



BAZAL HÜCRELİ KARSİNOM TİPLERİNDE WNT/BETA-CATENİN SİNYAL YOLAĞI, COX-2, Kİ67, TRİPTAZ VE CD1a MOLEKÜLLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ
Arş. Grv. Dr. Tayfun KOÇOĞLU

DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Nilay DUMAN

DERİ VE ZÜHREVİ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

AFYONKARAHİSAR 2016

**T. C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

DERİ VE ZÜHREVİ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**BAZAL HÜCRELİ KARSİNOM TİPLERİNDE
WNT/BETA-CATENİN SİNYAL YOLAĞI, COX-2,
KI67, TRİPTAZ VE CD1a MOLEKÜLLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Arş. Grv. Dr. Tayfun KOÇOĞLU

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Nilay DUMAN

**Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Kurulu
Birimince 15.TUS.09 proje numarası ile desteklenmiştir**

AFYONKARAHİSAR 2016

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
DERİ VE ZÜHREVİ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

Tez Başlığı: BAZAL HÜCRELİ KARSİNOM TİPLERİNDE WNT/BETA-CATENİN SİNYAL YOLAĞI, COX-2, Kİ67, TRİPTAZ VE CD1a MOLEKÜLLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Tezi Hazırlayan : Dr. Tayfun KOÇOĞLU
Tez Savunma Tarihi : 04/11/2016
Tez Kabul Tarihi : 04/11/2016
Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Nilay Duman

İş bu çalışma jürimiz tarafından DERİ VE ZÜHREVİ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan
Yrd. Doç. Dr. Nilay DUMAN
Dermatoloji Anabilim Dalı

Üye
Prof. Dr. Nurhan SARAÇOĞLU
Dermatoloji Anabilim Dalı

Üye
Prof. Dr. Çiğdem TOKYOL
Patoloji Anabilim Dalı

ONAY
DEKAN
Prof. Dr. Adem ASLAN

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca, eğitimime katkıda bulunan ve hiçbir noktada desteğini esirgemeyen, başta değerli tez danışmanım ve Anabilim Dalı Başkanımız Yrd. Doç. Dr. Nilay DUMAN'a, kıymetli hocalarım Doç. Dr. Pınar ÖZOĞUZ'a ve Doç. Dr. Seval DOĞRUK KAÇAR'a sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım. Ayrıca tezimin hazırlanma sürecinde, değerli zamanlarını bana ayıran Yard. Dr. Çiğdem ÖZDEMİR'e de teşekkürü bir borç bilirim. Birlikte uzmanlık eğitimi yapmaktan mutluluk duyduğum sevgili arkadaşlarım Dr. Faruk ERKAN, Dr. Merve DEMİR, Dr. Vildan MANAV, Dr. Serap KARATAŞ ve Dr. Dilara GÜLER'e sevgi ve teşekkürlerimi sunarım. Hayatımın her aşamasında sevincime, kederime can-ı gönülden ortak olan, her zaman ilgi, sevgi ve desteğini hissettiren, yaşadığım tüm güzelliklerde emeği bulunan ve en büyük motivasyon kaynağım olan kıymetli aileme; babam Yaşar KOÇOĞLU, annem Rafiye KOÇOĞLU ve kardeşlerim Aylin KOÇOĞLU ve Aksel KOÇOĞLU'na sevgi, minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Tayfun KOÇOĞLU
AFYONKARAHİSAR

2016

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
TABLolar ÇİZELGESİ.....	IV
ŞEKİLLER ÇİZELGESİ.....	V
KISALTMALAR.....	VI
I-GİRİŞ	1
II-GENEL BİLGİLER	2
1. DERİ EMBRİYOLOJİSİ.....	2
2. DERİNİN HİSTOLOJİSİ.....	3
2.1. EPİDERMİS.....	3
2.2. DERMİS.....	4
3. BAZAL HÜCRELİ KARSİNOM.....	5
3.1. BAZAL HÜCRELİ KARSİNOM EPİDEMİYOLOJİSİ.....	5
3.2. BAZAL HÜCRELİ KARSİNOM ETİYOLOJİSİ.....	5
3.3. BAZAL HÜCRELİ KARSİNOM PATOGENEZİ.....	6
3.4. BAZAL HÜCRELİ KARSİNOM KLİNİĞİ.....	8
3.5. BAZAL HÜCRELİ KARSİNOM HİSTOPATOLOJİSİ.....	11
3.6. BAZAL HÜCRELİ KARSİNOM TEDAVİSİ.....	19
4. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BELİRTEÇLER.....	20
4.1. WNT/BETA-CATENİN SİNYAL YOLAĞI.....	20
4.2. Ki67.....	22
4.3. COX-2.....	23
4.4. CD1a.....	24
4.5. TRİPTAZ.....	25

III- GEREÇ VE YÖNTEM.....	26
1. ÇALIŞMA GRUBUNUN TANIMLANMASI.....	26
2. HİSTOMORFOLOJİK DEĞERLENDİRME.....	26
3. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEM.....	27
4. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRME.....	29
5. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME.....	30
IV- BULGULAR.....	31
1. DEMOGRAFİK BULGULAR.....	31
2. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR.....	33
2.1. COX-2.....	33
2.2. Kİ67.....	35
2.3. CD1a.....	37
2.4. TRİPTAZ.....	38
2.5. BETA-CATENİN.....	41
2.6. WNT.....	42
V- TARTIŞMA.....	44
VI- SONUÇ.....	50
VII- ÖZET.....	52
VIII- SUMMARY.....	54
IX- KAYNAKLAR.....	56

TABLÖLAR ÇİZELGESİ

Tablo 1: Bazal hücreli karsinomda risk faktörleri

Tablo 2: İmmünohistokimyasal çalışmada kullanılan primer antikorlar

Tablo 3: Olguların cinsiyet dağılımı

Tablo 4: Subtiplerin dağılımı

Tablo 5: Bazal hücreli karsinomların subtiplerinin yaş ortalamaları

Tablo 6: Subtiplerde olguların cinsiyete göre dağılımı

Tablo 7: Bazal hücreli karsinom subtiplerinde COX-2 boyanması

Tablo 8: BHK subtiplerinde immünohistokimyasal ekspresyonlar

ŞEKİLLER ÇİZELGESİ

Şekil 1: Derinin katmanları

Şekil 2: Bazal hücreli karsinom, nodüler tip (HE, x20)

Şekil 3: Bazal hücreli karsinom, infiltratif tip (HE, x20)

Şekil 4: Bazal hücreli karsinom, adenoid tip (HE, x20)

Şekil 5: WNT yolağı. WNT uyarısının olmadığı inaktif durum (A) ve WNT aktif durum (B)

Şekil 6: Tümör çevresindeki inflamatuvar hücrelerde ve tümör hücrelerinde kuvvetli izlenen COX-2 sitoplazmik pozitifliği mevcutken, skuamöz epitelde COX-2 pozitifliğinin izlenmemesi (x200).

Şekil 7: Deri yüzeyindeki epitelin bazal tabakasında izlenen olağan nükleer boyanma ve tümördeki yüksek proliferatif Kİ67 indeksi (x200).

Şekil 8: Yüzey epiteli içinde ve tümör içindeki dendritik hücrelerdeki kuvvetli CD1a ekspresyonu (x200).

Şekil 9: Peritümöral ve intratümöral mast hücrelerindeki sitoplazmik triptaz boyanması (x200).

Şekil 10: İnfiltratif tip BHK'da yüzey epitelinde ve tümör hücrelerinde membranöz ve sitoplazmik kuvvetli Beta-catenin ekspresyonu (x200).

Şekil 11: WNT ekspresyonunun immünohistokimyasal olarak izlenmemesi (x200).

KISALTMALAR

APC: Adenomatöz poliposis coli

Axin: Axis inhibition protein

BHK: Bazal hücreli karsinom

CKI: Kazein kinaz

COX: Siklooksijenaz

Dkk: Dickkopf

dvl: Dishevelled

ER: Antijen retriyel

Fz: Frizzled

GSK3 β : Glikojen sentaz kinaz 3 β

Hh: Hedgehog

LRP5/6: Düşük yoğunluklu lipoprotein reseptör ilişkili protein 5/6

PCP: Planar Cell Polarity

PGG2: Prostoglandin G2

PTCH: Patched

PUVA: Psoralen ultraviyole A

sFRP: Secreted frizzled-related proteins

Shh: Sonic hedgehog

SHK: Skuamöz hücreli karsinom

Smo: Smoothened

UV: Ultraviyole

WIF: Wnt inhibitör protein

WNT: Wingless

I. GİRİŞ

İnsanlarda en sık görülen kanser bazal hücreli karsinomdur (BHK). Yavaş büyüme paterni gösteren BHK'da ortalama görülme yaşı 60'dır. BHK erkeklerde ve beyaz ırkta daha sık görülür. Aralıklı güneş maruziyeti BHK'ların ortaya çıkmasında ve ilerlemesinde en büyük risk faktörüdür. BHK'lar genellikle çok düşük rekürrens ve metastaz potansiyeline sahiptirler. Ancak agresif davranış sergileyen subtipleri doku yıkımı yapmaları yanı sıra yüksek rekürrens ve metastaz göstererek ölüme neden olabilir (1).

BHK epidermisin bazal tabakasındaki yaşam boyu sürekli bölünen pluripotent germ hücrelerinden veya pilosebase ünitenin dış kök kılıfından köken alır (2). Tümörlerin histopatolojik görünümleri ve hücre morfolojileri köken aldıkları bölgeden bağımsız olarak birçok farklılık sergiler ve bu nedenle çok sayıda BHK histopatolojik subtipi tanımlanmıştır. Literatürde belirli histolojik subtiplerin agresif davranış sergileme ve rekürrens için önemli risk taşıdığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Ancak histopatolojik subtip de tümörlerin davranışlarını belirlemede yetersiz kalmakta, prognozu önceden tahmin etmek ve alternatif tedavi yöntemleri geliştirmek için ek bulgulara gereksinim duyulmaktadır. Bunun için tümörlerin ve tümör hücrelerinin karakteristiklerini yansıtabilecek çeşitli histokimyasal ve immünohistokimyasal parametrelere başvurulmuştur (3).

Bu çalışmada BHK tanısı almış 100 olguluk bir seride histopatolojik subtip tayini yaptıktan sonra WNT/Beta-catenin sinyal yolağı, COX-2, Kİ67, CD1a ve Triptaz moleküllerinin ekspresyonlarını değerlendirerek patogeneze hakkında daha detaylı bilgilere ulaşılmak hedeflenmiştir. Ulaşılmaması amaçlanan bilgiler ışığında ise alternatif tedavilerin geliştirilebilmesine katkı sağlamak amaçlanmıştır.

II. GENEL BİLGİLER

1. DERİ EMBRİYOLOJİSİ

Vücudun en büyük organı olan deri 3 tabakadan oluşmaktadır. En dışta çevre ile iletişim halinde ve koruma görevi olan epidermis, ortada direnç ve elastikiyetten sorumlu dermis ve en altta deriyi altındaki dokulara bağlayan hipodermis (subkutis) bulunmaktadır (4).

Fetal deri gelişiminin 1. evresi embriyonik dönemdir. 1. ve 2. aylardaki bu dönem organogenez dönemini ifade eder. İkinci dönem 3. ve 5. aylar arasındaki morfogenez dönemidir. Beşinci ay ve bundan sonra doğuma kadar olan süreç fetal dönem olarak nitelendirilir ve büyüme ve farklılaşma sürecidir (4).

Epidermis ektodermden köken alırken, dermis mezodermden köken alır. Yüzeyel ektodermden epidermis taslağı oluşur ve bunlar çoğalarak periderm denilen yassı bir epitel tabaka ve bazal bir germinatif tabaka oluştururlar. Bu germinatif tabaka hücreleri daha sonra yüzeydeki tabakalara hücre üretmek amacıyla stratum germinatum dönüşür. Periderm tabakası ise 23. haftada dökülerek keratinizasyon başlar (5,6).

Dermis primitif mezenkimden gelişir. İkinci trimesterde tip 1 kollajen liflerinden zenginken sonrasında yerini tip 3 kollajen baskın hale gelir. Fibroblastlar da bu dönemde kolayca tanınırlar (5,6).

Epidermis bazal hücrelerinden kıl gelişimi 9-12. haftalarda başlayıp 20. gebelik haftasında belirgin hale gelir. Sebase bezler kıl follikülünün dış kök kılıfından 13-15. gestasyonel haftalarında gelişir (5,6).

2. DERİNİN HİSTOLOJİSİ

2.1. EPİDERMİS

Hücrelerinin %95'i keratinositlerden oluşan epiderminin temel görevi kornifikasyon ve geçirgenliğe karşı bariyer oluşturmaktır. Deri, eklerini de oluşturan çok katlı yassı epitele sahiptir. Keratinositler bazal tabakadan yüzeye doğru hareketleri sırasında sınırları belirgin tabakalar oluştururlar. Bunlar sırasıyla stratum bazale, stratum spinosum, stratum granulosum ve stratum korneumdur. Ayrıca avuç içi ve ayak tabanında stratum korneum ve stratum granulosum arasında stratum lusidum bulunur. En alttaki iki tabaka olan stratum bazale ve stratum spinosuma malpighi tabakası denir (4).

Keratinositler dışında epidermiste sayılarına göre çoktan aza doğru melanositler, Langerhans hücreleri ve Merkel hücreleri bulunur (4).

Stratum bazale: Mitotik olarak aktif olan ve kök hücrelerin bulunduğu germinatif tabakadır. Keratinositler birbirlerine desmozom, bazal membrana ise hemidesmozom adı verilen yapılarla bağlıdır (4).

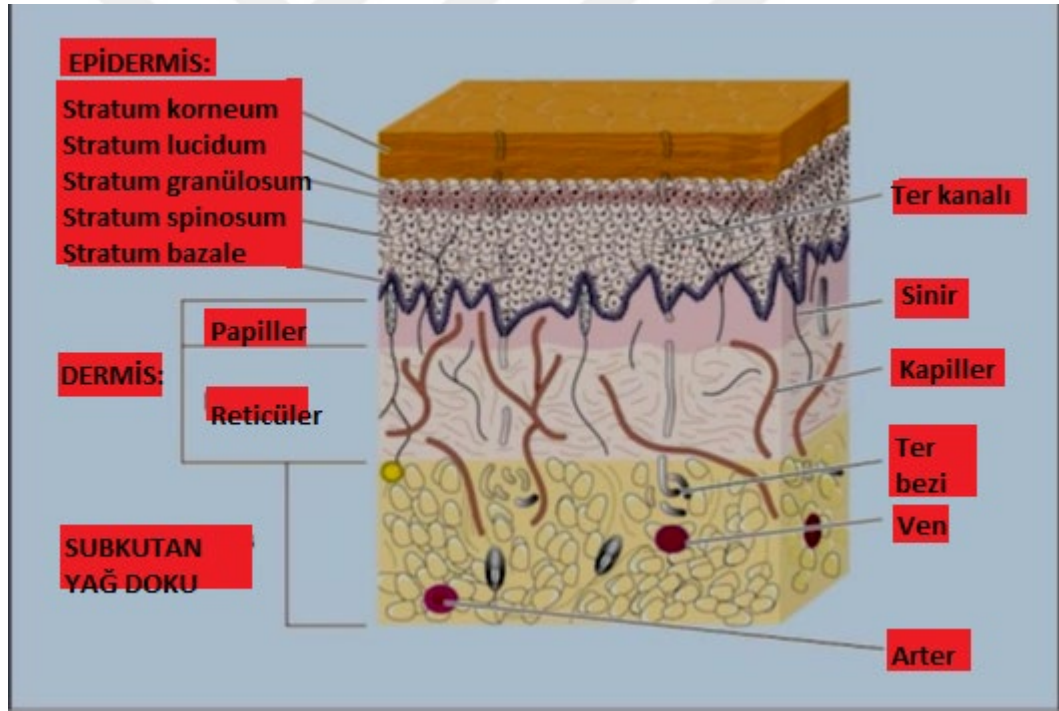
Stratum spinosum: Keratinositlerin iğsi şekil almaları nedeniyle bu şekilde isimlendirilen stratum spinosumda melanin pigmenti keratinositler arasında dağınık olarak bulunur (6).

Stratum granulosum: Keratinosit sitoplazması içerisinde bazofilik boyanan keratohiyalin granülleri vardır (4).

Stratum korneum: Çekirdeksiz keratinositlerden oluşan bu tabakada hücreler zaman içerisinde dökülürler (4).

2.2. DERMİS

Papiller ve retiküler dermis olmak üzere iki bölümden oluşur. Epidermis altında damar yer alan ağından zengin bir tabakadır. Deriye beslenme ve yapısal destek sağlar. Kollajen ve elastin içeren fibröz bir matriks tarafından bir arada tutulur. Sinirler, damarlar, glomus hücreleri, mononükleer fagositer sistem hücreleri ve mast hücrelerini de içeren dermis tabakasının temel hücreleri fibroblastlardır (7).



Şekil 1: Derinin katmanları (Referans 7’deki şekilden modifiye edilmiştir).

3. BAZAL HÜCRELİ KARSİNOM

BHK epidermisteki bazal hücrelerden veya kıl foliküllerinin dış kök kılıfından geliştiği düşünülen malign bir deri tümörüdür. Tedavi edilmediği takdirde lokal invazyon ve doku hasarına neden olur. Nadiren metastaz yapar (1).

3.1. BAZAL HÜCRELİ KARSİNOM EPİDEMİYOLOJİSİ

İnsanlardaki en yaygın kanserler melanom dışı deri kanserleridir (1, 4). Melanom dışı deri kanserlerinin %75'ini BHK oluştururken %25'ini skuamöz hücreli kanserler (SHK) oluşturur (1,8).

