

## Argon plazma koagulacija kao terapija izbora u oboljelih od Barrettovog jednjaka

*Argon plasma coagulation as therapy in treatment of Barrett's esophagus*

Melanija Ražov Radas\*

---

### Sažetak

Cilj ove studije bio je procijeniti učinak argon plazma koagulacije (APK) u liječenju Barrettovog jednjaka (BJ), te utvrditi izražajnost mucinoznog glikoproteina (MUC2) i vaskularnog endotelnog faktora rasta (VEGF) u Barrettovoj sluznici prije i / ili nakon APK. Viši stupanj izražajnosti MUC2 i VEGF u Barrettovoj sluznici može biti povezan s većim rizikom za razvoj adenokarcinoma (AK). Istraživanjem je obuhvaćeno pet bolesnika s dijagnozom BJ - kratkog segmenta. Uključni kriterij bio je neuspješno liječenje samo inhibitorima protonske pumpe (IPP). Dijagnoza je potvrđena patohistološkom (PH) analizom nakon biopsije ezofagogastričnog (EG) spoja. Izražajnost MUC2 i VEGF određena je imunohistokemijom. Nakon nekoliko APK tretmana, kompletan oporavak sluznice EG spoja nastupio je kod ispitanika s pozitivnim nalazom intestinalne metaplazija (IM). Oporavak nije postignut u bolesnika s displastičnom promjenom tkiva. Nije nađeno maligne progresije. Liječenje je nastavljeno IPP-om, te endoskopskim praćenjem po smjernicama. Na kontrolnim analizama bioptata ezofagogastričnoga spoja, prikazana je regresija nalaza BJ u gastroezofagealnu refluksnu bolest (GERB) u četiri ispitanika. Ispitanici su nas obavijestili o kliničkom poboljšanju: imali su manje ili bili potpuno bez simptoma regurgitacije, žarenja i dispepsije, koji su bili glavni simptomi zbog kojih su došli u bolnicu.

**Cljučne riječi:** Barrettov jednjak, argon plazma koagulacija, inhibitori protonske pumpe

---

### Summary

The aim of this study was to evaluate the effect of argon plasma coagulation (APC) in the treatment of Barrett's esophagus (BE) and confirm the expression of Mucin 2 glycoprotein (MUC2) and Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) in Barrett's mucosa before and/or after APC treatment. A higher expression of MUC2 and VEGF in Barrett's mucosa may be associated with a higher risk for the development of adenocarcinoma (AC). The study included five patients with diagnosis of BE, short-segment. The inclusion criteria was unsuccessful treatment with proton pump inhibitors (PPI). The diagnosis was confirmed by pathohistological (PH) analysis after EGJ biopsy. The expression of MUC2 and VEGF was performed with immunohistochemistry. After various APC treatments, the complete recovery of EGJ mucosa occurred in IM patients. The recovery was not achieved in patients with dysplastic change of tissue. There were no malignant developments. These patients remained on PPI therapy and regular endoscopic control. We found histological regression of BE in Gastroesophageal reflux disease (GERD) in four patients. The patients informed us about their clinical improvement: they had less, or completely no symptoms of regurgitation, burning phenomenon and dyspepsia that were leading symptoms due to which they were brought to our hospital.

**Key words:** Barrett's esophagus, argon plasma coagulation, proton pump inhibitors

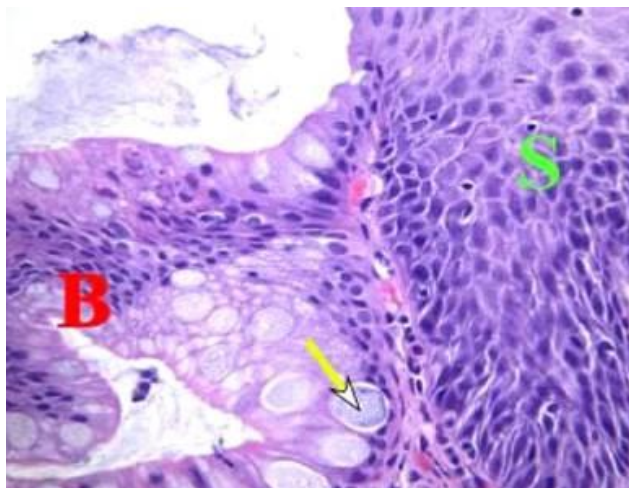
*Med Jad 2018;48(1-2):5-12*

### Uvod

---

\* **Opća bolnica Zadar**, Služba za internu medicinu, Odjel za gastroenterologiju (dr. sc. Melanija Ražov Radas, dr. med.)  
Adresa za dopisivanje / *Correspondence address:* Dr. sc. Melanija Ražov Radas, dr. med., Opća bolnica Zadar, Služba za interne bolesti, Odjel za gastroenterologiju, Bože Peričića 5, 23000 Zadar, Hrvatska, Tel.: 00385-23-505170; E-mail: melanijarr@gmail.com; melanija.razov.radas@bolnica-zadar.hr  
Primljeno/Received 2017-05-08; Ispravljeno/Revised 2017-05-30; Prihvaćeno/Accepted 2017-06-08

