



● Havva Hande Keser Şahin,
● Yılmaz Baş*,
● Hatice Reyhan Eğilmez**

Yassı Hücreli Karsinom ve Keratoakantom Ayırıcı Tanısında GLUT-1, COX-2, MMP-19 ve p53'ün Değeri

Values of GLUT-1, COX-2, MMP-19 and p53 in the Differential Diagnosis of Squamous Cell Carcinoma and Keratoacanthoma

Öz

Amaç: Bu çalışmada yassı hücreli karsinom (YHK) ve keratoakantom (KA) ayırıcı tanısında GLUT-1, COX-2, MMP-19, p53 ve Elastik-van Gieson (EVG) protein ekspresyonlarının anlamlı olup olmadığını araştırmak amaçlanmıştır.

Yöntemler: Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2001 ile 2011 tarihleri arasında tanı almış 105'i YHK, 51'i KA'dan oluşan toplam 156 olgu histokimyasal olarak EVG ve immünohistokimyasal olarak GLUT-1, COX-2, MMP-19 ve p53 çalışılarak incelendi.

Bulgular: YHK ve KA ayırıcı tanısında GLUT-1, COX-2, MMP-19, p53 ve EVG ekspresyon değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$). Tümör grupları arasında en fazla boyanma GLUT-1 (%54) ile, en az boyanma COX-2 (%9) ile görüldü. Çalışmadaki YHK ve KA olguları, GLUT-1 ile sırasıyla %60 ve %41 immünoreaktif; COX-2 ile sırasıyla %13 ve %2 immünoreaktif; MMP-19 ile sırasıyla %24 ve %0 immünoreaktif; p53 ile sırasıyla %31 ve %16 ile immünoreaktif ve EVG ile sırasıyla %20 ve %56,9 historeaktif bulundu.

Sonuç: Çalışmamızda kullandığımız belirteçlerin YHK ve KA'nın ayırıcı tanısında yararlı olduğu görülmüştür. Ancak daha ileri moleküler ve genetik çalışmaların doğru tanıyı kolaylaştıracağını düşünüyoruz.

Anahtar kelimeler: Yassı hücreli karsinom, keratoakantom, immünohistokimya, histokimya

Abstract

Objective: The aim of this study is to investigate whether the expression of GLUT-1, COX-2, MMP-19, p53 and Elastic-van Gieson (EVG) protein are significant in the differential diagnosis of squamous cell carcinoma (SCC) and keratoacanthoma (KA).

Methods: A total of 156 cases, 105 of whom were SCC and 51 were KA, which were diagnosed between 2001 and 2011 years in Cumhuriyet University Department of Pathology, were examined histochemically by EVG and immunohistochemically by GLUT-1, COX-2, MMP-19 and p53.

Results: Expression values of GLUT-1, COX-2, MMP-19, p53, and EVG were found to be statistically significant in the differential diagnosis of SCC and KA ($p < 0,05$). The highest staining was seen with GLUT-1 (54%) and minimal staining with COX-2 (9%) among the tumor groups. The SCC and KA cases in the study were 60% and 41% immunoreactive with GLUT-1; 13% and 2% immunoreactive with COX-2; 24% and 0% immunoreactive with MMP-19; 31% and 16% immunoreactive with p53; 20% and 56.9% historeactive with EVG, respectively.

Conclusion: All markers used in our study were found to be useful in the differential diagnosis of SCC and KA, but, we think that further molecular and genetic studies will facilitate the correct diagnosis.

Keywords: Squamous cell carcinoma, keratoacanthoma, immunohistochemistry, histochemistry

Hitit Üniversitesi Erol Olçok Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji Kliniği, Çorum, Türkiye

*Hitit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Çorum, Türkiye

**Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye

Yazışma Adresi/ Correspondence:

Havva Hande Keser Şahin, Hitit Üniversitesi Çorum Erol Olçok Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji Kliniği, Çorum, Türkiye
Tel.: +90 364 219 30 00
E-posta: hndksr@hotmail.com
ORCID-ID:
orcid.org/0000-0003-1827-1039
Geliş Tarihi/Submitted: 10.06.2018
Kabul Tarihi/Accepted: 11.08.2018

Giriş

Yassı hücreli karsinom (YHK), keratinositlerin anormal proliferasyonu ile karakterize, malign bir neoplazmdir. Dünyada en sık görülen ikinci malignitedir (1). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından hücre kökenlerine göre sınıflandırılmıştır (2). Etiyolojisinde en çok güneş ışınlarına aşırı maruziyet, ultraviyole B vardır ve bunlar DNA hasarı yapmaktadır (3). YHK, derinin ve skuamöz epitelin bulunduğu herhangi bir bölgeden gelişebilir. YHK'da histolojik tanı, stromal desmoplazi, atipik skuamöz hücrelerin varlığı ve tümör kümeleri ile stroma arasında keskin bir sınırın izlenmemesi gibi bulgular ile konulur (1). Keratoakantom (KA) sıklığı kesin olarak bilinmemektedir. Hemen hemen tüm KA'lar deride kıl folikülleri içeren vücut bölgelerinden gelişirken, mukozal yüzeylerde de tariflenmiştir (4). Etiyolojide ultraviyole ışınlarının etkisi oldukça iyi bilinmektedir. Klinik olarak hızlı büyür ve duraklar. Sonrasında da kısmen veya tamamen geriler (5). Genellikle KA olguları histopatolojik olarak, iyi diferansiye, ekzofitik şekilde gelişen YHK benzemektedir (4). KA'nın YHK'dan histolojik zeminde ayırımı uzun zamandır tartışılmaktadır (6). Bazı yazarlar KA'yı YHK'nın bir varyantı olarak kabul ediyorken, bazıları ise KA'nın YHK'ya progrese olduğunu iddia etmektedirler (7). KA ve YHK olgularında sitolojik özellikler birçok olguda büyük benzerlikler gösterebilir de tümörün yapısal özelliklerine göre YHK ve KA ayırımı sağlanır (8). Ancak iyi bir biyopsi örneğinde bile yeterli sensitivite veya spesifite gösteren histolojik özelliklerin bulunmayış sebebiyle KA olgularının YHK olgularından ayırt edilebilmeleri bazen histolojik olarak da mümkün olmamaktadır. Bundan dolayı uzun yıllar boyunca KA'lar ile YHK'ların ayırıcı tanısı için çeşitli belirteçler denenmiştir (4,9).