BHK beyaz ırkta siyah ırka kıyasla daha sık görülür (1). Yavaş büyüme paterni gösteren BHK'da ortalama görülme yaşı 60'dır. Ancak BHK son yıllarda 40 yaşın üzerindeki daha genç popülasyonda da artma eğilimindedir (9). Erkeklerde kadınlardan daha sık görülmektedir (1,9). BHK her iki cinsiyette de en sık baş ve boyun bölgesinde izlenir (10).

3.2. BAZAL HÜCRELİ KARSİNOM ETİYOLOJİSİ

BHK bazı spesifik genodermatozlar ve immünsüpresif hastalar dışında genellikle 4. dekatta ve sonrasında ortaya çıkmaktadır. Aralıklı güneş maruziyeti BHK'nin ortaya çıkmasında ve ilerlemesinde en büyük risk faktörüdür. Açık tenli, renkli gözlü, kıvrık saçlı ve deri fototipi düşük bireyler daha fazla risk altındadır. Bunun dışında arsenik maruziyeti, solaryum ve fototerapi de risk faktörleri arasındadır. Sıklıkla SHK gelişimi görülen skar, kronik sinüs ağzı, ülser ve kronik inflamasyon alanlarından da BHK gelişebilir (11).

BHK gelişim riskini arttıran başlıca genodermatozlar kseroderma pigmentosum, Rombo sendromu, Bazex-Dupre-Christol sendromu, albinizm ve

nevroid BHK sendromudur (11). Bu sendromlar ya epidermal pigmentasyonu azaltıp ultraviyole etkisini artırır ya da epidermisteki onkojenik değişimi tetiklerler ve genotipik kararsızlık oluştururlar (11).

Nevroid BHK sendromu otozomal dominant bir hastalıktır. Patched (PTCH) geninde mutasyon vardır. Çok sayıda BHK, palmar ve plantar çukurcuklar, çenenin odontojenik keratokistleri, iskelet anomalileri ve falks serebri kalsifikasyonu majör belirtileridir (8).

Tablo 1: Bazal hücreli karsinomda risk faktörleri

İleri yaş
Erkek cinsiyet
Fitzpatrick deri tipi 1-2
Ultraviyole ışığa maruziyet (Aralıklı/kronik/solaryum/PUVA v.b.)
Çocukluk döneminde güneş yanığı öyküsü
Ailede BHK öyküsü
Genodermatozlar
İmmünsüpresyon varlığı
Kimyasallara maruziyet (arsenik)
Kronik iyileşmeyen yara varlığı

3.3. BAZAL HÜCRELİ KARSİNOM PATOGENEZİ

BHK ilk olarak 1903 yılında Krompecher tarafından epidermin bazal hücrelerinin karsinomu olarak tanımlanmıştır. BHK'nın epidermal bazal hücrelerden çok, dermal eklerin distorsiyone primordia'sından geliştiği yönündeki görüşlerin yanı sıra kıl matriksi hücrelerinden geliştiği de ileri sürülmüştür (10,12).

En güncel görüş BHK'nın epidermin bazal tabakasındaki yaşam boyu sürekli bölünen pluripotent germ hücrelerinden veya pilosebase ünitenin dış kök

kılıfından köken aldığı şeklindedir (2). BHK'da hücreler büyük, tek tip çekirdek ve yetersiz stroma ile karakterizedir. Mikroskop altında yarık şeklinde görünen stromal retraksiyon alanları BHK için karakteristik bir bulgudur (8).

UV ışığın keratinosit DNA'sını hasara uğratğı, derinin immün yanıtını zayıflatğı ve bunun sonucunda tümör oluşumuna neden olduğu düşünülmektedir. Buna rağmen tümörögenezin ayrıntıları tam olarak bilinmemektedir (13).

Hedgehog (Hh) sinyal ileti yolağı embriyonik gelişim esnasında temel ileti yolağıdır. Bu yolakta meydana gelen değışiklikler BHK gelişiminde en önemli faktördür. PTCH geni ve diğer birçok gen bu yolağın düzenlenmesinde görev olarak hücre bölünmesini kontrol etmektedir (14,15). Memelilerde Üç tip Hh proteini tanımlanmıştır. Deride bulunan sonic Hh (Shh) yolağı kök hücre popülasyonunun devamını sağlar. Ayrıca sebace bezlerin ve kıl foliküllerinin gelişimini de düzenler. Normalde embriyonik dönemde aktive olan bu sinyal yolağının erişkin dönemde aktive olması medülloblastom, rabdomiyosarkom ve BHK gibi tümörlerin gelişiminde rol oynar (1).

PTCH proteini Shh ileti yolağının reseptörüdür. Ayrıca bir p53 gen ürünüdür. Shh sinyal yolağında bir diğer önemli protein smoothed (Smo) proteinidir. Smo ve PTCH Hh sinyallerine oluşturulan cevapları düzenler. PTCH'nin en önemli görevi Smo'yu baskılamaktır. PTCH ve Smo proteinlerini etkileyen onkogenik mutasyonlar Hh sinyal yolağını aktive eder (1).

Nevoid BHK sendromundaki genetik çalışmalar kromozom 9q22.3'deki PTCH1 genindeki mutasyonu ortaya koymuştur. PTCH1 genindeki mutasyonlar sporadik BHK'ların %30'unda da tespit edilmiştir (11). PTCH geninde mutasyon görülmeyen bazı sporadik BHK olgularında ise Smo geninde bazı aktive edici mutasyonlar izlenmiştir (1).

BHK'da PTCH genindeki mutasyonlar dışında p53 geninde nokta mutasyonlar, CDKN2A lokusunda ve ras onkogeninde genetik mutasyonlar da tanımlanmıştır (13,16,17).

3.4. BAZAL HÜCRELİ KARSİNOM KLİNİĞİ

BHK daima kıl follikülü bulunan deriden gelişir. BHK'ların %80'i baş ve boyun bölgesinde yerleşir (18,19). Yüzde 15'i ise sırt, göğüs ve omuz bölgelerinde görülmektedir (20). Literatürlerde skrotum, başparmak, el sırtı, saçlı deri, vulva, perianal bölge, meme, kasık, kulak memesi, koltukaltı, interdigital alan ve penis gibi bölgelerde de BHK olguları bildirilmiştir (21). Oral mukoza tutulumu tartışmalıdır, literatürde bildirilen bazı olguların olasılıkla ameloblastom olduğu düşünülmektedir. BHK erkeklerde daha sık izlenir. Siyah ırkta daha nadir görülmektedir (18,19).

BHK genellikle tektir, multiple olanlar çoğu zaman herediter sendromlara eşlik eder. Çocuklarda pek görülmesi de bildirilmiş vakalar vardır. Lineer unilateral bazal hücreli nevüste lezyonlar doğumda mevcut iken Bazeks sendromu ve nevoid BHK sendromunda lezyonlar puberteden önce ortaya çıkar (18,19).

BHK'nın kliniği farklı ve kendine özgü seyri ve histolojik görünümü olan subtipleri tanımlanmıştır. Başlıca subtipleri nodüler, pigmente, süperfisyel, Pinkus'un fibroepitelyoması ve morfeiform BHK'dır (22,23)

3.4.1. NODÜLER BAZAL HÜCRELİ KARSİNOM

Tüm olguların %60'ını oluşturan en sık görülen tiptir. Güneş gören yerlerde sıklıkla baş ve boyun bölgesinde izlenir. Burun en sık görülen lokalizasyondur. Üzerinde telenjektaziler bulunan, şeffaf, inci tanesine benzeyen bir nodül tipik görüntüsünü oluşturur (22,23). Nodül boyutu sıklıkla yavaşça artar ve ortası ülserleşmeye başlar. Bu durum Rodent ülser olarak tanımlanır (10).

Çoğu kısıtlı büyüme paternine sahip olan Rodent ülserler nadiren agresif davranış göstererek büyük boyutlara ulaşip doku hasarına ve invazyonuna neden olabilir. Göz ve burunu harap edebilir. Kafa derisinden penetre olarak dural invazyon gösterebilir (24).

BHK en sık SHK ile karışır. Rodent ülser BHK için karakteristik iken SHK kubbemsi, sert ve infiltre olup daha çok mukokütanöz birleşim yerlerinde, alt dudak ve ekstremitelerde görülür. Ayrıca SHK, BHK'dan daha hızlı büyür (1).

3.4.2. PİGMENTE BAZAL HÜCRELİ KARSİNOM

Tüm BHK'ların %6'sını oluşturur. Nodüler BHK'dan hemen hemen tek farkı kahverengi pigmenti olmasıdır. Özellikle koyu tenlilerde görülen kahverengi ve siyah şeffaf papüllerle karakterizedir (1). Japonlarda ve siyah ırkta görülen BHK sıklıkla pigmente olma eğilimindedir (25). Arsenik maruziyeti sonrası ortaya çıkan BHK sıklıkla pigmente veya süperfisyeldir (22,23).

3.4.3. SÜPERFİSYEL (YÜZEYEL) BAZAL HÜCRELİ KARSİNOM

Diğer BHK'lerden farklı olarak genellikle gövdede yerleşir ve daha genç yaştakileri etkiler. Tüm BHK olgularının %15'ini oluşturur (22,23). Çoğunlukla eritematöz bir makül veya ince bir plak şeklinde ortaya çıkar. Hipopigmentasyon ve atrofi ile karakterize yer yer regresyon alanları da içerebilir (8).

3.4.4. MORFEİFORM/SKLEROZAN BAZAL HÜCRELİ KARSİNOM

Agresif seyirlidir ve tanı aldığında genellikle daha geniş bir alana yayılmıştır. Tek, deri seviyesinde veya çökük, parlak, endüre bir plak şeklinde ortaya çıkar. Daha sonra ülserleşir (1).

3.4.5. PİNKUS'UN FİBROEPİTELYOMASI

BHK'nın nadir bir tipidir. Sıklıkla bel bölgesinde, bazende kasık ve genital bölgede izlenen saplı, üzeri düz açık kırmızı bir nodüldür. Klinik olarak fibroma benzer, amelanotik melanomdan ayrımı güç olabilir (1,8).

BHK'nin bu 5 alt klinik tablo dışında, daha genç popülasyonlarda, multipl ve herediter olarak ortaya çıktığı farklı sendromlar bulunmaktadır.

Nevoid BHK sendromu: Otozomal dominant kalıtım gösteren bu sendrom Gorlin sendromu olarak da bilinmektedir. Multipl ve erken başlangıçlı BHK'lar, palmar ve plantar çukurlanmalar, odontojenik kistler, falks cerebride kalsifikasyon, nörolojik anomaliler ve mental retardasyon gibi bulguların olduğu multisistemik bir hastalıktır (22,23).

Bazex-Dupre-Christol sendromu: Folliküler atrofoderma ve yüzde multipl BHK'nın izlendiği, X'e bağlı dominant kalıtım gösteren bir sendromdur (8).

Lineer unilateral bazal hücreli nevüs sendromu: Nadir görülen, özellikle doğumdan sonra mevcut olan ve histolojik olarak BHK'ya benzer ancak benign kliniği olan nodüllerden oluşan yaygın unilateral lineer veya zosteriform erüpsiyonlar gösteren bir sendromdur (8).

Rombo sendromu: Otozomal dominant kalıtım gösteren, BHK'lar ile birlikte hipertrikoz, vermikülat atrofoderma ve trikoepitelyomaların görüldüğü bir sendromdur (1).

BHK sıklıkla iyi bir prognoz sergiler. Tedavide altın standart cerrahidir. Beş yıllık rekürrens hızı tedavi şekline bağlı olarak değişmekle birlikte ortalama %5'tir (26,27). Nazolabial sulkus ve burun üzerindeki BHK'ların rekürrensi daha sıktır (28). Tümör çapı arttıkça ve immün yetmezliklerde rekürrens riski artmaktadır (29). Nodüler BHK ve pinkusun fibroepitelyoması düşük rekürrens gösterirken, süperfisyel ve morfeiform BHK'da rekürrens riski daha fazladır (8, 30).

BHK için lokal invazyon yapma potansiyeli en önemli tehlikedir. Tümör çok yavaş büyür. Ancak tedavi edilmediği takdirde subkutan dokuya, kas ve kemiğe invazyon yapabilir. Bu da doku yıkımı ile sonuçlanır. Perinöral invazyon ise olguların sadece %0,2'sinde ve nispeten agresif olanlarda izlenmiştir (22).

BHK'da %0,0028-0.55 oranında metastaz izlenmektedir. Ve ortalama ortaya çıkış süresi lezyondan yaklaşık 9 yıl sonradır. Metastaz erkeklerde 2 kat daha fazladır ve sıklıkla bölgesel lenf nodlarına, akciğere, kemiğe ve deriye olmaktadır (22).

3.5. BAZAL HÜCRELİ KARSİNOM HİSTOPATOLOJİSİ

BHK dar sitoplazmalı bazal hücre tiplerinden oluşan kordon, band veya lobüllerden oluşur. Periferik palizadlanmaların olduğu tümör adaları mevcuttur ve bunların merkezinde rastgele dağılan hücreler gözlenir. Tipik olarak epitel ile özelleşmiş stroma arasında ayrışma artefaktı gözlenir (31). Stroma ile tümör ilişkisi normal epidermisi dermise bağlayan hemidesmozomların yokluğu nedeniyle kuvvetli değildir (32).

Tümörlerin çoğu epidermisin tabanına tutunur. Büyük lezyonlarda ülserasyon sıktır. Agresif olanlar ve uzun süredir sebat eden tümörler sıklıkla

dermise ilerler. Bunu da deri ekleri veya diffüz yayılım yolu ile gerçekleştirirler (33).

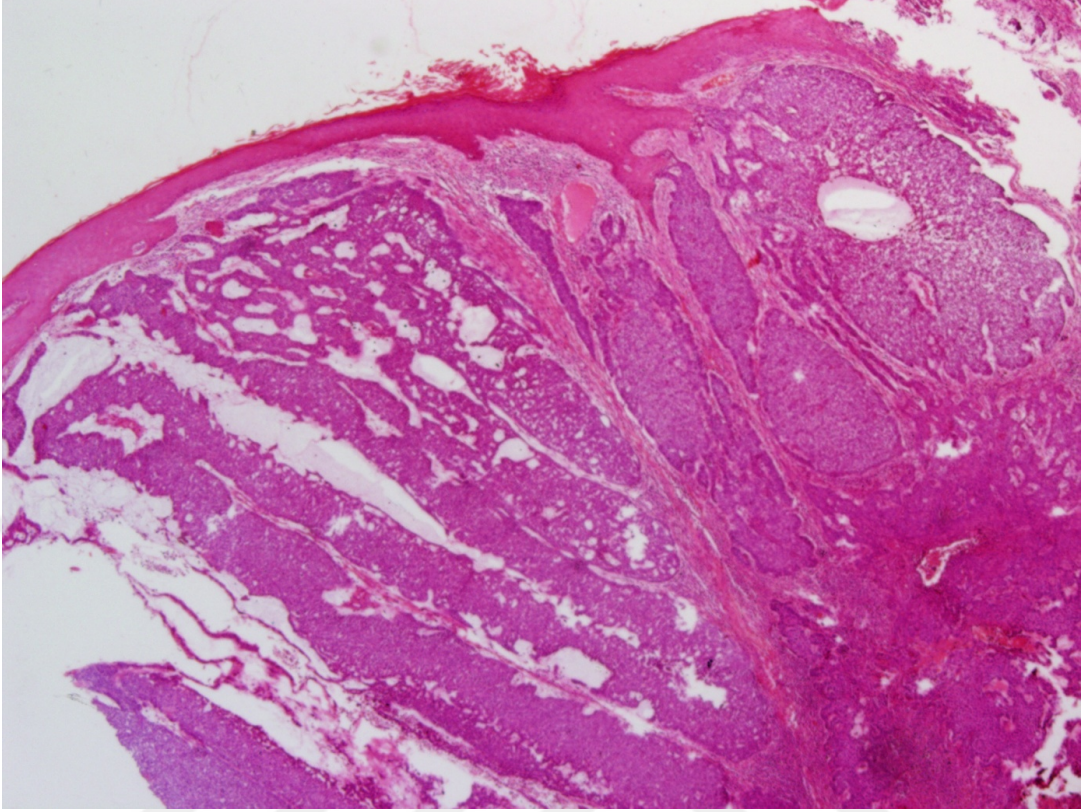
BHK'nın tipik hücreleri uzamış veya oval şekilli, iri, dar sitoplazmalı ve hiperkromatik çekirdeklidir (10).

BHK'ların histomorfolojisinde bazı farklılıklar olması nedeniyle çok sayıda histolojik subtip tanımlanmıştır (34). Yapılan bazı çalışmalarda histopatolojik subtip ile tümörün agresif davranışlarının ilişkili olduğu gösterilmiştir (3). Tümörün subtipinin belirlenmesi tedavi açısından da önem arz etmektedir. Baskın subtipi belirlemek amacıyla tüm tümörün %50'sinden fazlasını temsil eden komponent göz önüne alınmalıdır (12). BHK tanısı %80 doğruluk ile punch veya eksizyonel biyopsi ile konulabilmektedir. Shave biyopsi yüzeyel materyal sağladığı için tercih edilmemelidir (12).

Histopatolojik olarak tanımlanmış olan bazoskuamöz, keratotik, nodüler, mikronodüler, süperfisyel, infiltratif, fibroepitelyal, adneksiyal diferansiyasyon gösteren, kistik, pigmente, adenoid, sklerozan/morfeiform, infundibulokistik, keratotik subtipleri bulunmaktadır (31). Bunların dışında berrak hücreli, taşlı yüzük hücreli, granüler hücreli, dev hücreli, adamantinoid, nöroendokrin, schwannoid, pleomorfik gibi daha nadir subtipler de bildirilmiştir (35).

3.5.1. Nodüler Tip

Nodüler tip BHK'nın Histopatolojisinde izlenen periferik palizatlanmaların görüldüğü bazaloid hücrelerden oluşan nodüller, retiküler dermis veya daha derine infiltre olabilir. Müsinöz dejenerasyona bağlı olarak lobüller adenoid veya kistik patern sergileyebilir (10).



