

KERATOAKANTOM AYIRICI TANISINDA β -KATENİN VE SİKLİN D1 EKSPRESYONUNUN ROLÜ

β -CATENIN AND CYCLIN D1 EXPRESSION IN THE DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF KERATOACANTHOMA

Ayşegül AKSOY ALTINBOĞA*, Neşe ÇALLI DEMİRKAN*, Metin AKBULUT*, Ferda BİR*,
Nilay ŞEN TÜRK*, Nagihan YALÇIN*, İnci GÖKALAN KARA**

*Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji AD.

** Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi AB

Özet

Keratoakantom, hızlı büyüme gösteren benign kutanöz bir tümördür. Keratoakantom, skuamöz hücreli karsinomdan her zaman histopatolojik inceleme ile kolay ayırt edilemez. Bu çalışmada, keratoakantom ve skuamöz hücreli karsinomları ayırmada yardımcı olabilecek histopatolojik kriterleri belirlemeyi ve immunohistokimyasal yöntemlerle β -katenin ve siklin D1 ekspresyonlarının ayırıcı tanıdaki yararını saptamayı amaçladık. Olgular yedi keratoakantom, yedi keratoakantom benzeri skuamöz hücreli karsinom ve on altı skuamöz hücreli karsinom olmak üzere üç grup olarak incelendi. Klinik özellikleri, lezyon süresi, çapı, ülserasyon varlığı, simetrisite gibi makroskopik bulgular ve mikroskopik bulgulara ek olarak β -katenin, siklin D1 ekspresyonu değerlendirildi. Sonuç olarak; ülser varlığı skuamöz hücreli karsinom lehine, simetrisite ise keratoakantom lehine bir bulgu olarak saptandı. Ek olarak; keratoakantom benzeri skuamöz hücreli karsinom olgularının invazyon alanında; β -kateninde membranöz ekspresyon kaybı görüldü. (Pam Tıp Derg 2008;1(3):127-131).

Anahtar kelimeler: Keratoakantoma, skuamöz hücreli karsinom, β -katenin

Abstract

Keratoacanthoma is a benign cutaneous tumour which has rapid growth phase. Keratoacanthoma and squamous cell carcinoma are sometimes difficult to be distinguished by histopathological examination. The purpose of this study was to evaluate the reliability of some of the histopathological criteria used to make a distinction between squamous cell carcinoma and keratoacanthoma and to determine the immunohistochemical expression pattern of β -catenin and cyclin D1 between these tumours. We examined the histopathological features with the immunohistochemical findings of seven keratoacanthomas, seven squamous cell carcinoma resembling keratoacanthomas and 16 cases of well differentiated superficial spreading squamous cell carcinoma. We evaluated tumour characteristics (duration of the lesions, diameter, ulceration, symmetry, and microscopical properties), and β -catenin, and cyclin D1 expression. In conclusion; presence of ulceration is more important in squamous cell carcinoma, the presence of symmetry is in favour of keratoacanthoma. Additionally the loss of membranous expression of β -catenin expression at the deeper part of lesion was found in squamous cell carcinoma resembling keratoacanthoma. (Pam Med J 2008;1(3):127-131).

Key words: Keratoacanthoma, squamous cell carcinoma, β -catenin.

Giriş

Keratoakantom (KA), hızlı büyüme gösteren benign kutanöz bir tümördür. Hızlı büyüme fazından sonra birkaç ay içinde kendiliğinden gerilemektedir. Hızlı büyüme gösterdiği dönemde skuamöz hücreli karsinom (SHK) ile karışan KA'ları, konvansiyonel histopatolojik inceleme ile iyi diferansiyasyon SHK'dan ayırmak her zaman kolay değildir [1]. Diğer taraftan KA'un bir SHK alt tipi olabileceği yönünde de görüşler mevcuttur. Bu yüzden her iki lezyonun patogenezi ve ayırıcı tanısına ışık tutmak amacıyla literatürde yapılan çok sayıda araştırma vardır [2-7].

KA'lar arasında en çok minimal invazyon gösteren tipler SHK'la karışmaktadırlar.

Literatürde bazı araştırmacıların borderline (sınırdaki) KA ismini verdikleri bu grubun SHK ile karışan bir KA alt tipi mi yoksa bir SHK türü mü olduğu konusunda kesin görüş birliği yoktur [2]. Her iki lezyonun da tedavisi total eksizyon olduğu için biyolojik davranışları arasındaki farkı doğal seyri içinde saptama şansımız da olmamaktadır.