Bu nedenlerle, bu çalışmada YHK ile KA'nın ayırıcı tanısında immünohistokimyasal GLUT-1, COX-2, MMP-19 ve p53 belirteçleri araştırmak amaçlanmıştır.

Yöntemler

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nın arşiv kayıtlarından 2001-2011 tarihleri arasında YHK ve KA tanısı almış olgular tespit edildi. Etik kurul onayı Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurul'dan alındı (karar no 2012-01/32). Bu olgulara ait %10'luk formaldehit solüsyonu ile tespit edilmiş ve rutin doku takibi ile hazırlanmış parafin bloklar ve bu bloklardan elde edilmiş hematoksilin-eozin boyalı kesitler patoloji arşivinden çıkarılıp retrospektif olarak incelendi. Çalışmamıza 105 YHK, 51 KA olgusu olmak üzere toplam 156 olgu dahil edildi. Bu parafin bloklardan Poly-L-Lysine ile kaplı lamlara 2,5 µm kalınlığında kesitler alındı. Seçilen kesitlere avidin-biyotin peroksidaz immünohistokimyasal yöntemi ile GLUT-1 (Lab Vision Medikal, Mouse Monoclonal Antibody, Clone SPM498, 7,0 mL kullanıma hazır form), MMP-19 (Santa Cruz rabbit policlonal antibody, 1: 50 dilüsyon oranında), COX-2 (Biocare, rabbit Monoclonal Antibody, Clone, SP21 6,0 mL kullanıma hazır form), ve p53 (Leica, Mouse Monoclonal antibody, clone DO-7, 6,0 mL kullanıma hazır form) antikorları uygulandı. Ayrıca

seçilen kesitlerde histokimyasal yöntem ile Elastik-van Gieson (EVG) (Biostain, Code: RRSK 40/100) uygulandı. GLUT-1 için membranöz boyanma, COX-2 ve MMP-19 için de sitoplazmik boyanma, p53 için nükleer boyanma pozitif olarak değerlendirildi. Ayrıca her bir immünohistokimyasal boya için eksternal kontrol preparatları hazırlandı. GLUT-1, COX-2 ve p53 için değerlendirmede boyanma yoğunlukları ve boyanan alanın yüzdeleri esas alınarak skorlama yapıldı (10). Buna göre boyanma yoğunlukları, negatif (boyanma yok), 1+ (zayıf boyanma), 2+ (orta boyanma), 3+ (kuvvetli boyanma) şeklinde değerlendirildi. Boyanan alanın yüzdeleri ise, 0 olduğunda 0, <%25 olduğunda 1, %25-50 olduğunda 2, >%50 olduğunda 3 olarak skorlandı. Boyanma yoğunluğunun skoru ile boyanan alanın yüzde değerinden elde edilen skor çarpılarak olguya ait son skor elde edildi. Buna göre de, skor (0) negatif, skor (1-3) düşük, skor (4-6); orta, skor (7-9); yüksek ekspresyon olarak değerlendirildi. (Tablo 1). Elde edilen değerlere göre istatistiksel veriler için tekrar negatif ise (0), düşük ise (1), orta ise (2), yüksek ise (3) sayısal değerleri verilerek kullanılan her antikor için olgular istatistiksel incelemeye alındı. İmmünoreaktivitelere göre skorlama yöntemi Tablo 1'de gösterildi.

MMP-19 ve EVG için değerlendirme boyanma yok (0), boyanma var (1) olarak yapıldı.

İstatistiksel Analiz

Veriler SPSS 22.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, America) paket programı ile analiz edildi. Çalışmada 4 farklı immünohistokimyasal boya, 1 histokimyasal boya kullanıldı. KA ile squamous cell carcinoma ayırımında boyaların anlamlı bir fark oluşturup oluşturmadığı test edildi. Verilerin değerlendirilmesinde ki-kare testi kullanıldı. Sonuçlar %95 güven aralığında değerlendirilerek p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Toplam 156 olgu tespit edildi. 105 olgu (%67,3) YHK, 51 olgu (%32,7) KA ve 39 (%25) olgu kadın, 117 (%75) olgu erkekti. YHK olgularının 18'i kadın, 87'si erkekti. KA olgularının 21'i kadın, 30'u erkekti. YHK olgularında en genç hasta 26, en yaşlı hasta 95, KA olgularında en genç hasta 27, en yaşlı hasta

Tablo 1. İmmünoreaktivitelere göre skorlama yöntemi

Skor	Boyanma yoğunluğu	Boyanan alan yüzdesi (%)
0	Negatif	0
1	Zayıf	<25
2	Orta	25-50
3	Kuvvetli	>50
Total skor	Boyanma yoğunluğu	Boyanan alan yüzdesi
0	Negatif	(0)
1-3	Düşük	(1)
4-6	Orta	(2)
7-9	Yüksek	(3)

89 yaşındaydı. Kadınların genel yaş ortalaması $65,56 \pm 15,52$, erkeklerin genel yaş ortalaması $63,96 \pm 14,43$ 'tür. Çalışmaya alınan hasta grubunun 10 yıllık süreç içerisinde yıllara göre dağılımında 29 olgu ile en çok 2011'e aittir. Alt dudak lezyonların en çok lokalize olduğu yeri (Resim 1a). Tüm lezyonların en büyük çapı 9 cm, en küçük çapı 0,1 cm'dir. Ortalama çap 1,5 cm'dir. Standart sapma 1,3'dür. YHK'ya ait lezyonlarda en büyük çap 9 cm, en küçük çap 0,1 cm, ortalama çap 1,74 cm ve standart sapma 1,52'dir. KA'ya ait lezyonlarda en büyük çap 3,5 cm, en küçük çap 0,1 cm, ortalama çap 1,23 cm ve standart sapma 0,71'dir (Resim 1b).

