

Endoskopik biyopsilerde Barrett Özofagusu Tanısında Sitokeratin 7 ve 20'nin Katkısı Olabilir mi?

Can Cytokeratin 7 and 20 Be Used For Distinguishing Barrett's Esophagus In Endoscopic Biopsy Specimens

Semin AYHAN¹, Nalan NEŞE¹, Mehmet Akif DEMİR¹, Murat SARUÇ², Aydın İŞİSAĞ¹

¹ Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, MANİSA

² Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Anabilim Dalı, MANİSA

Barrett özofagusunun tanısı için gerekli temel histolojik kriter, intestinal metaplazinin varlığıdır. Ancak intestinal metaplazinin distal özofagusta mı yoksa kardiada mı olduğu kolayca anlaşılmaz. Çalışmamızın amacı Barrett özofaguslu olgularımızda, spesifik bir boyanma paterni gösterdiği ileri sürülen sitokeratin (CK)7/CK20 immunohistokimyasal boyalarının yararını araştırmaktır.

Çalışmada endoskopik inceleme ve biyopsi eşliğinde Barrett özofagusu tanısı alan beş olgu ile kardiada intestinal metaplazisi olan beş olgu kıyaslamalı olarak incelenmiştir. Endoskopik biyopsi örnekleri CK7/CK20 immunohistokimyasal boyaları eşliğinde değerlendirilmiştir. Barrett özofagusu olgularında CK20, yüzey epiteli ve yüzeyel bezlerde aralıksız bant şeklinde boyanma gösterirken, CK7 yüzey epiteli ve tüm bezlerde diffüz ve güçlü bir boyanma oluşturmuştur. Kardiadaki komplet intestinal metaplazi alanlarında CK20 yüzeyel ve derin bezlerde diffüz ve güçlü boyanma gösterirken, CK7 negatif olarak saptanmıştır. Kardiada inkomplet intestinal metaplazisi olan olgularda ise hem yüzeydeki hem de derindeki bezlerde yama şeklinde CK20 pozitifliği ve yalnızca derindeki bezlerle sınırlı, zayıf ve yama şeklinde CK7 pozitifliği dikkati çekmiştir.

Çalışmalarda, CK7/CK20 boyanma paterninin duyarlılığı ve belirleyiciliği konusunda değişik oranlar verilmektedir. Çalışmamızdaki Barrett olgularında, tanımlanan "Barrett sitokeratin paterni" izlenmiştir. Ancak CK immunohistokimyasal boyalarının Barrett özofagusu tanısındaki değerini kesin olarak belirleyebilmek için büyük serilerde çalışma yapmak gereklidir.

Anahtar Kelimeler : Barrett özofagusu, sitokeratin, intestinal metaplazi

Although distal esophageal intestinal metaplasia is an essential histologic criterion for the diagnosis of Barrett's esophagus, it seems to be difficult to correctly identify the precise location of it, i.e., whether the lesion involves the distal esophagus or cardia.

The aim of this study is to assess the benefits of cytokeratin 7 (CK7)/cytokeratin 20 (CK20) staining pattern which has been claimed to be highly useful in the differential diagnosis of Barrett's esophagus.

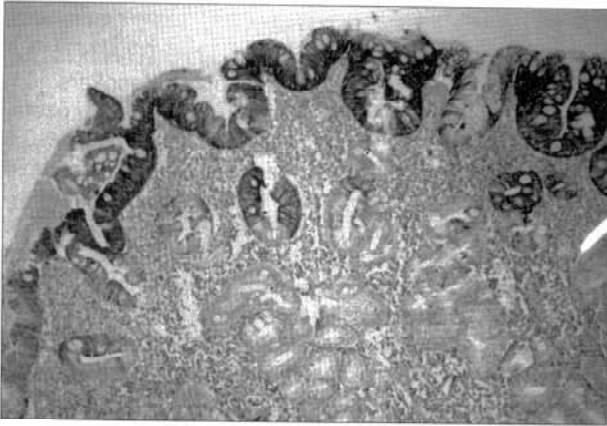
Endoscopic biopsy specimens from five patients with clinicopathologically proven Barrett's esophagus and five with intestinal metaplasia at cardia were immunostained for CK7 and CK20 and compared by light microscopy. In biopsy specimens with Barrett's esophagus, a band-like staining involving the surface epithelium and superficial glands with CK20; diffuse and strong CK7 staining in both superficial and deep glands were observed. In areas of complete gastritis intestinal metaplasia, strong CK20 staining was found in superficial and deep glands along with no immunoreactivity for CK7. On the other hand, patchy CK20 staining of superficial and deep glands and weak patchy CK7 staining of deep glands were detected in areas of incomplete gastritis intestinal metaplasia.