Şekil 2: Bazal hücreli karsinom, nodüler tip (HE, x20)

3.5.2. Süperfisyal Tip

Süperfisyal BHK histopatolojisiinde epidermal eksene paralel bir şerit oluşturacak şekilde proliferen olan atipik bazaloid hücreler izlenir (11,37). Döşeyici epitelde atrofi ve yama tarzında band benzeri lenfositik infiltrasyon eşlik eden diğer bulgulardır (10).

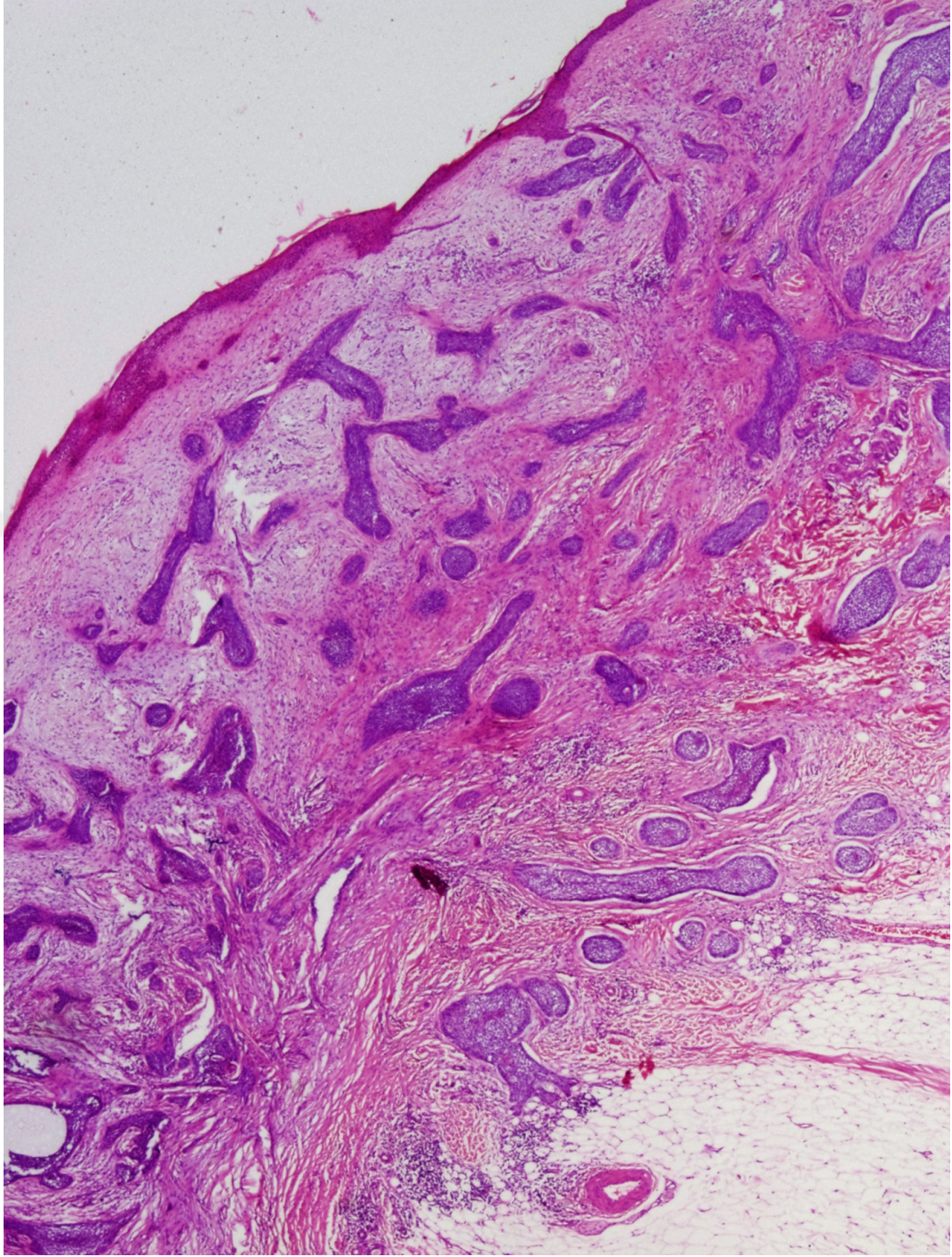
3.5.3. Morfeiform/Sklerozan Tip

Morfeiform veya sklerozan BHK bir iki hücre sütunundan oluşan fibroblastların oluşturduğu yoğun kollajenize bir stroma ile çevrilidir (8). Bağ dokusu yoğunluğu diğer BHK subtiplerinden daha fazladır. Yoğun fibröz stromada gömülü tümör hücrelerinden oluşan dar, uzamış şekilli kordonlar ve küçük adalar görülür (10). Tüm BHK'ların %1-5'ini oluşturur. Klinik olarak ülserden ziyade sıklıkla beyaz veya sarı çökük fibrotik skar izlenir (11).

Keloid benzeri yoğun ve kollajenden zengin eozinofilik alanlar içeren bir stroma varsa buna geleneksel olarak ‘morfea benzeri’ terimi seçilir. Bu tipte özellikle prokollajen gen ekspresyonu artmıştır (12).

3.5.4. İnfiltratif Tip

İnfiltratif BHK histopatolojisinde düzensiz şekilde ve büyüklükte tümör hücre yuvaları izlenir. Tümör yuvalarının periferlerinde keskin açılanmalar, yer yer yarıklanma odakları, tümör hücrelerinde artmış mitotik aktivite ve tek tek nekrozlar izlenir. Stroma sıklıkla fibrotiktir. Tüm BHK subtiplerinin %6-25 kadarını oluşturur. Morfeiform tipte olduğu gibi bu subtipte de sınırlar düzenli değildir ve subkutan dokuya ve altındaki kas tabakasına invazyon görülebilir. Klinikte morfeiform tipe benzer olarak sarımsı deprese bir plak şeklinde izlenir (11).



Şekil 3: Bazal hücreli karsinom, infiltratif tip (HE, x20)

3.5.5. Mikronodüler Tip

En sık sırt bölgesinde görülen ve tüm BHK'ların %2-8'ini oluşturan mikronodüler BHK düz veya yüzeiden kabarık infiltratif tümörler olarak ortaya çıkar (38). Mikronodüler BHK nodüler tipe benzer ancak tümör yuvaları daha küçüktür ve periferik palizatlanma sıklıkla belirgin değildir (12). Nodüler tipten daha sık rekürens oranına sahiptir. Bunun sebebi ise cerrahi sınırının genellikle pozitif olmasıdır (38).

3.5.6. Kistik Tip

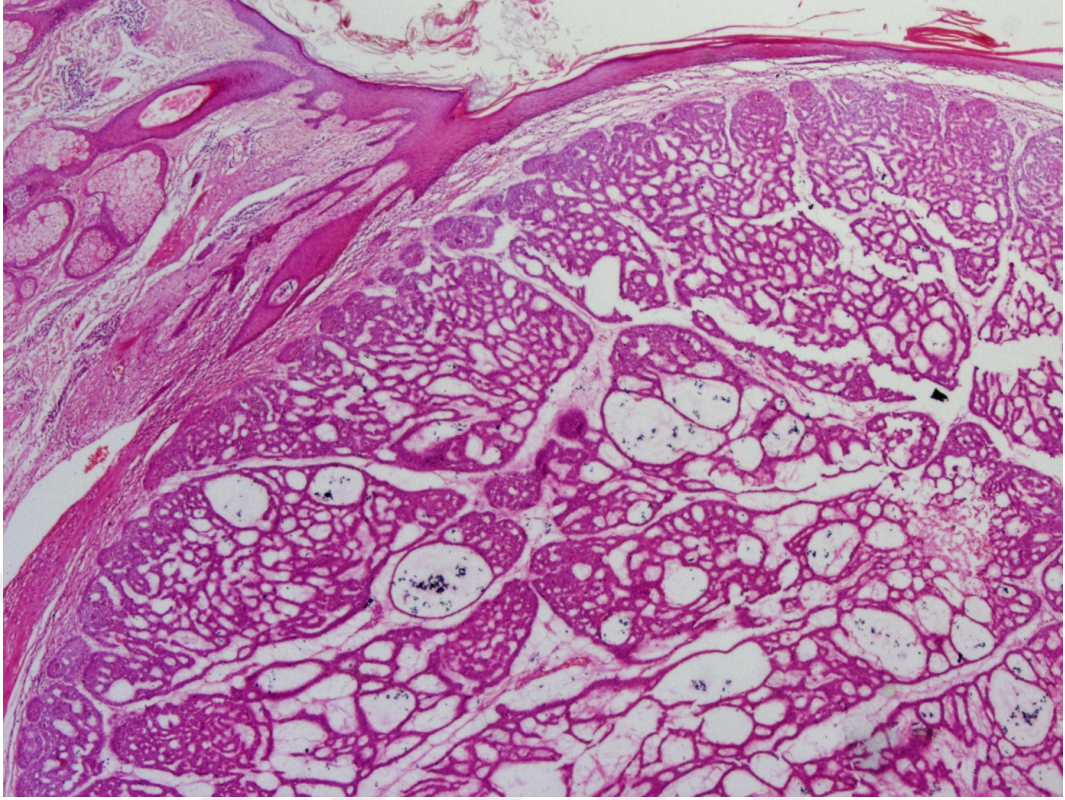
Kistik tipte bazı tümör adalarının merkezinde kistik bir alan izlenir. Bu merkezdeki tümör hücrelerinin dejenerasyonu sonucu ortaya çıkar (38). Kistik tip BHK tüm BHK subtiplerinin %4-8'ini oluşturur (14).

3.5.7. Pigmente Tip

Melanin pigmenti tümörde iyi huylu melanositler tarafından üretilir ve tümöral hücreler tarafından fagositize edilerek pigmente BHK olarak adlandırılır. Tüm BHK subtiplerinin %1-7'sini oluşturur (10).

3.5.8. Adenoid Tip

Adenoid BHK tübüler, gland benzeri yapılar gösterir. Tüm BHK'ların %1-7'sini oluşturur. Bağ dokusunu çevreleyen kordonlar şeklinde tümöral hücre dizilimi vardır (10).



Şekil 4: Bazal hücreli karsinom, adenoid tip (HE, x20)

3.5.9. Adneksiyal Diferansiyasyon Gösteren Bazal Hücreli Karsinom

Histopatolojik olarak bazaloid tomurcuklanmalar, trikilemmal, sebaceöz ve duktal elemanları içeren adneksiyal diferansiyasyon paterni gösterir. Ekrin veya apokrin diferansiyasyon gösterebilir (39).

3.5.10. Bazoskuamöz Karsinom

Tüm BHK subtiplerinin %1-4'ünü oluşturmaktadır. Bu terim skuamöz diferansiyasyon gösteren BHK'ları tanımlar (31). Kronik ülser lezyonlarda olduğu üzere BHK SHK gelişimini tetikleyebilir. Tümör hücreleri tipik BHK hücrelerinden daha geniş sitoplazmalıdır ve belirgin keratinizasyon gösterir. Çekirdekleri veziküler kromatin yapısı ve pleomorfik görünüm sergiler (10).

Bazoskuamöz subtip daha agresif seyirlidir. Bölgesel veya yaygın metastaz yapabilir. Ber EP4 pozitifliği SHK'da her zaman negatifken bazoskuamöz kanserlerde pozitif olabilir.

3.5.11. Fibroepitelyal Bazal Hücreli Karsinom

Pinkus'un fibroepitelyoması olarak da isimlendirilen fibroepitelyal BHK tüm BHK subtiplerinin %1-5'ini oluşturur. Genellikle sırtın alt kısmında papillom veya fibromu andırır biçimde sert olmayan nodüler lezyon olarak tespit edilir (12). Genellikle tektir. Radyoterapi öyküsü predispozan faktör olabilir (31). Tümör genellikle süperfisyel ve sınırları düzgündür. Histopatolojik olarak gevşek stromaya gömülü, anastomozlaşan, dallanan, uzun ve ince bazoloid hücre kordonlarından oluşur. Bu kordonların çoğu yüzey epitel ile bağlantı halindedir. Stroma elastik doku içermez (31).

3.5.12. Keratotik Tip

Keratotik tip BHK'da spesifik olarak makroskopik incimsi görünüm görülür. Düğme şeklindeki milialar (keratin kistleri) izlenebilir (31).

Nodüler tip BHK'ya benzer şekilde periferik palizatlanma gösteren bazoloid hücrelerden oluşan yuva ve adalar görülür ancak bunların merkezlerinde keratinizasyon ve skuamöz diferansiyasyon görülür (40). Keratotik BHK'da parakeratotik hücreler ve keratin kistleri izlenir. Parakeratotik hücreler hafif eozinofilik sitoplazmaya sahiptir (11). Stroma genellikle azdır ve sıklıkla distrofik kalsifikasyon izlenir (31).

3.5.13. İnfindibulokistik Tip

İnfindibulokistik tip BHK iyi sınırlı, az miktarda stromada kümeleşen hücre yuvalarından oluşur. Tüm BHK subtiplerinin %1-2'sini oluşturur ve en sık yüzde gelişir (31).

3.5.14. Diğer Varyantlar

‘Taşlı yüzük’ hücreli tipte, hücre nükleusları hücre periferine vakuoller nedeniyle itilmiş olarak görülür (31).

Berrak hücreli BHK subtipinde glikojen içerikli vakuoller tümör adalarının tamamını veya bir kısmını tutabilir (2,10).

Pleomorfik BHK tek ya da çok çekirdekli atipik dev hücreler ile karakterizedir (41).

Nöroendokrin ve schwannoid diferansiyasyon gösteren BHK daha nadir izlenmektedir (41).

Dental ameloblastom veya adamantinomaya büyük histolojik benzerlik gösteren subtip adamantinoid BHK’dır (31). Tüm bu tipler BHK subtiplerinin sadece %1’ini oluştururlar (12,31).

3.6. BAZAL HÜCRELİ KARSİNOM TEDAVİSİ

BHK tedavisinde genellikle tercih edilen yöntem total eksizyondur. Eksize edilen tüm BHK’lar histolojik olarak değerlendirilmelidir. Subtipleri histopatolojik olarak saptanmalı ve invazyon ve cerrahi sınırlar belirlenmelidir. Özellikle yüz bölgesinde ideal cerrahi mikroskop altında cerrahi sınırlar görülerek yapılan Mohs cerrahisidir. Bu yöntemle özellikle yüz gibi kozmetik alanlarda daha dar bir eksizyon alanıyla işlem başarıyla gerçekleştirilmektedir. Özellikle cerrahiye uygun olmayan süperfisyel BHK’da topikal tedaviler de tercih edilebilmektedir. Sistemik veya radyoterapi ise metastaz veya lokal ileri hastalıkta kullanılmaktadır (42).

BHK tedavisinde lisans almış 3 topikal ajan; İmikimod, 5-fluorourasil ve fotodinamik terapi tedavileridir. Ayrıca cerrahinin mümkün olmadığı lokalizasyon, boyut veya komorbit hastalıklarda radyoterapi alternatif bir

tedavidir (42). Son yıllarda lokal agresif ve/veya metastatik BHK'da Hh sinyal yolağını hedef alan vismodegib de etkili bir sistemik tedavi seçeneğidir (43).

4. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BELİRTEÇLER

4.1. WNT/Beta-catenin Sinyal Yolağı

WNT sinyal yolu erişkin ve embriyonik dönemlerde birçok biyolojik süreçte görev yapan önemli bir sinyal yolağıdır (44). Bu sinyal yolağının tanımlandığı ilk dönemlerde hücre farklılaşmasında, adezyonunda, hücre siklusunun düzenlenmesinde ve proliferasyonunda önemli roller üstlendiği ortaya konulmuştur. Şu an ise bunların yanı sıra apoptoziste, tümör oluşumunda, sinaps oluşumu ve anjiyogenez gibi önemli olaylarda rol aldığı bilinmektedir. WNT yolağının düzensiz çalışması çeşitli kanserlerin oluşumundan sorumludur (45,46). Organizmada üç farklı WNT sinyal yolağı tanımlanmıştır. Bunlar; klasik WNT/Beta-catenin, klasik olmayan WNT/Kalsiyum ve WNT/Planar Cell Polarity (PCP) yolaklarıdır. WNT/Beta-catenin yolağı birincil olarak gelişim sırasındaki hücre kaderini belirlerken, WNT/PCP yolağı majör olarak sitoskeletal organizasyonu sağlar. WNT/Kalsiyum yolağının ise biyolojik fonksiyonu bilinmemektedir (47).

Wnt/Beta-catenin yolağı WNT proteininin hücre zarındaki reseptörlerine bağlanması ile başlar. Bu başlama sinyali hücre içinde önemli fosforilasyonlara neden olur ve bu şekilde sinyal hücre zarından sitozole aktarılır. Bu aşamadan sonra, bu mekanizmada görev alan birçok molekülde çeşitli değişiklikler meydana gelir ve sonuç olarak Beta-catenin proteini sitozolde birikir. Sitozolde biriken Beta-catenin çekirdeğe taşınır ve burada bulunan transkripsiyon faktörlerini aktifleştirerek hedef genlerinin aktivasyonu sağlanır. WNT/Beta-catenin yolağı WNT1, WNT3, WNT3a, WNT7a ve WNT8 ile aktive olur ve hücre transformasyonunda rol alır. (47, 48).

Ekstraselüler matrikste bulunan bazı engelleyici biyomoleküller WNT/Beta-catenin sinyal yolağının inaktif durumda olmasını sağlamaktadır (49). Bu biyomoleküller WNT proteininin reseptörlerine bağlanmasını engellerler. Neticede WNT/Beta-catenin sinyal yolağı inaktif halde kalır. Bu durumda, sinyal yolağı aktifken gerçekleşen fosforilasyonlar gerçekleşemez. Sinyal yolağının hedef molekülü olan Beta-catenin proteininin bir kısmı hücre zarında birikerek hücre bağlantılarında görev alırken, diğer bir kısmı da proteozomlarda yıkılır (50). Sonuçta sitozolde, çekirdeğe girecek Beta-catenin bulunmadığından, transkripsiyon faktörleri inaktif halde kalır ve hedef genlerin aktivasyonu gerçekleşmez (51).

