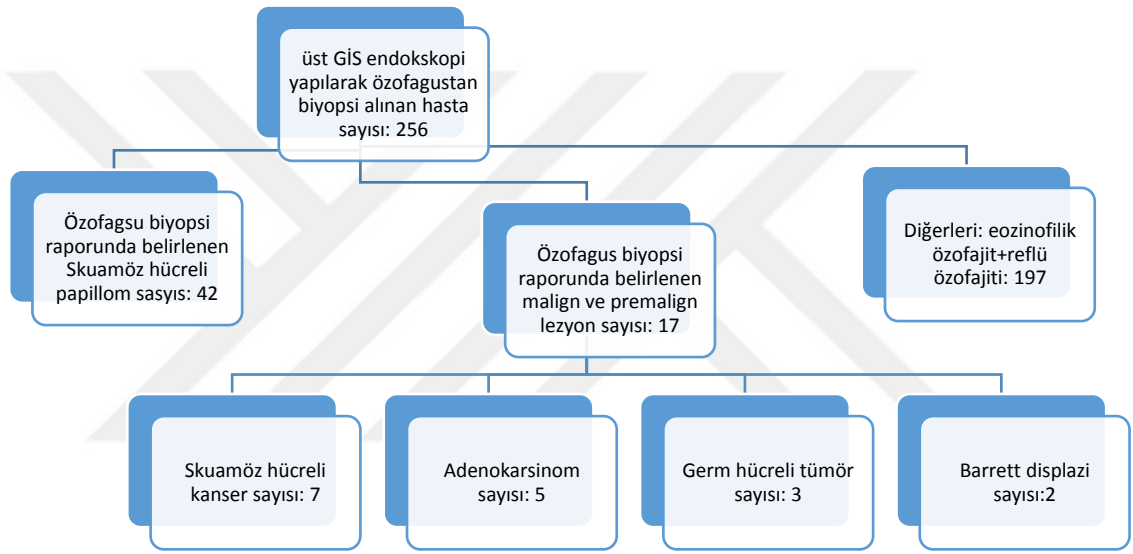
#### 3.2. Verilerin toplanması ve çalışma dizaynı

Hastane medikal kayıt sistemindeki incelemelere göre Ocak 2014 – Aralık 2018 yılları arasında 5151 hastaya üst GİS endoskopisi yapıldığı saptandı. Bu hastaların 256'sının özofagus biyopsisi mevcuttu. Alınan biyopsi sonucuna göre hastaların 42'sinde ÖSP, yedisinde ÖSHK, beşinde ÖAK, üçünde germ hücreli tümör ve ikisinde BD olduğu tespit edildi. Diğer 197 hastada ise eozinofilik özofajit ve reflü özofajiti görüldü. Özefagus biyopsilerinde skuamöz hücreli papillom ve premalign/malign lezyon tespit edilen hastaların patoloji raporları detaylı olarak incelendi. Hastaların histolojik bulguları (özefajit, eroziv gastrit, atrofi, intestinal metaplazi, displazi, kanser, p16 boyanma, ki 67 boyanma ve helikobakter pylori enfeksiyon varlığı) ve endoskopik bulguları ( SKP sayısı, SKP büyüklüğü, SKP'nin bulunduğu yer ( kesici dişlerden lezyonun uzaklığı: <24 cm üst, 24-32 cm orta, 32< alt) gastrik veya duodenal ülser varlığı ve alt özefagus sfinkter fonksiyonu) değerlendirildi. Hastaların endoskopi tarihi ve endikasyonu ( dispepi, disfaji vb) belirlendi. Elektronik medikal kayıtlardan hastaların demografik özellikleri (yaş, boy, kilo, cinsiyet, medeni durum) ve özgeçmiş (sigara ve alkol kullanımı, ürogenital premalign/malign lezyon ve diğer malignitelerin

varlığı) ayrıca değerlendirildi. Hastaların endoskopik takip aralığı ve sonuçları kaydedildi.

Özofagustan alınan biyopsiler histopatolojik olarak iki ana gruba ayrıldı: özofagusun skuamöz hücreli papillomları ve özofagusun premalign /malign lezyonları. Malignite grubu ayrıca dört alt grupta incelendi: barrett dispazisi, skuamöz hücreli kanser, adenokanser ve granüler hücreli tümör. Her iki hasta grubunun patoloji preparatlarından Real Time PCR yöntemi ile HPV çalışıldı.

Çalışma şeması:



### 3.3. HPV serotiplerinin belirlenmesi

#### 3.3.1. Örneklerin hazırlanması

Her iki hasta grubunun biyopsi preparatları formaline fikse edilmiş ve parafine gömülmüş şekilde saklanan patoloji arşivinden çıkartıldı. Preparatlardan yeterli DNA izolasyonu yapılabilecek miktarda ( 5-10 µm) parça alınarak incelemey başlandı. Çıkartılan parçalar uygun koşullarda HPV PCR çalışması için Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderildi.

#### 3.3.2. DNA ekstraksiyonunun yapılması



Mikrobiyoloji laboratuvarına gelmiş olan biyopsi örnekleri havanda ezilerek QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany) ekstraksiyon kitinin dokular için önerilmiş protokolü uygulanarak DNA izolasyonları yapılmıştır. Buna göre, dokunun üzerine 100 µl Buffer ATL ve 20µl proteinaz K eklenerek bir gece 37°C etüvde bekletilmiş, ertesi gün 56°C su banyosunda 2 saat bekletilerek dokunun parçalanması sağlanmıştır. Bu işlemde sonra doku süspansiyonunun üzerine 200 µl Buffer AL eklenmiş, 15 saniye kadar vortekslenerek homojenize olması sağlanmış ve 70°C’de 10 dakika inkübe edilmiştir. Örneğin üzerine 200 µl etanol eklenmiş ve 15 saniye kadar vortekslenerek örneğin homojenizasyonu sağlanmıştır. Süspansiyon hızlıca santrifüj edilerek üzerindeki sıvı kısmı 2ml toplama tüpü içerisinde bulunan QIA amp Mini spin kolonuna aktarılmıştır. 6000 x g ( 8000rpm)’de 1 dakika santrifüj edilmiş, kolonun altındaki, içinde örneğin sıvı kısmının bulunduğu, toplama tüpleri atılarak temiz toplama tüpleri yerleştirilmiştir. Kolonun üzerine 500 µl Buffer AW1 eklenerek 6000 x g ( 8000rpm)’de 1 dakika santrifüj edilmiş, yine altındaki toplama tüpleri atılarak temiz olanları yerleştirilmiştir. Bu defa kolonun üzerine 500 µl Buffer AW2 eklenerek 20000 x g ( 14000rpm)’de 3 dakika santrifüj edilmiştir. Kolonun altındaki 2ml’lik toplama tüpleri atılarak yerine 1,5 ml’lik temiz mikrosantrifüj tüpleri yerleştirilmiş ve kolonun üzerine 200 µl Buffer AE veya distile su eklenerek oda ısısında 1 dakika inkübe edilmiş ve 6000 x g ( 8000rpm)’de 1 dakika santrifüj edilmiştir, böylece mikrosantrifüj tüpünde örnekteki DNA elde edilmiş olmuştur.

### 3.3.3. HPV PCR yöntemi ile örneklerin çalışılması

#### **Amplifikasyon:**

Amplifikasyon için ve örnek kontrol sayısı kadar PCR miks hazırlandı. Tüplerin üzerine hasta ve kontrol isimleri yazıldı. Hazırlanan PCR miksi üzerine total nükleik asit örneklerinden eklendi.

<b>HPV4A PCR MİKS</b>	
5X HPV4A ACE PM	4 µl
2X Multiplex Master Mix	10 µl
8 Mop Solution	3 µl
Total Nükleik Asit	3 µl
<b>Master Miks Toplam Hacim</b>	<b>20 µl</b>

PCR Protokolü;

Segment	Cycle	Sıcaklık	Süre
1	1	94°C	15 dakika
2	40	94 °C	30 saniye
		60 °C	90 saniye
		72 °C	90 saniye
3	1	72 °C	10 dakika
4	1	4 °C	∞

**Agaroz Jel Elektroforezi:** PCR ürünleri %2'lik agaroz jel elektroforezinde yürütüldü.

PCR miksi yükleme boyası ( loading dye) içerdiğinden örnekleri jele yüklerken yükleme boyası eklenmedi. 1 µl syber gold, 5 µl PCR ürünü eklendi ve jele yüklendi. Marker ACE den 3 µl yüklenerek 100 votta 45 dakika yürütüldü. Jel görüntüleme sisteminde görüntülendi ve oluşan bantlar marker'lara göre değerlendirildi.

#### 3.3.4. Değerlendirme parametreleri: pozitif ve negatiflik

Elektroforez sonucundan HPV4A Screenin amplikon analizi aşağıdaki tabloya göre değerlendirildi.

HPV4A ACE SCREENİNG	Size (bp)
Internal control (IC)	1000
HPV-16	588
HRC	465
HPV-6/11	302
HPV-18	230

HRC(16 farklı yüksek risk HPV tipi): 26,31,33,35,45,49,51,52,53,56,58,59,66,68,72,82

#### Yorum:

	İnternal Kontrol	Hedef	Yorum
Durum 1	Pozitif	Pozitif	Patojen saptandı.
Durum 2	Pozitif	Negatif	Patojen saptanmadı
Durum 3	Negatif	Pozitif	Patojen saptandı

Durum 4	Negatif	Negatif	İnhibitör varlığı/ İzolasyon hatası. Test tekrarı
---------	---------	---------	---

### 3.4. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler için SPSS 22 (Statistical Package for the Social Sciences) programı kullanıldı. Verilerin gruplar arasında karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi ve Chi-Square testleri kullanıldı. Gruplar içinde özelliklerin sıklığının tespit etmek için Frekans çalışması yapıldı.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Hastaların temel özellikleri

Çalışmamıza 59 hasta dâhil edilmiş olup iki grupta incelendi. Hastaların patolojik tanılarına göre birinci gruba 42 hasta (biyopsi sonucunda ÖSP saptanan) ikinci gruba 17 hasta ( biyopsi sonucunda BD, ÖAK, ÖSHK ve granüler hücreli kanser saptanan) dâhil edildi. Her iki grubun kendi içinde demografik, patolojik, endoskopik ve diğer özellikleri açısından frekans çalışması yapıldı. İki grup arasında ise yaş, alkol ve sigara kullanımı, eroziv gastrit, özofajit, h.pylori, geliş şikayeti, HPV PCR pozitifliği ve ÖAS gevşekliği açısından Chi-Square testi ile karşılaştırma yapıldı.