GLUT-1 ekspresyonu: YHK tanısı alan 105 olgudan 88'i (%83,8) GLUT-1 ile pozitif boyanır iken, bunların 24'ü (%28,2) zayıf, 32'si (%30,4) orta, 32'si (%30,4) yüksek derecede ekspresyon gösterdi (Şekil 1a). KA tanılı 51 olgudan 45'i (%62,5) pozitif boyanırken, bunların 24'ü zayıf (%37,5), 9'u (%17,6) orta, 12'si (%23,5) yüksek derecede ekspresyon gösterdi (Şekil 1b).

GLUT-1 periferde baskın olarak, santralde daha zayıf olacak biçimde membranöz ve sitoplazmik boyandı. Eritrositler her kesitte internal kontrol olarak göz önüne alındı. KA'da %64 bazal paternde %23'ünde de diffüz paternde olacak şekilde bifazik boyanma paterni tespit edildi. İstatistiksel olarak bulgular anlamlıydı ($p < 0,05$). YHK'da skuamöz kümelerin hem bazal hem de santral kısmında fokal boyanma tespit edildi. KA'da skuamöz kümelerin çevredeki nonkeratinize bazal tabaka boyandı ve santraldeki boyanmayan kısımdan keskin sınırlarla ayrıldığı gözlemlendi. GLUT-1 ekspresyonu açısından YHK ile KA arasındaki farklılık anlamlıydı ($p < 0,05$). YHK için sensitivite %60, spesifite %58, KA için sensitivite %41, spesifite %39 olarak bulundu.

COX-2 ekspresyonu: YHK tanısı alan 105 olgudan 58'i (%55,2) COX-2 ile pozitif boyanırken, bunların 44'ü (%41,9) zayıf, 14'ü (%13,3) orta derecede ekspresyon gösterdi (Şekil 1c). KA tanılı 51 olgudan 23'ü (%45) pozitif boyanırken, bunların 23'si zayıf (%43,1), 1'i (%1,9) orta derecede ekspresyon gösterdi (Şekil 1d).

Çalışmamızda COX-2 sitoplazmik boyanma göstermiştir. İstatistiksel olarak COX-2'nin boyanma oranları dikkate alındığında YHK ve KA arasında anlamlı fark olduğu saptandı ($p < 0,05$). YHK için sensitivite %13, spesifite %98 ve KA için sensitivite %2, spesifite %86'ydı.

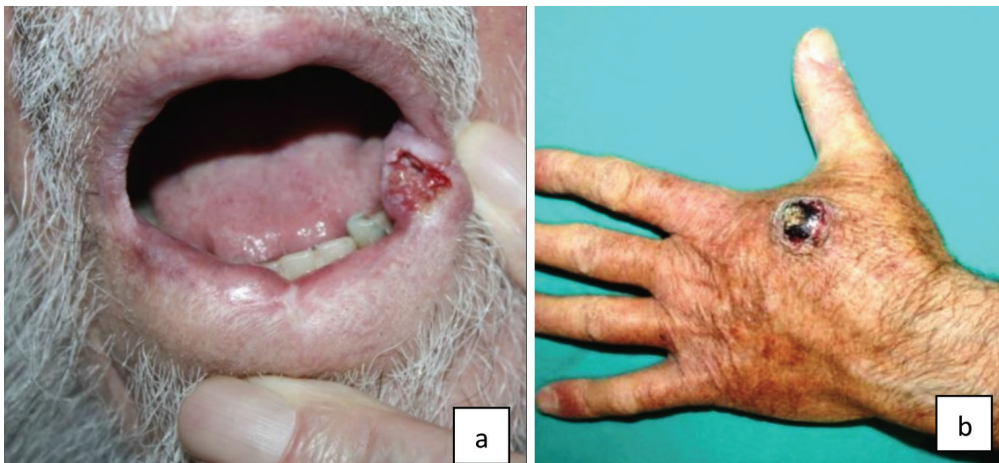
MMP-19 ekspresyonu: YHK tanısı alan 105 olgudan 25'i (%23,8) MMP-19 ile pozitif boyanırken, boyanan 25 (%23,8) olgu zayıf boyandı (Şekil 1e). KA tanılı 51 olgudan hiçbirini boyanmadı (Şekil 1f). MMP-19 ekspresyonu açısından YHK ile KA arasındaki farklılık anlamlı bulundu ($p < 0,05$). YHK için sensitivite %23,8, spesifite %100 ve KA için sensitivite %0, spesifite %76,1'di.

p53 ekspresyonu: YHK tanısı alan 105 olgunun 47'si (%44,7) p53 ile pozitif boyanırken, bunların 14'ü (%13,3) zayıf, 15'i (%14,2) orta, 18'i (%17,1) yüksek derecede ekspresyon gösterdi. KA tanılı 51 olgunun 18'i (%35,2) pozitif boyanırken, bunların 10'u zayıf (%19,6), 6'sı (%11,7) orta, 2'si (%3,9) yüksek derecede ekspresyon gösterdi. p53 ekspresyonu açısından YHK ile KA arasındaki farklılık anlamlı bulundu ($p < 0,05$). YHK için sensitivite %31, spesifite %84 ve KA için sensitivite %15, spesifite %68'di.

EVG: YHK tanısı alan 105 olgunun 21'i (%20) intratümöral pozitif boyandı (Şekil 1g). KA tanılı 51 olgunun 29'u (%56,9) pozitif boyandı (Şekil 1h).

EVG ekspresyonu açısından YHK ile KA arasındaki farklılık anlamlı bulundu ($p < 0,05$). YHK için sensitivite %20, spesifite %60 ve KA için sensitivite %39, spesifite %80'di.