Barretov jednjak (BJ) je prekancerozna lezija koja je prvi put opisana 1951. godine, češća u muškaraca bijele populacije, s prevalencijom od 22,6/100.000 (kod autopsija je prevalencija 376/100.000 – 21 puta veća!).<sup>1</sup> Prevalencija se povećava s dobi. Izuzetno je važno što ranije postaviti dijagnozu i započeti liječenje u skladu s težinom promjena na sluznici jednjaka.<sup>2,3</sup> BJ je intestinalna metaplazija, koja nastaje zamjenom višeslojnog pločastog epitela u jednostavan cilindrični (Slika 1).



Slika 1. / Picture 1

Tijekom endoskopije, BJ se dijagnosticira u 6-12% pregledanih.<sup>1</sup> Evolucija od BJ-a do karcinoma traje 20 do 30 godina,<sup>1,4</sup> a gotovo 95% bolesnika koji razvijaju rak ezofagogastričnog (EG) spoja nije znao da su bolovali od BJ.<sup>1,4</sup> Sumnja na postojanje BJ mora biti potvrđena višestrukim biopsijama ezofagogastričnog spoja. Standardna terapija BJ uključuje inhibitore protonске pumpe (IPP).<sup>1</sup> Terapija IPP-om ne dovodi do zadovoljavajuće regresije bolesti kod svih bolesnika, te se stoga u liječenju koristimo raznim ablativnim tehnikama, kao što je argon plazma koagulacija (APK). To je metoda bezkontaktne toplinske elektroakulacije koja stimulira rast normalnog/manje oštećenog tkiva nakon razdoblja oporavka,<sup>5-11</sup> te u većini slučajeva dovodi do potpune ablacije tkiva zahvaćenog promjenama. Mogu se koristiti i druge ablativne tehnike, kao što su fotodinamička terapija i multipolarna elektrokoagulacija. Malo je radova koji uspoređuju rezultate endoskopske resekcije sluznice i APK, a za konačno mišljenje o koristi jedne ili druge tehnike potrebne su studije na većem broju ispitanika.<sup>12</sup> U svijetu je provedeno više kliničkih studija koje su procjenjivale učinak ablativnih tehnika s klasičnim liječenjem inhibitorima protonске pumpe. Kod ispitanika s BJ bez displazije, najčešće se koristila APK.<sup>13-18</sup>

Nakon 1-6 postupaka, postignuta je uspješna stopa eradikacije BJ od 42% do 98%. Specifični tumorski biljezi za otkrivanje ove bolesti za sada nisu otkriveni. U ovom smo istraživanju promatrali mucinozni glikoprotein 2 (MUC2) koji je smješten u vrčastim stanicama, i obično se nalazi u tkivu tankoga crijeva, debeloga crijeva i bronha. MUC2 se ne nalazi u normalnoj sluznici želuca.<sup>19</sup> Izražaj MUC2 u želučanoj ili jednjačnoj sluznici može biti znak intestinalne metaplazije i progresije premaligne promjene u malignu. Ideja studije temelji se na činjenici da je MUC2 smješten samo u vrčastim stanicama, a ne i u stanicama normalnoga tkiva. Imunohistokemijska analiza za MUC2 pokazala je imunoreaktivnost u vrčastim stanicama koje su karakteristične za BJ.<sup>19</sup> Također se nalazi u karcinomu jednjaka, želuca i debeloga crijeva. Osim MUC2, promatrali smo izražajnost vaskularog endotelnog faktora rasta (VEGF) koji je uključen u proces vaskulogeneze i angiogeneze. Tumori koji proizvode VEGF imaju metastatski potencijal. Izražajnost VEGF-a važan je čimbenik u metaplastičnoj promjeni mukoze endokrinih stanica; ove stanice pokazuju izražajnost VEGF-a u citoplazmi.<sup>20</sup> Izražajnost VEGF-a važan je čimbenik za rast i metastatsku aktivnost tumora, kao što su tumor dojke, debeloga crijeva i tumor jetre, a također je prisutan i kod karcinoma želuca i jednjaka, te stoga može poslužiti kao prognostički biljeg napredovanja tumora.<sup>21</sup> Za bolju detekciju zahvaćenoga tkiva proizvode se sofisticirani endoskopi s mogućnošću korištenja tehnike Narrow band imaging (NBI). To je metoda kojom se svjetlost specifične plave (440 – 460 nm) i zelene (540 – 560 nm) valne duljine koristi u razlikovanju krvnih žila (vaskularizacije) u odnosu na okolno tkivo. Naime, ovom se tehnikom krvne žile prikazuju izrazito tamne u odnosu na okolne strukture, a poznato je da svako tkivo s mogućom malignom alteracijom ima izraženu vaskularizaciju (utjecaj VEGF-a).<sup>22</sup> Cilj ove studije bio je procijeniti učinak APK u liječenju BJ i izražajnosti MUC2 i VEGF u sluznici BJ prije i nakon APK tretmana. Promatran je učinak tretmana APK-om na regresiju iz BJ-a na gastroefofagealnu refluksnu bolest (GERB). Prema našem saznanju, ovo je prva studija u Hrvatskoj koja je procijenila učinak APK-a na izražajnost biljega intestinalne metaplazije pločastog u cilindrični epitel na sluznici jednjaka (tj. MUC2 i VEGF).