The staining pattern observed in all the cases with Barrett's esophagus was found to be concordant with the proposed "Barrett's CK7/20 pattern", though varying rates have been reported in the literature. However, further studies in larger series are needed to determine the usefulness of cytokeratin immunoreactivity for the differential diagnosis of Barrett's esophagus.

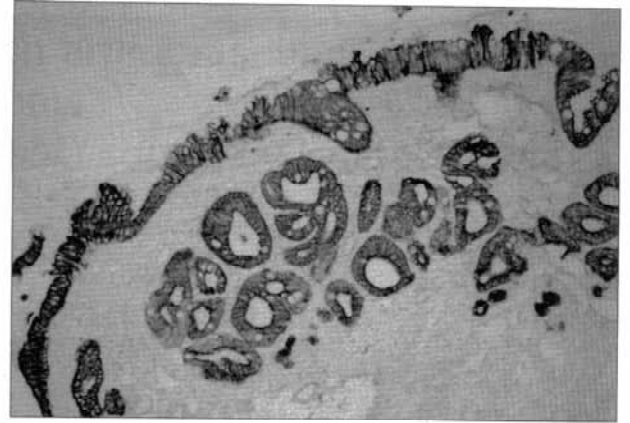
Key Words: Barrett's esophagus, cytokeratin, intestinal metaplasia

Son yıllarda distal özofagus ve özofago-gastrik bileşkede yerleşim gösteren adenokarsinomların görülme sıklığında belirgin bir artış olduğu bildirilmektedir⁽¹⁻²⁾. Bu nedenle bu tip kanserler için en önemli risk faktörü kabul edilen "Barrett özofagusu" tanısı daha büyük önem kazanmıştır. Kanser riski altındaki Barrett olgularının düzenli aralıklarla endoskopik izlemi, erken tanı ve sağaltım şansını arttırmaktadır.

Endoskopik olarak uzun segment Barrett özofagusu daha kolay tanınabilirken, kısa segment Barrett mukoza-



Resim 1 : Barret özofagusunda CK20 ile yüzey epitelinde ve yüzeyel bezlerde bant şeklinde boyanma (x100).



Resim 2 : Barrett özofagusunda CK7 ile yüzey epiteli ve tüm bezlerde diffüz ve güçlü boyanma (x100)

şı ayırt edilemez ve lezyonun kesin yeri konusunda, özofagus-kardia ikilemi yaşanır. Klinisyenler ve patoloğlar arasında uzun süre tartışma konusu olan Barrett özofagusu tanısında, bugün için genel kabul görmüş temel histolojik kriter, intestinal metaplazinin (İM) varlığıdır^(3,4). Ancak Barrett özofagusunda ortaya çıkan intestinal metaplazi ile mide kardiasında gelişen intestinal metaplaziyi histolojik ve histoşimik olarak ayırmak da mümkün değildir⁽⁵⁾. Bu anlamda immunohistokimyasal yöntemlerin yararı olabileceği düşünülerek CK alt grupları Barrett olgularında araştırılmaktadır. Bu çalışmalarda CK7 ve CK20'nin Barrett özofagusunda duyarlı ve özgün bir boyanma patterni gösterdiği dikkati çekmekte ve bunun tanısallığı vurgulanmaktadır⁽⁶⁻⁸⁾.