Histolojik tiplerine göre YHK ve KA olmak üzere hiç boyanmayan ve zayıf boyananlar bir grup, orta ve kuvvetli boyananlar diğer grup olacak şekilde iki gruba ayrıldı. İlk grup negatif, ikinci grup pozitif olarak kabul edilerek tümörlerin immünohistokimyasal ve histokimyasal boyanma özellikleri istatistiksel olarak incelendi, sonuçlar Tablo 2'de gösterildi.

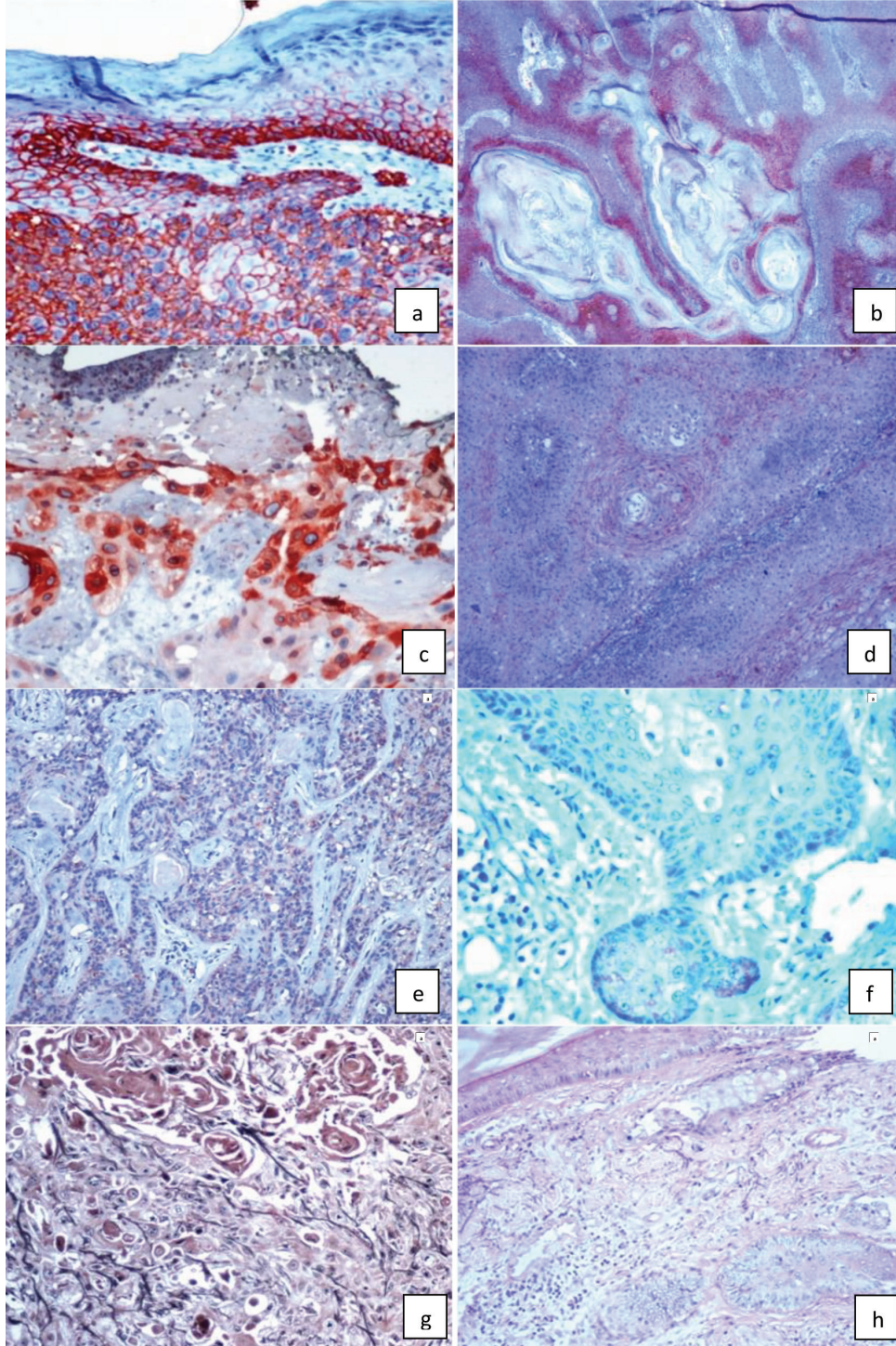


Resim 1. (a) Alt dudak sol bileşke yakınında ülsere yüksek hücreli karsinom, (b) el sırtında geniş kurutlu krater şeklinde keratoakantom

Tartışma

Deri kanserleri dünyada en sık histolojik tanı alan kanserler arasındadır. Deriyi oluşturan farklı tipteki hücrelerden kaynaklanırlar ve farklı histolojik morfolojilerde karşımıza

çıkırlar. Başta DSÖ tarafından yapılan olmak üzere birçok sınıflaması yapılmıştır (1,2). Deri tümörlerinin %90'ını keratinositik tümörler oluşturur. Keratinositik tümörlerin ise %60-70'ini bazal hücreli karsinom, %20-30'unu YHK oluşturur



Şekil 1. (a) YHK'da GLUT-1 ile diffüz, kuvvetli boyanma, x100, (b) KA'da GLUT-1 ile bazalde kuvvetli boyanma, x40, (c) YHK'da COX-2 ile fokal kuvvetli boyanma, x200, (d) KA'da COX-2 ile fokal orta şiddete boyanma, x100, (e) YHK'da MMP-19 ile diffüz, zayıf boyanma, x200, (f) KA'da MMP-19 ile negatif reaksiyon, x400, (g) YHK'da EVG ile intratümöral elastik liflerde boyanma, x200, (h) KA'da EVG ile elastik liflerde boyanma, x200

YHK: Yassı hücreli karsinom, **KA:** Keratoakantom, **EVG:** Elastik-van Gieson

Tablo 2. Tümör tiplerine göre olguların dağılımı ve immünohistokimyasal özellikleri (*p<0.05)