#### 4.1.1.ÖSP grubunun temel özellikleri

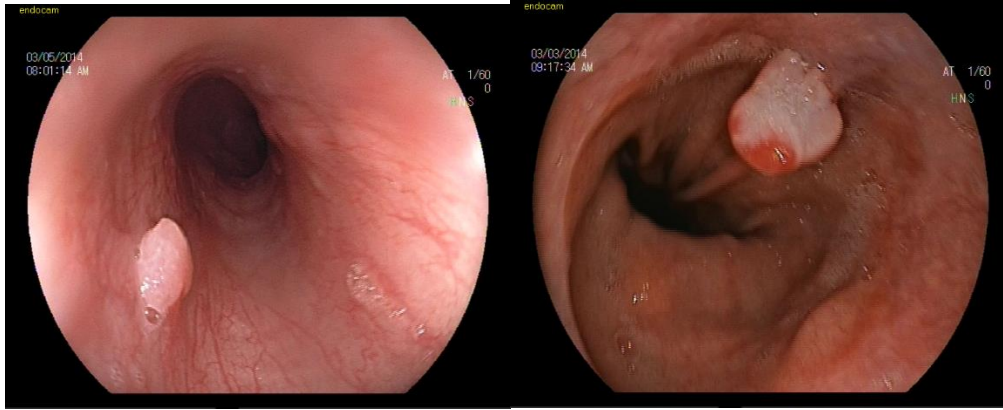
1.grupta (ÖSP grubu) 42 hasta olup 23'ü erkek ( %54,8) 19'u kadın (%45,2) idi. Ortalama yaşı 44,60 (Min: 16, max: 77, SD ±15,47) ve ortalama beden kitle indeksi (BMİ) 26,20 kg/m<sup>2</sup> (SD ±4,64) olarak ölçüldü. Bu gruptaki hastaların %33'nün ( 6/18 hasta) sigara içtiği, %42,9'unun ( 6/14 hasta) alkol kullandığı görüldü. Hastaların özgeçmişine bakıldığında iki hastada malignite öyküsü olduğu ( myometriyum kanseri ve kolon kanseri opere) saptandı. 8 hastanın ürolojik veya jinekolojik muayenelerinin normal olduğu tespit edildi. Jinekolojik veya ürolojik HPV enfeksiyonuna ait kanıt saptanmadı. Gastroenteroloji klinğine başvuru şikâyetlerine bakıldığında hastaların %90,2'sinde ( 40 hasta) dispeptik şikâyetler; %4,8'inde (2 hasta) yutma güçlüğü olduğu görüldü.

Üst GİS endoskopi sırasında saptanan ÖSP'lerin %85,7'si (36 hasta) tek lezyon, %14,3'ü (6) ise birden daha fazla papillamatöz lezyon şeklindeydi. Bunlardan %33,3'ünün (14 hasta) lezyon çapı 5 mm den daha büyük, %66,7'sinin (28) ise 5 mm'den daha küçük olduğu görüldü. ÖSP'lerin %31'i ( 13/42) üst, %33,3'ü (14/42) orta, %28,6'sı (12/42) alt özofagusta saptanmıştır (Tablo 1) . ÖSP lezyonlarının ortalama çapı 5,21 ( SD±3,0) olarak bulundu (Resim 1,2).

osplokasyon

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	üst	13	31,0	33,3	33,3
	orta	14	33,3	35,9	69,2
	alt	12	28,6	30,8	100,0
	Total	39	92,9	100,0	
Missing	System	3	7,1		
Total		42	100,0		

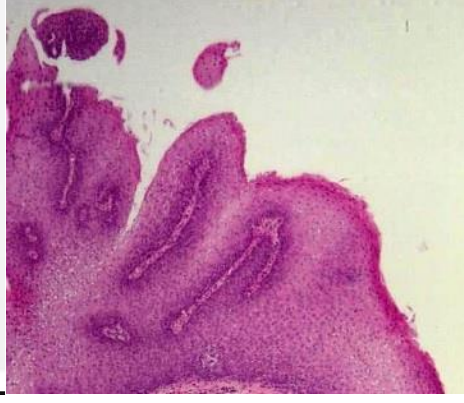
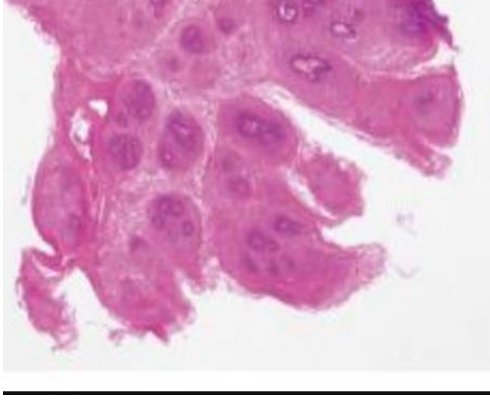
Tablo 1



Resim 1- ÖSP orta özofagus

Resim 2 – ÖSP alt özofagus

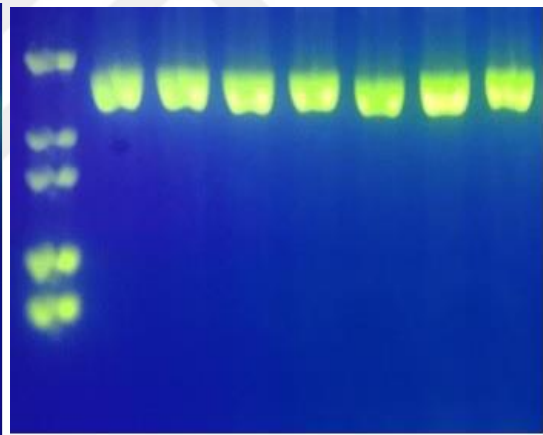
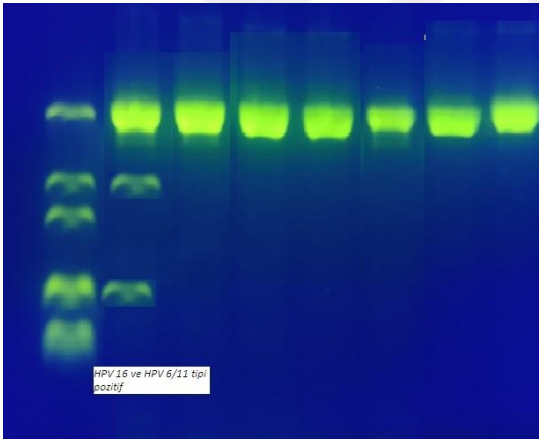
Hastaların histopatolojik özelliklerine bakıldığında helicobakter pylori bulunma oranı % 87,5 (35/40), özofajit ( Los Angeles grade A veya B) %47,5 (19/40), eroziv gastrit %30 (12/40), gastrik ülser %7,3 (3/41), ÖAS gevşekliği %75,6 (31/41) ve p16 boyanma %0 (0/17) olarak tespit edildi (Resim 3,4).



**Resim 3 – ÖSP histopatolojisi**

**Resim 4 – ÖSP histopatolojisi**

ÖSP saptanan hastaların formalin ile fikse edilmiş ve parafine gömülmüş biyopsi materyallerinden parça alınarak PCR yöntemi ile HPV genotiplendirmesine bakıldı. 42 hastadan sadece birinde hem düşük riskli HPV 6/11 hem de yüksek onkojenik riskli HPV16 saptandı ( %2,4). HPV PCR testi pozitif olan 30 yaşında erkek hasta idi (Resim 5,6).



**Resim 5- HPV 16 ve HPV6/11 pozitif**

**Resim 6 – HPV negatif**

ÖSP saptanan hastalardan %73,8'i (31/42) kontrol muayene gelmişti. Bunlardan altısına ( %19,4) kontrol üst GİS endoskopi yapılmıştı. Ortalama endoskopik takip aralığı 51,16 ay olarak ölçüldü (Min:16 ay, Max:72 ay). Kontrol endoskopi yapılan hastaların 2'sinde (2/6, %33,3) tekrar ÖSP bulundu. Bunlardan birincisinin takip aralığı 16 ay olup her iki ÖSP lezyonunun da bulunma bölgesi üst özofagus olarak kaydedilmiştir. İkinci ÖSP lezyonunun ise takip aralığı 72 ay olup, ilk bulunma yeri üst özofagus iken ikinci saptanma yeri orta özofagus olduğu kaydedilmiştir. (Tablo 2). Buna ek olarak birinci hastada alkol ve sigara kullanımı saptanmazken ikinci hastanın alkol kullandığı belirlenmiştir.

#### OSP TAKİP AYI

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	16	1	2,4	16,7	16,7
	45	1	2,4	16,7	33,3
	51	2	4,8	33,3	66,7
	72	2	4,8	33,3	100,0
	Total	6	14,3	100,0	
Missing	System	36	85,7		
Total		42	100,0		

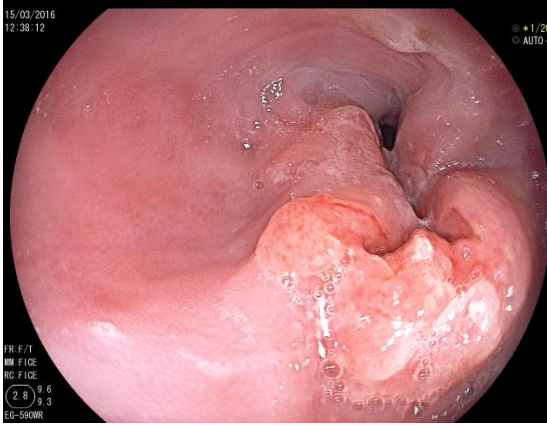
Tablo 2

#### 4.1.2.Malignite grubunun temel özellikleri

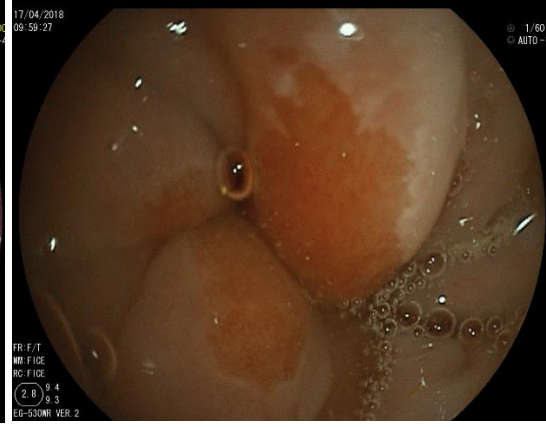
2.grupta 17 hasta olup 13'ü erkek (%76,5) 4'ü kadın (%23,5) idi. Ortalama yaşı 56,05 (Min: 35, max: 78, SD  $\pm$ 14,38) ve BMİ 22,05 kg/m<sup>2</sup> (SD  $\pm$ 2,49) olarak ölçüldü. Bu gruptaki hastaların %87,5'inin ( 7/8 hasta) sigara içtiği, %50,0 ( 4/8 hasta) alkol kullandığı görüldü. Hastaların özgeçmişine bakıldığında iki hastanın malignite öyküsü olduğu ( Larinks kanseri ve tiroid kanseri opere) görüldü. Hastaların %35,3'üne ( 6/17) dispepsi ve reflü ve %64,7'sine (11/17) yutma güçlüğü nedeniyle endoskopi yapıldığı tespit edildi.