β -Katenin, hücre adezyonunda, proliferasyonunda ve diferansiyasyonunda görevli, 95-kD ağırlığında bir proteindir. Kalsiyum bağımlı hücre adezyonunun primer mediatörü olan bir transmembran proteini olan E-kaderinin sitoplazmik uzantısına bağlanır [2,5]. β Katenin mutasyonu, delesyonu veya tirozin fosforilasyonu

sonucu intersellüler adezyon bozulur ve neoplastik fenotip ortaya çıkar [8-12]. Bunlara ek olarak β -katenin Wnt sinyal yolunda rol alır ve Tcf-lef ailesinin DNA'ya bağlanan proteinleri ile kompleksler oluşturarak transkripsiyonu aktive eder [6-8]. β - Katenin-Tcf kompleksi de tümör hücre proliferasyonunda önemli rol oynayan c-myc ve siklin D1'i aktive eder [6]. Hücre siklus regülatörü olan siklin D1 de malignite ayırımında kullanılan parametrelerden biridir. Artmış siklin D1 düzeyi, hücrede sıkıca kontrol edilen proliferasyon ve diferansiyasyon arasındaki dengeye zarar vermektedir. Bu nedenle deride kanser gelişiminde rolü değerlendirildiğinde, kanser progresyonundan çok erken değişikliklerden sorumlu olduğu düşünülmektedir [13].

Buradan yola çıkarak olgularımızı morfolojik olarak tekrar tartışmayı ve anti-aktif-katenin monoklonal antikoruyla tümör hücre proliferasyonunda beklenen katenin ekspresyon kaybını, anti-siklin D1 antikorunu ile artmış ekspresyonu araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem

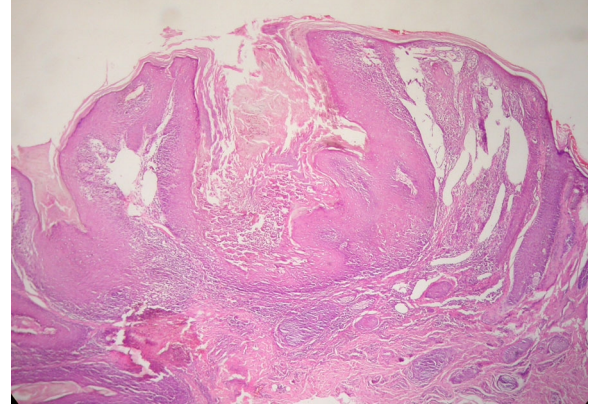
Bu çalışmada; Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivinde yer alan, 16'sı yüzeysel yayılım gösteren SHK ve 14'ü KA tanısı almış 30 olgu araştırıldı. Olgulara ait Hematoksilen-Eosin (H&E) boyalı preparatlar, seri kesitler alındıktan sonra iki patoloğ tarafından yeniden değerlendirildi. İlk tanısı KA olan olgular, bu değerlendirme sonucunda ikiye ayrıldı ve minimal invazyon varlığına göre klasik KA ve keratoakantom benzeri skuamöz hücreli karsinom (KABSHK) olarak gruplandırıldı. On dört KA'un 7'si klasik KA, 7'si KABSHK olarak sınıflandı. Oluşan üç grup kendi aralarında; yaş, cinsiyet, lezyon gelişme süreleri gibi klinik bilgileri, makroskobik ve mikroskobik özellikleri, β -katenin ve siklin D1 boyanma paternleri açısından kıyaslandı.