Tip	n	GLUT-1		COX-2		MMP-19		p53		EVG	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
YHK	105	64	60	14	13	25	24	33	31	21	20
KA	51	21	41	1	2	0	0	8	16	20	39
Toplam	156	85	54	15	9	25	16	41	27	41	26
		x ² =5,41		x ² =5,1		x ² =14,4		x ² =4,39		x ² =6,54	

YHK: Yassı hücreli karsinom, KA: Keratoakantom, EVG: Elastik-van Gieson

(11). Yaşlılarda gençlerden daha sık izlenir. Çalışmadaki YHK bulunan hastaların yaş ortalaması 64,1 olup literatür ile uyumludur (12). YHK'nın insidansı son yıllarda iki kat artmıştır (13). İnsidansı birçok ülkede olduğu gibi ülkemizde de artmaktadır (14). Çoğu alın, yüz, kulaklar, kafa derisi, ense, el sırtı gibi bölgelerde oluşur (1,11). Çalışmaya dahil edilen hastaların lezyonları en sık bulunduğu bölge alt dudak idi. YHK'da hücre atipi belirgindir, stromal invazyon vardır ve kendiliğinden gerilemez (1,3). YHK, epidermisten köken alan poligonal şekli yassı hücreli epitelyal hücrelerin inhibitör oluşturduğu kümelerden ve kordonlardan oluşur. Bu hücreler geniş eozinofilik veya amfofilik sitoplazmalar sıklıkla iri, veziküler nükleusa, belirgin eozinofilik nükleolusa sahiptirler. Tümörün diferansiyasyonuna bağlı olarak değişik miktarlarda santral keratinizasyon ve keratin tıkaçı bulunur. Ayrıca hücre boyut ve şekilleri de değişkenlik gösterir. Tek hücre keratinizasyonu sıklıkla izlenir. Anaplazi derecesi tümörün derecesini belirlerken kullanılır (14). Çalışmadaki YHK tanısı olan 105 olgunun 18'i (%17,1) iyi, 29'u (%27,6) orta, 58'i (%55,2) kötü diferansiye idi. YHK'lar immünohistokimyasal olarak, kutanöz epitelyal belirteçlerden yüksek moleküler ağırlıklı sitokeratin, involukrin, vimentin, epitelyal membran antijen (EMA) ile pozitif boyanır. Düşük moleküler ağırlıklı sitokeratin negatiftir. P53 ve interselüler adezyon moleküllerine spesifik belirteçlerden E-kadherin pozitifdir (11). p63'de yeni kullanılan belirteçlerdendir (15). İmmünohistokimyasal çalışmalar ve immünoperoksidaz kullanılması YHK'nın az diferansiye veya iğsi hücreli tipinde tanı koyarken bazen yardımcı olur. Hücreler EMA, sitokeratin 5/6 ile pozitif boyanırlar. YHK, bazal hücreli karsinom gibi yüksek moleküler ağırlıklı sitokeratin ile boyanır. Involukrin geniş keratinize hücrelerde bulunur. Tümör hücreleri bazal hücreli karsinomun aksine Ber-EP4 veya CD10 ekspres etmezler. Fakat bazı sarkomatoid YHK'lar CD10 ekspres ederken, lizozim, S100 protein, demsin ekspres etmezler. Ayrıca vimentin az diferansiye ve iğsi hücreli varyantında nadir boyanır (13). KA, açık tenli kişilerde, yaşlı bireylerde, güneşe maruz kalan alanlarda gelişen, çoğunlukla hızla büyüyen, soliter, kutanöz benign, kendi kendini sınırlayan ve regrese olan, sık görülen, skuamoproliferatif bir tümöral lezyon olarak bilinir (4). Erkekler de kadınlardan daha sık bulunur ve genellikle 50 yaştan sonra tanı alır, pik yaptığı dönem altıncı dekadattır (16). Çalışmamızda olguların 21'i kadın, 30'u erkekti ve yaş ortalaması 64,8'di. Erkeklerde yüz, el ve ön kolda, kadınlarda ise yüz ve bacaklarda daha sık rastlanır

(17). Soliter mukozal KA'lar ağız mukozası, konjunktiva, burun mukozası ve genital mukozada tanımlanmıştır. Mukozalarda, özellikle de oral mukozada yerleşik KA'lar klinik olarak daha yavaş seyirli krater tarzı lezyonlar olup aylarca hatta yıllarca devam edebilirler. Oral ve genital mukozaya tutulumu, esasen Grzybowski tipi olarak adlandırılan, multipl KA olgularında oldukça sıktır (18). Çalışmamızda olgular arasında mukozaya yerleşimi yoktu. KA hızlı büyüyen, ancak spontan olarak iyileşebilen, kubbe şeklinde çökük olan merkezi kısmı keratin ile dolu krater biçiminde sert, infiltrate, eritemli veya deri renginde bir lezyondur. Bazı olgularda bu krater ağızından koyu kıvamlı bir materyal çıkışı görülür. Bu yağlı materyal nedeniyle "molluskum sebaceum" isimlendirilmesi ortaya atılmıştır (18). Spontan regresyon eğilimi özelliğinden dolayı KA'ların tümör olup olmadığı şüphesi gelişmiştir. Bu sebeple de KA'ların patogenezi ve doğal seyri uzun yıllardır tartışma konusu olmuştur (11). Gen değişikliklerinin diğer kanserlerde olduğu gibi KA gelişiminde de rolü olması olasıdır. KA olgularında siklin-bağımlı kinaz inhibitörü p27 ekspresyonu önemli bir faktör olabilir. Siklin-bağımlı kinaz inhibitörü p27'nin gelişmekte olan KA'larda ekspresyonu bulunmazken, regrese olan olgularda bulunması, bu durumun da bir rolü olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca onkoprotein p53 ekspresyonu ve p53 gen mutasyonunun bazı KA'ların gelişiminde rolü olduğu düşünülmektedir (18). KA'yı YHK'dan mümkün olduğu kadar kesin ve hızlı ayırt etmek gereklidir. Fakat bir takım olgularda iki hastalığı histolojik olarak ayırmada patoloğlar zorluklar yaşayabilirler. Son zamanlarda dermatolojik arenada KA'yı benign bir hastalık olarak görmekten ziyade YHK'nın bir çeşidi ya da malign olarak kabul etmeye doğru artan bir eğilim vardır (6). KA'nın tedavisi, şüphelenilen tüm lezyonların cerrahi eksizyon ile çıkarılması, spontan involüsyon gelişeceği umuduyla gözleme bırakılmaması yönündedir (4). Yapılan bir çalışmada YHK ve KA'ların proliferasyon kinetikleri AgNOR ve Ki-67 ile karşılaştırılmış, sonucunda her iki parametre bu iki antite arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş (p<0,05). Ancak AgNOR ve Ki-67 parametreleri arasında korelasyon bulunmamıştır (19). Bu çalışmada, YHK belirleyici olarak sensitivitesi ve spesivitesi yüksek olan, YHK ve KA ayırıcı tanısında yardımcı olabileceği literatürde yer almış immünohistokimyasal belirteçler seçildi. Glukoz uptake, glukoz metabolizmasında önemli bir düzenleyici adımdır ve glukoz taşıyıcıları tarafından yönlendirilir ve GLUT-1 birçok insan hücresi tipinde en yaygın glukoz taşıyıcısıdır. Normal deri