Çalışmamızda, son iki yıl içinde klinikopatolojik olarak Barrett özofagusu tanısı almış beş olgu, kardiasında *Helicobacter pylori* (H *pylori*) gastriti eşliğinde intestinal metaplazi saptanan beş olgu ile sitokeratin patternleri açısından kıyaslanarak incelenmektedir. Barrett özofagusunda immunohistokimyanın tanısallığı, boyanma farklılığının nedenleri ve olayın patogeneze katkısı tartışılmaktadır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ne 2001-2002 yıllarında dispepsi yakınması ile başvuran, endoskopik ve patolojik değerlendirme sonucu Barrett özofagusu tanısı konan beş olgu yeniden gözden geçirildi. Bu olgulardaki İM'yi kıyaslayabilmek amacıyla kardias biyopsilerinde H *pylori* gastriti olan ve İM saptanan beş kontrol olgusu da incelemeye alındı. Tüm olgulara Olympus GIF E veya GIF- T30 marka endoskop ile endoskopi uygulanmış, özofagus, kardias, korpus ve antrumdan biyopsiler alınmıştı. Biyopsilerde, kontaminasyonu önlemek amacıyla, ayrı biyopsi forsepsleri kullanıldı. Endoskopik olarak Barrett özofagusu, kırmızı, kadifemsi görünümdeki mide mukozasının, mide kıvrımlarının başladığı noktanın proksimaline çepeçevre, dil şeklinde, düzensiz uzanımlar göstermesi olarak tanımlan-

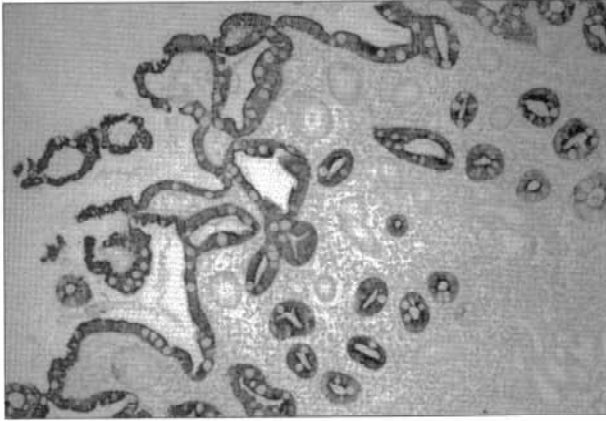
landı. Distal özofagus biyopsileri bu alanlardan, mide kıvrımlarının 2-3 cm proksimalinden, kardias biyopsileri ise gastro-özofagial bileşkenin 1 cm altından retrofleksiyon pozisyonunda alındı. Hollande solüsyonu ile fikse edilen biyopsilerden rutin doku takibi sonucu elde edilen kesitler, hematoksilen-eosin (H&E) boyası yanı sıra, periodik asid-Schiff/alcian blue (PAS-AB) (pH 2,5) boyası ve kardias biyopsilerinde H *pylori* için toluidine blue boyası ile değerlendirildi. Tüm olgularda İM varlığı, öncelikle H&E kesitlerde goblet hücrelerinin bulunması ile gösterildi, daha sonra PAS-AB boyasında asidik mürinin saptanması ile İM bulgusu desteklendi. Klinikopatolojik olarak Barrett özofagusu tanısı konan olgulara ve kardias biyopsisinde İM saptanan olgulara CK7 ve CK20 ile immunohistokimyasal boyama uygulandı. CK20 için kolon, CK7 için prostat dokusu kontrol olarak kullanıldı. Olgulardaki boyanma patternleri Ormsby ve ark. tarafından tanımlanan özelliklere göre değerlendirildi⁽⁶⁾.