Klinik ve Histopatolojik Değerlendirme

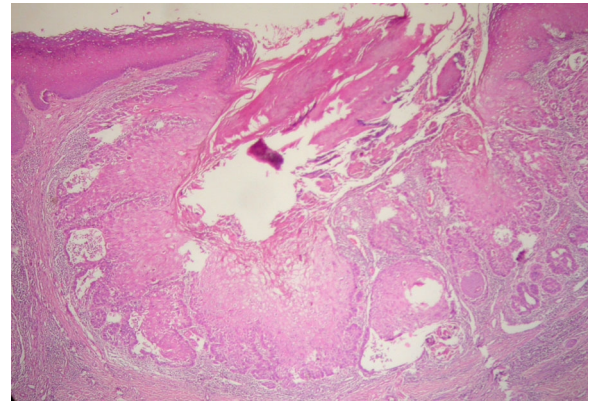
Simetrik, ortalarında keratin içeren kubbe şeklinde yüzeysel kabarıklık ve lezyon tabanında kesinlikle invazyon içermeyen olgular klasik KA olarak, klasik KA görüntüsü yanı sıra lezyonun derisinde küçük infiltratif skuamöz hücre adaları içeren olgular da KABSHK olarak sınıflandırıldı (Resim 1 ve 2). Ayrıca kontrol grup olarak 16 yüzeysel yayılım gösteren iyi diferansiyasyon SHK olgusu çalışmaya alındı.

Olgularda; lezyonun süresi ve ülserasyon gibi makroskobik özellikler ve simetrisite, santral keratin krater, bazaloid dejenerasyon, koilositoz, diskeratoz, akantoz ve intraepitelyal polimorfonükleer lökositler gibi mikroskopik

parametreler değerlendirildi. Değerlendirme, kör olarak; ilk tanı bilimeksizin iki patoloğ tarafından yapıldı.



Resim 1. KA olgusunda simetrisite ve krater görünümünde hiperkeratinizasyon (H&E, 100x).



Resim 2. KABSHK olgusunda bozulmuş simetrisite (H&E, 100x).

İmmünohistokimyasal Boyama ve Değerlendirilmesi

β - katenin antikorunu (Upstate, anti-aktif katenin, klon 8E7) 1/100 konsantrasyonda, siklin D1 antikorunu (Neomarker klon SP4) ise 1/100 konsantrasyonda kullanıldı. Boyama işlemi otomatik immün boyama cihazında (*Ventana Benchmark*) tamamlandı. Lezyona komşu normal epidermis ve deri ekleri pozitif internal kontrol olarak kullanıldı. İmmünohistokimyasal değerlendirme her bir lezyonun merkezinde ve derisinde (karsinomlarda invazyon alanında) olmak üzere iki farklı alanda değerlendirildi.

β - katenin ekspresyonu membranöz boyanma paterni dikkate alınarak incelendi. Güçlü homojen boyanma şiddetli, homojenlikte azalma orta, fokal heterojen boyanma zayıf olarak değerlendirildi (14). Daha sonra orta ve şiddetli boyanmalar pozitif kabul edildi. Zayıf boyanmalar ve boyanmada tam kayıp, negatif olarak kabul edildi. KABSHK grubundan bir olguda, β -katenin immünohistokimyasal boyama sırasında dokuda dökülme olduğu için değerlendirilemedi.

Siklin D1 immünohistokimyasal boyası, her bir lezyon içinde nükleer boyanmalar sayılarak değerlendirildi; %25 ve altı zayıf boyanma, %25-50 arası orta şiddette boyanma, %51 ve üstü şiddetli boyanma olarak kabul edildi.

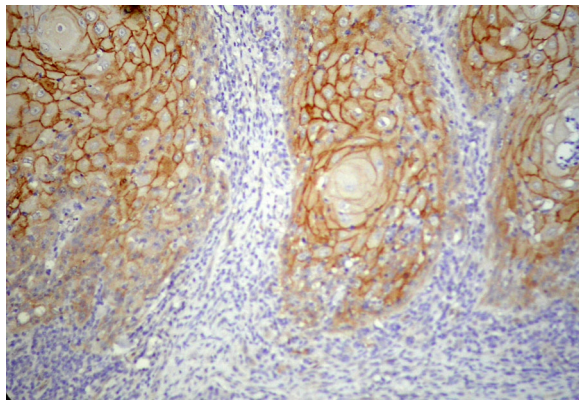
Gruplar çapraz tablo oluşturularak karşılaştırıldı ve bazı alt grup sayıları beşten az olduğu için istatistiksel test yapılmaksızın sıklık yüzdeleri hesaplandı.