yassı epitelyum hücrelerinde ekspresyonu düşük olan GLUT-1 meme, kolorektal, endometriyum ve over karsinomlarında aşırı eksprese olur (20). Kanser erken tanısında ve prognozu belirlemede önemli bir belirteç olarak kullanılabilir (21). Çalışmamızda GLUT-1, YHK'da kuvvetli ve diffüz eksprese olduğu, KA'da ise daha genel olarak bazal paternde eksprese olduğu saptanmıştır. Çalışmamıza benzer şekilde, Seleit ve ark.'nın (22) çalışmasında epidermisin üzerinde GLUT-1 ekspresyon yüzdesinin, membran-sitoplazmik boyanma paterninin, bazal ve suprabazal immünoaktivitenin, tümör adaları ve normal epidermisin karşılaştırıldığında, membranöz boyanma paterninin YHK lezyonlarıyla anlamlı şekilde ilişkili olduğunu gösterilmiştir. Abdou ve ark.'nın (20) çalışmalarında ise GLUT-1, tüm YHK olgularında %5 ile %70 arasında değişen, ortalama %32,5 oranında ifade edildiği gösterilmiştir. Altı (%37,5) olguda sitoplazmik ekspresyon, geriye kalan 10 (%62,5) olguda ise membranöz ekspresyon gösterdiği belirtilmektedir. Ekspresyonun, özellikle farklılaşmış tümörlerde yuvaların periferiyle sınırlı kaldığı izlenmiş ve GLUT-1'in sitoplazmik ekspresyonunun, membranöz boyanmaya kıyasla tümör büyüklüğü (median=7 cm) ile anlamlı şekilde ilişkili (20) ve tümör rekürrensi ile GLUT-1 ekspresyonu arasında korelasyon olduğu tespit edilmiştir (21). Çalışmamızda istatistiksel olarak GLUT-1'in YHK'yı KA'dan ayırmada yararlı olduğu görülmüştür ($p<0,05$).

Baş ve boyun yerleşimli YHK'da COX-2'nin aşırı ekspresyonu tespit edilmiştir. COX-2 geninin aşırı eksprese olması hücreler adezyonu düzenler, apoptozisi inhibe eder, büyümeyi düzenleyici sinyallerin cevabını değiştirir. Bundan dolayı, COX-2, mitotik aktiviteyi, hücreler adezyonu, immün surveilansı, apoptozisi ve anjiyogenezisi etkileyerek tümörün büyümesinde ve yayılmasında önemli rol alır. Epidermal growth faktör reseptör (EGFR) sinyali ve COX-2 aktivitesi premalign ve malign hastalıkların gelişiminde anahtar role sahiptir (23). Çalışmamızdaki boyanma oranlarına benzer şekilde, Marutha ve ark.'nın (24) çalışmasında YHK'nın (n=35) %85,7'sinde ve adenokarsinomanın (n=35) %97,1'inde COX-2 için immünopozitivite görülürken, diğerleri (25,26,27) YHK'de %24-100 arasında değişen oranlar kaydetmiştir. Literatürdeki bu geniş oranlar şaşırtıcı değildir, çünkü "immünopozitivite" nin yorumlanmasında hala standardizasyon eksikliği vardır ve bu sonuç çıkarımlarda dikkate alınmalıdır (24). Sano ve ark.'nın (28) çalışmasında COX-2 ekspresyonunun meme, kolon ve gastrik kanserlerde artarken, baş-boyun kanserlerinde aşırı ekspresyonunun spesifik rolünün belirsiz olduğu ve ileri evre oral kanserlerde de kötü prognozla ilişkili olduğu belirtilmektedir. Yine bu çalışmada, sistemik enflamasyon ve oral kanserde COX-2'nin ekspresyonu arasında önemli bir ilişki olduğunu belirlenmiştir (28). Çalışmamızda YHK'da 105 olgudan 25'inde (%23,8) zayıf pozitif boyanma göstermiş ve KA olgularında ise boyanma tespit edilmemiştir.