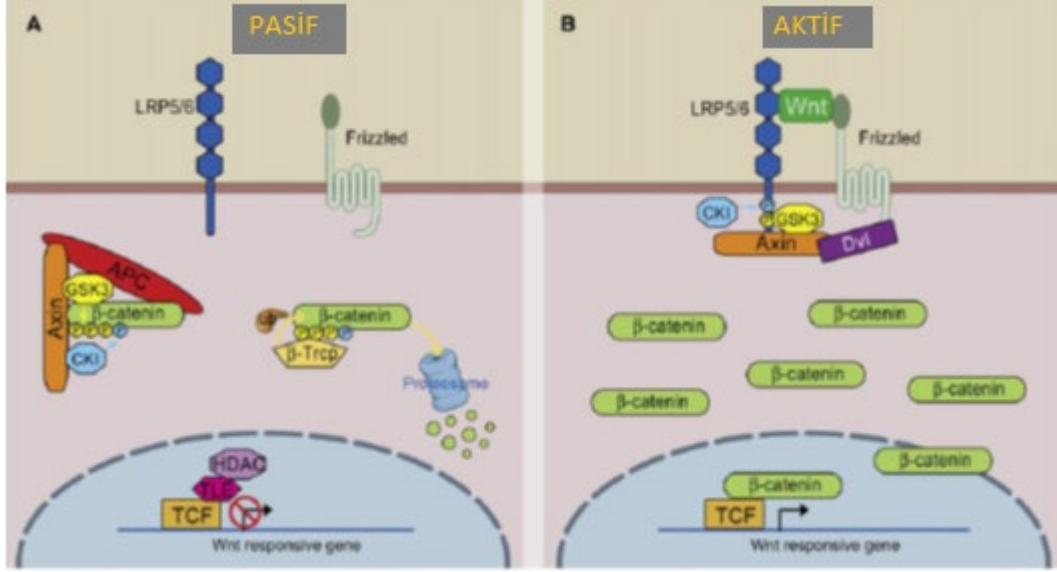
WNT geni, yaklaşık 25 yıl önce ilk olarak int-1 adı ile farenin tümörlü meme dokusundan klonlanmış olan bir gen olup daha sonra Drosophila'da bulunan Wingless geninin int-1 geni ile sekans ve fonksiyon benzerliği gösterdiği saptanarak, 1991 yılında bu iki gen ismi birleştirilmiş ve literatüre WNT geni olarak geçmiştir (52,53). Embriyonik dönemden sonra WNT proteininin sentezi erişkin kök hücreler tarafından gerçekleştirilir (52). Erişkin kök hücrelere örnek olarak hematopoietik hücreler, pankreas, testis, karaciğer, epitel dokusunun en alt tabasındaki bazal hücreler, kan damarları, beyin, over, prostat, akciğer gibi doku ve organlarda bulunan erişkin kök hücreler verilebilir (54).

WNT/Beta-catenin sinyal yolağı WNT molekülünün hedef hücre zarında bulunan “Frizzled (Fz)” ve “Düşük yoğunluklu lipoprotein reseptör ilişkili protein 5/6 (LRP5/6) reseptörlerine bağlanmasıyla başlar (55,56). WNT proteini bir ucuyla Fz reseptörüne, diğer ucuyla da LRP5/6 reseptörüne bağlanarak bir kompleks meydana getirir. Bu kompleksin oluşması ile sinyal yolağı başlar (57). Ekstrasellüler matrikste bulunan inhibitör proteinler WNT/Beta-catenin sinyal yolağı aktivasyonunu önleyebilmektedir. Dickkopf (Dkk), secreted Frizzled-related proteins (sFRP), WNT inhibitör protein (WIF) gibi moleküller, sinyal yolağının aktivasyonunu kontrollü bir şekilde önlerler (58). WNT proteininin reseptörlerine bağlanması, daha sonra hücre zarında başlayan sinyalin sitozole oradan da çekirdeğe kadar aktarılması gerekmektedir. Mevcut çalışmalarda sinyal

mekanizmasının sitoplazmadaki aktivitesinde görev alan birçok biyomolekül tespit edilmiştir. Bunlar; Dishevelled (dvl), Axin (Axis inhibition protein), Adenomatöz poliposis coli (APC), Glikojen sentaz kinaz 3 β (GSK3 β), Kazein kinazlar (CKI ϵ , CKI α , CKI γ) ve Beta-catenin'dir (44).

APC, GSK3 β ve CKI enziminin Axin proteinine bağlanması ile oluşan "Axin-APC-GSK3 β -CKI" kompleksi WNT/Beta-catenin sinyal yolağının sitoplazmadaki aktivasyonu için kritik öneme sahiptir (59). Bu kompleks sitoplazmadaki Beta-catenin yıkımından sorumlu olduğu için yıkıcı kompleks olarak nitelendirilir. WNT/Beta-catenin sinyal yolağının temel amacı ise hücre içerisinde Beta-catenin miktarını arttırmaktır (60).

WNT sinyali olduğunda FZ reseptörüne bağlanarak dvl proteininin aktivasyonuna yol açar. Aktive olan Dishevelled proteini GSK3-Beta'nın fosforilasyonuna neden olarak GSK3-Beta'yı inhibe eder, böylece sitoplazmada düzenli olarak biriken Beta-cateninlerin fosforilasyona uğrayarak yıkılması engellenir ve sitoplazmadaki Beta-catenin düzeyi artar ve bu Beta-cateninler çekirdeğe gider. Burada bulunan transkripsiyon faktörlerini aktifleştirir ve sinyal yolağının hedef aldığı genlerin ekspresyonunu sağlar. Bunun da başta kanser olmak üzere çok sayıda ciddi hastalığın oluşmasında rol oynadığı bilinmektedir (60, 61, 62).



Şekil 5: Wnt yolağı. Wnt uyarısının olmadığı inaktif durum (A) ve Wnt aktif durum (B). Şekil 63 nolu referanstaki şekilden modifiye edilmiştir.

4.2. Kİ67

Kİ67 proteini 10. kromozomun uzun kolunda lokalize bir gen tarafından kodlanır. Hücre siklusunda, hücrelerin proliferasyon olmadığı G0 fazı dışındaki aktif G1, S, G2 ve mitoz fazlarında eksprese edilen, nükleer non-histon proteinlere karşılık gelen antijen ile reaksiyona giren bir monoklonal antikordur (64).

Kİ67 için pozitif nükleer boyanma, hücre proliferasyonunu immünohistokimyasal olarak ölçmede kullanılan önemli bir belirleyicidir. Bu oranın özellikle agresif tümörlerde yüksekliği bildirilmiştir (65). Yüksek Kİ67 oranı meme, akciğer, özofagus, böbrek, prostat, endometrium kanseri, malin melanom, non-Hodgkin lenfoma ve glial tümörler gibi birçok kanserde kötü prognostik faktör olarak bildirilmiştir (66).

Bugüne kadar farklı tümör dokularında Kİ67 ekspresyonu çalışılarak bu tümörlerin proliferasyonu ve mitotik aktivitesi araştırılmıştır. Örneğin oral mukozadaki yassı epitel kanserlerinde histolojik derece ile Kİ67 ekspresyonu

karşılaştırılmış ve mitotik indeksin fazla olduğu kanserlerde KI67 ekspresyonunun daha yüksek olduğu gösterilmiştir (67).

4.3. COX-2

Dokularda araşidonik asit metabolizması için üç ana yolak vardır. Bunlardan birincisi prostaglandinlerin ve tromboksanların sentezine neden olan siklooksijenaz (COX) yolağıdır. İkincisi lökotrienlerin oluştuğu lipooksijenaz yolağıdır. COX, prostaglandin sentezi için hız sınırlayıcı enzimdir. Bu basamaktan sonra COX aktivitesi ile prostaglandin G2 (PGG2) ve peroksidaz aktivitesi ile PGH2 meydana gelir. PGH2 de özel izomerazlar tarafından PGD2, PGE2, PGI2 ve tromboksana dönüşmektedir (68).

1990'lı yıllarda COX enziminin COX-1 ve COX-2 adında iki ayrı izoformu keşfedilmiştir. Üçüncü formu olan COX-3 ise özellikle serebral kortekste bulunan COX-1'in asetaminofene duyarlı varyantıdır (69). COX-2 geni 1q25.2-q25.3 numaralı insan kromozomu üzerinde yerleşmiş olup 587 aminoasitten oluşur. COX-2 proinflamatuvar olup, farklı hücre tiplerindeki mitojenler, tümör destekleyicileri, sitokinler ve büyüme faktörleri tarafından indüklenebilen transkripsiyonel ve posttranslasyonel düzeylerde kontrol edilen bir enzimdir (70).

Yapılan araştırmalar COX-2 geni tarafından ekprese edilen proteinin proonkogenik olduğunu ve bunun overekspresyonunun karsinogeneze neden olduğunu düşündürmektedir. Meme, serviks, akciğer, prostat ve mesane kanseri gibi çeşitli kanserlerde COX-2 seviyesinin arttığı tespit edilmiştir (71,72).

4.4. CD1a

Dendritik hücreler primer immün yanıtı başlatmada önemli görevler üstlenen hücrelerdir. Kemik iliği kökenli olan bu hücreler antijenleri işleyip T

hücrelerine sunmaktadırlar. CD1a+ ve CD14+ olmak üzere farklı tiplerde dendritik hücreler bulunmaktadır. CD1a+ prekürsörler Birbeck granülleri içeren, Lag antijeni ve E-kaderin eksprese eden epidermal Langerhans hücrelerine farklılaşırken, CD14+ alt grup GM-CSF ve TNF alfa maruziyeti devam ederse CD14 antijeninin kaybederek CD14-, CD1a+, Lag antijeni, Birbeck granülleri ve E-kaderin sentezlemeyen, ancak CD2, CD9 ve CD68 ve faktör VIIIa eksprese eden hücrelere farklılaşırlar. Bu antijen paneli ise dermiste görülen dendritik hücreler için spesifiktir (73).

Birçok tümör tipinde klinik seyir ve tümöral dokulardaki dendritik hücre yoğunluğu arasında ilişki saptanmıştır (73).

Goldman dil karsinomlarında (74), Gallo ve ark. ise nazofarengeal ve laringeal karsinomlarda dendritik hücre yoğunluğu ve prognoz arasında ilişki bulmuştur (75).

Furukova ve ark. evre Ia akciğer adenokarsinomlarında S100 immünohistokimyası ile Langerhans hücre yoğunluğunu incelemiş ve belirgin dendritik hücre infiltrasyonu olan tümörlerde sağkalımın daha yüksek olduğunu göstermişlerdir (76).

4.5. **TRİPTAZ**

Mast hücreleri inflamasyon ve akut allerjik reaksiyonlarda merkezi rol oynayan granülositik hücrelerdir (77). Mast hücre triptazı (MHT) tripsin benzeri serin peptidaz (proteinaz) aktivitesine sahiptir. Triptaz, tüm memeli organizmaların mast hücrelerinin sekretuar granüllerinde depolanır. Mast hücre aktivasyonu ve degranülasyonu sırasında hücre dışına salınır. Eksprese edilen MHT tipi, yoğunluğu ve özellikleri mast hücresinin alttipine ve doku özelliklerine göre değişmektedir (78).

MHT ürokinazı, metalloproteinazı ve anjiyotensini aktifleştirerek matriks harabiyeti, inflamasyon ve dokuda yeniden şekillenmede rol alır. Ayrıca kemokin ve sitokinleri hidrolize ederek immün yanıtı düzenler. Bunun dışında allerjenleri ve nöropeptidleri inhibe ederek inflamasyonun azaltılmasında rol oynar. Özetle mast hücrelerinin kendileri gibi MHT da konakçı doku hasarı ve defansında birçok görev üstlenmektedir (79).

Solid ve hematolojik tümör çalışmalarında anjiyogenez ile korele artmış MHT aktivitesi bildirilmiştir (80).

III. GEREÇ VE YÖNTEM

1. ÇALIŞMA GRUBUNUN TANIMLANMASI

Bu çalışma kapsamına 01.01.2006-01.09.2015 tarihleri arasında Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı'nda BHK tanısı almış ve Patoloji Anabilim Dalı'nda histopatolojik incelemesi yapılmış 100 adet olgu dahil edildi. Her bir hastaya ait tek bir tümör dokusu seçildi (Bazı hastalara ait birden fazla tümör dokusu çalışmaya dahil edilmedi).

Üç hastaya ait mevcut parafin blokların immünohistokimyasal boyama için elverişli olmaması nedeniyle 3 olgu çalışmadan dışlanarak toplam 97 olguya ait 97 tümör dokusu çalışmaya dahil edildi.

Yaş ve cinsiyet bilgileri hasta dosya kayıtlarından elde edildi.

2. HİSTOMORFOLOJİK DEĞERLENDİRME

Olgulara ait hematoksilen eozin boyalı arşiv preperatları tekrardan değerlendirilerek en iyi durumdaki kesit seçildi ve 'McKee's Pathology of the skin' kitabı referans alınarak histolojik subtiplendirme yapıldı (81). Nodüler, süperfisyel ve infiltratif BHK subtipleri her biri birer grup olarak değerlendirilirken; adenoid, mikronodüler, keratotik, pigmente ve pleomorfik BHK subtiplerinin olgu sayısı istatistiksel olarak yetersiz olduğu için diğer bir grup olarak değerlendirildi. Daha sonra seçilen hematoksilen eozin preperatına ait parafin bloklar arşivden seçildi.

3. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEM

İmmünohistokimyasal inceleme %10'luk formalin solüsyonunda fikse edilmiş olan dokuların parafin bloklarından hazırlanan kesitlerde yapıldı ve her tümör için tek bir blok seçildi. Her bir antikor için immünohistokimyasal uygulama tüm olgulara tek seansta uygulandı ve pozitif ve negatif kontrol ile birlikte çalışıldı. Streptavidin-biotin-peroksidaz saptama yöntemiyle gerçekleştirilen immünohistokimyasal çalışmada kullanılan primer antikorlar ve yapılan uygulamalar Tablo 2'de özetlendi.

Tablo 2: İmmünohistokimyasal çalışmada kullanılan primer antikorlar

PRİMER ANTİKOR	TİP; CLONE	DİLÜSYON	İ.S.	ANTİJEN AÇIGA ÇIKARMA (RETRİEVAL) İŞLEMİ	FİRMA
COX-2	SP21	1:100	30 DK	ER2 20 DK	Thermo Scientific RM-9121-S1
Kİ67	RB-9043	1:300	30 DK	ER2 20 DK	Thermo Scientific RM-9106-S0
CD1a	AB-5	1:100	30 DK	ER2 20 DK	Thermo Scientific MS-1856-P1
MHT	AA1	1:2000	30 DK	ER1 20 DK	Santa Cruz sc-33676
Beta-catenin	RB-9035	1:300	30 DK	ER1 20 DK	Thermo Scientific RB-9035-P0
WNT3a	SC-28824	1:20	30 DK	ER2 20 DK	Santa Cruz sc-5212

İ.S: İnkübasyon süresi, ER: Antijen retrieval, DK: Dakika

Adhezivli (Surgipath, Snowcoat X-tra, USA) lamlara hazırlanan 4-6 µm kalınlığındaki parafin kesitler 80 °C'lik etüvde bir saat bekletildikten sonra, Leica Bondmax İmmünohistokimya otomatik cihazı ile sırasıyla aşağıdaki işlemler uygulandı:

1. İki kez yıkama solüsyonundan geçirildi (0 dakika).

2. ER solüsyonu – 0 dakika
3. ER solüsyonu – 0 dakika
4. ER solüsyonu – 20 dakika (100 °C).
5. ER solüsyonu – 12 dakika
6. Yıkama solüsyonu - 0 dakika (35 °C)
7. Yıkama solüsyonu - 0 dakika (35 °C)
8. Yıkama solüsyonu - 0 dakika (35 °C).
9. Yıkama solüsyonu - 3 dakika
10. Perokside blok – 10 dakika
11. Yıkama solüsyonu - 0 dakika
12. Yıkama solüsyonu - 0 dakika
13. Yıkama solüsyonu - 0 dakika
14. Primer antikor – 15 dakika
15. Yıkama solüsyonu - 0 dakika
16. Yıkama solüsyonu - 0 dakika
17. Yıkama solüsyonu - 0 dakika
18. Postprimary – 7 dakika
19. Yıkama solüsyonu - 2 dakika
20. Yıkama solüsyonu - 2 dakika
21. Yıkama solüsyonu - 2 dakika
22. Polymer – 7 dakika
23. Yıkama solüsyonu - 2 dakika
24. Yıkama solüsyonu - 2 dakika
25. Distile su – 2 dakika
26. Mixed diaminobenzidin – 0 dakika
27. Mixed diaminobenzidin – 7 dakika
28. Distile su – 0 dakika
29. Distile su – 0 dakika
30. Distile su – 0 dakika
31. Hematoksilen – 5 dakika
32. Distile su – 0 dakika
33. Yıkama solüsyonu - 0 dakika

34. Distile su – 0 dakika

4. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRME

COX-2, Kİ67, CD1a, Triptaz, Beta-catenin ve WNT antikorlarının her birinin ayrı ayrı boyanma özellikleri değerlendirildi. İmmünohistokimyasal yönteme göre hazırlanan örnekler binoküler mikroskopta x10 ve x40'lık objektiflerle incelendi.