## Materijali i metode

### Ispitanici

U studiju je bilo uključeno pet ispitanika s BJ – kratkoga segmenta, koji su bili liječeni standardnom dozom IPP-a. Ispitanici su praćeni u razdoblju od šest godina (2009. – 2015.). Svi su ispunili GERB upitnik koji je pripremilo Hrvatsko gastroenterološko društvo, te su potpisali informirani pristanak. Studija je provedena po etičkim načelima Helsinške deklaracije. Ispitanici su imali sljedeće simptome: regurgitaciju kiselog sadržaja u usta, dispepsiju, nedostatak apetita, ali bez gubitka na tjelesnoj težini. Nisu bili pretili, nisu konzumirali alkohol ili nikotin. Zadarska županija ima oko 170.000 stanovnika. U gastroenterološkoj ambulanti se na godišnjoj razini učini između 3000 – 3500 ezofagogastroduodenoskopija. Pozitivan nalaz GERB-a je čest; nalazi se u oko 20 – 25% pregledanih, a od toga se broja BJ na godišnjoj razini dijagnosticira u svega nekoliko oboljelih. U osnovnu studiju uključeno je 36 ispitanika s dijagnozom BJ. Otkrili smo 4 ispitanika s karcinomom jednjaka, te 32 ispitanika s BJ. Petero ispitanika ispunjavalo je uvjete za liječenje APK -om, kao što su intestinalna metaplazija (IM) sa i/ili bez displazije (D) niskoga stupnja. Ispitanici bez IM ili D liječeni su samo s IPP-om, za razliku od bolesnika s visokim stupnjem displazije koji su predmet agresivnih tehnika liječenja, kao što je radiofrekventna ablacija (RFA), endoskopska mukozna resekcija (EMR) ili kirurško liječenje. Svi ispitanici uključeni u studiju obavili su kontrolne EGDS a biopsijama EG spoja, a četiri ispitanika s dokazanim adenokarcinomom su nakon operacije u praćenju i za sada bez propagacije maligne bolesti. Dalje ćemo razmatrati ispitanike koji udovoljavaju kriterijima za liječenje APK-om. Osim uobičajenih postupaka (anamneza, fizikalni pregled, ultrazvuk abdomena, osnovni laboratorijski nalaz), u četiri žene u dobi od 33, 59, 60 i 68 godina i jednog muškarca u dobi od 70 godina učinjena je ezofagogastroduodenoskopija (EGDS) s biopsijom EG spoja. U razdoblju od 3-6 godina redovito su podvrgavani endoskopskoj kontroli s biopsijama.

### APK tretman

Indikacije za liječenje APK-om bile su sljedeće: neučinkovitost standardne terapije IPP-om u bolesnika s IM ili niskim stupnjem D, te progresija ili postojanje IM i D nakon standardne terapije IPP-om. Svih pet ispitanika podvrgnuto je APK, u dva navrata u razdoblju od 1-2 godine. Postupak je proveden pomoću AUTO CAT aparata (SOMA TECHNOLOGY, INC., SAD). Protok argon plazme bio je 1,2 L/min s energijom od 60

wat, tijekom nekoliko sekundi, bez izravnog kontakta s tkivom. Između tretmana s APK-om liječeni su dvostrukom dozom IPP-a.<sup>2,3</sup> Ispitanici su samoinicijativno nakon samo 3-4 tjedna "smanjili" dozu IPP-a do doze koja je kontrolirala simptome (uglavnom polovica preporučene doze). Preporučena doza bila je 40 mg pantoprazola dva puta dnevno, tri mjeseca, a zatim 40 mg dnevno tijekom sljedeća 3 mjeseca, a nakon tog razdoblja bolesnici uzimaju terapiju na zahtjev dulje vrijeme.