Hastaların histopatolojik özellikleri incelendiğinde helicobakter pylori bulunma oranı % 94,11 (16/17), özofajit ( Los Angeles grade A veya B) %63,6 (7/11), eroziv gastrit %16,7 (2/12), gastrik ülser %11,8 (2/12) ve ÖAS gevşekliği %75,6 (31/41) olarak bulundu.

Bu grupta 17 hasta olup yedisi skuamöz hücreli kanser, beşi adenokarsinom, üçü granüler hücreli tümör ve ikisi de barrett displazisi idi (Resim 7,8).



**Resim 7 – ÖAK**



**Resim 8- Barrett Displazisi**

#### **4.2 Bağımsız gruplar arası karşılaştırma**

ÖSP grubunda %54,8 hasta erkek iken, malignite grubunda %76,5 hasta erkek idi. İki grup arasında cinsiyet bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark olmasa da malignite grubundaki hastaların daha ağırlıklı erkek olduğu görülmektedir. Hastaların genel yaş ortalaması 47,8 olup, en küçük 16, en büyük 78 yaşında olduğu görüldü. Gruplara göre bakıldığında ise ÖSP grubunun yaş ortalaması 44,59 iken malignite grubunda 56,05 idi. ÖSP grubunun ortalama BKİ 26,20 kg/m<sup>2</sup>, malignite grubunun ise 22,05 ölçüldü. ÖSP grubundaki lezyonların ortalama çapı 5,21 ( SD±3,0) iken malignite grubundaki lezyonların ortalama çapı 28,09 ( SD±19,88) olarak bulundu. Malignite grubunun ortalama yaşının belirgin yüksek, beden kitle indeksinin düşük ve lezyon çapının büyük olduğu görüldü ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı (yaş, p=0.015; BKİ, p:0.028, Lezyon çapı, p<0,01) ( Tablo 3 ve 4).

**Report**

grup		yas	bmi	cap	takipayi
osp	Mean	44,5952	26,2067	5,2143	51,1667
	N	42	26	42	6
	Std. Deviation	15,47155	4,64295	3,00029	20,70185
	Minimum	16,00	18,65	2,00	16,00
	Maximum	77,00	39,30	15,00	72,00
malignite	Mean	56,0588	22,0570	28,0909	
	N	17	7	11	
	Std. Deviation	14,38085	2,49812	19,88695	
	Minimum	35,00	19,49	,00	
	Maximum	78,00	24,91	60,00	
Total	Mean	47,8983	25,3265	9,9623	51,1667
	N	59	33	53	6
	Std. Deviation	15,92731	4,58033	13,07223	20,70185
	Minimum	16,00	18,65	,00	16,00
	Maximum	78,00	39,30	60,00	72,00

Tablo 3

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	yas	bmi	cap
Mann-Whitney U	211,500	41,000	55,500
Wilcoxon W	1114,500	69,000	958,500
Z	-2,437	-2,203	-3,912
Asymp. Sig. (2-tailed)	,015	,028	,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		,027 <sup>b</sup>	

Tablo 4



Malignite grubundaki hastaların %87,5'inin ( 7/8 hasta) sigara içtiği ve ÖSP grubundaki hastaların %33'nün ( 6/18 hasta) sigara içtiği görüldü. Sigara kullanımını açısından iki grup arasında istatistiksel olarak da anlamlı fark saptanmıştır (p=0.03) (Tablo 5 ve6).

Gruplar arasında alkol tüketiminde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Crosstab

		grup		Total	
		osp	malignite		
sigara	yok	Count	12	1	13
		% within sigara	92,3%	7,7%	100,0%
		% within grup	66,7%	12,5%	50,0%
		% of Total	46,2%	3,8%	50,0%
	var	Count	6	7	13
		% within sigara	46,2%	53,8%	100,0%
		% within grup	33,3%	87,5%	50,0%
		% of Total	23,1%	26,9%	50,0%
Total		Count	18	8	26
		% within sigara	69,2%	30,8%	100,0%
		% within grup	100,0%	100,0%	100,0%
		% of Total	69,2%	30,8%	100,0%

Tablo 5

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	6,500 <sup>a</sup>	1	,011		
Continuity Correction <sup>b</sup>	4,514	1	,034		
Likelihood Ratio	7,101	1	,008		
Fisher's Exact Test				,030	,015
Linear-by-Linear Association	6,250	1	,012		
N of Valid Cases	26				

Tablo 6

Hastaların Gastroenteroloji kliniğine başvuru şikâyetlerine bakıldığında; ÖSP hastaların %4,8'i (2/42) yutma güçlüğüyle prezante olmuşken malignite grubundaki hastaların %64,7'si (11/17) yutma güçlüğü nedeniyle başvurduğu görülmüştür. Malignite grubunda yutma güçlüğü belirgin olarak fazladır ve istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p < 0.001$ ) (Tablo 7 ve 8).

Crosstab

			grup		Total
			osp	malignite	
sikayet	dispepsi+reflü	Count	40	6	46
		% within sikayet	87,0%	13,0%	100,0%
		% within grup	95,2%	35,3%	78,0%
		% of Total	67,8%	10,2%	78,0%
	yutmazorlugu	Count	2	11	13
		% within sikayet	15,4%	84,6%	100,0%
		% within grup	4,8%	64,7%	22,0%
		% of Total	3,4%	18,6%	22,0%
Total	Count	42	17	59	
	% within sikayet	71,2%	28,8%	100,0%	

% within grup	100,0%	100,0%	100,0%
% of Total	71,2%	28,8%	100,0%

Tablo 7

#### Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	25,313 <sup>a</sup>	1	,000		
Continuity Correction <sup>b</sup>	21,944	1	,000		
Likelihood Ratio	24,070	1	,000		
Fisher's Exact Test				,000	,000
Linear-by-Linear Association	24,884	1	,000		
N of Valid Cases	59				

Tablo 8

Her iki grupta eroziv gastrit, özofajit, helicobakter pylori ve ÖAS gevşekliği açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Patoloji preparatlarından PCR yöntemi ile bakılan HPV oranında ise ÖSP grubunda tek kişide pozitiflik olması ve malignite grubunda tespit edilememiş olması nedeni ile istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 9 ve 10). Multivaryans lojistik regresyon analizi HPV pozitifliğinin sadece bir hastada saptanmış olmasından dolayı yapılamamıştır.

**Crosstab**

			grup		Total
			osp	malignite	
hvpvpcr	negatif	Count	41	17	58
		% within hvpvpcr	70,7%	29,3%	100,0%
		% within grup	97,6%	100,0%	98,3%
		% of Total	69,5%	28,8%	98,3%
	pozitif	Count	1	0	1
		% within hvpvpcr	100,0%	0,0%	100,0%
		% within grup	2,4%	0,0%	1,7%
		% of Total	1,7%	0,0%	1,7%
Total	Count	42	17	59	
	% within hvpvpcr	71,2%	28,8%	100,0%	
	% within grup	100,0%	100,0%	100,0%	
	% of Total	71,2%	28,8%	100,0%	

Tablo 9

**Chi-Square Tests**

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,412 <sup>a</sup>	1	,521		
Continuity Correction <sup>b</sup>	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,687	1	,407		
Fisher's Exact Test				1,000	,712
Linear-by-Linear Association	,405	1	,525		
N of Valid Cases	59				

Tablo 10

## 5. TARTIŞMA

Özofageal skuamöz papillomaların ve özofagus kanserlerinin etiyojisine yönelik araştırmalarda human papillomavirüsünün rolü olduğuna yönelik uluslararası az sayıda araştırma mevcuttur. Ülkemizde ise ÖSP'lerdeki HPV prevelansını araştıran sadece bir çalışma bulunmaktadır (51). Biz tek merkezli kesitsel bir çalışma yaparak çok nadir görülen ÖSP lezyonlarında ve özofagus kanserlerinde HPV sıklığını ve eşlik eden demografik, endoskopik ve patolojik bulguların araştırılmasını amaçladık. Bu çalışmanın önemi, bölgemizdeki ÖSP lezyonlarındaki HPV prevelansı açısından ikinci çalışma ve ÖSP hastalarının ÖK hastaları ile karşılaştırılması açısından ilk çalışma olmasıdır.

Son 5 yılda Gastroenteroloji kliniğine başvuran hastalardan 5152'sine üst GİS endoskopi yapılmış olup, bunlardan 256'sından özofagus biyopsisi alınmıştır. Alınan biyopsilerden 42'sinde ÖSP, 15'inde ÖK ve ikisinde BD saptanmıştır. Üst GİS endoskopi yapılan hastalara bakıldığında ÖSP'nin bölgemizdeki prevelansı %0.81'dir.