BULGULAR

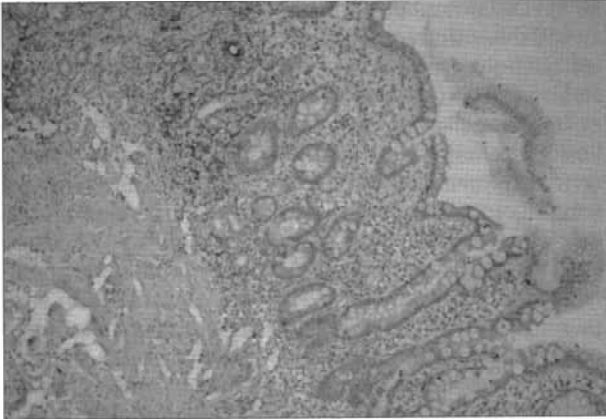
Barrett olgularının biri kadın, diğerleri erkekti. Tüm olgular dispeptik yakınmalar ile başvurdu. Yapılan endoskopik incelemelerinde skuamo-kolumnar bileşke düzensiz olarak izlendi. Mide mukozasının kırmızı renkte, dil şeklinde özofagusa doğru uzanımlar gösterdiği dikkati çekti. Bu değişikliklerin bulunduğu alan, bir olguda özofagus orta segmentine kadar uzanmakla birlikte, diğer olgularda distal özofagusta, özofago-gastrik bileşkenin proksimalindeki 3 cm'lik alanda sınırlı olarak izlendi. Dolayısıyla ilk olgu uzun segment Barrett, diğerleri kısa segment-Barrett olarak kabul edildi. Kontrol olarak kardias biyopsileri incelenen olguların ikisi erkek, diğerleri kadındı. Yine dispeptik yakınmaları olan bu olguların endoskopilerinde özofagus mukozası olağan, kardias mukozası ise hiperemik olarak izlendi.

Histolojik incelemede bu olguların mide örneklerinde H *pylori* pozitifliği ve değişik derecelerde İM eşliğinde kardiasda yaygın hücre infiltrasyonu saptandı.

Olgulardan alınan kardias ve özofagus biyopsilerinde



Resim 3 : Kardiada komplet İM'de CK20 ile diffüz ve güçlü boyanma (x100)



Resim 4 : Kardiada komplet İM'de negatif CK7 boyanması (x100)

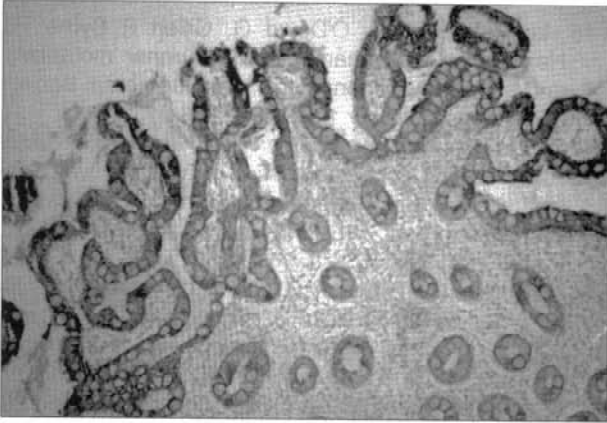
H&E ve PAS-AB ile intestinal metaplazi saptandıktan sonra sitokeratin profili değerlendirildi. Barrett özofagusu olgularında intestinal metaplazi alanında, CK20, yüzey epiteli ve yüzeyde yer alan bezlerde aralıksız bant şeklinde boyanma gösterirken, kriptlerin bazaline uyan bölgede ve derindeki bezlerde negatif (Resim 1). CK7 ise yüzeyel ve derin bezler olmak üzere tüm epitel hücrelerinde diffüz ve güçlü bir boyanma oluşturdu (Resim 2). CK7 ve CK20 pozitifliği intrasitoplazmik ve membranöz boyanma şeklindeydi. Kardiadaki intestinal metaplazi alanlarında iki tip CK boyanma patterni ortaya çıktı. Kardiada komplet intestinal metaplazisi olan iki olguda CK20 yüzeyel ve derin bezlerde diffüz ve güçlü boyanma gösterirken, CK7 negatif olarak değerlendirildi (Resim 3-4). Kardiada inkomplet intestinal metaplazisi olan olgularda ise hem yüzeydeki hem de derindeki bezlerde yama şeklinde CK20 pozitifliği yanısıra yalnızca derindeki bezlerde zayıf ve yama şeklinde CK7 pozitifliği dikkati çekti (Resim 5-6).