Beta-catenin immün boyamasının değerlendirilmesi için Remmele W ve Stegner HE'nin (1987) immünoreaktif skoru kullanıldı. Bu skorlamada boyama şiddetine 0'dan 3'e kadar değerler verilmektedir. Bu skorlama sisteminde; boyanma negatif 0, zayıf pozitif 1, pozitif 2 ve şiddetli pozitif 3 olarak skorlanmaktadır. Tümör alanının tutulum yaygınlığına göre ise; %1-10 0 puan, %10-25 1 puan, %25-50 2 puan, %50-75 3 puan ve %75-100 4 puan almaktadır. Son olarak ise boyanma şiddeti skoru ile tutulum alanı skoru çarpılarak 0 ile 12 arasında bir değer bulunarak skor belirlenmektedir (79).

COX-2 için sitoplazmik değerlendirme yapıldı. Boyanmanın olmadığı olgular 0 puan olarak değerlendirilirken, %1-25 hücre 1 puan yani zayıf boyanma olarak değerlendirildi. Yüzde 26-50 hücre 2 puan ve %51-100 hücre boyanması 3 puan olarak kuvvetli boyanma olarak nitelendirildi (82).

Tümör hücrelerindeki Kİ67 antijen yoğunluğu tümör hücrelerindeki pozitif boyanma miktarına göre değerlendirildi. Bu kapsamda hiçbir hücrenin boyanmaması 0 puan, %1-10 hücrenin boyanması 1 puan, %11-25 hücrenin boyanması 2 puan, %26-50 hücrenin boyanması 3 puan ve %50'nin üzerindeki hücrelerin pozitif boyanması 4 puan olarak değerlendirildi (83).

Mast hücre sayımı tümör çevresindeki stroma ve tümör dokusundaki hücrelerin en yoğun oldukları 10 farklı alanda x40'lık büyütmede toplanarak

hesaplanması ile değerlendirildi. Dermal sinir ve adneksiyal dokuların etrafındaki mast hücreleri sayıma dahil edilmedi. Bu metod tümörü ve normal derideki mast hücrelerinin değerlendirildiği önceki çalışmalar ile benzerdi. BHK içerisinde (intratümöral) ve BHK çevresinde (peritümöral) triptaz boyanan hücre miktarları sayıldı (84).

CD1a ise tümör içerisindeki her 1000 hücrelik alanda ortalama CD1a pozitif boyanan Langerhans hücre sayısı belirlenerek değerlendirildi. Normal epidermiste ortalama Langerhans hücre sayısının %3-8 arasında değiştiği kabul edildi (85).

WNT3a değerlendirmesi için sitoplazmadaki boyanma şiddeti ve yaygınlığı skorlandı. Boyanma şiddetine 0 ile 2 arasında bir değer verildi (0: boyanmanın olmaması, 1: zayıf boyanma, 2: yoğun boyanma). Yaygınlığa ise 0 ile 3 puan arasında bir değer verildi. Boyanmanın hiç olmaması 0 puan, %25'in altında hücre boyanmasında 1 puan, %25 ile %50 arasında hücrenin boyanmasında 2 puan ve %50 üzerinde hücrede boyanma olması durumunda 3 puan verildi. Son olarak ise yaygınlık ve şiddet değerleri çarpılarak 0 ile 6 arasında bir skor elde edildi (86).

5. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Elde edilen verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistikler, Pearson Ki Kare Testi ve Kruskal Wallis testi kullanıldı. Pearson Ki Kare Testi iki kategorik verinin karşılaştırılmasında kullanılırken, Kruskal Wallis Testi parametrik koşulların sağlanmadığı durumda, ikiden fazla grubun ortanca değerleri arasındaki farkı değerlendirmek için kullanıldı.

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS v18 programı kullanıldı ve $p < 0,05$ düzeyi anlamlı kabul edildi.

IV. BULGULAR

1. Demografik Bulgular

Çalışmaya dahil edilen 97 olgunun 57'si (%58,8) kadın, 40'ı erkekti (%41,2) (Tablo 3).

Tablo 3: Olguların cinsiyet dağılımı		
	N	%
CİNSİYET		
Erkek	40	41,2
Kadın	57	58,8
TOPLAM	97	100,0

97 olgunun 60'ı (%61,9) nodüler, 16'sı (%16,5) infiltratif, 9'u (%9,3) süperfisyel (%9,3), 6'sı (%6,2) adenoid, 2'si (%2,1) keratotik, 2'si (%2,1) mikronodüler, 1'i (%1) pleomorfik ve 1'i (%1) pigmente BHK olarak değerlendirildi (Tablo 4).

Tablo 4: Subtiplerin dağılımı		
	N	%
SUBTİPLER		
Nodüler	60	61,9
İnfiltratif	16	16,5
Süperfisyel	9	9,3
Adenoid	6	6,2
Keratotik	2	2,1
Mikronodüler	2	2,1
Pleomorfik	1	1
Pigmente	1	1
Toplam	97	100

Yaşları 35 ile 89 arasında değişen 97 olgunun yaş ortalaması $67,9 \pm 12,7$ 'di. BHK subtiplerine ait yaş ortalamaları Tablo 5'de sunuldu. BHK subtipleri arasında yaş açısından anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,286$).

Tablo 5: Bazal hücreli karsinomların subtiplerinin yaş ortalamaları

	NODÜLER			SÜPERFİSYEL			İNFİLTRATİF			DİĞER			P
	N	MİN-MAX	ORT±SS	N	MİN-MAX	ORT±SS	N	MİN-MAX	ORT±SS	N	MİN-MAX	ORT±SS	
YAŞ	60	38-89	66,15±13,52	9	35-89	66,67±15,9	16	59-84	72,56±8,02	12	57-88	72,08±10,16	0,286

BHK subtipleri arasında cinsiyet dağılımı açısından anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,855$). Subtiplerdeki olguların cinsiyete göre dağılımı Tablo 6'da sunuldu.

Tablo 6: Subtiplerde olguların cinsiyete göre dağılımı

	NODÜLER		SÜPERFİSYEL		İNFİLTRATİF		DİĞER		TOTAL	P
	N	%	N	%	N	%	N	%		
CİNSİYET	Erkek	24	60	3	7,5	8	20	5	12,5	p=0,855
	Kadın	36	63,2	6	10,5	8	14	7	12,3	
TOTAL	60	61,9	9	9,3	16	16,5	12	12,4	100	

2. İmmünohistokimyasal Bulgular

2.1. COX-2

Sitoplazmik COX-2 ekspresyonu açısından 65 (%67) olgu 0 puan alırken, 24 (%27,7) olgu 1 puan aldı.

Nodüler BHK subtipinde 38 (%63,3) olgu 0 puan, 17 (%28,3) olgu 1 puan ve 5 (%8,3) olgu ise 2 puan aldı. Olguların hiçbirisi 3 puan almadı.

Süperfisyel tip BHK'da 8 (%88,9) olgu 0 puan alırken kalan bir olgu 1 (%11,1) puan aldı.

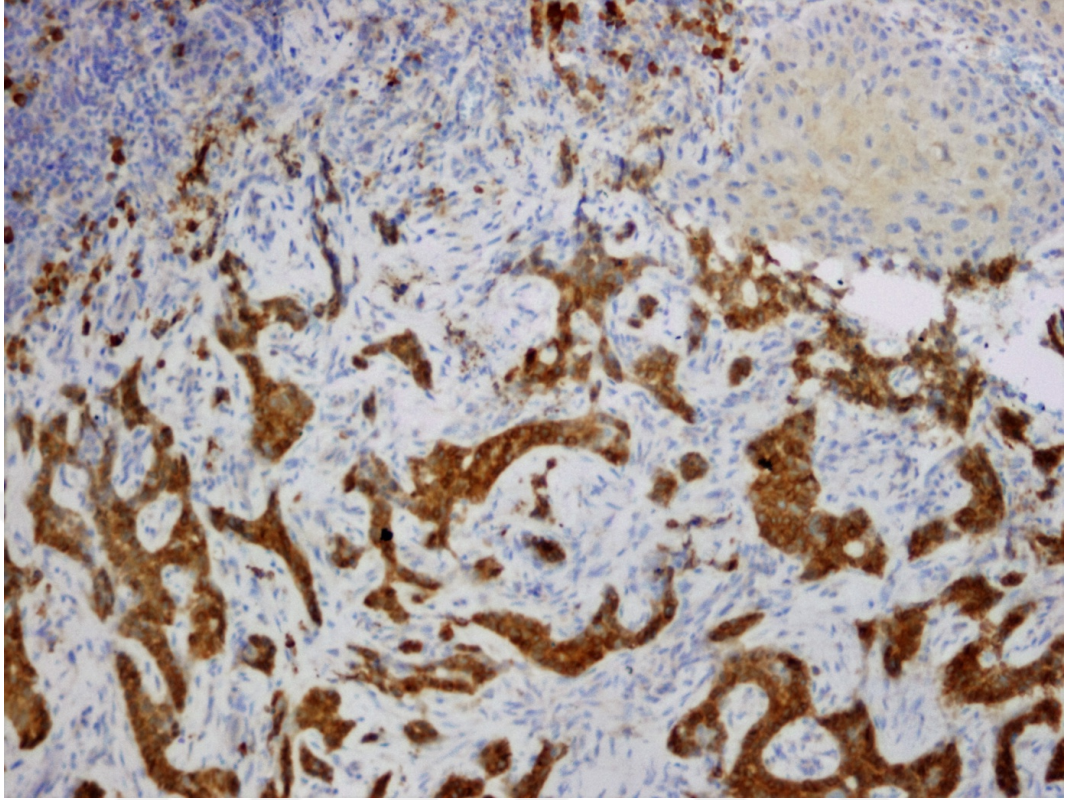
İnfiltratif tip BHK'da 12 (%75) olgu 0 puan, 3 (%18,8) olgu 1 puan ve 1 (%6,3) olgu 3 puan aldı.

Diğer subtip grubunda ise 7 (%58,3) olgu 0 puan, 3 olgu 1 puan ve 2 olgu ise 2 puan aldı.

İstatistiksel karşılaştırma COX-2 boyanan ve boyanmayan olgular arasında yapıldı. Bir ve üzeri puan alarak boyama gösteren olgu sayısı 32, boyanmayan olgu sayısı ise 65 olarak izlendi. Nodüler BHK'ların 38'inde (%63,3), süperfisyel BHK'ların 8'inde (%88,9), infiltratif BHK'ların 12'sinde (%75) ve diğer grubun 7'sinde (%58,3) COX-2 ekspresyonu izlenmedi.

Subtipler arasında COX-2 ekspresyonu açısından anlamlı bir fark izlenmedi ($p=0,364$) (Tablo 7).

Tablo 7: Bazal hücreli karsinom suptiplerinde COX-2 boyanması										
	NODÜLER		SÜPERFİSYEL		İNFİLTRATİF		DİĞER		TOTAL	P
	N	%	N	%	N	%	N	%	%	
COX-2										
	0	38	58,5	8	12,2	12	18,5	7	10,8	100
1 ve üzeri	22	68,8	1	3,1	4	12,5	5	15,6	100	
TOTAL	60	61,9	9	9,3	16	16,5	12	12,4	100	



Şekil 6: Tümör çevresindeki inflamatuvar hücrelerde ve tümör hücrelerinde kuvvetli izlenen COX-2 sitoplazmik pozitifliği mevcutken, skuamöz epitelde COX-2 pozitifliğinin izlenmemesi (x200).

2.2. Ki67

Ki67 değerlendirilmesinde 0 puan skoru alan olgu olmadı. Yirmi dokuz (%29,9) olgu 1 puan, 48 (%49,5) olgu 2 puan, 18 (%18,6) olgu 3 puan ve 2 (%2,1) olgu 4 puan aldı (Tablo 8). Tüm olguların ortalama Ki67 değeri ise $1,93 \pm 0,76$ olarak belirlendi.

Nodüler BHK olgularında 18 (%30) olgu 1 puan, 29 (%48,3) olgu 2 puan, 12 (%20) olgu 3 puan ve 1 (%1,7) olgu 4 puan aldı.

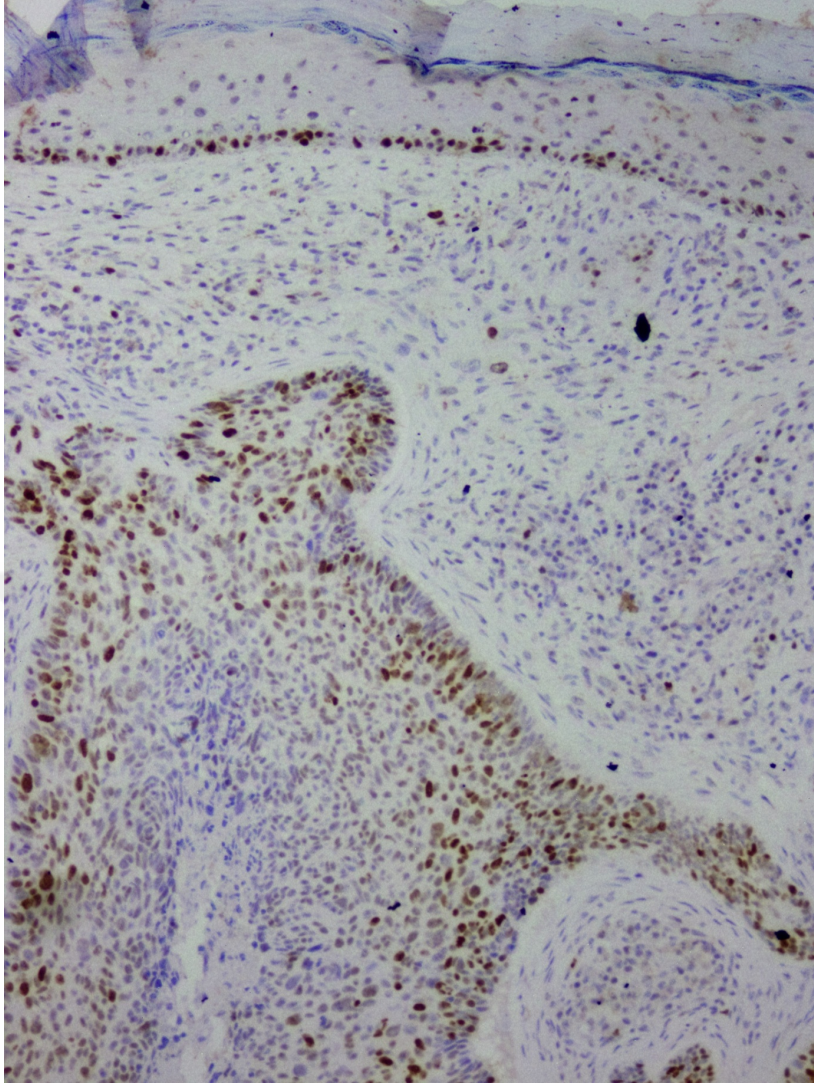
Süperfisyel BHK olgularında 4 (%44,4) olgu 1 puan, 3 (%33,3) olgu 2 puan ve 2 (%22,2) olgu 3 puan aldı.

İnfiltratif BHK olgularının 6'sı (%37,5) 1 puan, 7'si (43,8) 2 puan, 2'si (%12,5) 3 puan ve 1'i (%6,3) 4 puan aldı.

Diğer BHK grubundaki olguların 1'i (%8,3) 1 puan, 9'u (%75) 2 puan ve 2'si (%16,7) 3 puan aldı.

Nodüler BHK'ların ortalama KI67 boyanma skoru $1,93 \pm 0,75$ iken süperfisyel BHK'larda $1,78 \pm 0,83$, infiltratif BHK'larda KI67 $1,87 \pm 0,88$ ve diğer BHK grubunda ise $2,08 \pm 0,51$ 'di.

KI67 ekspresyonu açısından BHK subtipleri arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,696$) (Tablo-8).

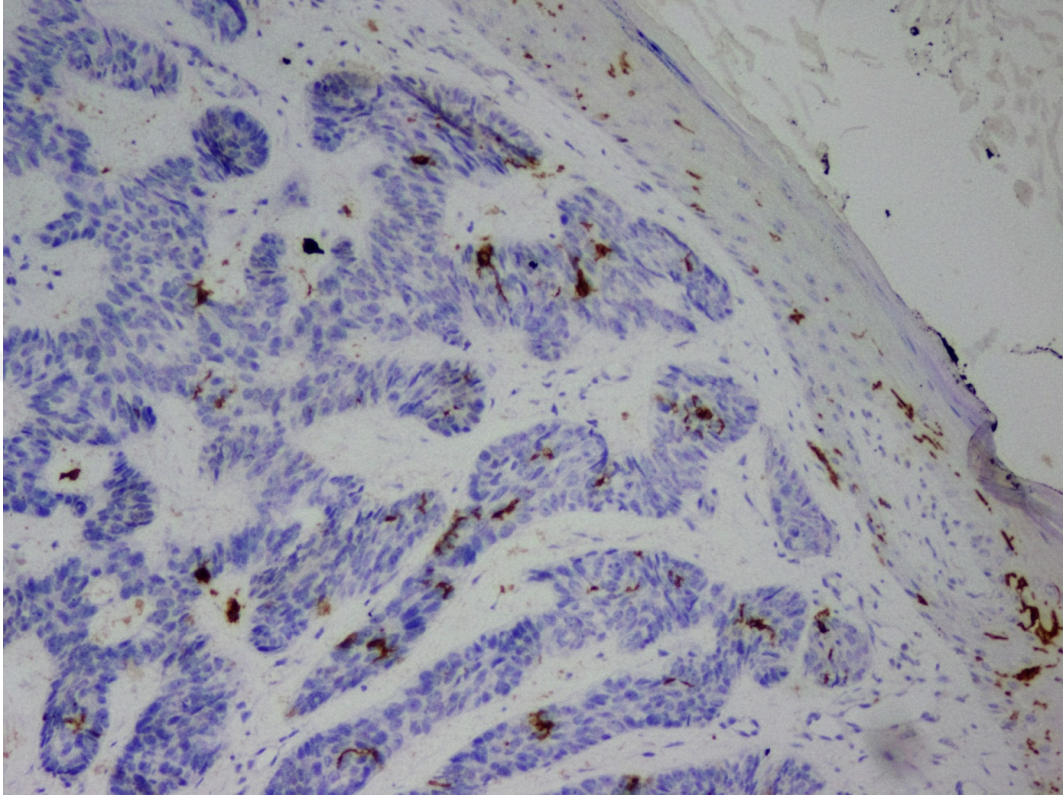


Şekil 7: Deri yüzeyindeki bazal tabakada izlenen olağan nükleer boyanma ve tümördeki yüksek proliferatif Kİ67 indeksi (x200).