ÖSP saptanan hastaların 23'ü erkek (%54,8), 19'u kadın (%45,2) idi. Ortalama yaşı 44,60 (SD  $\pm$ 15,47) ve BMI 26,20(SD  $\pm$ 4,64) olarak ölçüldü. ÖSP'lerin %85,7'si (36 hasta) tek lezyon, %14,3'ü (6) ise birden daha fazla papillomatöz lezyon şeklindeydi. Ortalama lezyon çapı 5,21mm olmakla birlikte %33,3'ünün lezyon çapı 5 mm'den daha büyük idi. ÖSP'ler en sık orta (%33,3) ve üst (%31) özofagusta saptandı. Ülkemizde yapılan Tiftikçi ve arkadaşlarının çalışmasında ise bizim çalışmamızdan farklı olarak ÖSP'lerin kadınlarda daha çok görüldüğü (%55) ve bulunma bölgesi olarak da %68 orta özofagus olduğu belirtilmiştir (51). Pantham ve arkadaşların çalışmasında bizim çalışmamızdan farklı olarak %52 hastada ÖSP'nin alt özofagusta yerleştiği, BMI'nin  $29\pm 7$ kg/m<sup>2</sup> olduğu ve lezyonların %48,3'ünün 5mm'den daha büyük olduğu bildirilmiştir (28). Odze ve arkadaşlarının çalışmasında da benzer olarak ÖSP lezyonlarının %85'i tek lezyon olduğu ve farklı olarak %70 alt özofagusta bulunduğu bildirilmiştir (35). Çalışmamızdaki ÖSP hastalarında h.pylori görünme sıklığı %87,5 ve özofajit görülme sıklığı %47,5 iken Tiftikçi ve arkadaşlarının çalışmasında sırasıyla %36,8 ve %21 bulunmuştur.

Çalışmamızda PCR yöntemi ile bakılan HPV genotiplendirmesinde 42 hastadan sadece birinde hem düşük riskli HPV 6/11 hem de yüksek onkojenik riskli HPV16 saptandı ( %2,4). HPV PCR testi pozitif olan hasta 30 yaşında erkek hastaydı.

ÖSP'lerde HPV ilk kez 1982'de saptanmış ve HPV'nin bu lezyonların etyolojisinde rolü olduğu iddia edilmiştir (11). Daha sonrasında birçok çalışmada ÖSP lezyonlarında HPV bakılmıştır. Bunlarda bazılarında güçlü ilişki bulunsa da birçoğunda anlamlı pozitiflik saptanamamıştır. 2000 yılından daha eski yayınlara bakıldığında Chang ve arkadaşlarının Finlandiya'da yaptığı çalışmada 0 hastada (0/12), Carr ve arkadaşlarının ABD'de yaptığı çalışmada 1 hastada (1/23, HPV 6 ve 11), Poljak ve arkadaşlarının Slovenya'da yaptığı çalışmada 1 hastada (1/29, HPV 6) ve Woo ve arkadaşlarının Hollanda'da yaptığı çalışmada yine sadece 1 hastada (1/10,) HPV pozitifliği saptanabilmiştir. Buna karşın Odze ve arkadaşlarının Kanada'da yaptığı çalışmada hastaların %50'sinde (13/26) HPV pozitifliği saptanmıştır (32,35,49,50,161).

2000 yılından daha sonraki yayınlara bakıldığında ise İtalya'dan Talamini ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 2 hastada (2/42, HPV 16 ve 18), yine İtalya'dan Mosca ve arkadaşlarının çalışmasında 0 hastada (0/9), Macaristan'dan Szentirmay ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 12 hastada (12/26, 7'si onkojenik HPV), yine Macaristan'dan Szanto ve arkadaşlarının çalışmasında 12 hastada (12/26, tiplendirme yapılmamış) ve Japonya'dan Takeshita ve arkadaşlarının çalışmasında 4 hastada (4/38, tiplendirme yapılmamış) HPV pozitifliği saptanabilmiştir (33,34,41,42,162). Bu yapılan çalışmaların sonucuna bakıldığında İtalya'da, Slovenya'da, Finlandiya'da, Hollanda'da ve Japonya'daki ÖSP lezyonlarında HPV pozitifliğinin çok düşük olduğu ve etyolojisinde rol almadığı söylenebilir. Diğer taraftan Macaristan da ve Kanada da yapılmış çalışmalardaki yüksek orandaki HPV pozitifliğinin yüksek riskli onkojenik HPV olup olmadığı bilinmemektedir. Szentirmay ve arkadaşlarının çalışmasında ÖSP lezyonlarına ek olarak orofarenksten ve larinksten alınan örneklerde de %50 lerde HPV pozitifliğinin olduğu görülmüştür (162). Farklılıkların HPV enfeksiyonu sıklığındaki coğrafi değişkenlik ile ilgili olabileceği düşünülmüştür. Ülkemizde yapılan Tiftikçi ve arkadaşlarının çalışmasında 7 hastada (7/38) HPV pozitifliği olduğu ve bunlardan 4'ü yüksek riskli onkojenik tip ( 16,18,31,81) olduğu belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda ise 18 yüksek riskli HPV tipi bakılmış olup

(26,31,33,35,45,49,51,52,53,56,58,59,66,68,72,82) sadece 1 hastada pozitiflik saptanmıştır.

Cinsel olarak aktif kadın ve erkeklerin en az %80'inde hayatlarının bir döneminde HPV enfeksiyonuna maruz kaldığı tahmin edilmektedir. Birçok uzman ise cinsel olarak aktif olan yetişkinlerin hemen hemen hepsinin HPV ile enfekte olduğuna inanmaktadır (154). Çoğu HPV enfeksiyonun geçici olduğu ve yeterli süre takip edilen oral onkojenik HPV enfeksiyonlarının %75'inin 6-7 ay içinde spontan olarak temizlendiğini görülmüştür (159,160). Dolayısıyla coğrafi olarak HPV prevalansının yüksek olduğu bölgelerde ÖSP lezyonlarındaki HPV prevalansının da yüksek olduğunu düşünmekteyiz. Bizim çalışmamızda da HPV sıklığının düşük olduğu ve ÖSP etiolojisinde rolünün az olduğunu düşündürmektedir.

ÖSP saptanan hastalardan altısına ( %19,4) kontrol üst GİS endoskopi yapılmıştır. Ortalama endoskopik takip aralığı 51,16 ay olarak ölçülmüştür. (Min:16 ay, Max:72 ay). Kontrol endoskopi yapılan hastaların 2'sinde (2/6, %33,3) rekürren ÖSP saptanmıştır. Bunlardan birincisinin takip aralığı 16 ay olup her iki ÖSP lezyonunun da bulunma bölgesi üst özofagus olarak kaydedilmiştir. İkinci ÖSP lezyonunun ise takip aralığı 72 ay olup, ilk bulunma yeri üst özofagus iken ikinci saptanma yeri orta özofagus olduğu kaydedilmiştir. Hiçbir hastada ÖSP zemininde malignite gelişmemiştir ve eşlik eden orofarengeal veya ürogenital maligniteye de rastlanmamıştır. Bizim çalışmamıza benzer olarak Sablich ve arkadaşlarının yaptığı 35 ÖSP'li hastanın 1 ila 34 ay arasında değişiklik gösteren takiplerinde lezyonun alındığı yerde veya başka bir yerde ikinci bir ÖSP'ye rastlanmamıştır (40). Aynı şekilde Mosca ve arkadaşlarının İtalya'da yaptığı çalışmada da ÖSP'li 9 hastanın 18 ve 48 aylarda endoskopik kontrollerinde herhangi bir lezyona rastlanmamıştır (53). Szanto ve arkadaşlarının çalışmasındaki 155 hastanın takibinde sadece 1 hastada tekrarladığı ve Fernandez ve arkadaşlarının takip ettiği 4 ÖSP'li hastanın hiçbirisinde lezyonun tekrarlamadığı bildirilmiştir (41,163). Literatüre bakıldığında ÖSP zemininde gelişen iki vaka bildiri bulunmaktadır. Cho ve arkadaşlarının bildirdiği birinci vakada endoskopik mukozal rezeksiyon (EMR) yöntemiyle skuamöz papilloması çıkartılan hasta sunulmuştur. 2 yıl sonrasında reflü şikayeti nedeni ile üst GİS endoskopi yapılmıştır. Yapılan endoskopide papillomanın aynı bölgede tekrar ettiği ve histopatolojik incelemede skuamöz kansere dönüştüğü saptanmıştır (26). İkinci vaka ise Huart ve arkadaşlarının ÖSP'li takip ettiği 35 hastanın 2 sinde ÖSHK

gelişmiş olmasıdır. Birinci ÖSHK önceki ÖSP lezyonundan farklı bir yerde, ikincisi ise önceki ÖSP lezyonunun alındığı yerden gelişmiştir (52).

Fakat Özofageal skuamöz papillamatozis ( özofagusta çok sayıda papilloma lezyonu ) saptanan hastalarda malignite geliştiğini bildiren vaka bildirimleri bulunmaktadır ( 27,55-58). Özofageal papillamatozislerin daha çok pediatrik yaş grubunda bulunduğu ve beraberinde solunum yolu papillamatozisinde eşlik ettiği vakalar bildirilmiştir (164,165) . Papillamatozis lezyonun yetişkinlerde ise 20’li yaşlarda görüldüğünü bildirin iki vaka bildirimini vardır. Bunlardan birisinde HPV 11 pozitif, diğerinde ise HPV negatif bulunmuştur (166,167).

Çalışmamızda bakılan 17 ÖSP lezyonundaki p16 proteininin tümü negatif bulunmuştur. p16 protein ekspresyonundaki artışa HPV’nin kodladığı E7 proteininin hücre döngüsünü bozarak neden olduğu bilinmektedir. Patologlar bu belirteci lezyonlarını HPV ile ilişkisinde ayırt etmede kullanmaktadırlar. Çalışmamıza ÖSP’lerde P16 saptanmamış olması da ÖSP’lerin HPV ile ilişkisinin zayıf olduğunu desteklemektedir.

Çalışmamızda takip edilen ÖSP lezyonlarında malignite gelişmediği fakat lezyonların aynı veya farklı bölgelerde tekrarlayabileceği görülmüştür. Lezyonların hiçbirisi papillamatozis tarzında olmadığı görüldü. Sonuç olarak ÖSP’lerin benign özellikte olduğu ve HPV ile ilişkili olmadığı düşünülmüştür.

Çalışmamızın ikinci grubu olan malignite grubunda 17 hasta olup yedisi ÖSHK, beşi ÖAK, üçü özofagusun granüler hücreli tümörü ve ikisi de BD’dir. Bu gruptaki hastaların hiçbirisinde PCR yöntemi ile bakılan HPV pozitifliği saptanamamıştır.