### Imunohistokemijska analiza MUC2

U laboratoriju za imunohistokemiju Odjela za patologiju, citologiju i sudsku medicinu Opće bolnice Zadar iz parafinskog bloka tumorskoga tkiva izrezani su preparati debljine 3-4 µm, te montirani na silanizirane predmetnice. Nakon rezanja grijani su u termostatu na 60°C sat vremena nakon čega su bojani primjenom neizravne imunohistokemijske metode bez biotina koristeći Ultra View Universal DAB Detection kit marke Ventana. Daljnji postupci koji su potrebni za izvođenje imunohistokemijske analize izvedeni su potpuno automatizirano na platformi Ventana BenchmarkGX po sljedećem protokolu:

#### Deparafinizacija:

Na preparate se aplicira sistemski otopina EZ prep nakon čega se preparati zagrijavaju na 75°C, inkubacija 16 minuta, ispiranje TRIS-puferom.

#### Razotkrivanje antigena:

Na preparate se aplicira sistemski otopina CC1 (TRIS/BORAT/EDTA PUFER pH 8,4) preparati se zagrijavaju na 95°C, inkubacija traje 30 minuta, hlađenje na 37°C, ispiranje TRIS-puferom.

#### Blokiranje endogene peptidaze:

Na preparate se aplicira H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, inkubacija traje 4 minute, ispiranje TRIS-puferom.

#### Aplikacija primarnog protutijela:

Na preparate je aplicirano primarno monoklonalno, mišje protutijelo MUC2 Clone CCP58 marke DAKO razrijeđeno diluentom u omjeru 1:50, inkubacija 30 minuta, ispiranje TRIS-puferom.

#### Aplikacija sekundarnog protutijela:

Na preparate se aplicira multimer, odnosno koktel sekundarnih protutijela na koja su vezani enzimi HRP (horseradish peroksidaza), a inkubacija traje 8 minuta.

#### Vizualizacija

Kompleks antigen/primarno protutijelo/sekundarno protutijelo (multimer HRP) vizualizira se apliciranjem

supstrata H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, te kromogena 3,3 diaminobenzidin tetra klorid DAB, a inkubacija traje 8 minuta.

*Poboljšanje intenziteta obojenja:*

Na preparate se aplicira UV Copper (metal za pojačavanje intenziteta obojenja), inkubacija traje 4 minute, ispiranje TRIS-puferom.

Kontrastno bojanje učinjeno je hematoksilinom. Preparati su dehidrirani u rastućem gradijentu alkohola bistreni u ksilolu, te pokriveni filmom za pokrivanje histoloških preparata.

Kao pozitivna kontrola za MUC2 korišteno je tkivo debeloga crijeva.

Nalaz se tumačio na sljedeći način: 0 – bez bojanja stanica, +1 ako je došlo do bojanja najmanje 30% stanica, +2 ako je došlo do bojanja 31-60% stanica, te +3 ako je došlo do bojanja više od 60% stanica.<sup>16</sup>

*Imunohistokemijska analiza VEGF*

U laboratoriju za imunohistokemiju Odjela za patologiju, citologiju i sudsku medicinu Opće bolnice Zadar iz parafinskog bloka tumorskoga tkiva izrezani su preparati debljine 3-4 µm, te montirani na silanizirane predmetnice. Nakon rezanja grijani su u termostatu na 60°C sat vremena, nakon čega su bojani primjenom neizravne imunohistokemijske metode bez biotina, koristeći UltraView Universal DAB Detection kit marke Ventana. Daljnji postupci koji su potrebni za izvođenje imunohistokemijske analize izvedeni su potpuno automatizirano na platformi Ventana BenchmarkGX po sljedećem protokolu:

*Deparafinizacija:*

Na preparate se aplicira sistemska otopina EZ prep, nakon čega se preparati zagrijavaju na 75°C, inkubacija traje 16 minuta, ispiranje TRIS-puferom.

*Razotkrivanje antigena:*

Na preparate se aplicira sistemska otopina CC1 (TRIS/BORAT/EDTA PUFER pH 8,4), preparati se zagrijavaju na 95°C, inkubacija traje 60 minuta, hlađenje na 37°C, ispiranje TRIS-puferom.

*Blokiranje endogene peptidaze:*

Na preparate se aplicira H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, inkubacija traje 4 minute, ispiranje TRIS-puferom.

*Aplikacija primarnoga protutijela:*

Na preparate je aplicirano primarno monoklonalno, mišje protutijelo Vascular Endotelial Growth Factor Clone VG1 marke DAKO razrijeđeno diluentom u omjeru 1:30, inkubacija traje 32 minute, ispiranje TRIS-puferom.

*Aplikacija sekundarnog protutijela:*

Na preparate se aplicira multimer, odnosno koktel sekundarnih protutijela na koja su vezani enzimi HRP (horseradish peroksidaza), a inkubacija traje 8 minuta.

*Vizualizacija*

Kompleks antigen/primarno protutijelo/sekundarno protutijelo (multimerHRP) vizualizira se apliciranjem supstrata H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, te kromogena 3,3 diaminobenzidin tetra klorid DAB, inkubacija 8 minuta.

*Poboljšanje intenziteta obojenja:*

Na preparate se aplicira UV Copper (metal za pojačavanje intenziteta obojenja), inkubacija traje 4 minute, ispiranje TRIS-puferom.