TARTIŞMA

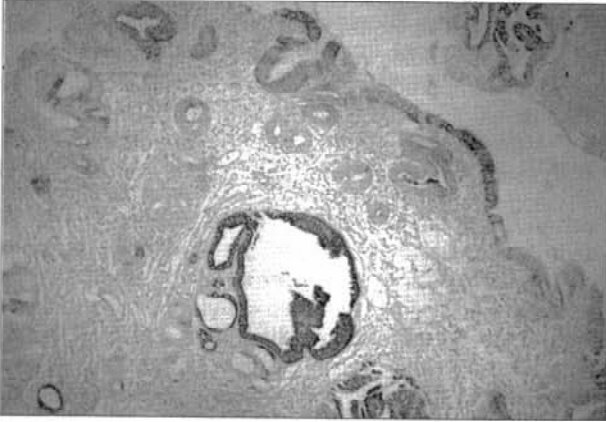
Barrett özofagusu, özofagial displazi-adenokarsinom gelişiminde en önemli risk faktörüdür. Barrett özofagusunda adenokarsinom gelişme insidansı yılda %0.5 olarak bildirilmektedir⁽⁹⁾. Bu nedenle Barrett olgularının endoskopik izlem programına alınması, özofagus adenokarsinomlarını önlemek veya erken tanı koyabilmek için önemli bir basamaktır. Bu izlem programının işletilebilmesi için Barrett tanısına yani özofago-gastrik bileşkede intestinal metaplazinin saptanmasına gereksinim vardır. Bu, ilk bakışta oldukça basit gözükmele birlikte, hem endoskopik olarak hem de histolojik olarak intestinal metaplazinin kesin lokalizasyonu anlaşılamayabilir. Bu durumda Barrett tanısı için yeni belirleyiciler gereklidir.

Bilindiği gibi sitokeratinler, insan epitel hücre iskeletinin ana komponentini oluşturan intermediate filamentler şeklindeki sitoplazmik yapısal proteinlerdir. Epitel hücrelerinde şimdiye kadar saptanmış olan 20 farklı sitokeratin, epitelin tipine, yerleşimine ve diferansiyasyonuna göre değişken derecelerde pozitiflik gösterirler. Bazı sitokeratinler pek çok organın kolumnar epitelinde bulunurken CK7 ve CK20 daha sınırlı bir immunoreaktiviteye sahiptir^(10,11). Normal barsak epitelinde bulunan ve intestinal diferansiyasyonun bir göstergesi olan CK20, midede yalnızca yüzey epitelinde sınırlıdır, mide bez epitelinde bulunmaz. CK7 ise duktal diferansiyasyonu gösterir ve özofagus ile gastrointestinal sistem epitelinde negatiftir. CK7/20'nin bu özelliklerine dayanarak intestinal metaplazinin yerini saptamada yararı araştırılmaktadır. Yapılan bazı çalışmalarda özofagus ve midedeki intestinal metaplazi alanlarında CK7/20 boyanma patterni büyük farklılık gösterdiği için özofagus boyanması, "Barrett sitokeratin patterni" olarak adlandırılmıştır^(6-8,12). Hatta bu CK profilinin, Barrett zemininde gelişmiş adenokarsinomları, proksimal mide yerleşimli adenokarsinomlardan ayırmada yararlı olabileceği de gösterilmiştir⁽¹³⁾.

Barrett epitelinin hangi hücrelerden köken aldığı konusunda iki klasik görüş vardır. Bazı araştırmacılar mide mukozasının yukarıya doğru ilerlemesi ile Barrett epitelinin ortaya çıktığını savunurken, bazıları özofagus yassı epitelindeki progenitör hücrelerden geliştiğini kabul etmektedirler^(14,15). Son yıllarda ise bazı araştırmacılar bu epitelin distal özofagustaki bezlerde ve duktuslarda bulunan multipotent hücrelerden geliştiğini ileri sürmüşlerdir⁽¹⁶⁾. Bu çalışmada deneysel olarak oluşturulan reflüde, yassı epiteldeki mukozal hasarın kolumnar epitel ile onarıldığı izlenmiş ve histolojik olarak da derindeki özofagial bez ve duktusların, onarım bölgesindeki kolumnar epitel ile devamlılığı gösterilmiştir. Yine Barrett epitelini inceleyen başka çalışmalarda da morfolojik ve fenotipik özellikler yönünden bu epitelin özofagial bez ve duktuslardan köken aldığı vurgulanmaktadır^(17,18). CK çalışmalarında Barrett mukozasının CK7 ile güçlü ve diffüz pozitiflik göstermesi, aslında bu varsayımı destekler niteliktedir. Midedeki intestinal metaplazi alanlarında ise CK7 zayıf ve yama tarzında boyanma gösterir



Resim 5 : Kardiada inkomplet İM alanında CK20 ile yüzeyel ve derin bezlerde yama tarzında boyanma (x100)



Resim 6 : Kardiada inkomplet İM'de derindeki bezlerde CK7 ile yama tarzında zayıf boyanma (x100)

veya hiç boyanmaz. Komşu alanlardaki özofagus çok katlı yassı epitelinde CK7 ile boyanma olmaması da yine Barrett patogeneziindeki özofagus çok katlı yassı epitel kökenini yani ikinci hipotezi geçersiz kılmaktadır.