ÖSHK ile HPV ilişkisini araştıran 32 ülkedeki 187 (1982-2017) çalışmanın sonucunda HPV prevalansının %30,9 olduğu belirtilmiştir. Bunlarda %73,8 ise yüksek onkogenik riskli olan HPV16/18 olduğu görülmüştür. ÖSHK için yüksek riskli bölgelerdeki prevalansın daha yüksek olduğu düşük riskli bölgelerde ise daha düşük olduğu saptanmıştır. Çin gibi ÖSHK insidansının yüksek olduğu bölgelerdeki HPV ilişkisinin %40’larda olduğu fakat Avrupa gibi düşük riskli bölgelerde %14’lerde olduğu belirtilmiştir (13). HPV ile ÖAK ve BÖ ilişkisini araştıran çalışmalar ise daha azdır. Kunzman ve arkadaşlarının yaptığı literatür taramasında 2016 yılına kadar toplamda 30 yayın olduğu ve HPV’nin ÖAK’daki sıklığının %13 ve BÖ’deki sıklığının %26 olduğu bildirilmiştir. HPV’nin ÖAK’daki sıklığı diğer viral enfeksiyonlar ile ilişkili



kanserlerdeki kadar olmadığı fakat etiyojisinde rol alabileceği belirtilmiştir (168). Tükriyede ise ÖK ile HPV ilişkisini araştıran iki çalışma bulunmaktadır. Birincisi İlhami Kiki ve arkadaşları tarafından 2002 yılında Erzurumda yapılmıştır. Çalışmada 30 ÖSHK ve 10 ÖAK hastasına PCR yöntemi ile HPV bakılmıştır. 30 ÖSHK hastasının 19'unda HPV pozitifliği ( HPV16 - 10/30) ve 10 ÖAK hastasının dördünde (HPV16 – 1/10) pozitiflik saptanmıştır. Hastaların histopatolojik incelemelerindeki bulgular da HPV ile ilişkili bulunmuştur (169). İkinci çalışma ise Türkay ve arkadaşları tarafından Marmara bölgesinde 2015 yılında yapılmıştır. Çalışmaya 2000-2013 yılları arasında ÖSHK tanısı alan 33 hasta ve ÖAK tanısı alan 19 hasta dahil edilmiştir. Toplam 52 hastadan beşinde HPV pozitifliği ( 3 ÖSHK, 2 ÖAK) saptanmıştır. Pozitif olan hastalardan üçü HPV39, biri HPV16 ve birinin de tiplendirilmesi yapılamamıştır. Çalışmadaki HPV oranının istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirtilmiştir. Sonucun Marmara bölgesinin HPV ve ÖK açısından düşük riskli bölge olması ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (170). 2018 yılında Malaysiya da yapılmış bir çalışmada 51 ÖSHK'nin sadece birinde HPV pozitifliği saptanmıştır (171). Yine komşu ülkemiz olan Yunanistan da yapılan 2015 yılındaki bir çalışmada ÖSHK ile HPV'nin ilişkili olmadığı belirtilmiştir (172). Diğer yandan Çin gibi ÖSHK'nin yüksek olduğu bölgede yapılmış 2018 yılındaki bir çalışmada 189 hastanın 168'inde HPV pozitifliği saptanmıştır (173). Bizim çalışmamızın da düşük riskli bölgede yapılmış olması ve hasta sayısının az olması nedeniyle pozitiflik saptanamayacağı düşünülmüştür. Ayrıca bu çalışmada kullanılan HPV PCR kitinde HPV 39 bakılamamıştır. En sık görülen onkojenik HPV tipleri olan HPV16/18 ve diğer 16 yüksek riskli HPV tipleri bakılmıştır. Dolayısıyla çalışmamızdaki hastalarda Türey ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadan farklı olarak HPV39 pozitifliğinin olup olmadığı bilinmemektedir. Sonuç olarak Marmara bölgesinin ÖSHK açısından düşük riskli bölge olması nedeniyle HPV'nin ÖK etiyojisinde rolünün olmadığı düşünülmüştür.

ÖSP ile Malignite grupları arasındaki bağımsız karşılaştırmaya bakıldığında, yutma güçlüğü (sırasıyla %4,8 ve %64,7), sigara kullanımı (sırasıyla %33 ve %87,5), erkek cinsiyeti (sırasıyla %54,8 ve %76,5), ortalama yaşı (sırasıyla 44,59 ve 56,05) ve lezyonların ortalama çapı (sırasıyla 5,21 ( SD±3,0) ve 28,09 (SD±19,88)) malignite grubunda anlamlı oranda yüksek saptanmıştır. BMI'ye bakıldığında ise malignite grubunun daha düşük olduğu bulunmuştur. Bunun sebebinin de maligniteye bağlı kilo kaybı ve disfajiye bağlı beslenme bozukluğu olduğu düşünülmüştür. Diğer özellikler

bakımından ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. Literatüre baktığımızda bizim çalışmamıza benzer olarak ÖSP ile malignite grubunu karşılaştıran tek bir çalışma bulunmaktadır. Kuzey İtalyada Talamini ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada da ( 42 ÖSP ve 45 ÖSHK) bizim çalışmamıza benzer olarak malignite grubunda erkek oranı, sigara kullanımı ve disfaji anlamlı oranda yüksektir. Alkol kullanımında ise yine bizim çalışmamıza benzer olarak farklılık saptanmamıştır. HPV ise malignite grubunda saptanmamış olup ÖSP grubunda da sadece 2 hastada pozitif bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da ÖSP grubunda sadece 1 hastada (1/42) HPV pozitifliği varken malignite grubunda ise pozitiflik saptanmamıştır (0/17).

Sonuç olarak, ÖSP lezyonlarının ÖK'leri için premalign lezyon olduğunu iddia eden araştırmacılar olsa da; bizim çalışmamızda ÖSP grubu ile malignite grubunun yaş, cinsiyet ve risk faktörleri açısından birbirinden farklı olduğu gözlenmiştir. Ayrıca ÖSP'lerin etiolojisinde ve malign transformasyon mekanizmasında rol oynadığı düşünülen HPV'nin sadece 1 papilloma hastasında saptanmış olması bu hastalığın etiolojisinde rol aldığını düşündürmemektedir. Malignite grubunda ise hiçbir hastada HPV pozitifliği saptanmamış olması malignite gelişiminde rolü olmadığını düşündürmektedir. Hastanemiz konum olarak İstanbul'un sosyokültürel seviyesi yüksek bir bölgesinde olup üst GİS malignite sıklığı düşüktür. Hijyenik kurallara daha fazla dikkat edilmesi ve kalabalık yaşam koşullarının bulunmaması viral infeksiyöz patojenlerin daha nadir görülmesine sebep olmaktadır. Bu çalışmada da HPV açısından düşük riskli bölge olmamız sebebiyle HPV sıklığını düşük saptamış olabiliriz. Ancak çalışmamızda ÖSP ve özofagus kanseri ile HPV arasında ilişki saptanmamıştır.

## KAYNAKLAR

1. Mostafalou N<sup>1</sup>, Yahyapour Y<sup>2</sup>, Sedaghat S et al. Human papilloma virus infection in non-cancerous versus normal esophageal tissue samples by endoscopy. *Caspian J Intern Med.* 2015 Winter;6(1):9-14.
2. Lindsey A. Torre, MSPH1; Freddie Bray, PhD2 et al, Global Cancer Statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2015;65:87-108
3. Islami F, Boffetta P, Ren JS et al. High-temperature beverages and foods and esophageal cancer risk—a systematic review. *Int J Cancer.* 2009;125:491-524.
4. Islami F, Pourshams A, Nasrollahzadeh D, et al. Tea drinking habits and oesophageal cancer in a high risk area in northern Iran: population based case-control study. *BMJ.* 2009;338:b929.
5. Rasool S, A Ganai B, Syed Sameer A et al. Esophageal cancer: associated factors with special reference to the Kashmir Valley. *Tumori.* 2012;98:191-203.
6. Wu M, Liu AM, Kampman E, et al. Green tea drinking, high tea temperature and esophageal cancer in high- and low-risk areas of Jiangsu Province, China: a population-based case-control study. *Int J Cancer.* 2009;124:1907-1913.
7. Liyanage SS, Rahman B, Ridda I, et al. The aetiological role of human papillomavirus in oesophageal squamous cell carcinoma: a meta-analysis. *PloS One.* 2013;8:e69238.
8. Petrick JL, Wyss AB, Butler AM, et al. Prevalence of human papillomavirus among oesophageal squamous cell carcinoma cases: systematic review and metaanalysis. *Br J Cancer.* 2014;110:23692377.
9. Yong F, Xudong N, Lijie T. Human papillomavirus types 16 and 18 in esophagus squamous cell carcinoma: a meta-analysis. *Ann Epidemiol.* 2013;23:726-734.
10. . Sitas F, Egger S, Urban MI, et al; InterSCOPE Collaboration. InterSCOPE study: associations between esophageal squamous cell carcinoma and human papillomavirus serological markers. *J Natl Cancer Inst.* 2012;104:147-158.

11. Syrjanen K, Pyyrönen S, Auker S, Koskela E. Squamous cell papilloma of the esophagus: a tumour probably caused by human papilloma virus (HPV). *Diagn Histopathol* 1982; 5:291-296
12. Zhang SK, Guo LW, Chen Q, et al. Prevalence of human papillomavirus 16 in esophageal cancer among the Chinese population: a systematic review and meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014; 15:10143–9
13. Lea Hošnjak<sup>1</sup>, Mario Poljak. A systematic literature review of studies reporting human papillomavirus (HPV) prevalence in esophageal carcinoma over 36 years (1982–2017). *Acta Dermatovenerol APA* | 2018;27:127-1361 .
14. Wang KK , Sampliner RE . Updated guidelines 2008 for the diagnosis, surveillance and therapy of Barrett's esophagus . *Am J Gastroenterol* 2008 ; 103 : 788 – 97 .
15. Pohl H , Welch HG . The role of overdiagnosis and reclassification in the marked increase of esophageal adenocarcinoma incidence . *J Natl Cancer Inst* 2005 ; 97 : 142 – 6 .
16. Rajendra S , Sharma P . Management of Barrett's oesophagus and intramucosal oesophageal cancer: a review of recent development . *Therap Adv Gastroenterol* 2012 ; 5 : 285 – 99 .
17. D' Souza G , Kreimer AR , Viscidi R et al. Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer . *N Engl J Med* 2007 ; 356 :1944 – 56 .
18. Chaturvedi AK , Engels EA , Pfeiffer RM et al. Human papillomavirus and rising oropharyngeal cancer incidence in the United States . *J Clin Oncol* 2011 ; 29 : 4294 – 301 .
19. Nasman A , Attner P , Hammarstedt L et al. Incidence of human papillomavirus (HPV) positive tonsillar carcinoma in Stockholm, Sweden: an epidemic of viral-induced carcinoma? *Int J Cancer* 2009 ; 125 : 362 – 6 .
20. Hocking JS , Stein A , Conway EL et al. Head and neck cancer in Australia between 1982 and 2005 show increasing incidence of potentially HPV-associated oropharyngeal cancers . *Br J Cancer* 2011 ; 104 : 886 – 91 .