Kontrastno je bojanje učinjeno hematoksilinom. Preparati su dehidrirani u rastućem gradijentu alkohola, bistreni u ksilolu, te pokriveni filmom za pokrivanje histoloških preparata.

Kao pozitivna kontrola za VEGF korišteno je tkivo tonzile.

Nalaz se tumačio na sljedeći način: uzorci obojani anti-VEGF antitijelom su žuto-smeđe granule u citoplazmi stanica ili citoplazmatskoj membrani. Negativan uzorak je onaj u kojemu je manje od 30% stanica sadržavalo VEGF, a pozitivan ukoliko je 31 – 100% stanica imalo VEGF.<sup>12,13</sup>

**Statistička analiza**

Učinjena je statistička analiza i testovi koji su dostupni za ispitivanje malih uzoraka, kao što je Bootstrap tehnika, Testovi  $\chi$ .

**Rezultati**

Tablica 1 prikazuje simptome prije i poslije APK i IPP-a . Tablica 2 prikazuje patohistološke značajke BJ u ispitivanoj skupini. U četiri ispitanice s promjenama sluznice u smislu IM i/ili displazije, nakon APK-e došlo je do regresije opisanih promjena, a endoskopski nalazi, biopsija i PHD potvrdili su zdravu sluznicu bez histoloških znakova BJ (Slika 2). Jedan ispitanik je imao progresiju IM tipa I u IM tip III. Imunohistokemijski je dokazana izražajnost MUC2 u jedne ispitanice, a nakon liječenja nalaz je bio negativan. VEGF je kod svih ispitanika bio pozitivan prije liječenja, dok je nakon tretmana, regresija zabilježena u jednog ispitanika.

Tablica 1. Simptomi prije i nakon APK i IPP (rangirani od najmlađega do najstarijega)  
 Table 1 Symptoms before and after APC and PPI (ranked from the youngest to the oldest patient)

Dob Age	Regurgitacija Regurgitation		Žarenje Burning phenomenon		Dispepsija Dyspepsia		Gubitak na težini Loss of weight	
	Prije Before	Nakon After	Prije Before	Nakon After	Prije Before	Nakon After	Prije Before	Nakon After
33 ž/f	2	n	1	n	2	n	n	n
59 ž/f	2	n	2	n	2	1	n	n
60 ž/f	2	1	2	n	3	1	n	n
68 ž/f	1	n	1	n	2	n	n	n
70 m/m	2	1	2	1	3	2	n	n

Na skali od 1 do 10: 1-3 = 1, 4-7 = 2, 8-10 = 3, n = ne, ž = žena, m = muškarac, rangirani od najmlađeg do najstarijeg  
 In scale from 1 to 10: 1-3 = 1, 4-7 = 2, 8-10 = 3, n = no, f = female, m = male, ranked from youngest to oldest patient

Tablica 2. Rezultati imunohistokemije prije i nakon APK. Intezitet bojanja za MUC2 i VEGF, te stupanj D i IM  
 Table 2 Immunohistochemical results before and after APC. Extent of staining for MUC2 and VEGF, and stage for D and IM

	Prije APK / Before APC	Nakon APK / After APC
Stupanj intestinalne metaplazije Stadium of intestinal metaplasia		
0	0	1
1	2	2
2	1	1
3	2	1
Stupanj displazije Stadium of dysplasia		
0	0	0
1	1	0
2	0	0
3	0	0
Intezitet bojanja VEGF-a VEGF staining intensity		
bez bojanja / no staining	0	1
1% - 50%	5	4
51% - 100%	0	0
Intezitet bojanja MUC2 MUC2 staining intensity		
bez bojanja / no staining	4	5
1% - 30%	1	0
31% - 60%	0	0
61% - 100 %	0	0

Podaci su prezentirani kao broj ispitanika / Data are presented as number of patients

IM = intestinalna metaplazija; D= displazija; VEGF = vaskularni endotelni faktor rasta; MUC2 = mucin 2  
 IM = Intestinal metaplasia; D = dysplasia; VEGF = Vascular endothelial growth factor; MUC2 = Mucin 2;

MUC 2: 0 = bez bojanja; 1 = bojanje 1% - 30%, 2 = bojanje 31% - 60%; 3 = bojanje preko 61% stanica