Bulgular

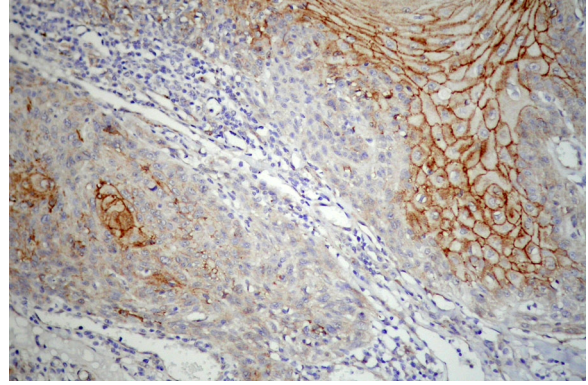
Olgular, yaşları 45 ile 80 arasında değişen (ortalama 54,7) 20 erkek, 10 kadın hastadan oluşuyordu. Ortalama beş yıllık izlem sonrası olguların hiç birinde metastaz ya da rekürrens saptanmadı.

SHK grubunda ülserasyon %100 oranında ve KA grubunda simetrisite %85 oranında olmak üzere daha sık olarak bulundu (Tablo 1). Diğer histopatolojik kriterler arasında olan santral keratin krater, intraepitelyal polimorfonükleer abse, bazaloid dejenerasyon, koilositoz benzeri hücre, diskeratoz ve akantoz gibi parametrelerde gruplar arasında bir farklılık göstermedi.

İmmünohistokimyasal inceleme sonucunda, KA'ların tamamında (%100), SHK'ların 10/16'sında (%62.5) ve KABSHK'ların 5/6'sında (%83.3) lezyonun santralinde β -katenin membranöz paternde pozitif saptandı. Ancak lezyon periferinde β -katenin membranöz pozitifliği KA'ların 6/7'sinde (%85.7), SHK'ların 5/16'sında (%31.3), KA benzeri SHK'ların 1/6'sında (%16.7) mevcuttu. Karsinom gruplarında KA grubuna oranla lezyon derinliğinde β -katenin ekspresyon kaybı yüksekti (Tablo 2) (Resim 3A,B).



Resim 3A. KA olgusunda diffüz β -katenin ekspresyonu.



Resim 3B. KABSCC olgusunda lezyon derinliğinde β -katenin ekspresyon kaybı (H&EX200).

Siklin D1 ekspresyonları ise lezyon santrali ve periferinde sırayla, KA için %71.5 ve %71.5, KABSHK için % 62.5 ve %71.5, SHK için % 62.5 ve % 31.3 değerlerindedir. İstatistiksel olarak siklin D1 ekspresyonu açısından gruplar arasında anlamlı sonuç bulunmadı (Tablo 3).

Tartışma

KA ve SHK'lar; klinik davranışları ve histopatolojik özellikleri ile ayırımı her zaman kolay olmayan ve farklı prognoza sahip iki tümöral lezyondur. Benign tümör olmasına karşın KA'lar hızlı büyüme özelliğine sahip oldukları için, SHK gibi total eksizyon ile tedavi edilmektedir. Doğal gelişim süreci bu nedenle tamamlanamayan KA'ların etyopatogenezi de tam olarak bilinmemektedir [2,7]. Bu yüzden iki lezyon arasında ayırıcı tanıyı ve etyopatogenezi kolaylaştırabilmek için birçok araştırma yapılmıştır. Cribier ve ark.'nın morfolojik özelliklere dayanarak yaptığı bir çalışmada; ayırıcı tanıda tek bir histopatolojik kriterden çok; lezyon kenar özellikleri, ülserasyon varlığı ve sitonükleer atipi gibi birden çok kriterin malignite lehine önemli bulgular olduğu bildirilmektedir [1]. Histopatolojik olarak santral keratin içeren ekzo-endofitik lezyon, kenarlarda epitel dudakları varlığı, keratinositlerin geniş soluk sitoplazmaya sahip olması, lezyon içi intraepitelyal apse varlığı, anaplazi yokluğu, tümör ve stroma arası keskin sınır varlığı, stromada desmoplazinin olmaması KA lehine bulgular iken, keratin krater içermeksizin özellikle endofitik büyüme paterni, sıklıkla ülserasyon varlığı, intraepitelyal apselerin nadirliği, anaplazinin sık olması, tümör ve stroma arasında sınırın belirgin olmaması ve stromada desmoplazi varlığı ise SHK lehine bulgular olarak kabul edilmektedir [4].