MMP-19 ekspresyonu ve YHK ile ilişkisine yönelik yayın sayısı çok azdır. Çalışmamızda %23,8 oranında MMP-19 ile pozitif boyanma izlenirken %23,8 oranında da zayıf boyanma izlenmiştir. KA tanılı 51 olgudan hiçbir

boyanma göstermemiştir. MMP-19 normal keratinosit proliferasyonunda pozitif boyanır. KA'larda lezyonun sınırındaki bazal epitelyal hücrelerde yoğun eksprese olur. YHK'da ise %40 oranında eksprese olurken, iyi diferansiye YHK'da, invaziv kanser hücre kümelerinde boyanma olmaz, diferansiyasyon azaldıkça boyanma oranı artar (29). MMP-19 ekspresyonu, özellikle bazal hücrelerin aşırı kalabalıklaşması ve bazal hücre polaritesindeki rahatsızlıkların ortaya çıktığı bölgelerde, aktinik keratoz veya Bowen hastalığı gibi premalign lezyonlarda bazal keratinositlerde fokal olarak saptandığı belirtilmektedir. Malign tümörleri sınırlayan veya kaplayan iyi huylu hiperproliferatif epitelin ise genellikle pozitif olarak izlendiği raporlanmıştır. Ek olarak bazal hücreli karsinomlarda ve YHK'larda bol miktarda p63 ekspresyonu saptanabilmesine rağmen, invazif kanser adalarında MMP-19 proteini bulunmadığı izlenmiştir (30). Bizim MMP-19 sonuçlarımız ve bu literatür bilgilerinden de anlaşıldığı üzere MMP-19 ile YHK ve KA ayırımına yönelik yeni çalışmalara ihtiyaç olduğunu göstermektedir. Drvar ve ark.'nın (31) çalışmalarında, yaşam boyu ultraviyole (UV) ışığına maruz kalan ya da çocukluğunda üç ya da daha fazla güneş yanığı geçirmiş olan açık derili hastalarda EGFR reseptörleri Ki-67 ve protein p53'ün belirgin şekilde daha yüksek bir ifadesini tespit etmişlerdir. Bu da UV maruziyetinin EGFR, Ki-67 ve protein p53'ün indüksiyona yol açtığını ve sonuç olarak kutanöz YHK'ların gelişmesini kolaylaştırdığını göstermiştir (31). Literatürde hem KA ve hem de YHK'da değişik oranlarda ve değişik dağılım paterninde p53 immünopozitivite tespit edildiği belirtilmektedir (32). Marinescu ve ark.'nın (33) bir çalışmasında p53, p16 ve Ki-67 immün boyamanın, agresif malign neoplazilerde olduğu gibi, keratinositik intraepitelyal neoplazi lezyonları ile kutanöz YHK ayırımında yararlı olduğu belirtilmektedir. Çalışmamızda, KA olgularında p53 ile boyanma daha az iken YHK olgularında boyanma daha yüksek bulundu. Bu bilgi literatür ile uyumlu olup istatistiksel olarak da p53'ün YHK'yı KA'dan ayırmada yararlı olduğunu göstermektedir ($p<0,05$).

Çalışmamız EVG histokimyasal boyasının, KA'yı iyi diferansiye YHK'dan ayırt etmede kullanılabileceğini göstermiştir. Ultrastrüktürel olarak elastik materyal, aktive fibroblastlarca sekrete edilen matür elastik doku içerir ki bu kolajenin elastik dejenerasyonundan çok fibroblastların aşırı üretiminden kaynaklanmaktadır (28). Dudakta intraepitelyal elastik fibriller hem KA hem de YHK'da tespit edilmiştir. Bu sebeple mukökutanöz bileşkede elastik lif varlığının olup olmamasına göre YHK ile KA ayırıcı tanı kriteri olarak kullanılması yanıtıcı olabilir (34).

Sonuç

İmmünohistokimyasal ve histokimyasal boyama sonuçlarının istatistiksel analizlerinde YHK ve KA için her belirleyicinin ayrı ayrı değerlendirilmesinde elde edilen sonuçlara göre gruplara ait GLUT-1, COX-2, MMP-19, p53 ve EVG ekspresyon değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasındaki önemli farklılıkların olduğu bulunmuştur. İmmünomorfolojik olarak GLUT-1

ve p53 YHK ve KA ayırımında yardımcı bir belirteç olarak kullanılabilmesi, yine COX-2'nin birçok karsinomda pozitif reaksiyon verirken YHK'de de pozitifliği prognoz açısından önemli bir gösterge olarak karşımıza çıkabileceği görülmüştür. MMP-19, YHK lezyonları ile KA lezyonlarının ayırıcı tanıda kullanılabilmesi fakat bu belirteç için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu anlaşılmıştır. Histokimyasal olarak EVG ise YHK ve KA ayırımında diğer belirteçler ile birlikte kullanılabilir.

Etik

Etik Kurul Onayı: Cumhuriyet Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 24.01.2012 tarihli 2012-01/32 sayılı etik kurul onayı alınmıştır.

Hasta Onayı: Retrospektif çalışmadır.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulu tarafından değerlendirilmiştir.

Yazarlık Katkıları

Konsept: H.H.K.S., H.R.E., Dizayn: H.H.K.S., H.R.E., Veri Toplama veya İşleme: H.H.K.S., Analiz veya Yorumlama: H.H.K.S., Y.B., Literatür Arama: H.H.K.S., Y.B., Yazan: H.H.K.S.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