2.3. CD1a

Tüm seride 1000 hücrelik alanda sayılan CD1a pozitif boyanan ortalama hücre sayısı $8,35 \pm 10,63$ olarak değerlendirildi. Nodüler BHK olgularında ortalama CD1a pozitif hücre sayısı $9,07 \pm 12,41$ iken sırasıyla süperfisyonel BHK olgularında $5,89 \pm 3,76$, infiltratif BHK olgularında $9,19 \pm 9,19$ ve diğer BHK grubunda $5,5 \pm 4,27$ idi.

CD1a ekspresyonu açısından BHK subtipleri arasındaki istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı ($p = 0,124$) (Tablo-8).



Şekil 8: Yüzey epiteli içinde ve tümör içindeki dendritik hücrelerdeki kuvvetli CD1a ekspresyonu (x200).

2.4. **TRİPTAZ**

BHK içerisinde (intratümöral) ve BHK çevresinde (peritümöral) triptaz boyanan hücre miktarları sayıldı. Peritümöral boyanmada minimum boyanan hücre sayısı 20 iken maksimum boyanan hücre sayısı 300'dü. İntratümöral olarak ise minimum boyanan hücre sayısı 10, maksimum boyanan hücre sayısı ise 300'dü. Tüm BHK tiplerinde triptaz boyanan ortalama hücre sayısı intratümöral $108,90 \pm 60,71$ iken peritümöral $158,0 \pm 53,90$ idi.

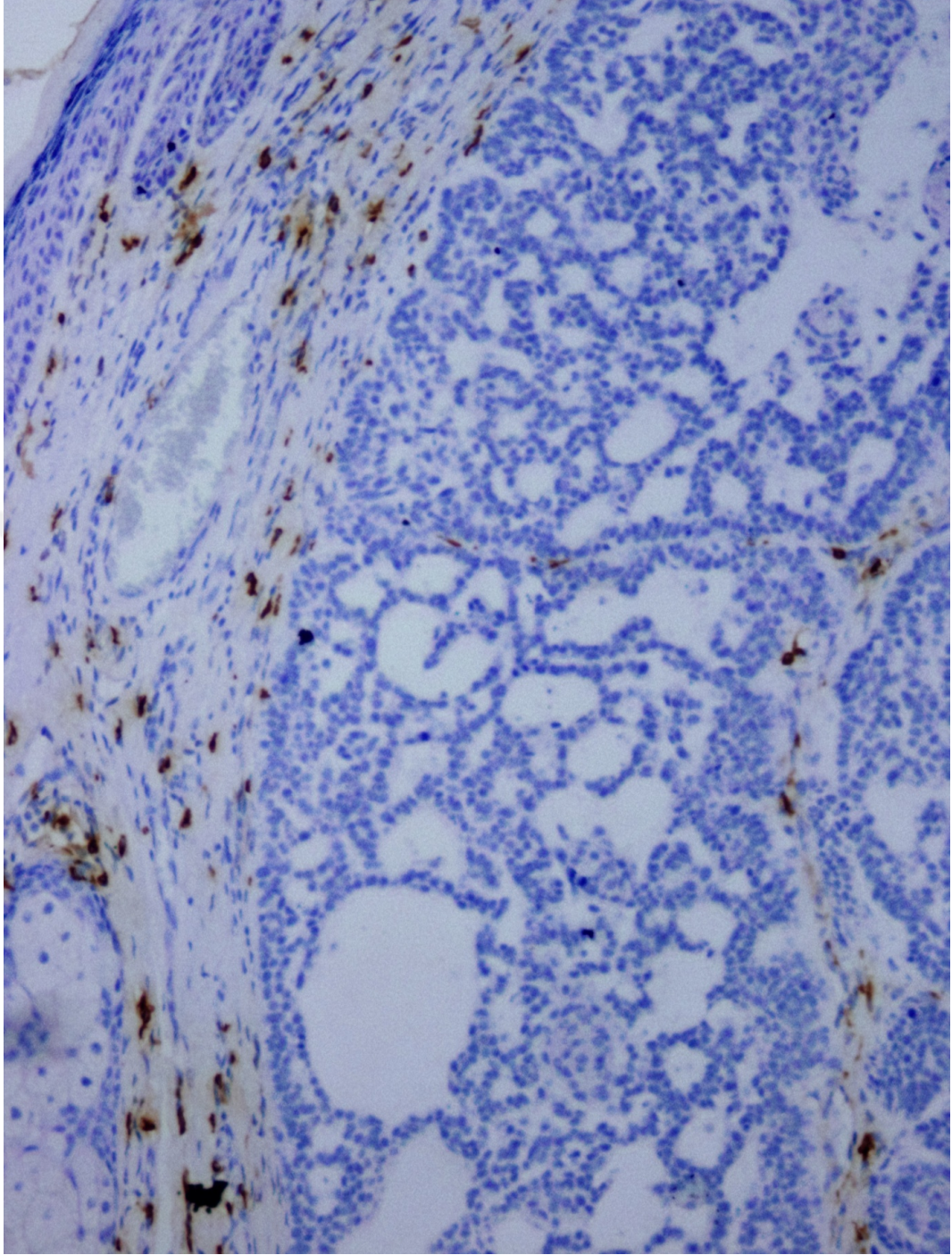
Nodüler BHK'da triptaz boyanan ortalama hücre sayısı peritümöral $159,97 \pm 52,73$ iken intratümöral $101,33 \pm 47,75$ idi.

Süperfisyel BHK'da triptaz boyanan ortalama hücre sayısı peritümöral $184,44 \pm 60,44$ iken intratümöral $111,0 \pm 54,33$ idi.

İnfiltratif BHK'da triptaz boyanan ortalama hücre sayısı peritümöral $157,5 \pm 60,82763$ iken intratümöral $134,12 \pm 88,6$ idi.

Diğer BHK grubunda triptaz boyanan ortalama hücre sayısı peritümöral $129,0 \pm 35,10$ iken intratümöral $111,58 \pm 76,35$ idi.

Tüm subtiplerde ortalama peritümöral triptaz boyanan hücre sayısı intratümöral boyanan hücre sayısına göre yüksek bulunmuştur. Subtipler arasında ise peritümöral ($p=0,696$) ve intratümöral ($p=0.112$) boyanma açısından istatistiksel anlamlı bir farklılık izlenmedi (Tablo-8).

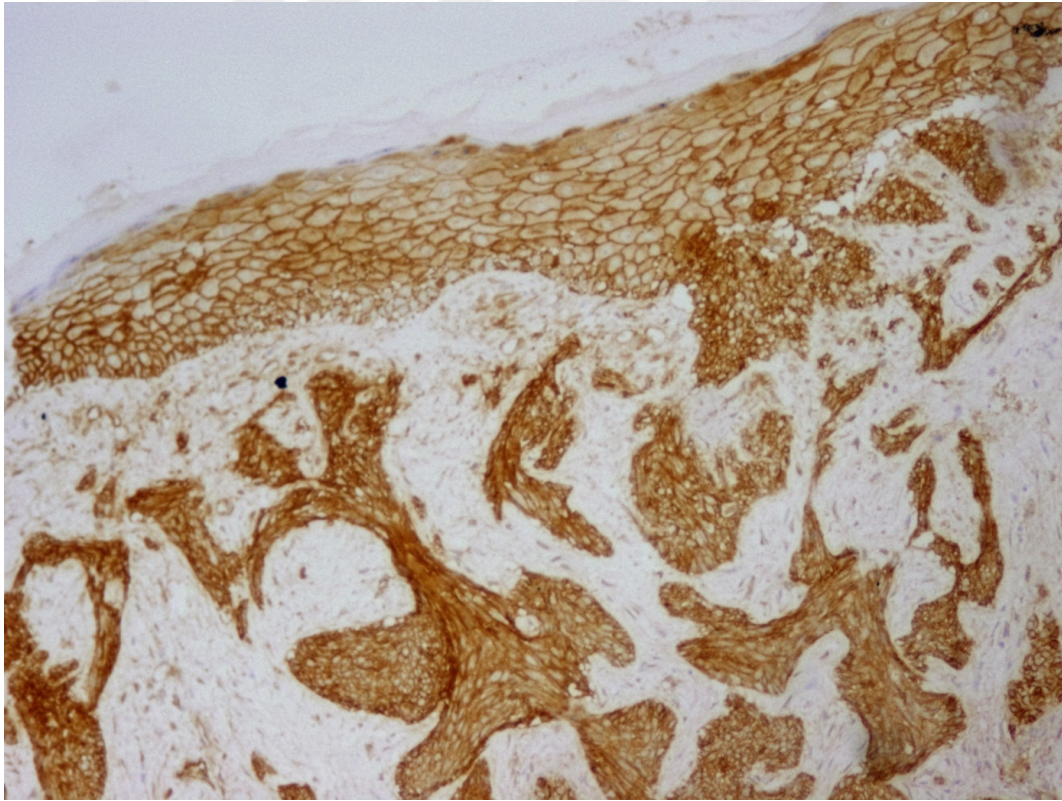


Şekil 9: Peritümöral ve intratümöral mast hücrelerindeki sitoplazmik triptaz boyanması (x200).

2.5. Beta-catenin

0 ile 12 puan arasındaki skorlamada Beta-catenin ekspresyonu açısından 0 puan alan 18 (%18,6) olgu, 1 puan alan 16 (%16,5) olgu, 2 puan alan 15 (%15,5) olgu, 4 puan alan 11 (%11,3) olgu ve 6 puan alan 10 (%10,3) olgu oldu.

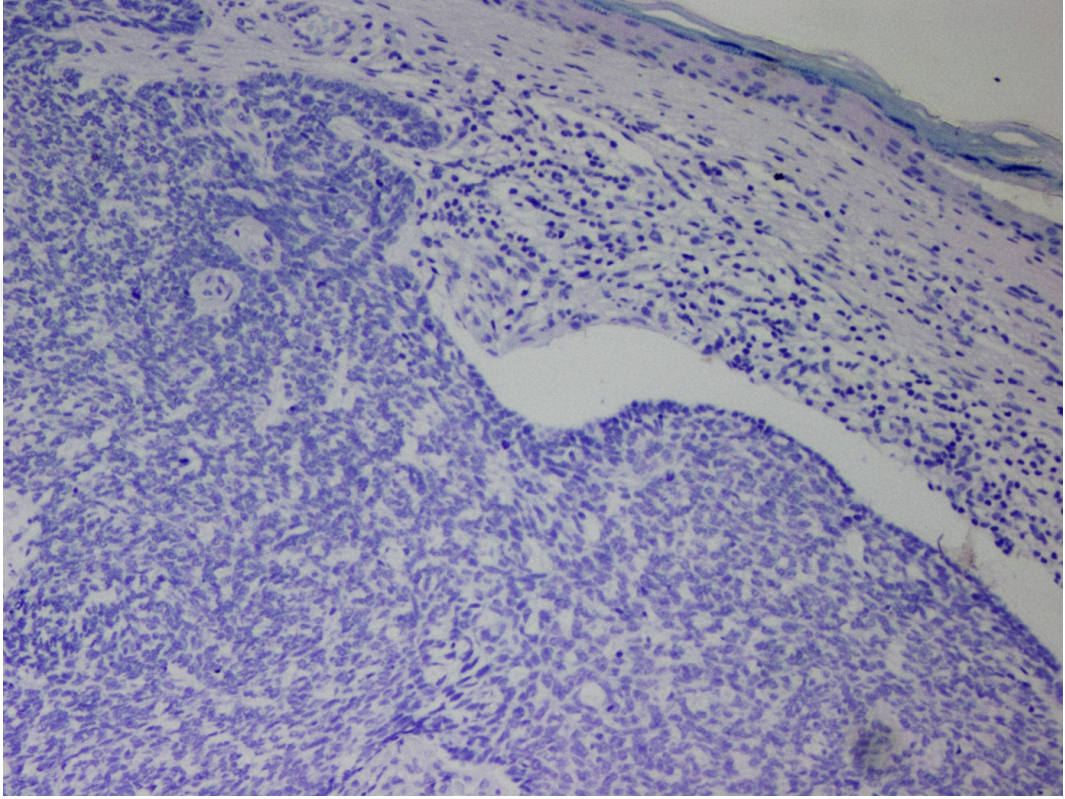
Tüm BHK'larda Beta-catenin ortalama boyanma skoru $4,0 \pm 3,93$ olarak bulundu. Nodüler tip BHK'da ortalama boyanma skoru $3,2 \pm 3,30$ iken, süperfisyonel BHK'da $5,0 \pm 3,77$, infiltratif tip BHK'da $7,62 \pm 4,44$ ve diğer BHK'larda $2,41 \pm 3,65$ 'idi. İnfiltratif tip ile diğer gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,001$) (Tablo-8).



Şekil 10: İnfiltratif tip BHK'da yüzey epitelinde ve tümör hücrelerinde membranöz ve sitoplazmik kuvvetli Beta-catenin ekspresyonu (x200).

2.6. WNT

Tüm seride hiçbir BHK olgusunda WNT3a ekspresyonu izlenmedi (Puan skoru=0).



Şekil 11: WNT ekspresyonunun immünohistokimyasal olarak izlenmemesi (x200).

BHK subtiplerindeki Beta-catenin, triptaz, CD1a, KI67 ve WNT ekspresyonları Tablo 8’de özetlendi.

Tablo 8: BHK subtiplerinde immünohistokimyasal ekspresyonlar

	NODÜLER			SÜPERFİSYEL			İNFİLTRATİF			DİĞER			P
	N	Min-Max	Ort±SS	N	Min-Max	Ort±SS	N	Min-Max	Ort±SS	N	Min-Max	Ort±SS	
BETA-CATENİN	60	0-12	3,2±3,3	9	0-12	5±3,77	16	0-12	7,63±4,44	12	0-12	2,42±3,65	,001
TRİPTAZ-PERİTÜMÖRAL	60	20-280	159,97±52,73	9	120-300	184,44±60,44	16	76-300	157,5±60,83	12	74-200	129±35,11	,696
TRİPTAZ-İNTRATÜMÖRAL	60	10-250	101,33±47,75	9	50-200	111±54,33	16	16-300	134,13±88,64	12	25-300	111,58±76,35	,112
CD1a	60	1-100	9,07±12,41	9	3-15	5,89±3,76	16	0-40	9,19±9,2	12	0-15	5,5±4,27	,488
Ki67	60	1-4	1,93±0,76	9	1-3	1,78±0,83	16	1-4	1,88±0,89	12	1-3	2,08±0,51	,124
WNT	60	0-0	0±0	9	0-0	0±0	16	0-0	0±0	12	0-0	0±0	

V. TARTIŞMA

BHK'da ortalama görülme yaşı 60'dır. Ancak son yıllarda 40 yaşın üzerindeki daha genç popülasyonda artış eğilimindedir (9). Erkeklerde kadınlardan daha sık görülmektedir (1,9). Bizim çalışmamızda ise olguların %58,8'ini kadınlar oluşturmaktaydı ve olguların yaş ortalaması 67.99 ± 12.77 idi. Literatürde süperfisyel BHK daha genç yaşta bildirilmiştir (11). Bizim çalışmamızda ise subtipler arasında yaş açısından anlamlı farklılık izlenmedi.

Literatürde en sık görülen BHK nodüler BHK'dır (22, 23). Diğer subtipler çok daha düşük oranlarda izlenmekte ve farklı çalışmalarda farklı oranlardan bahsedilmektedir. Genel anlamda nodüler (%60-75) subtipi süperfisyel (%5-38), infiltratif (%5-30), kistik (%4-8), adenoid (%1-7), bazoskuamöz (%1-4), pigmente (%1-7) ve keratotik (%2,7) subtipler izlenmektedir (8, 22, 29, 30, 37). Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak olguların %61,9'u nodüler subtipteydi. İnfiltratif subtip olguların %16,5'ini oluştururken süperfisyel BHK'lar literatürle yine uyumlu olarak olguların %9,3'ünü oluşturdu.

Süperfisyel BHK erkek cinsiyette daha sık olarak bildirilmiştir (11). Literatürün aksine bizim çalışmamızda süperfisyel subtip kadın hastalarda erkek hastalardan iki kat daha sık izlendi. Nodüler subtip de kadınlarda erkeklerden %50 daha fazla izlendi.

WNT yolağının düzensiz çalışması çeşitli kanserlerin oluşumundan sorumludur (45,46). Başta kolorektal kanser olmak üzere, osteoporoz, diyabet, şizofreni gibi çok sayıda ciddi hastalıklarla birlikte over, prostat, pankreas, karaciğer ve serviks kanserlerinin oluşumunda bu kontrolsüz aktivasyonun rol oynadığı literatürde geniş yer bulmaktadır (44).

WNT/Beta-catenin yolağı disregülasyonunun insanda çeşitli kanserlere yol açtığı bilinmektedir (87).

Literatürde BHK ile WNT/Beta-catenin sinyal yolağı ilişkisi üzerine yapılan yeterli çalışma mevcut değildir. Çalışmamızda 97 olguluk BHK serisinde hiçbir lezyonda WNT ekspresyonu izlenmemiştir.