Diğer taraftan desmoglein 1 ve 2, E-kaderin, alfa, beta ve gama-kateninler, anjiyotensin tip-1 reseptör ve telomeraz aktivitesi gibi daha ileri tekniklerin de ayırıcı tanıdaki rolü araştırılmıştır [2,3,4]. İnvolutrin, keratin 1 ve 10 az diferansiye skuamöz hücreli karsinomda negatif iken iyi

diferansiye skuamöz hücreli karsinom ve keratoakantomda pozitif boyandığı için asıl ayırıcı tanının zor olduğu bu iki grupta çok yararlı gibi görünmemektedir [5]. Apoptozis açısından yapılan bir araştırmada anti-P2X7'nin skuamöz hücreli karsinomu keratoakantomdan ayırt etmede yararlı bir parametre olduğu bildirilmektedir [6].

Biz çalışmamızda; morfolojik parametreler arasından ülserasyonu SHK'larda, simetrisiteyi KA'larda daha sık saptadık. KABSHK grubunda ise ülserasyon hiç izlenmezken, simetrisite 7 olgunun 4'ünde kaybolmuştu. Bu sonuç tanısı zor olan bu grupta simetrisite özelliğinin çok yararlı olmadığını düşündürdü. KA için daha sık beklenen intraepitelyal polimorfonükleer mikroapse odakları ve başka bir çalışmada belirtilen keratoz, akantoz gibi bulgular bu çalışmada iki lezyon arasında anlamlı bir farklılık göstermedi [1].

Her bir grupta, lezyonun santralinde membranöz β -katenin ekspresyonu immünohistokimyasal olarak güçlüydü. Ancak KABSHK ve SHK'da, lezyonun derininde β -katenin ekspresyonu azalmakta idi. Bir başka çalışmada KA'lara kıyasla, skuamöz hücreli karsinomlarda β -katenin ekspresyonu anormal olarak saptanmıştır [2]. Yine literatürde yer alan 2 ayrı çalışmada, KA'lara kıyasla SHK'larda β -katenin ekspresyonunu belirgin azalmış olarak

bulunmuştur [6,8]. Hem bizim çalışmamızın sonuçları, hem de literatürde yer alan diğer çalışmalar göstermektedir ki; lezyon derininde membranöz β -katenin ekspresyon kaybı, KA ve KABSHK'ları ayırmada yardımcı olabilir. Papadavid ve ark.; borderline KA benzeri skuamöz hücreli karsinom ve az diferansiye skuamöz hücreli karsinomlarda β -katenin ekspresyonunun benzer şekilde azaldığını saptamışlardır [2]. Bizim çalışmamızda ise KABSHK ile ayırıcı tanı problemi olan iyi diferansiye skuamöz hücreli karsinom karşılaştırılmıştır ve bu iki grupta β -katenin ekspresyonu farklı bulunmuştur.

Burnworth ve ark. hem KA'larda hem de SHK'larda siklin D1'in artmış ekspresyonunu bildirmişlerdir [13]. Bu çalışmada, her üç grupta siklin D1 artmış ekspresyonu mevcut olmakla birlikte, gruplar arasında ne lezyonun santralinde ne de periferinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı.

Sonuç

Sonuç olarak KABSHK ile SHK ayırıcı tanısında, lezyon derinliğindeki invazyon odağında β -katenin ekspresyon kaybının; KA ile SHK ayırıcı tanısında ise ülserasyon, simetrisite gibi makroskobik bulguların önemli olduğu görüldü. Ancak bu sonuçların yaygın olarak kullanılabilmesi için daha geniş olgu gruplarında doğrulanması gerekmektedir.

Tablo 1. KA, KABSHK ve SHK'larda ülserasyon ve simetrisitenin dağılımı

	Tümör tipi		
	KA n=7	KABSHK n=7	SHK n=16
Ülserasyon	6 (%85.7)	7 (%100)	16 (%100)
Simetrisite	5 (%71)	3 (%42.9)	1 (%6.3)

KA: keratoakantom, KABSHK: keratoakantom benzeri skuamöz hücreli karsinom, SHK:skuamöz hücreli karsinom

Tablo 2. KA, KABSHK ve SHK'larda lezyonun santral ve periferinde membranöz β -kateninin ekspresyonu

	Santralde ekspresyon n(%)		Periferde ekspresyon n(%)	
	var	yok	var	yok
KA n=7	7 (100)	0	6 (85.7)	1 (14.3)
KABSHK n=6	5 (83.3)	1 (16.7)	1 (16.7)	5 (83.3)
SHK n=16	10 (62.5)	6 (37.5)	5 (31.3)	11 (68.8)