Barrett özofagusu tanısında yöntemin duyarlılığı için %97, özgüllüğü için % 100 gibi yüksek oranlar bildirilmektedir ^(6-8,12). Ancak "Barrett sitokeratin patterni" tanımlandıktan sonra kendi olgularında CK boyanma profilini inceleyen başka araştırmacılar, değişik oranlar elde etmişlerdir ⁽¹⁹⁻²¹⁾. Bu çalışmalardan birisinde CK7/20 patterninin duyarlılığı %45, özgüllüğü %65 olarak değerlendirilmiştir ⁽¹⁹⁾. Yayınlardaki bu değişik oranlar, örneklem yöntemlerinin farklılığından kaynaklanıyor olabilir. Bilindiği gibi kardial mukozası özofagus ve fundus arasındaki çok dar bir alanı içermektedir ve klinisyenler arasında bu bölgenin örneklenmesi konusunda farklı yaklaşımlar vardır. Bazı çalışmalarda kardial skuamokolumnar bileşkenin hemen altı olarak düşünülmüştür ⁽¹⁹⁾. Bazı çalışmalarda ve bizim olgu-

larımızda ise kardial mide kıvrımlarının proksimalindeki 5 mm-1 cm' lik alan olarak kabul edilmiştir. Bunun yanı sıra boyanma özelliklerini belirlemek de kişisel yoruma açık bir konudur. Bu konuda da gözlemciler arasında farklılık ortaya çıkmış olabilir. Bizim olgularımızdan klinikopatolojik olarak Barrett özofagusu tanısı konanlarda, tanımlanan Barrett sitokeratin patterni saptanmıştır. Kardiadaki komplet ve inkomplet intestinal metaplazi alanlarında ise sitokeratin patterni farklıdır. Bu boyanma farklılığı, "Barrett sitokeratin patterni" tanımlamasını desteklemekle birlikte yalnızca beş olgu değerlendirilebilmiştir. Çalışmamızın, güncel olan bu tartışmaya bir katkı sağlayabilmesi için geniş bir olgu grubunun incelenmesi gereklidir.

Klinik olarak incelendiğinde de kardiasında intestinal metaplazisi olan hastalar ile Barrett olguları farklılık gösterir. Barrett özofagusunun hemen hemen daima reflü bulguları ile birlikte görüldüğü dikkati çekmektedir. Bu olgularda eroziv özofajit de mutlak bir bulgu değildir ve manometrik incelemeler de reflüyü desteklemektedir. Kardiada intestinal metaplazi saptanan olgular ise reflü bulguları veya eroziv özofajiti olmayan, alt özofagial sfinkter basıncı olağan ve belirgin H pilori enfeksiyonu olan hastalardır ^(20,21). Tüm bu klinik özellikler de iki olgu grubundaki intestinal metaplaziyi farklı yorumlamak gerektiğini vurgulamaktadır.