21. Shanmugarajah Rajendra , MBBCh, MSc, MD, FRCP, FRCPE, FRACP 1 , 2 , 3 , Bin Wang , MBBS, MMed, PhD 1 , 2 , Elizabeth T. Snow , BSc, MS, PhD 4 , Transcriptionally Active Human Papillomavirus Is Strongly Associated With Barrett ' s Dysplasia and Esophageal Adenocarcinoma. *Am J Gastroenterol* 2013; 108:1082–1093
22. Simard EP, Ward EM, Siegel R, Jemal A. Cancers with increasing incidence trends in the United States: 1999 through 2008. *CA Cancer J Clin* 2012; 62:118–128.
23. Botterweck AA, Schouten LJ, Volovics A, Dorant E, van Den Brandt PA. Trends in incidence of adenocarcinoma of the oesophagus and gastric cardia in ten European countries. *Int J Epidemiol* 2000; 29:645–654.
24. Shanmugarajah Rajendra,1,2,3 Bin Wang,1,2 Neil Merrett,4,5. Genomic analysis of HPV-positive versus HPV-negative oesophageal adenocarcinoma identifies a differential mutational landscape. *J Med Genet* 2015;0:1–5.
25. Adler RH, Carberry DM, Ross CA. Papilloma of the esophagus. Association with hiatus hernia. *J Thorac Surg* 1959; 37: 625–635
26. Cho JY<sup>1</sup>, Cheung DY<sup>1</sup>, Kim TJ<sup>2</sup>, Kim JK<sup>1</sup>. A Case of Esophageal Squamous Cell Carcinoma in situ Arising from Esophageal Squamous Papilloma. *Clin Endosc.* 2018 Jul 18.
27. Attila T<sup>1</sup>, Fu A, Gopinath N, Streutker CJ. Esophageal papillomatosis complicated by squamous cell carcinoma. *Can J Gastroenterol.* 2009 Jun;23(6):415-9.
28. Ganesh Pantham,1 Santhi Ganesan,2 Douglas Einstadter,3 . Assessment of the incidence of squamous cell papilloma of the esophagus and the presence of high-risk human papilloma virüs. *Diseases of the Esophagus* (2016) 00, 00–00
29. Syrjänen S, Lodi G, von Bultzingslöwen I et al. Human papilloma viruses in oral carcinoma and oral potentially malignant disorders: a systematic review. *Oral Dis.* 2011; 17 (Suppl 1): 58– 72.
30. Syrjanen K J. HPV infections and oesophageal cancer. *J Clin Pathol.* 2002; 55 (10): 721–8.

31. Kuwano H, Ueo H, Sugimachi K, et al. Glandular or mucus-secreting components in squamous cell carcinoma of the esophagus. *Cancer* 1985; 56:514.
32. Carr NJ, Monihan JM, Sobin LH. Squamous cell papilloma of the esophagus: a clinicopathologic and follow-up study of 25 cases. *Am J Gastroenterol* 1994; 89:245.
33. Mosca S, Manes G, Monaco R et al. Squamous papilloma of the esophagus: long-term follow up. *J Gastroenterol Hepatol* 2001; 16: 857–861.
34. Takeshita K, Murata S, Mitsufuji S et al. Clinicopathological characteristics of esophageal squamous papillomas in Japanese patients with comparison of findings from Western countries. *Acta Histochem Cytochem* 2006; 39: 23–30.
35. Odze R, Antonioli D, Shocket D et al. Esophageal squamous papillomas. A clinicopathologic study of 38 lesions and analysis for human papillomavirus by the polymerase chain reaction. *Am J Surg Pathol* 1993; 17: 803–812
36. Narayani RI, Young GS. Recurrent proximal esophageal stricture associated with dysplasia in squamous cell papillomatosis. *Gastrointest Endosc* 2002; 56: 591–594
37. Park SH, Bang BW, Kim HG et al. A case of esophageal squamous papillomatosis. *Korean J Intern Med* 2012; 27: 243
38. Inomata S, Aoyagi K, Eguchi K et al. Giant esophageal papilloma. *Gastrointest Endosc* 2004; 60: 430
39. Fenoglio-Preiser CM, Noffsinger AE, Stemmermann GN et al. *Gastrointestinal pathology 3rd edn*. Philadelphia, PA: Wolters Kluwer Health; 2007
40. Sablich R, Benedetti G, Bignucolo S, Serraino D. Squamous cell papilloma of the esophagus. Report on 35 endoscopic cases. *Endoscopy* 1988; 20 (1): 5–7. 2
41. Szanto I, Szentirmay Z, Banai J et al. Squamous papilloma of the esophagus. Clinical and pathological observations based on 172 papillomas in 155 patients [in Hungarian]. *Orv Hetil* 2005; 146 (12): 547–52.

42. Talamini G, Capelli P, Zamboni G et al. Alcohol, smoking and papillomavirus infection as risk factors for esophageal squamous-cell papilloma and esophageal squamous-cell carcinoma in Italy. *Int J Cancer* 2000; 86: 874–878
43. Franzin G, Musola R, Zamboni G et al. Squamous papillomas of the esophagus. *Gastrointest Endosc* 1983; 29: 104–106
44. Spinelli P. Papilloma esofagei: esperienza personale e revisione casistica. *Gior Ital End Dig* 1989; 12: 209–212 41
45. Morini S, Bassi O, Priami M et al. Squamous cell papilloma of the oesophagus: an overlooked lesion? Report of six endoscopic cases *Ital J Gastroenterol* 1980; 12: 208–209.
46. Yamada Y, Ninomiya M, Kato T et al. Human papillomavirus type-16- positive esophageal papilloma at an endoscopic injection sclerotherapy site. *Gastroenterology* 1995; 108: 550–553
47. Nakamura T, Matsuyama M, Kishimoto H. Tumors of the esophagus and duodenum induced in mice by oral administration of N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *J Natl Cancer Inst* 1974; 52:519.
48. Dunham LJ, Sheets RH. Effects of esophageal constriction on benzo(alpha)pyrene carcinogenesis in hamster esophagus and forestomach. *J Natl Cancer Inst* 1974; 53:875.
49. Chang F, Janatuinen E, Pikkarainen P, et al. Esophageal squamous cell papillomas. Failure to detect human papillomavirus DNA by in situ hybridization and polymerase chain reaction. *Scand J Gastroenterol* 1991; 26:535.
50. Poljak M, Orłowska J, Cerar A. Human papillomavirus infection in esophageal squamous cell papillomas: a study of 29 lesions. *Anticancer Res* 1995; 15:965.
51. Arzu Tiftikci1, Eser Kutsal1, Ender Altıok2,. Analyzing esophageal squamous cell papillomas for the presence of human papilloma virüs. *Turk J Gastroenterol* 2017; 28: 176-8.
52. Marie-Caroline d'Huart1,\* , Jean Baptiste Chevaux1. Aude Marchal Bressenot2,. Prevalence of esophageal squamous papilloma (ESP) and associated cancer in northeastern France. *Endoscopy International Open* 2015; 02: E101–E106

53. Mosca S, Manes G, Monaco R. Squamous papilloma of the esophagus: long-term follow up. *J Gastroenterol Hepatol.* 2001 Aug;16(8):857-61
54. Kevin T. Kline 1 & Eric Gou2 & Mohammad Bilal2. A Tale of Two Tumors: a Case of Concomitant Esophageal Squamous Papilloma and Granular Cell Tumor. *Journal of Gastrointestinal Cancer,* 49f(2), 225-226.
55. Waluga M, Hartleb M, Sliwiński ZK. Esophageal squamous-cell papillomatosis complicated by carcinoma. *Am J Gastroenterol.* 2000 Jun;95(6):1592-3.
56. Reynoso J, Davis RE, Daniels WW et al. Esophageal papillomatosis complicated by squamous cell carcinoma in situ. *Dis Esophagus* 2004; 17: 345–347
57. Donnellan F, Walker B, Enns R. Esophageal papillomatosis complicated by squamous cell carcinoma. *Endoscopy* 2012; 44: E110–E111 19
58. Borgulya M, Lorenz D, Vieth M et al. Extensive squamous papillomatosis of the oesophagus with malignant transformation of squamous epithelium. *Z Gastroenterol* 2011; 49: 1475–1478
59. Spechler SJ, Sharma P, et al. American Gastroenterological Association medical position statement on the management of Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 2011;140:1084-91
60. Wang KK, Sampliner RE, Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology Updated guidelines 2008 for the diagnosis, surveillance and therapy of Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol* 2008;103:788-97
61. Mueller J, Werner M, Stolte M. Barrett's esophagus: histopathologic definitions and diagnostic criteria. *World J Surg* 2004;28:148-54
62. Spechler SJ. Disputing dysplasia. *Gastroenterology* 2001; 120:1864.
63. Hirota WK, Loughney TM, Lazas DJ, et al. Specialized intestinal metaplasia, dysplasia, and cancer of the esophagus and esophagogastric junction: prevalence and clinical data. *Gastroenterology* 1999; 116:277.
64. Sharma P, Morales TG, Bhattacharyya A, et al. Dysplasia in short-segment Barrett's esophagus: a prospective 3-year follow-up. *Am J Gastroenterol* 1997; 92:2012.