Kaynaklar

- Parekh V, Seykora JT. Cutaneous Squamous Cell Carcinoma. Clin Lab Med 2017;37:503-25.
- Kumar V, Abbas AK, Fausto N, et al. Robbins and Cotran Pathologic Basic of Disease, 8th ed., Chapter 25: The Skin. Saunders Elsevier, Philadelphia 2010;p1165-204.
- Singh A, Willems E, Singh A, et al. Ultraviolet radiation-induced tumor necrosis factor alpha, which is linked to the development of cutaneous SCC, modulates differential epidermal microRNAs expression. Oncotarget 2016;7:17945-56.
- Ogita A, Ansai SI, Misago N, et al. Histopathological diagnosis of epithelial crateriform tumors: Keratoacanthoma and other epithelial crateriform tumors. J Dermatol 2016;43:1321-31.
- Yıldız E, Göze F. The Measurement of Nuclear DNA Content with Microspectrophotometry in Keratoacanthomas and Squamous Cell Carcinomas of the Skin. Tur J Neoplasia 2001;9:25-30.
- Bostancı S, Saral S. Benign ve Premalign Tümörler (Cherry Anjioma, Sebace Hiperplazi, Seboreik Keratoz, Skin Tag, Aktinik Keilitis, Aktinik Keratoz, Lökoplaki, Keratoakantom). Türkiye Klinikleri J Dermatol-Special Topics 2009;2:41-6.
- LeBoit PE. Is keratoacanthoma a variant of squamous cell carcinoma? New insights into an old controversy soon? Am J Dermatopathol 1995;4:319-20.
- Schwartz RA. Keratoacanthoma: a clinical-pathologic enigma. Dermatol Surg 2004;30:326-33.
- Karaa A, Khachemoune A. Keratoacanthoma: a tumor in search of classification. Int J Dermatol 2007;46:671-8.
- Brustmann H. Immunohistochemical detection of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) and c-kit in serous ovarian carcinoma: a clinicopathologic study. Gynecol Oncol 2005;98:396-402.
- LeBoit P, Burg G, Weedon D, Sarasin A. World Health Organization Classification of Tumors of the Skin Tumors, Chapter 1: Keratinocytic Tumors. IARCH pres, Lyon, 2005;p9-48.
- Otley CC. Non-melanoma skin cancer: past, present, and future. Curr Probl Dermatol 2001;13:109-13.
- Elder D, Elenitsas R, Jaworsky C, Johnson B. Lever's Histopathology of the Skin, 8 th. Ed., Chapter 30: Tumors and Cysts of the Epidermis, Lippincott - Raven, Philadelphia, 1997;p685-746.
- Farmer ER, Hood AF. Pathology of the Skin, 1th ed., Chapter 44: Malign Tumors of the Epidermis. Appleton & Lange, United States of America, 1990;p568-95.
- Park HR, Min SK, Cho HD, et al. Expression profiles of p63, p53, survivin, and hTERT in skin tumors. J Cutan Pathol 2004;31:544-9.
- İşçimen A, Kutlubay Z. Keratoakantom Olgularında Psödomalign - Psödobenign İkilemi. Dermatol 2010;1:153-62.
- Busom KJ. Dermatopathology, 1th ed., Chapter 17: Epidermal Tumors. Saunders Elsevier, U S A, 2010
- McCombe D, MacGill K, Ainslie J, et al. Squamous cell carcinoma of the lip: a retrospective review of the Peter MacCallum Cancer Institute experience 1979-88. Aust NZ J Surg 2000;70: 358-61.
- Göze F. Derinin Keratoakantom ve Yassı Hücreli Karsinomlarının Proliferasyon Kinetiklerinin Çift Parametre (AgNOR ve Ki-67) ile Karşılaştırılması. Tur J Neoplasia 1994;2:87-96.
- Abdou AG, Eldien MM, Elsakka D. GLUT-1 Expression in Cutaneous Basal and Squamous Cell Carcinomas. Int J Surg Pathol 2015;23:447-53.
- Mendes RA, Carvalho JFC, Waal I. An overview on the expression of cyclooxygenase-2 in tumors of the head and neck. Oral Oncol 2009;45:124-28.
- Seleit I, Bakry OA, Al-Sharaky DR, et al. Evaluation of Hypoxia Inducible Factor-1 α and Glucose Transporter-1 Expression in Non Melanoma Skin Cancer: An Immunohistochemical Study. J Clin Diagn Res 2017;11:EC09-EC16.
- Stephenson TJ, Royds J, Silcocks PB, et al. Mutant p53 oncogene expression in keratoacanthoma and squamous cell carcinoma. Br J Dermatol 1992;127:566-77.
- Marutha Muthu AK, Cheah PL, Koh CC, et al. Cyclooxygenase-2 (COX2) expression in adenocarcinoma surpasses that of squamous cell carcinoma in the uterine cervix. Malays J Pathol 2017;39:251-5.
- Dursun P, Yuce K, Usubutun A, et al. Cyclooxygenase-2 expression in cervical intraepithelial neoplasia III and squamous cell cervical carcinoma, and its correlation with clinicopathologic variables. Int J Gynecol Cancer 2007;17:164-73.
- Kim YB, Kim GE, Pyo HR, et al. Differential cyclooxygenase-2 expression in squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the uterine cervix. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2004;60:822-9.
- Sales KJ, Katz AA, Davis M, et al. Cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin E(2) synthesis are up-regulated in carcinomas of the cervix: a possible autocrine/paracrine regulation of neoplastic cell function via EP2/EP4 receptors. J Clin Endocrinol Metab 2001;86:2243-9.
- Sano Y, Kogashiwa Y, Araki R, et al. Correlation of Inflammatory Markers, Survival, and COX2 Expression in Oral Cancer and Implications for Prognosis. Otolaryngol Head Neck Surg 2018;158:667-6q76.
- Kuivanen TT, Jeskanen L, Kyllönen L, et al. Transformation-specific matrix metalloproteinases, MMP-7 and MMP-13, are present in epithelial cells of keratoacanthomas. Modern Pathol 2006;19:1203-12.
- Impola U, Toriseva M, Suomela S, et al. Matrix metalloproteinase-19 is expressed by proliferating epithelium but disappears with neoplastic dedifferentiation. Int J Cancer 2003;103:709-16.
- Drvar DL, Lipozenčić J, Mokos ZB, et al. Association of skin phototype and UV exposure with expression of HER receptors, Ki67 and p53 in patients with cutaneous squamous cell carcinoma. Acta Med Croatica 2015;69:431-8.
- Suk JD, Park WS, Kim DK. Low rates of somatic p53 mutations in keratoacanthomas. J Dermatol Sci 2009;53:72-3.
- Marinescu A, Stepan AE, Mărgăritescu C, et al. P53, p16 and Ki67 immunoreexpression in cutaneous squamous cell carcinoma and its precursor lesions. Rom J Morphol Embryol 2016;57(Suppl 2):691-6.
- McCombe D, MacGill K, Ainslie J, et al. Squamous cell carcinoma of the lip: a retrospective review of the Peter MacCallum Cancer Institute experience 1979-88. Aust NZ J Surg 2000;70:358-61.