Ciurea ve ark. yaptıkları bir çalışmada BHK subtiplerinde Beta-catenin aktivitesinin olgudan olguya ve olgunun farklı alanlarında değişken olduğunu bildirmişlerdir. En yüksek aktiviteyi metatipik BHK subtipinde, özellikle de skuamöz hücre değişiminin olduğu alanlarda izlemişlerdir. Membranöz boyanmanın baskın olduğu ancak nükleer boyanmanın nadir olduğunu bildirmişlerdir. Beta-catenin aktivitesinin en az olduğu histolojik subtipin ise süperfisyel BHK olduğunu göstermişlerdir (12). El-Bahrawy ve ark. 80 BHK olgusu ile yaptığı ve subtiplerde Beta-catenin ekspresyonunu değerlendirdikleri çalışmalarıda; infiltratif ve morfeiform subtiplerde diğer subtiplere göre daha kuvvetli boyanmanın olduğunu göstermişler ve bunun da subtiplerin agresiflik dereceleri ile ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir (88). Bizim çalışmamızda Ciurea ve ark.'nın sonuçları ile uyumlu olarak nükleer boyanma çok zayıf olarak görüldü ve değerlendirmeye alınmadı. Membranöz ve sitoplazmik boyanma paterni korele olarak değerlendirildi. En şiddetli boyanma paterni infiltratif BHK'da izlendi. Bu bulgu artmış Beta-catenin aktivitesinin agresif seyir ile ilişkili olabileceğini destekleyebilir.

COX-2 birçok neoplastik süreçte rol oynayan biyolojik bir belirleyicidir. Deri karsinogenezinde rol oynayan bir molekül olan COX-2 ile yapılan çalışmalar; COX-2 ekspresyonunun neoplastik dokularda hücre bölünmesini, anjiyogenezisi uyardığını ve apoptozisi inhibe ettiğini göstermiştir (82).

Sivriköz ve ark. BHK subtiplerinin değerlendirildiği bir çalışmada invazyon derinliğinin artması ile COX-2 ekspresyon derecesinin arttığını göstermişlerdir. Ayrıca infiltratif tip BHK'da COX-2 ekspresyonunun diğer subtiplere göre istatistiksel olarak anlamlı olarak daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir (82).

Yalçın ve ark. BHK, SHK ve aktinik keratoz'da COX-2 ve p53 ekspresyonlarını değerlendirdikleri çalışmalarında agresif olan ve olmayan BHK subtipleri arasında COX-2 ekspresyonu açısından anlamlı bir fark bulamamışlardır (82). Oral SHK'lı olgularda COX-2 ekspresyonunun değerlendirildiği bir çalışmada COX-2 pozitif olguların daha çok servikal lenf nodu metastazı yaptığı, daha düşük COX-2 eksprese eden tümörlerin radyokemoterapiden daha çok yarar gördüğü belirtilmiştir (82).

Bizim çalışmamızda olguların çoğunluğunda COX-2 ekspresyonu izlenmedi. Olguların sadece 32'sinde boyanma izlendi ve bunlardan da 24 tanesi 1 puan olarak zayıf boyandı. Sadece 8 olgu 2 ve 3 puan olarak yoğun bir şekilde COX-2 eksprese etti. BHK subtipleri arasında da Yalçın ve ark.'nın bulgularına benzer olarak COX-2 ekspresyonu açısından anlamlı bir fark bulunamadı.

Ki67 için pozitif nükleer boyanma hücre proliferasyonunu immünohistokimyasal olarak ölçmede kullanılan önemli bir belirleyicidir. Bu indeksin özellikle agresif tümörlerde yüksek olduğu bildirilmiştir (65). Yüksek Ki67 indeksi meme, akciğer, özofagus, böbrek, prostat, endometrium kanseri, malign melanom, nonhodgkin lenfoma ve glial tümörler gibi birçok kanserde kötü prognostik faktör olarak daha önce bildirilmiştir (66).

BHK'da Ki67 ekspresyonuna dair farklı çalışma sonuçları mevcuttur. Ienosco ve ark. agresif ve agresif olmayan BHK'ları Ki67, p53 ve Bcl-2 antijen ekspresyonu açısından karşılaştırmış ve iki grup arasında antijen ekspresyonu açısından anlamlı bir fark bulamamışlardır (89).

Yerebakan ve ark. rekürren BHK'larda epidermal büyüme faktör reseptörü (EGFR), CD31 ve Ki67 antijen ekspresyonlarını primer olgulara kıyasla daha yüksek izlemişlerdir (90). Buna benzer olarak Healy ve ark. da rekürren BHK'larda, primer BHK'lara kıyasla daha yüksek Ki67 ekspresyonu olduğunu bildirmişlerdir (91).

Herlock ve arkadaşları nodüler ve mikronodüler BHK'da KI67 yoğunluğunu infiltratif ve süperfisyel subtiplere kıyasla daha düşük olarak bulmuşlardır ve sonuç olarak KI67 antijen ekspresyon şiddeti ile agresif seyrin korele olabileceği yorumunu yapmışlardır. Ancak yüksek derecede agresif olduğu bilinen mikronodüler subtipin bu araştırmada düşük KI67 antijen ekspresyonu göstermesi çelişkili bir sonuçtur (92).

Bir başka çalışmada ise KI67 antijen ekspresyon yoğunluğu ile BHK invazyon derinliği ve subtip arasında ilişki gösterilememiştir (93).

Bieniek ve ark. BHK'nın çeşitli subtiplerinde metallothionein 1/2 ve KI67 antijen ekspresyonlarını değerlendirdikleri çalışmalarında en düşük KI67 ekspresyonun nodüler BHK'da olduğunu ancak bu sonucun istatistiksel olarak anlamlı olmadığını göstermişlerdir (83).

Bizim çalışmamızda ise en düşük KI67 ekspresyonu literatürden farklı olarak süperfisyel BHK subtipinde izlenirken; adenoid, pigmente, pleomorfik, keratotik ve mikronodüler subtiplerin oluşturduğu diğer grupta en yüksek ekspresyon izlendi. Ancak subtipler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bunun sebepleri arasında çalışmamızda agresif subtip sayısının yetersiz olması sayılabilir. Bunun netliğe kavuşması için daha geniş olgu serilerine ihtiyaç duyulmaktadır.

Shevchuk Z. ve ark.'nın yapmış olduğu bir çalışmada kütanöz BHK ve SHK'da, etraflarındaki normal dokuya kıyasla daha az CD1a ve CD207 ekspresyonlarının olduğu gösterilmiştir. BHK'daki azalmanın SHK'ye kıyasla daha fazla olduğu görülmüştür. Sonuç olarak dendritik hücrelerde bu şekilde azalmanın kötü prognoz faktörü olabileceği ve diğer solid tümörlerde de bunun geçerli olabileceği yorumu yapılmıştır (85).

Bizim çalışmamızda ise en az CD1a ekspresyonunun diğer subtip grubunda olduğu, bunu ise süperfisyel BHK'nın takip ettiği görüldü. CD1a

ekspresyonunun en fazla olduğu subtip ise infiltratif tip BHK idi. Ancak subtipler arasında CD1a ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi. Çalışmamızda tüm subtiplerde CD1a ekspresyonunun normal derideki değerlere göre daha düşük çıktığı ve bunun literatür bulguları ile uyumlu olduğu görüldü. Bulgularımız CD1a ekspresyonunun tüm BHK subtiplerinde azaldığı ancak subtip ayırımında rolü olmadığı şeklinde yorumlanabilir.

Bazı çalışmalarda BHK lezyonuna bitişik olan stromada triptaz immünopozitifliği gösteren mast hücre sayısının artmış olduğu bildirilmiştir. Meme kanseri, oral SHK ve malign melanom gibi çeşitli kanserlerde artmış triptaz pozitif mast hücre sayısı invazyon ve artmış vaskülarite ile ilişkili bulunmuştur. Bu bulgular triptazın tümör hücrelerinin göçü için gerekli olan matriks yıkımında ve tümörün hayatta kalması ve büyümesi için gerekli olan anjiyogeneze rol aldığını düşündürmektedir. Mast hücrelerinin büyüme, hayatta kalma ve göç etmesini sağlayan önemli faktörlerden birtanesi de kök hücre faktörüdür. Peritümöral hücreler ile birlikte BHK hücreleri de kök hücre faktörünü eksprese eder ve bu da mast hücrelerinin BHK lezyonunda artışını açıklayabilir (94). Diacuna ve arkadaşları triptaz aktivitesine sahip peritümöral mast hücre sayısının BHK lezyonunda 2,2 kat arttığını bulmuştur (94).

Geçmişteki araştırmacılardan bazıları mast hücre sayısını milimetrekareye düşen mast hücre sayısı olarak bazılarıda mikroskopta mercek alanına düşen mast hücre sayısı olarak hesaplamıştır. Bu da çalışmaların sonuçlarının karşılaştırılmasını zorlaştırmıştır. Uygulanan boyama metoduna göre de mast hücre sayısında önemli farklılıklar beklenebilir. Mast hücrelerini daha net olarak tanımlamak için immünperoksidaz boyaları kullanılmaktadır. Ve bu boyalar içerisinde triptaz antikorları altın standarttır (84).

Literatürde çeşitli çalışmalarda mast hücreleri ile çeşitli kanserler arasındaki ilişki incelenmiştir. Bazı çalışmalarda BHK ve SHK'nın agresif tiplerinde mast hücre sayısının daha yüksek olduğu gösterilmiştir (95). Ancak buna zıt olarak artmış mast hücre sayısını meme karsinomunda iyi prognoz ile

ilişkilendiren literatür verisi de mevcuttur (96). Daha önceki çalışmalarda yüksek mast hücre sayısı morfeiform BHK'da gösterilmiştir. Mast hücre mediyatörlerinin birçoğunun fibrojenik potansiyeli olduğu düşünüldüğünde yüksek mast hücre sayısının agresiflik belirtecinden ziyade basitçe fibrozis nedeni ile olduğu sonucuna da varılabilir. Son yıllardaki çalışmalarda intraepitelyal mast hücreleri, differansiye vulvar intraepitelyal neoplaziden invaziv SHK'ya ilerlemeyle ilişkili bulunmuştur. Ancak oral SHK'da mast hücresi sayısı ile tümör evresi arasında bir bağlantı bulunamamıştır (97).

Günümüzdeki kanıtlar ışığında mast hücrelerinin tümörojeneze şu olası 4 mekanizmanın kombinasyonu yolu ile katkı sağladığı düşünülmektedir:

- 1- UVB ile indüklenmiş immünsüpresyon
- 2- Anjiyogenez
- 3- Ekstrasellüler matriks yıkımı
- 4- Mitogenez (84).

Mast hücreleri doğrudan kendi enzimleri yolu ile veya dolaylı olarak fibroblastları, makrofajları ve tümör hücrelerini aktive ederek ekstrasellüler matriks yıkımında aktif rol alıyor olabilirler. Ayrıca mast hücreleri potansiyel olarak fibroblast büyüme faktörü 2 (FGF-2) ve interlekin 8 (IL-8) gibi mediyatörleri üreterek malign hücrelerin mitojenik stimülasyonunu sağlayabilirler (84).

Bizim çalışmamızda BHK'larda peritümöral mast hücre sayısının intratümöral mast hücre sayısından daha fazla olduğu gösterilmiştir. Bu sonuç BHK'da triptazın çevre stromada arttığı ve patogeneze rol oynayabileceğini düşündürdü. Ancak subtipler arasında triptaz ekspresyonları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunamadı.

VI. SONUÇ

- 1) 97 BHK olgusu içeren çalışmamızda olguların çoğunu literatürden farklı olarak kadın hastalar oluşturmaktaydı ancak literatüre benzer şekilde nodüler BHK en sık izlenen subtipti.
- 2) Çalışmamızda hiç bir BHK olgusunda WNT3a ekspresyonunun izlenmemesi BHK oluşumunda bu sinyal yolağının rol oynamadığını düşündüren bir bulguydu.
- 3) Beta-catenin ekspresyonu literatürle uyumlu olarak infiltratif tip BHK'da daha kuvvetli olarak bulundu ve bunun artmış agresiflik derecesi ile ilişkili olabileceği düşünüldü.
- 4) Bizim çalışmamızda olguların çoğunda COX-2 ekspresyonu izlenmedi ya da çok az izlendi ve subtipler arasında istatistiksel bir fark bulunamadı. Bu bulgular BHK patogenizinde COX-2 molekülünün çok aktif rol oynamadığını düşündürdü.
- 5) Çalışmamızda en düşük KI67 ekspresyonu süperfisyel subtip ve de en yüksek KI67 ekspresyonu diğer subtip grubunda izlenmesine rağmen bu istatistiksel olarak anlamlı değildi.
- 6) Çalışmamızda CD1a ekspresyonu, literatürle uyumlu olarak tüm BHK subtiplerinde normal derideki değerlere kıyasla daha düşük bulundu. Subtipler arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunamamakla beraber en düşük ekspresyon diğer subtip grubunda ve süperfisyel BHK'da izlendi.
- 7) Çalışmamızda BHK lezyonlarında peritümöral mast hücre sayısının intratümöral mast hücre sayısından daha fazla olduğu gösterilmiştir. Ancak subtipler arasında triptaz ekspresyonları açısından istatistiksel

olarak anlamlı bir sonuç bulunamamıştır. Bu bulgu mast hücrelerinin BHK patogeneğinde rol oynadığını ancak subtip ayrımında kullanılamayacağını düşündürmektedir.



VII. ÖZET

GİRİŞ: BHK insanlarda en sık görülen kanserdir. BHK epidermisteki bazal hücrelerden veya kıl foliküllerinin dış kök kılıfından geliştiği düşünülen malign bir deri tümörüdür. Genellikle çok düşük rekürrens ve metastaz oranına sahiptir. Agresif seyir gösteren subtipleri ise doku yıkımı ile beraber metastaz yaparak ölüme sebep olabilir. BHK'ların histomorfolojisinde bazı farklılıklar olması nedeniyle çok sayıda histolojik subtipi tanımlanmıştır. Ancak, histopatolojik subtipler tümör agresivitesini saptamada yetersiz kalabildiğinden tümörlerin davranış biçimini yansıtabilecek immünohistokimyasal parametrelere ihtiyaç vardır.

GEREÇ VE YÖNTEM: Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı'nda BHK tanısı almış ve Patoloji Anabilim Dalı'nda histopatolojik incelemesi yapılmış 97 adet olguda WNT/Beta-catenin sinyal yolağı, COX-2, KI67, Triptaz ve CD1a moleküllerinin ekspresyonları incelendi.

BULGULAR: Çalışmaya dahil edilen 97 olgunun 57'si (%58,8) kadın, 40'ı (%41,2) erkek idi. Yaşları 35 ile 89 arasında değişen 97 olgunun yaş ortalaması $67,9 \pm 12,7$ idi. Doksan yedi olgunun 60'ı (%61,9) nodüler, 16'sı (%16,5) infiltratif, 9'u (%9,3) süperfisyel (%9,3), 6'sı (%6,2) adenoid, 2'si (%2,1) keratotik, 2'si (%2,1) mikronodüler, 1'i (%1) pleomorfik ve 1'i (%1) pigmente BHK olarak değerlendirildi. Ayrıca her olgu için WNT, Beta-catenin, COX-2, KI67, Triptaz ve CD1a moleküllerinin ekspresyonları tek tek değerlendirildi.

SONUÇ: BHK subtipleri arasında yaş ve cinsiyet dağılımı açısından anlamlı farklılık saptanmadı. Subtipler arasında WNT, COX-2, KI67, Triptaz ve CD1a moleküllerinin ekspresyonları açısından da istatistiksel olarak anlamlı

farklılık izlenmedi. Beta-catenin ekspresyonunda ise infiltratif subtip lehine istatistiksel anlamlı farklılık izlendi.



VIII. SUMMARY

BACKGROUND: Basal cell carcinoma (BCC) is the most common human cancer. BCC is a malign cutaneous tumor, presumably arising from basal cells in epidermis or the outer root sheath of hair follicles. Generally BCC has very low recurrence and metastasis rate, nevertheless, aggressive subtypes may cause tissue destruction and metastasis therefore leading to death. Many histologic subtypes has been defined so far, however histopathologic subtypes may be insufficient to decide tumor aggressivity so some immunohistochemical parameters which may reflect tumor behavior are needed.

MATERIAL AND METHOD: In 97 cases who were diagnosed as BCC in Afyon Kocatepe University, Medicine of Faculty, Department of Dermatology and Venereal Diseases and of whom pathological specimens were examined in Pathology department, molecular expressions of WNT/Beta-catenin signal pathway, COX-2, Ki67, Tryptase and CD1a were analyzed.

RESULTS: Out of 97 cases included in the study, 57 (58.8%) patients were female and 40 (41.2%) were male. Mean age of the patients was 67.9 ± 12.7 . Distribution of histologic subtypes was as follows: 60 (61.9%) nodular, 16 (16.5%) infiltrative, 9 (9.3%) superficial, 6 (6.2%) adenoid, 2 (2.1%) keratotic, 2 (2.1%) micronodular, 1 (1%) pleomorphic and 1 (1%) pigmented BCC. WNT, Beta-catenin, COX-2, Ki67, Tryptase and CD1a molecular expressions were assessed for each one of the cases.

CONCLUSION: There were no statistically significant difference of gender and age among BCC subtypes. WNT, COX-2, Ki67, Tryptase and CD1a molecular expressions were not found to be statistically significant among

different subtypes. However, Beta-catenin expression was significantly higher in infiltrative subtype.