KA: keratoakantom, KABSHK: keratoakantom benzeri skuamöz hücreli karsinom, SHK:skuamöz hücreli karsinom

Tablo 3. KA, KABSHK ve SHK'larda lezyon santral ve periferinde Siklin D1 ekspresyonu

	Santralde Siklin D1 n(%)			Periferde Siklin D1 n(%)		
	Hafif	Orta	Şiddetli	Hafif	Orta	Şiddetli
KA n=7	2 (28.6)	3 (42.9)	2 (28.6)	2 (28.6)	3 (42.9)	2 (28.6)
KABSHK n=7	2 (28.6)	4 (57.1)	1 (14.3)	2 (28.6)	3 (42.9)	2 (28.6)
SHK n=16	6 (37.5)	8 (50)	2 (12.5)	11 (68.8)	3 (18.8)	2 (12.5)

KA: keratoakantom, KABSHK: keratoakantom benzeri skuamöz hücreli karsinom, SHK:skuamöz hücreli karsinom

Kaynaklar

1. Cribier B, Asch P, Grosshans E. Differentiating squamous cell carcinoma from keratoacanthoma using histopathological criteria. Is it possible? A study of 296 cases. *Dermatology* 1999;199:208-212.
2. Papadavid E, Pignatelli M, Zakynthinos S, et al. The potential role of abnormal E-cadherin and alfa, beta, gama-catenin immunoreactivity in the determination of the biological behaviour of keratoacanthoma. *Br J Dermatol* 2001;145:582-89.
3. Takeda H, Kondo S. Differences between squamous cell carcinoma and keratoacanthoma in angiotensin type-1 receptor expression. *Am J Pathol* 2001;158:1633-37.
4. Putti T, Teh M, Lee Y. Biological behavior of keratoacanthoma and squamous cell carcinoma: telomerase activity and COX-2 as potential markers. *Modern Pathol* 2004;17:468-75.
5. Ichikawa E, Ohnishi T, Watanabe S. Expression of keratin and involucrin in keratoacanthoma: an immunohistochemical aid to diagnosis. *J Dermatol Sci* 2004; 34:115-7.
6. Slater M, Barden J A. Differentiating keratoacanthoma from squamous cell carcinoma by the use of apoptotic and cell adhesion markers. *Histopathology* 2005; 47: 170-78.
7. Elders J. *Lever's Histopathology of Skin*, 8th ed. Lippincott-Raven: Philadelphia, NY, 1997.
8. Doglioni C, Piccinin S, Demontis S et al. Alterations of beta-catenin pathway in non-melanoma skin tumors: loss of alpha-ABC nuclear reactivity correlates with the presence of beta-catenin gene mutation. *Am J Pathol*. 2003;163:2277-87.
9. Fukumaru K, Yoshii N, Kanzaki T, Kanekura T. Immunohistochemical comparison of beta-catenin expression by human normal epidermis and epidermal tumors. *J Dermatol*. 2007;34:746-53.
10. Grabsch H, Takeno S, Noguchi T, Hommel G, Gabbert HE, Mueller W. Different patterns of beta-catenin expression in gastric carcinomas: relationship with clinicopathological parameters and prognostic outcome. *Histopathology*. 2001;39:141-49.
11. Yamazaki F, Aragane Y, Kawada A, Tezuka T. Immunohistochemical detection for nuclear beta-catenin in sporadic basal cell carcinoma. *Br J Dermatol* 2001;145:771-7.
12. Tataroglu C, Karabacak T, Apa DD. Beta-catenin and CD44 expression in keratoacanthoma and squamous cell carcinoma of the skin. *Tumori* 2007;93:284-89.
13. Burnworth B, Arendt S, Muffler S et al. The multi-step process of human skin carcinogenesis: a role for p53, cyclin D1, hTERT, p16, and TSP-1. *Eur J Cell Biol* 2007;86:763-80.
14. Lyakhovitsky A, Barzilai A, Fogel M, Trau H, Huszar M. Expression of e-cadherin and beta-catenin in cutaneous squamous cell carcinoma and its precursors. *Am J Dermatopathol* 2004; 26:372-78.