KAYNAKLAR

1. Blot WJ, Devesa SS, Kneller RW, Fraumeni JF. Rising incidence of adenocarcinoma of the esophagus and gastric cardia. JAMA 1991; 265: 1287-9.
2. Pera M, Cameron AJ, Trastek VF, Carpenter Zinsmeister AR. Increasing incidence of adenocarcinoma of the esophagus and esophagogastric junction. Gastroenterology 1993; 104: 510-3.
3. Sampliner RE. Practice guidelines on the diagnosis, surveillance, and therapy of Barrett's esophagus. Am J Gastroenterol 1998; 93: 1028-31.
4. Batts KP. Barrett esophagus-more steps forward. Hum Pathol 2001; 32: 357-9.
5. Ormsby AH, Goldblum JR, Rice TW, Richter JE, Falk GW, Vaezi MF, Gramlich TL. The sensitivity and specificity of histologic features in the diagnosis of Barrett's esophagus on routine endoscopic biopsy specimens. Am J Clin Pathol 1999; 112: A533.
6. Ormsby AH, Goldblum JR, Rice TW, Richter JE, Falk GW, Vaezi MF, Gramlich TL. Cytokeratin subsets can reliably distinguish Barrett's esophagus from intestinal metaplasia of the stomach. Hum Pathol 1999; 30: 288-94.
7. Wallner B, Sylvan A, Janunger KG, Bozoky B, Stenling R. Immunohistochemical markers for Barrett's esophagus and associations to esophageal Z-line appearance. Scand J Gastroenterol 2001; 36: 910-15.
8. Couvelard A, Cauvin IM, Goldfain D, Rotenberg A, Robaszkiewicz M, Flejou JF. Cytokeratin immunoreactivity of intestinal metaplasia at normal oesophagogastric junction indicates its aetiology. Gut 2001;

- 49: 761-6.
9. Drewitz DJ, Sampliner RE, Garewal HS. The incidence of adenocarcinoma in Barrett's esophagus: a prospective study of 170 patients followed 4.8 years. *Am J Gastroenterol* 1997; 92: 212-5.
10. Van Niekerk CC, Jap PH, Ramaekers FC, van de Molengraft F, Poels LG. Immunohistochemical demonstration of keratin 7 in routinely fixed paraffin-embedded human tissues. *J Pathol* 1991; 165: 145-52.
11. Moll R, Lowe Laufer J, Franke WW. Cytokeratin 20 in human carcinomas: A new histodiagnostic marker detected by monoclonal antibodies. *Am J Pathol* 1992; 140: 427-47.
12. Ormsby AH, Vaezi MF, Richter JE, Goldblum JR, Rice TW, Falk GW, Gramlich TL. Cytokeratin immunoreactivity patterns in the diagnosis of short-segment Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 2000; 119: 683-90.
13. Ormsby AH, Goldblum JR, Rice TW, Richter JE, Gramlich TL. The utility of cytokeratin subsets in distinguishing Barrett's-related oesophageal adenocarcinoma from gastric adenocarcinoma. *Histopathology* 2001; 38: 307-11.
14. Hage E, Pederson SA. Morphological characteristics of the columnar epithelium lining the lower oesophagus in patients with Barrett's syndrome. *Virchows Arch* 1972; 357: 219-29.
15. Meyer W, Bollmar F, Bar VW. Barrett's esophagus following total. *Endoscopy* 1979; 2: 121-6.
16. Li H, Walsh TN, O'Dowd G, Gillen P, Byrne PJ, Hennessy TP. Mechanisms of columnar metaplasia and squamous regeneration in experimental Barrett's esophagus. *Surgery* 1994; 115: 176-81.
17. Glickman JN, Chen YY, Wang HH, Antonioli D, Odze RD. Phenotypic characteristics of a distinctive multi-layered epithelium suggests that it is a precursor in the development of Barrett's esophagus. *Am J Surg Pathol* 2001; 25: 569-78.
18. Glickman JN, Wang HH, Das KM, Goyal RI, Spechler J, Antonioli D, Odze RD. Phenotype of Barrett's esophagus and intestinal metaplasia of the distal esophagus and gastroesophageal junction: An immunohistochemical study of cytokeratins 7 and 20, Das-1 and 45MI. *Am J Surg Pathol* 2001; 25: 87-94.
19. El-Zinaity HMT, Graham DY. Cytokeratin subsets for distinguishing Barrett's esophagus from intestinal metaplasia in the cardia using endoscopic biopsy specimens. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 1378-82.
20. Csendes A, Smok G, Quiroz J, Burdiles P, Rojas J, Castro C, Henriquez A. Clinical, endoscopic, and functional studies in 408 patients with Barrett's esophagus, compared to 174 cases of intestinal metaplasia of the cardia. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 554-60.
21. Morales TH, Sampliner RE, Bhattacharyya A. Intestinal metaplasia of the gastric cardia. *Am J Gastroenterol* 1997; 92: 414-18.