65. Weston AP, Krmpotich PT, Cherian R, et al. Prospective long-term endoscopic and histological follow-up of short segment Barrett's esophagus: comparison with traditional long segment Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol* 1997; 92:407.
66. Hayeck TJ, Kong CY, Spechler SJ, et al. The prevalence of Barrett's esophagus in the US: estimates from a simulation model confirmed by SEER data. *Dis Esophagus* 2010; 23:451.
67. Spechler SJ. Barrett's esophagus. *Semin Gastrointest Dis* 1996; 7:51.
68. Hassall E. Columnar-lined esophagus in children. *Gastroenterol Clin North Am* 1997; 26:533.
69. Cameron AJ, Zinsmeister AR, Ballard DJ, Carney JA. Prevalence of columnar-lined (Barrett's) esophagus. Comparison of population-based clinical and autopsy findings. *Gastroenterology* 1990; 99:918.
70. Ormsby AH, Kilgore SP, Goldblum JR, et al. The location and frequency of intestinal metaplasia at the esophagogastric junction in 223 consecutive autopsies: implications for patient treatment and preventive strategies in Barrett's esophagus. *Mod Pathol* 2000; 13:614.
71. Gerson LB, Shetler K, Triadafilopoulos G. Prevalence of Barrett's esophagus in asymptomatic individuals. *Gastroenterology* 2002; 123:461.
72. Ward EM, Wolfsen HC, Achem SR, et al. Barrett's esophagus is common in older men and women undergoing screening colonoscopy regardless of reflux symptoms. *Am J Gastroenterol* 2006; 101:12.
73. Cook MB, Wild CP, Forman D. A systematic review and meta-analysis of the sex ratio for Barrett's esophagus, erosive reflux disease, and nonerosive reflux disease. *Am J Epidemiol* 2005; 162:1050.
74. Chak A, Lee T, Kinnard MF, et al. Familial aggregation of Barrett's oesophagus, oesophageal adenocarcinoma, and oesophagogastric junctional adenocarcinoma in Caucasian adults. *Gut* 2002; 51:323.
75. Verbeek RE, Spittuler LF, Peute A, et al. Familial clustering of Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma in a European cohort. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014; 12:1656.
76. Juhasz A, Mittal SK, Lee TH, et al. Prevalence of Barrett esophagus in first-degree relatives of patients with esophageal adenocarcinoma. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45:867.

77. Orloff M, Peterson C, He X, et al. Germline mutations in *MSR1*, *ASCC1*, and *CTHRC1* in patients with Barrett esophagus and esophageal adenocarcinoma. *JAMA* 2011; 306:410.
78. Cameron AJ, Lomboy CT, Pera M, Carpenter HA. Adenocarcinoma of the esophagogastric junction and Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 1995; 109:1541.
79. Mendes de Almeida JC, Chaves P, Pereira AD et al. Is Barrett's esophagus the precursor of most adenocarcinomas of the esophagus and cardia? A biochemical study. *Ann Surg* 1997; 226:725.
80. Bhat S, Coleman HG, Yousef F et al. Risk of malignant progression in Barrett's esophagus patients: results from a large population-based study. *J Natl Cancer Inst* 2011; 103:1049–1057.
81. Bas Weusten<sup>1, 2</sup>, Raf Bisschops<sup>3</sup>, Emanuel Coron<sup>4</sup>. Endoscopic management of Barrett's esophagus: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Position Statement. ... *Endoscopy* 2017; 49
82. Cancer Research UK Cancer Survival Group. Age-Standardised One-, Five- and Ten-Year Net Survival, Adults (Aged 15–99), England and Wales, 2010–2011.
83. Gavin AT, Francisci S, Foschi R et al. Oesophageal cancer survival in Europe: a EURO-CARE-4 study. *Cancer Epidemiol* 2012; 36:505–512.
84. Kavanagh ME, O'Sullivan KE, O'Hanlon C, et al. The esophagitis to adenocarcinoma sequence; the role of inflammation. *Cancer Lett* 2014; 345:182–189.
85. Oka M, Attwood SE, Kaul B et al. Immunosuppression in patients with Barrett's esophagus. *Surgery* 1992; 112:11–17.
86. Ilan Y, Shouval D, Galun E et al. Esophageal malignancy after liver transplantation in a patient with Barrett's esophagus. *Scand J Gastroenterol* 1996; 31:415–416.
87. Saleh W, Duranceau A, Martin J et al. Rapid progression of Barrett's esophagus into adenocarcinoma in a combined lung and kidney transplant recipient. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2010; 139:217–218.

88. Ilan Y, Shouval D, Galun E et al. Esophageal malignancy after liver transplantation in a patient with Barrett's esophagus. *Scand J Gastroenterol* 1996; 31:415–416.
89. Saleh W, Duranceau A, Martin J, Noiseux N, Poirier C, Ferraro P. Rapid progression of Barrett's esophagus into adenocarcinoma in a combined lung and kidney transplant recipient. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2010; 139:217–218.
90. Oezcelik A, Kaiser GM, Dechêne A et al. Progression to adenocarcinoma in Barrett's esophagus after liver transplantation. *Transplantation* 2011; 91: 1250–1253.
91. Morales CP, Souza RF, Spechler SJ. Hallmarks of cancer progression in Barrett's oesophagus. *Lancet* 2002; 360:1587.
92. Montgomery E, Bronner MP, Goldblum JR, et al. Reproducibility of the diagnosis of dysplasia in Barrett esophagus: a reaffirmation. *Hum Pathol* 2001; 32:368.
93. Souza RF, Morales CP, Spechler SJ. Review article: a conceptual approach to understanding the molecular mechanisms of cancer development in Barrett's oesophagus. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15:1087.
94. Weston AP, Banerjee SK, Sharma P, et al. p53 protein overexpression in low grade dysplasia (LGD) in Barrett's esophagus: immunohistochemical marker predictive of progression. *Am J Gastroenterol* 2001; 96:1355.
95. Barrett MT, Sanchez CA, Prevo LJ, et al. Evolution of neoplastic cell lineages in Barrett oesophagus. *Nat Genet* 1999; 22:106.
96. Stachler MD, Taylor-Weiner A, Peng S, et al. Paired exome analysis of Barrett's esophagus and adenocarcinoma. *Nat Genet* 2015; 47:1047.
97. Scheffner M, Huibregtse JM, Vierstra RD et al. The HPV-16 E6 and E6-AP complex functions as a ubiquitin-protein ligase in the ubiquitination of p53. *Cell* 1993; 75:495.
98. Baquet CR, Commiskey P, Mack K, et al. Esophageal cancer epidemiology in blacks and whites: racial and gender disparities in incidence, mortality, survival rates and histology. *J Natl Med Assoc* 2005; 97:1471.
99. Engel LS, Chow WH, Vaughan TL, et al. Population attributable risks of esophageal and gastric cancers. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95:1404.

100. Christian C. Abnet<sup>1</sup>, Melina Arnold<sup>2</sup>, and Wen-Qiang Wei<sup>3</sup>.  
Epidemiology of Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Gastroenterology*.  
2018 January ; 154(2): 360–373.
101. Tran GD, Sun XD, Abnet CC, et al. Prospective study of risk factors for  
esophageal and gastric cancers in the Linxian general population trial cohort in  
China. *Int J Cancer*. 2005; 113:456–63
102. Gammon MD, Schoenberg JB, Ahsan H, et al. Tobacco, alcohol, and  
socioeconomic status and adenocarcinomas of the esophagus and gastric cardia.  
*J Natl Cancer Inst* 1997; 89:1277.
103. Prabhu A, Obi KO, Rubenstein JH. The synergistic effects of alcohol and  
tobacco consumption on the risk of esophageal squamous cell carcinoma: a  
meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2014; 109:822.
104. N. Howlader, A.M. Noone, M. Krapcho et al. SEER Cancer Statistics  
Review, 1975–2011, National Cancer Institute, Bethesda, MD, 2013. based on  
November 2013 SEER data submission, posted to the SEER web site, April  
2014
105. M.B. Cook, F. Kamangar, D.C. Whiteman et al., Cigarette smoking and  
adenocarcinomas of the esophagus and esophagogastric junction: a pooled  
analysis from the international BEACON consortium, *J. Natl. Cancer Inst.* 102  
(2010) 1344–1353.
106. N. Pandeya, G.M. Williams, S. Sadhegi, et al. Associations of duration,  
intensity, and quantity of smoking with adenocarcinoma and squamous cell  
carcinoma of the esophagus, *Am. J. Epidemiol.* 168 (2008) 105–114.
107. Wang L, Zhu D, Zhang C, et al. Mutations of O6-methylguanine-DNA  
methyltransferase gene in esophageal cancer tissues from Northern China. *Int J  
Cancer* 1997; 71:719.
108. Islami F, Boffetta P, Ren JS, et al. High-temperature beverages and foods  
and esophageal cancer risk--a systematic review. *Int J Cancer* 2009; 125:491.
109. Liu J, Wang J, Leng Y, Lv C. Intake of fruit and vegetables and risk of  
esophageal squamous cell carcinoma: a meta-analysis of observational studies.  
*Int J Cancer* 2013; 133:473.

110. Sinan Issı, EPIDEMIOLOGY OF ESOPHAGEAL CANCER. Ankara Abdurrahman Yurtaslan Demetevler Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Göğüs Cerrahisi. doi:10.5152/tcb.2013.01
111. Lagergren J, Bergström R, Lindgren A et al. Symptomatic gastroesophageal reflux as a risk factor for esophageal adenocarcinoma. *N Engl J Med* 1999; 340:825.
112. Hvid-Jensen F, Pedersen L, Drewes AM, et al. Incidence of adenocarcinoma among patients with Barrett's esophagus. *N Engl J Med* 2011; 365:1375.
113. Corley DA, Kubo A, Levin TR, et al. Abdominal obesity and body mass index as risk factors for Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 2007; 133:34.
114. Drahos J, Ricker W, Pfeiffer RM et al. Metabolic syndrome and risk of esophageal adenocarcinoma in elderly patients in the United States: An analysis of SEER-Medicare data. *Cancer* 2017; 123:657.
115. Chang F, Syrjänen S, Wang L et al. Infectious agents in the etiology of esophageal cancer. *Gastroenterology* 1992; 103:1336.
116. Li X, Gao C, Yang Y, et al. Systematic review with meta-analysis: the association between human papillomavirus infection and oesophageal cancer. *Aliment Pharmacol Ther* 2014; 39:270.
117. Petrick JL, Wyss AB, Butler AM, et al. Prevalence of human papillomavirus among oesophageal squamous cell carcinoma cases: systematic review and meta-analysis. *Br J Cancer* 2014; 110:2369.
118. IARC Monographs Working Group. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: International Agency for Research on Cancer. Volume 100 Part B: Biological Agents. Lyon, France: IARC; 2011.
119. Yang R, Yutzy WH 4<sup>th</sup> et al. Interaction of L2 with beta-actin directs intracellular transport of papillomavirus and infection. *J Biol Chem* 2003; 278:12546.
120. Doorbar J. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci (Lond)* 2006; 110:525.
121. Johnson KM, Kines RC, Roberts JN, et al. Role of heparan sulfate in attachment to and infection of the murine female genital tract by human papillomavirus. *J Virol* 2009; 83:2067.