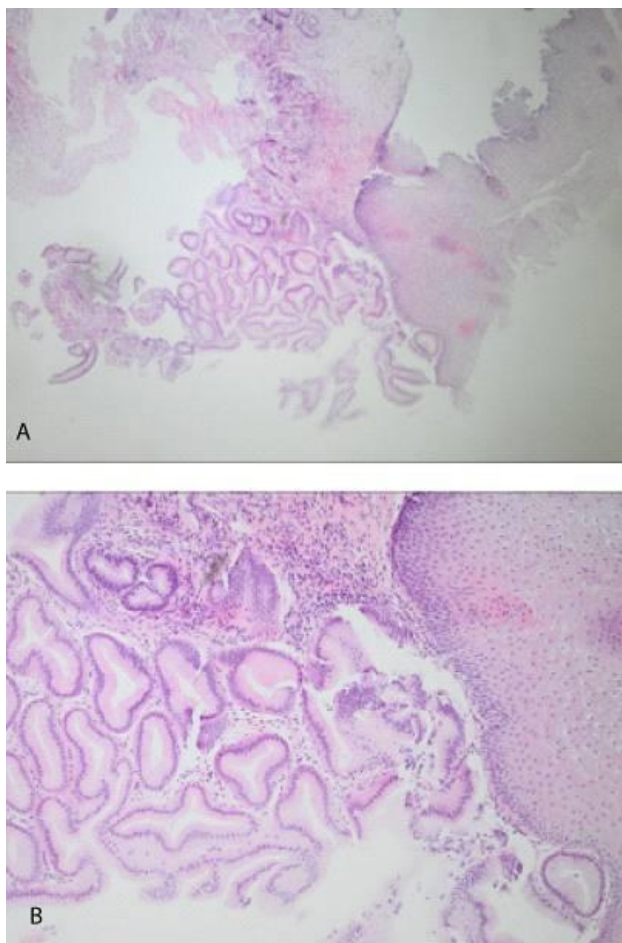
MUC 2 : 0 = no staining; 1 = staining 1% - 30%; 2 = staining 31% - 60%; 3 = staining over 61% of cells;

VEGF : 0= bez bojanja; 1= 1% - 50%, 2= 51% - 100%

VEGF: 0 = no staining; 1 = 1%-50%, 2 = 51% - 100%;

0-3 stadij D i IM, brojevi od 1-5 prikazuju broj ispitanika u grupama

0 - 3 stadium of D and IM; number 1-5 presents a number of patients in every group.



Slika 2 A i B  
Picture 2 A and B

### Rasprava

Nakon tretmana IPP-om i APK-om, dokazali smo regresiju IM i D u četiri ispitanika. Biopsije nisu potvrdile znakove BJ-a. Prije liječenja potvrđena je izražajnost MUC2 u jednog ispitanika, a VEGF je bio prisutan kod svih. Glavni rezultati ove studije su:

a) liječenje APK dovodi do ozljede metaplastičnog epitela, kako bi se potaknula djelomična ili potpuna regresija BJ i reepitelizacija pločastih stanica nastalih iz pluripotencijalnih matičnih stanica na tretiranom području<sup>23</sup> – u četiri naše ispitanice, nakon tretmana APK-om i IPP-om došlo je do regresije promjena iz BJ u GERB;

b) Izražajnost VEGF-a presudna je za stvaranje novih krvnih (angiogeneza) i limfnih žila (limfangiogeneza). Angiogeneza je važna za kontinuirani rast tumora, a limfangiogeneza je važna za metastatsko širenje tumora. Brojne studije izvijestile su o porastu izražajnosti VEGF-a kod ranog BJ-a preko displazije

do adenokarcinoma<sup>24</sup> – svi su naši ispitanici imali pozitivan nalaz VEGF-a na početku tretmana, dok se kod jednog ispitanika nakon tretmana više nije mogao dokazati VEGF u biopsijama tretiranog EG spoja;

c) izražajnost MUC2 mogla bi biti korisna za otkrivanje IM-e – u našoj je studiji MUC 2 bio pozitivan u jedne ispitanice prije tretmana APK-om, a nakon tretmana, više nije bio detektabilan u kontrolnim biopsijama EG spoja. Tijekom EGDS-a, Barrettov jednjak dijagnosticira se u 6-12% ispitanika,<sup>1</sup> u našoj studiji broj otkrivenih još je niži (oko 3%). Mogući razlozi su: nedovoljno pažljivo pretraživanje toga područja, nedostatak sofisticiranih endoskopa koji imaju sposobnost pretraživanja uz pomoć NBI, neadekvatno uzimanje biopsija; naime zbog velike pokretljivosti jednjaka, često se dobije biopsija kardije, a ne EG spoja. Stoga, ispitivanje izražajnosti VEGF-a u bioptičkim uzorcima može biti zamjenska metoda za NBI. U ovoj je studiji izražajnost VEGF-a zabilježena kod svih ispitanika prije, te u četiri ispitanika nakon APK. Nismo dokazali značajan utjecaj APK na vaskulogenezu. Samo specijalizirana intestinalna metaplazija može napredovati u displaziju niskog i visokog stupnja i konačno u karcinom.<sup>2</sup> Nedostatak APK je ponovna pojavnost BJ-a i rezidua, što se može objasniti malim prodorom argona u tkivo. APK se koristi za ablaciju rezidua nakon endoskopske mukozne resekcije, ablaciju BJ i karcinoma jednjaka.<sup>13</sup> Djelomičan uspjeh možemo dovesti u vezu s činjenicom da ispitanici nisu koristili IPP prije, tijekom i nakon APK postupka, kako je preporučeno. Unatoč tome i malom broju ispitanika, naši rezultati bili su slični rezultatima drugih studija (Van Laethem JL i sur., Shaligrams S. i sur., Mörk H. i sur.). Najbolji je primjer istraživanje Shaligrams S. i sur.<sup>25</sup> koje je pokazalo sljedeće rezultate ablacije sluznice BJ (APK ili multipolarna elektrokoagulacija) na uzorku od 28 bolesnika. Bolesnici su praćeni 6,4 godine nakon ablacijske terapije. Većina njih se (79%) prezentirala BJ bez displazije. Početna kompletna eradikacija IM nastupila je u vremenskom razdoblju od 4,1 mjeseca. Za vrijeme 40-mjesečnog praćenja, u 50% bolesnika (14 od 28), nakon 100%-tne ablacije, ponovno se razvila IM u BJ-u. Za vrijeme završne obrade, u 36% bolesnika, nakon višestrukih postupaka ablacije, došlo je do potpune regresije IM; 18% je i dalje imalo IM u BJ-u, a u jednog je bolesnika dijagnosticiran adenokarcinom. U tom razdoblju, 21% bolesnika umrlo je od incidenata nepovezanih s BJ-om.