122. Plummer M, Schiffman M, Castle PE, et al. A 2-year prospective study of human papillomavirus persistence among women with a cytological diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance or low-grade squamous intraepithelial lesion. *J Infect Dis* 2007; 195:1582.
123. Rodríguez AC, Schiffman M, Herrero R, et al. Rapid clearance of human papillomavirus and implications for clinical focus on persistent infections. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100:513.
124. Castle PE, Fetterman B, Akhtar I, et al. Age-appropriate use of human papillomavirus vaccines in the U.S. *Gynecol Oncol* 2009; 114:365.
125. Rositch AF, Burke AE, Viscidi RP, et al. Contributions of recent and past sexual partnerships on incident human papillomavirus detection: acquisition and reactivation in older women. *Cancer Res* 2012; 72:6183.
126. de Sanjose S, Quint WG, Alemany L, et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol* 2010; 11:1048.
127. Gillison ML, Koch WM, Capone RB, et al. Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92:709.
128. Palefsky JM, Holly EA, Ralston ML et al. Prevalence and risk factors for human papillomavirus infection of the anal canal in human immunodeficiency virus (HIV)-positive and HIV-negative homosexual men. *J Infect Dis* 1998; 177:361.
129. Bosch FX, Manos MM, Muñoz N, et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. International biological study on cervical cancer (IBSCC) Study Group. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87:796.
130. Palefsky JM. Anal human papillomavirus infection and anal cancer in HIV-positive individuals: an emerging problem. *AIDS* 1994; 8:283.
131. Münger K, Phelps WC, Bubb V, et al. The E6 and E7 genes of the human papillomavirus type 16 together are necessary and sufficient for transformation of primary human keratinocytes. *J Virol* 1989; 63:4417.
132. Vogelstein B, Fearon ER, Kern SE, et al. Allelotype of colorectal carcinomas. *Science* 1989; 244:207.

133. Masuda H, Miller C, Koeffler HP, et al. Rearrangement of the p53 gene in human osteogenic sarcomas. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987; 84:7716.
134. Hinds P, Finlay C, Levine AJ. Mutation is required to activate the p53 gene for cooperation with the ras oncogene and transformation. *J Virol* 1989; 63:739.
135. Dupuy C, Buzoni-Gatel D, Touze A, et al. Cell mediated immunity induced in mice by HPV 16 L1 virus-like particles. *Microb Pathog* 1997; 22:219.
136. Scheffner M, Huibregtse JM, Vierstra RD et al. The HPV-16 E6 and E6-AP complex functions as a ubiquitin-protein ligase in the ubiquitination of p53. *Cell* 1993; 75:495.
137. Havre PA, Yuan J, Hedrick L, et al. p53 inactivation by HPV16 E6 results in increased mutagenesis in human cells. *Cancer Res* 1995; 55:4420.
138. Werness BA, Levine AJ, Howley PM. Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53. *Science* 1990; 248:76.
139. Oda H, Kumar S, Howley PM. Regulation of the Src family tyrosine kinase Blk through E6AP-mediated ubiquitination. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96:9557.
140. Puthenveetil JA, Frederickson SM, Reznikoff CA. Apoptosis in human papillomavirus16 E7-, but not E6-immortalized human uroepithelial cells. *Oncogene* 1996; 13:1123.
141. Pagano M, Dürst M, Joswig S, et al. Binding of the human E2F transcription factor to the retinoblastoma protein but not to cyclin A is abolished in HPV-16-immortalized cells. *Oncogene* 1992; 7:1681.
142. Schwarz E, Freese UK, Gissmann L, et al. Structure and transcription of human papillomavirus sequences in cervical carcinoma cells. *Nature* 1985; 314:111.
143. Tommasino M, Adamczewski JP, Carlotti F, et al. HPV16 E7 protein associates with the protein kinase p33CDK2 and cyclin A. *Oncogene* 1993; 8:195.
144. zur Hausen H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92:690.
145. Palefsky JM. Cutaneous and genital HPV-associated lesions in HIV-infected patients. *Clin Dermatol* 1997; 15:439.

146. Karlsson R, Jonsson M, Edlund K, et al. Lifetime number of partners as the only independent risk factor for human papillomavirus infection: a population-based study. *Sex Transm Dis* 1995; 22:119.
147. Castellsagué X, Naud P, Chow SN, et al. Risk of newly detected infections and cervical abnormalities in women seropositive for naturally acquired human papillomavirus type 16/18 antibodies: analysis of the control arm of PATRICIA. *J Infect Dis* 2014; 210:517.
148. Safaeian M, Porras C, Schiffman M, et al. Epidemiological study of anti-HPV16/18 seropositivity and subsequent risk of HPV16 and -18 infections. *J Natl Cancer Inst* 2010; 102:1653.
149. Wilson L, Pawlita M, Castle PE, et al. Seroprevalence of 8 oncogenic human papillomavirus genotypes and acquired immunity against reinfection. *J Infect Dis* 2014; 210:448.
150. Chaturvedi AK, Graubard BI, Pickard RK, et al. High-risk oral human papillomavirus load in the US population, National Health and Nutrition Examination Survey 2009-2010. *J Infect Dis* 2014; 210:441.
151. Fakhry C, Gillison ML, D'Souza G. Tobacco use and oral HPV-16 infection. *JAMA* 2014; 312:1465.
152. Schiffman M, Wentzensen N, Wacholder S, et al. Human papillomavirus testing in the prevention of cervical cancer. *J Natl Cancer Inst* 2011; 103:368.
153. Ikenberg H, Bergeron C, Schmidt D, et al. Screening for cervical cancer precursors with p16/Ki-67 dual-stained cytology: results of the PALMS study. *J Natl Cancer Inst* 2013; 105:1550.
154. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, et al. Classification of papillomaviruses. *Virology* 2004; 324:17.
155. de Sanjosé S, Diaz M, Castellsagué X, et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2007; 7:453.
156. Clifford GM, Gallus S, Herrero R, et al. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. *Lancet* 2005; 366:991.



157. Goldstone S, Palefsky JM, Giuliano AR, et al. Prevalence of and risk factors for human papillomavirus (HPV) infection among HIV-seronegative men who have sex with men. *J Infect Dis* 2011; 203:66.
158. Sonawane K, Suk R, Chiao EY, et al. Oral Human Papillomavirus Infection: Differences in Prevalence Between Sexes and Concordance With Genital Human Papillomavirus Infection, NHANES 2011 to 2014. *Ann Intern Med* 2017; 167:714.
159. Houlihan CF, Larke NL, Watson-Jones D, et al. Human papillomavirus infection and increased risk of HIV acquisition. A systematic review and meta-analysis. *AIDS* 2012; 26:2211.
160. Averbach SH, Gravitt PE, Nowak RG, et al. The association between cervical human papillomavirus infection and HIV acquisition among women in Zimbabwe. *AIDS* 2010; 24:1035.
161. Woo YJ, Yoon HK. In situ hybridization study on human papillomavirus DNA expression in benign and malignant squamous lesions of the esophagus. *J Korean Med Sci* 1996;11:467–73.
162. Szentirmay Z, Szanto I, Balint I et al. Causal association between human papilloma virus infection and head and neck and esophageal squamous cell carcinoma. *Magy Onkol* 2002;46:35–41.
163. Fernández-Rodríguez CM, Badia-Figuerola N, Ruiz del Arbol L et al. Squamous papilloma of the esophagus: report of six cases with long-term follow-up in four patients. *Am J Gastroenterol*. 1986 Nov;81(11):1059-62.
164. Chistiakova VR, Iablonskii SV, Kovshenkova ID. Two cases of generalized papillomatosis of the upper respiratory tract and esophagus in children. *Vestn Otorinolaringol* 1998;5:56–7.
165. Batra PS, Hebert RL, Haines GK et al. Recurrent respiratory papillomatosis with esophageal involvement. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2001;2001:233–8
166. Hörding M, Hörding U, Daugaard S et al. Human papilloma virus type 11 in a fatal case of esophageal and bronchial papillomatosis. *Scand J Infect Dis* 1989;21:229–31.
167. Sandvik AK, Aase S, Kveberg KH, Dalen A et al. Papillomatosis of the esophagus. *J Clin Gastroenterol* 1996;22:35–7.

168. Kunzmann AT<sup>1</sup>, Graham S, McShane CM et al. The prevalence of viral agents in esophageal adenocarcinoma and Barrett's esophagus: a systematic review. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2017 Jul;29(7):817-825.
169. Ülhami KÜKÜ<sup>1</sup>, Mehmet G.NDOÚDU<sup>2</sup>, Fevzi POLAT<sup>2</sup> et al. Detection of Human Papillomavirus Infection in Esophageal Carcinomas by the Histopathological Method and Polymerase Chain Reaction Technique. *Turk J Med Sci* 32 (2002) 223-230 © T.BÜTAK
170. Türkay DÖ, Vural Ç, Sayan M et al. Detection of human papillomavirus in esophageal and gastroesophageal junction tumors: A retrospective study by real-time polymerase chain reaction in an institutional experience from Turkey and review of literature. *Pathol Res Pract*. 2016;212:77–82.
171. Cheah PL<sup>1</sup>, Koh CC<sup>1</sup>, Khang TF<sup>2</sup> et al. Esophageal squamous cell carcinomas in a Malaysian cohort show a lack of association with human papillomavirus. *J Dig Dis*. 2018 May;19(5):272-278.
172. Georgantis G, Syrakos T, Agorastos T et al. Detection of human papillomavirus DNA in esophageal carcinoma in Greece. *World J Gastroenterol*. 2015 Feb 28;21(8):2352-7
173. Li S, Shen H, Li J, Hou X, Zhang K et al. Prevalence of the integration status for human papillomavirus 16 in esophageal carcinoma samples. *Turk J Gastroenterol*. 2018 Mar;29(2):157-163. doi: 10.5152/tjg.2018.17568.