Zaključno, u 50% bolesnika nastupila je potpuna regresija IM, a samim time i BJ. Međutim, uvažavajući ostale rezultate, čini se da je potpuna remisija BJ za

sada "nemoguća misija". Rezultati nameću raspravu o ulozi ablativne terapije u bolesnika s niskim rizikom BJ.<sup>26</sup> U slučaju endoskopski i histopatološki negativnih rezultata preporučuje se doza IPP-a koja kontrolira simptome GERB-a. U BJ s displazijom, bez obzira na razinu, potrebno je pribjeći učinkovitijim metodama liječenja, kao što je RFA. Kirurško liječenje je indicirano u BJ s visokim stupnjem displastičnih promjena u mlađoj populaciji.

### Ograničenja studije

Ova studija ima nekoliko ograničenja. Osnovno je mali broj ispitanika kod kojih je postavljena dijagnoza BJ-a u populaciji naše regije. Drugo, APK se koristi samo kod ispitanika s niskim stupnjem displazije ili bez displazije. Treće, naš uzorak nije bio reprezentativan generalno u odnosu na populaciju, jer nismo imali isti broj ispitanika usklađen prema dobi i spolu.

### Zaključak

Kod ispitanika je došlo do kliničkog poboljšanja. Ispitanici su imali manje simptoma ili su bili potpuno bez simptoma regurgitacije, žarenja i dispepsije koji su bili vodeći simptomi za dolazak u našu gastroenterološku ambulantu. Izražajnost MUC2 i VEGF, koji su biljezi intestinalne diferencijacije, dokazana je, u sluznici BJ. Nakon tretmana IPP-om i APK-om, u četiri ispitanika došlo je do histološke regresije – od BJ do GERB-a. VEGF nije bio detektabilan u jednog ispitanika nakon provedenoga tretmana. Nastaviti ćemo istraživanja na ovom području, posebno u otkrivanju novih bolesnika s BJ-om, te u obrazovanju ispitanika radi postizanja bolje suradnje u prihvaćanju preporuka terapijskoga protokola.

### Literatura

1. Konda VJ, Cherkezyan L, Subramanian H, et al. Nanoscale markers of esophageal field carcinogenesis: potential implications for esophageal cancer screening. *Endoscopy*. 2013;45:983-8.
2. Pulanić R. Tumors of the esophagus. In: Vucelic B, editor. *Gastroenterology and hepatology*, Zagreb: Medical Publishing; 2002. p. 425-442.
3. Sleisenger and Fordtran's Gastroesophageal reflux disease and its complications. In: Sleisenger and Fordtran's *Gastrointestinal and Liver Disease* 8 ed. Philadelphia: Saunders; 2006. p. 921-930.
4. Hardwick RH, Morgan RJ, Warren BF, Lott M, Alderson D. Brush cytology in the diagnosis of neoplasia in Barrett's esophagus. *Dis Esophagus*. 1997;10:233-7.
5. Watson JP, Bennett MK, Griffin SM, Matthewson K. The tissue effect of argon plasma coagulation on

- esophageal and gastric mucosa. *Gastrointest Endosc*. 2000;52:342-5.
6. Brand E, Pearlman N. Electrosurgical debulking of ovarian cancer: a new technique using the argon beam coagulator. *Gynecol Oncol*. 1990;39:115-8.
7. Daniell J, Fisher B, Alexander W. Laparoscopic evaluation of the argon beam coagulator. Initial report. *J Reprod Med*. 1993;38:121-5.
8. Lewis RJ, Caccavale RJ, Sisler GE. VATS-Argon Beam Coagulator treatment of diffuse end-stage bilateral bullous disease of the lung. *Ann Thorac Surg*. 1993;55:1394-8.
9. Farin G, Grund KE. Technology of argon plasma coagulation with particular regard to endoscopic applications. *Endosc Surg Allied Technol*. 1994;2:71-7.
10. Ginsberg GG, Barkun AN, Bosco JJ, et al. The argon plasma coagulator: February 2002. *Gastrointest Endosc*. 2002;55:807-10.
11. Vargo JJ. Clinical applications of the argon plasma coagulator. *Gastrointest Endosc*. 2004;59:81-8.
12. Verbeek RE, Vleggaar FP, Ten Kate FJ, van Baal JW, Siersema PD. Cryospray ablation using pressurized CO<sub>2</sub> for ablation of Barrett's esophagus with early neoplasia: early termination of a prospective series. *Endosc Int Open*. 2015;3:E107-12.
13. Van Laethem JL, Cremer M, Peny MO, Delhaye M, Devière J. Eradication of Barrett's mucosa with argon plasma coagulation and acid suppression: immediate and mid term results. *Gut*. 1998;43:747-51.
14. Byrne JP, Armstrong GR, Attwood SE. Restoration of the normal squamous lining in Barrett's esophagus by argon beam plasma coagulation. *Am J Gastroenterol*. 1998;93:1810-5.
15. Mörk H, Barth T, Kreipe HH, et al. Reconstitution of squamous epithelium in Barrett's oesophagus with endoscopic argon plasma coagulation: a prospective study. *Scand J Gastroenterol*. 1998;33:1130-4.
16. Grade AJ, Shah IA, Medlin SM, Ramirez FC. The efficacy and safety of argon plasma coagulation therapy in Barrett's esophagus. *Gastrointest Endosc*. 1999;50:18-22.
17. Schulz H, Miehle S, Antos D, et al. Ablation of Barrett's epithelium by endoscopic argon plasma coagulation in combination with high-dose omeprazole. *Gastrointest Endosc*. 2000;51:659-63.
18. Pereira-Lima JC, Busnello JV, Saul C, et al. High power setting argon plasma coagulation for the eradication of Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol*. 2000;95:1661-8.
19. McIntire MG, Soucy G, Vaughan TL, Shahsafaei A, Odze RD. MUC2 is a highly specific marker of goblet cell metaplasia in the distal esophagus and gastroesophageal junction. *Am J Surg Pathol*. 2011;35:1007-13.
20. Vascular endothelial growth factor [Internet]. [cited 2016 November 11]. Available from: [https://en.wikipedia.org/wiki/Vascular\\_endothelial\\_growth\\_factor](https://en.wikipedia.org/wiki/Vascular_endothelial_growth_factor)
21. Chen M, Cai E, Huang J, Yu P, Li K. Prognostic value of vascular endothelial growth factor expression in patients with esophageal cancer: a systematic review

- and meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2012;21:1126-34.
22. Bergman JJ. Barrett's esophagus: Evaluation with Narrow Band Imaging [Internet]. [cited 2016 May 18]. Available from: [http://www.uptodate.com/contents/barretts-esophagus-evaluation-with-narrow-band-imaging?source=search\\_result&search=Barrett%27s+esophagus%3A+Evaluation+with+Narrow+Band+Imaging&selectedTitle=1~92](http://www.uptodate.com/contents/barretts-esophagus-evaluation-with-narrow-band-imaging?source=search_result&search=Barrett%27s+esophagus%3A+Evaluation+with+Narrow+Band+Imaging&selectedTitle=1~92).
23. Kahaleh M, Van Laethem JL, Devière J. What are the indications of argon beam plasma coagulation for eradication of Barrett's esophagus? [Internet]. [cited 2016 November 24]. Available from: [http://www.hon.ch/OESO/books/Vol\\_6\\_Barrett\\_s\\_Esophagus/Articles/vol2/art046.html](http://www.hon.ch/OESO/books/Vol_6_Barrett_s_Esophagus/Articles/vol2/art046.html).
24. Burjonrappa SC, Reddimasu S, Nawaz Z, Gao X, Sharma P, Loggie B. Mucin expression profile in Barrett's, dysplasia, adenocarcinoma sequence in the esophagus. *Indian J Cancer.* 2007;44:1-5.
25. Saligram S, Tofteland N, Wani S, et al. Long-term results of the mucosal ablation of Barrett's esophagus: efficacy and recurrence [Internet]. [cited 2016 May 22]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4486038/>.
26. Burmester E, Jakobeit C, Welp L, et al. Esophagus. In: Rosch T, Will U, Chang KJ, editors. *Longitudinal Endosonography*. Berlin: Springer; 2001; p. 59-63.