IX. KAYNAKLAR

- 1) Tüzün Y, Gürer MA, Serdaroğlu S, Oğuz O, Aksungur V. In: Gürer MA, ed. Deri tümörleri ve nevuslar. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2008; 1759-1962.
- 2) Pinkus H. Premalignant fibroepithelial tumours of the skin. Arch Dermatol 1953; 67: 598-615
- 3) Dixon AY, L McGregor DH. Histologic features predictive of basal cell carcinoma recurrence: results of a multivariate analysis. J Cutan Pathol 1993; 20: 137-142
- 4) Tüzün Y, Gürer MA, Serdaroğlu S, Oğuz O, Aksungur V. In: Tüzün Y, ed. Derinin yapısı ve gelişmesi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2008; 17-32.
- 5) Urmacher CD. Normal Skin In: Sternberg SS, ed. Histology for Pathologists. China: Lippincott-Raven Publishers, 1997; 25-45.
- 6) Tüzün Y, Kotoğyan A, Serdaroğlu S, Çokuğraş H, Tüzün B, Mat MC. Pediyatrik Dermatoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2005
- 7) Bologna JL, Jorizzo JL, Rapini RP. Dermatoloji. In: Loomis CA, Koss T, Chu D, eds. Embriyoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2012: 37-48
- 8) Bologna JL, Jorizzo JL, Rapini RP. Dermatoloji. In: Rigel DS, Cockerell CJ, Carucci J, Wharton J, eds. Aktinik keratoz, bazal hücreli karsinoma ve skuamöz hücreli karsinoma. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2012: 1641-1660
- 9) Alter M, Hillen U, Leiter U, Sachse M, Gutzmer R. Current diagnosis and treatment of basal cell carcinoma. Journal of the German Society of Dermatology 2015; DOI: 10.1111/ddg.12798

- 10) Elder DE, Elenitsas R, Johnson BLJ, Murphy GF. Tumors and cysts of the epidermis, Lever's Histopathology of the Skin. Philadelphia: W.W. Lippincott, 2005: 805-866.
- 11) Crowson AN. Basal cell carcinoma: biology, morphology and clinical implications. *Modern Pathology* 2006; 19: 127–S147
- 12) Weedon D. Tumors of the epidermis, *Skin Pathology*. Churchill Livingstone 2002; 753-802.
- 13) Gaspari AA, Sauder DN. Immunotherapy of basal cell carcinoma: evolving approaches. *Dermatol Surg* 2003; 29: 1027-1034.
- 14) Tilli CM, Van Steensel MA, Krekels GA, Neumann HA, Ramaekers FC. Molecular aetiology and pathogenesis of basal cell carcinoma. *Br J Dermatol* 2005; 152: 1108-1124.
- 15) Dicker T, Siller G, Saunders N. Molecular and cellular biology of basal cell carcinoma. *Australas J Dermatol* 2002; 43: 241-246.
- 16) Athar M, Tang X, Lee JL, Kopelovich L, Kim AL. Hedgehog signalling in skin development and cancer. *Exp Dermatol* 2001; 44: 293-297
- 17) Saldanha G, Fletcher A, Slater DN. Basal cell carcinoma: a dermatopathological and molecular biological update. *Br J Dermatol* 2003; 148: 195-202
- 18) Mancuso M, Pazzaglia S, Tanori M, Hahn H, Merola P, Rebessi S, Atkinson MJ, Di Majo V, Covelli V, Saran A. Basal cell carcinoma and its development: insights from radiation-induced tumors in Ptch1-deficient mice. *Cancer Res* 2004; 64: 934-941

- 19) Asplund A, Sivertsson A, Backvall H, Ahmadian A, Lundeberg J, Ponten F. Genetic mosaicism in basal cell carcinoma. *Exp Dermatol* 2005; 14: 593-600.
- 20) Crowson AN. Basal cell carcinoma: biology, morphology and clinical implications. *Mod Pathol* 2006; 19: 127-147.
- 21) Ejaz A, Aurangzeb, Awan ZI, Bux H. Basal cell carcinoma involving the skin of breast - a rare site. *J Pak Assoc Derma* 2006; 16: 49-51.
- 22) Carucci JA, Leffell DJ. Basal cell carcinoma. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*. Freedberg IM, Eizen AZ, Wolf K, eds. New York: McGraw-Hill Inc, 2003; 747-754.
- 23) Kirkham N. Tumors and cysts of the epidermis. *Lever's histopathology of the skin*. Elder DE, Elenitsas R, Johnson BL, eds. Philadelphia: Lipincott Williams and Wilkins, 2003; 836-848
- 24) Gormley DE, Hirsch P. Aggressive basal cell carcinoma of the scalp. *Arch Dermatol* (1978; 114: 782-783.
- 25) Kikuchi A, Shimizu H, Nishikawa T. Clinical histopathological characteristics of basal cell carcinoma in Japanese patients. *Arch Dermatol* 1996; 132: 320-324.
- 26) Bierhoff E, Appel K, Appel T, Buettner R, Wardelmann E. Comparative morphometric analysis of primary versus recurrent basal cell carcinoma and of histological subtypes. Significance of morphometry of the nuclei. *Anticancer Res* 2003; 23: 2697-2700.
- 27) Appel T, Bierhoff E, Appel K, von Lindern JJ, Berge S, Niederhagen B. Predictive variables for the biological behaviour of basal cell carcinoma of the

face: relevance of morphometry of the nuclei. Br J Oral Maxillofac Surg 2003; 41: 147-150

28) Dixon AY, Lee SH, McGregor DH. Factors predictive of recurrence of basal cell carcinoma. Am J Dermatopathol 1989; 11: 222-232.

29) Brooke RC. Basal cell carcinoma. Clin Med 2005; 5: 551-554

30) Zagrodnik B, Kempf W, Seifert B, Muller B, Burg G, Urosevic M, Dummer R. Superficial radiotherapy for patients with basal cell carcinoma: recurrence rates, histologic subtypes, and expression of p53 and Bcl-2. Cancer 2003; 98: 2708-2714

31) LeBoit PE, Burg G, Weedon D, Sarasin A. Keratinocytic tumours, World Health Organization Classification of Tumours, Pathology and Genetics of Skin Tumours. IARC Press 2006; 9-47.

32) McGibbon DH. Malignant epidermal tumours. J Cutan Pathol 1985; 12: 224-238.

33) Mehregan AH. Aggressive basal cell epithelioma on sunlight-protected skin. Report of eight cases, one with pulmonary and bone metastases. Am J Dermatopathol 1983; 5: 221-229.

34) Anjaneyulu A, Narissava Y. Acute reversible left ventricular dysfunction following general anesthesia. Indian Heart J 2001; 53(4): p. 508-10.

35) San Juan J, Monteagudo C, Navarro P, Terradez JJ. Basal cell carcinomas with prominent central palisading of epithelial cells mimicking schwannoma. J Cutan Pathol 1999; 26: 528-532.

- 36) Tilli CM, Van Steensel MA, Krekel GA, Neumann HA, Ramaekers FC. Molecular aetiology and pathogenesis of basal cell carcinoma. *Br J Dermatol* 2005; 152:1108-1124.
- 37) Bastiaens MT, Hoefnagel JJ, Bruijn JA, Westendorp RG, Vermeer BJ, Bouwes Bavinck JN. Differences in age, site distribution, and sex between nodular and superficial basal cell carcinoma indicate different types of tumors. *J Invest Dermatol* 1998; 110: 880-884.
- 38) McGibbon DH. Malignant epidermal tumours. *J Cutan Pathol* 1985; 12: 224-238.
- 39) Sakamoto F, Ito M, Sato S, Sato Y. Basal cell tumor with apocrine differentiation: apocrine epithelioma. *J Am Acad Dermatol* 1985; 13: 355-363.
- 40) Misago N, Satoh T, Narisawa Y. Cornification (keratinization) in Basal cell carcinoma: a histopathological and immunohistochemical study of 16 cases. *J Dermatol* 2004; 31: 637-650.
- 41) San Juan J, Monteagudo C, Navarro P, Terradez JJ. Basal cell carcinomas with prominent central palisading of epithelial cells mimicking schwannoma. *J Cutan Pathol* 1999; 26: 528-532.
- 42) Alter M, Hillen U, Leiter U, Sachse M, Gutzme R. Current diagnosis and treatment of basal cell carcinoma. *Journal of the German Society of Dermatology* 2015; 0379-1309
- 43) Cirrone F, Harris CS. Vismodegib and the hedgehog pathway: a new treatment for basal cell carcinoma. *Clin Ther.* 2012; 10: 2039-2050
- 44) Logan CY, Nusse R. The Wnt signaling pathway in development and disease, *Annu Rev Cell Dev Biol* 2004; 20: 781-810.

- 45) Bodine CV. Wnt signaling control of bone cell apoptosis. *Cell Res* 2008; 18: 248-253.
- 46) Kaldis P, Pagano M. Wnt signaling in mitosis. *Dev Cell* 2009; 17; 749-750.
- 47) Kestler HA, Kühl M. From individual Wnt pathways towards a Wnt signalling network. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2008; 363: 1333- 1347.
- 48) Gordon MD, Nusse RJ. Wnt signaling: multiple pathways, multiple receptors, and multiple transcription factors. *Biol Chem* 2006; 281: 22429-22433.
- 49) Kawano Y, Kypta RJ. Secreted antagonists of the Wnt signalling pathway. *Cell Sci* 2003; 116: 2627-2634.
- 50) Kikuchi A, Kishida S, Yamamoto H. Regulation of Wnt signaling by protein-protein interaction and post-translational modifications. *Exp Mol Med* 2006; 38: 1-10.
- 51) Lorenowicz MJ, Korswagen HC. Sailing with the Wnt: charting the Wnt processing and secretion route. *Exp Cell Res* 2009; 315: 2683-2689.
- 52) Nusse R, Varmus HE, Miller C, Sassoon DA. Wnt7a maintains appropriate uterine patterning during the development of the mouse female reproductive tract. *Development* 1998; 125: 3201–3211.
- 53) Nusse R. Wnt signaling in disease and in development. *Cell Res* 2005; 15: 28-32.
- 54) Soria B, Bedoya FJ, Martin F. Gastrointestinal stem cells, I. Pancreatic stem cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 289(2): 177-180.

- 55) Huang HC, Klein PS. The Frizzled family: receptors for multiple signal transduction pathways. *Genome Biol* 2004; 5(7): 234.
- 56) He X, Semenov M, Tamai K, Zeng X, LDL receptor-related proteins 5 and 6 in Wnt/b-catenin signaling: Arrows point the way. *Development* 2004; 131(8): 1663-1677.
- 57) Wawrzak D, Luyten A, Lambaerts K, Zimmermann P. Frizzled-PDZ scaffold interactions in the control of Wnt signaling. *Adv Enzyme Regul* 2009; 49(1): 98-106.
- 58) Elston MS, Clifton-Bligh RJ. Identification of Wnt family inhibitors: A pituitary tumor directed whole genome approach. *Mol Cell Endocrinol* 2010.
- 59) Maher MT, Flozak AS, Stocker AM, Chenn A, Gottardi CJ. Activity of the β -catenin phosphodestruction complex at cell-cell contacts is enhanced by cadherin-based adhesion. *J Cell Biol* 2009; 186(2): 219-228.
- 60) Kishida S, Yamamoto H, Ikeda S, Kishida M, Sakamoto I, Koyama S, Kikuchi A. Axin, a negative regulator of the wnt signaling pathway, directly interacts with adenomatous polyposis coli and regulates the stabilization of beta-catenin. *J Biol Chem* 1998; 273(18): 10823-10826.
- 61) Shitashige M, Hirohashi S, Yamada T. Wnt signaling inside the nucleus. *Cancer Sci* 2008; 99(4): 631-637.
- 62) Polakis P. Wnt signaling and cancer. *Genes Dev* 2000; 14(15): 1837-1851.
- 63) MacDonald BT, Verma IJ. Wnt/beta-catenin signaling: components, mechanisms, and diseases. *Dev Cell* 2009; 17(1): 9-26.

- 64) Ambros RA: Simple hyperplasia of the endometrium: an evaluation of proliferative activity by Ki-67 immunostaining. *International Journal of Gynecologic Pathology* 2000; 19: 206-211.
- 65) Grzanka A, Sujkowska R, Janiak A, Adamska M: Immunogold labelling of PCNA and Ki-67 antigen at the ultrastructural level in laryngeal squamous cell carcinoma and its correlation with lymph node metastasis and histological grade. *Acta histochemica* 2000; 102: 139-149.
- 66) Bai M, Agnantis NJ, Kamina S, Demou A, Zagorianakou P, Katsaraki A, Kanavaros P: In vivo cell kinetics in breast carcinogenesis. *Breast Cancer Research* 2001; 3: 276-283.
- 67) Vieira FLD, Vieira BJ, Guimaraes MAM, Aarestrup FM. Cellular profile of the peritumoral inflammatory infiltrate in squamous cells carcinoma of oral mucosa: Correlation with the expression of KI67 and histologic Grading. *BMC Oral Health* 2008; 8: 25.
- 68) İnal ME, Atik U, Aksoy N. Marks temel biyokimyası. İstanbul. Güneş Tıp Kitabevi, 2007; 654- 666.
- 69) . Grignon DJ, Staerckel. Surgical diseases of the kidney. In: Silverberg's SG, DeLellis RA, Frable WJ, LiVolsi VA, Wick MR, Silverberg's Principles and Practice of Surgical Pathology and Cytopathology. China: Elsevier, 2006; 32: 1661- 1705.
- 70) Chen Q, Shinohara N, Abe T, Watanabe T, Nonomura K, Koyanagi T. Significance of COX-2 expression in human renal cell carcinoma cell lines. *Int J. Cancer* 2004; 108: 825- 832.

- 71) Chen YJ, Wang LS, Wang PH, Lai CR, Yen MS, Ng HT, et al. High cyclooxygenase- 2 expression in cervical adenocarcinomas. *Gynecol Oncol* 2003; 88: 379- 85.
- 72) Yoshimura R, Sano H, Masuda C, Kawamura M, Tsubouchi Y, Chargui J, et al. Expression of cyclooxygenase-2 in prostate carcinoma. *Cancer* 2000; 89: 589-596.
- 73) Cella M, Sallusto F, Lanzavecchia A. Origin, maturation and antigen presenting function of dendritic cells. *Curr Opin Immunol* 1997; 9: 10-16.
- 74) Goldman SA, Baker E, Weyant RJ, Clarke MR, Myers JN, Lotze MT. Peritumoral CD1a-positive dendritic cells are associated with improved survival in patients with tongue carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1998; 124: 641-646.
- 75) Gallo O, Libonati GA, Gallina E, Fini-Storchi O, Giannini A, Urso C, et al. Langerhans cells related to prognosis in patients with laryngeal carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1991; 117:1007-1010.
- 76) Furukawa T, Watanabe S, Kodama T, Sato Y, Shimosato Y, Suemasu K. T-zone histiocytes in adenocarcinoma of the lung in relation to postoperative prognosis. *Cancer* 1985; 56: 2651-2656.
- 77) Payne V, Kam PC. Mast cell tryptase: a review of its physiology and clinical significance. *Anaesthesia* 2004; 59: 695-703.
- 78) Sommerhoff CP, Schaschke N. Mast cell tryptase beta as a target in allergic inflammation: an evolving story. *Curr Pharm Des* 2007; 13: 313-332.

- 79) Ciurea ME, Cernea D, Georgescu CC, Cotoi OS, Patraşku V, Pârvănescu H, Popa D, Pârvănescu V, Ciurea RN, Mercur R. Expression of CXCR4, MMP-13 and β -catenin in different histological subtypes of facial basal cell carcinoma. *Rom J Morphol Embryol* 2013; 54(4): 939–951.
- 80) Ribatti D, Finato N, Crivellato E, Guidolin D, Longo V, Mangieri D et al. Angiogenesis and mast cells in human breast cancer sentinel lymph nodes with and without micrometastases. *Histopathology* 2007; 51: 837-842.
- 81) Calonje E, Brenn T, Lazar A, McKee PH. McKee's pathology of the skin, 2012.
- 82) Sivrikoz ON, Uyar B, Dağ F, Taşlı F, Sanal SM. CXCR-4 and COX-2 Expression in Basal Cell Carcinomas and Well-Differentiated Squamous Cell Carcinomas of the Skin; Their Relationship with Tumor Invasiveness and Histological Subtype. *Turkish Journal of Pathology* 2015; 31: 30-35.
- 83) Bieniek A, Pula B, Piotrowska A, Podhorska-Okolow M, Salwa A, Koziol M, Dziegiel P. Polish Society for Histochemistry and Cytochemistry. *Folia Histochem Cytobiol* 2012; 10.5603/FHC.2012.0048
- 84) Biswas A, Richards JE, Massaro J, Mahalingam J-M. Mast cells in cutaneous tumors: innocent bystander or maestro conductor? *International Journal of Dermatology* 2014; 53: 806–811
- 85) Shevchuk Z, Filip A, Shevchuk V, Kashuba E. Number of langerhans cells is decreased in premalignant keratosis and skin cancers. *Experimental Oncology* 2014; 36: 34–37.
- 86) Qi L, Sun B, Liu Z, Cheng R, Li Y, Zhao X. Wnt3a expression is associated with epithelial-mesenchymal transition and promotes colon cancer progression. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* 2014; 33: 107

- 87) Kikuchi, A., Tumor formation by genetic mutations in the components of the Wnt signaling pathway. *Cancer Sci* 2003; 94(3): 225-229.
- 88) El-Bahrawy M, El-Masry N, Alison M, Poulsom R, Fallowfield M. Expression of beta-catenin in basal cell carcinoma. *Br J Dermatol*. 2003; 148(5): 964-970.
- 89) Ionescu DN, Arida M, Jukic DM. Metastatic Basal Cell Carcinoma- Four Case Reports, Review of Literature, and Immunohistochemical Evaluation. *Arch Pathol Lab Med* 2006; 130: 45–51.
- 90) Yerebakan O, Ciftcioglu MA, Akkaya BK et al. Prognostic value of Ki-67, CD31 and epidermal growth factor receptor expression in basal cell carcinoma. *J Dermatol* 2003; 30: 33–41
- 91) Healy E, Angus B, Lawrence CM, Rees JL et al. Prognostic value of Ki67 antigen expression in basal cell carcinomas. *Br J Dermatol* 1995; 133: 737–741.
- 92) Horlock NM, Wilson GD, Daley FM et al. Cellular proliferation characteristics of basal cell carcinoma: relationship to clinical subtype and histopathology. *Eur J Surg Oncol* 1997; 23: 247–252.
- 93) Son KD, Kim TJ, Lee YS et al. Comparative Analysis of Immunohistochemical Markers With Invasiveness and Histologic Differentiation in Squamous Cell Carcinoma and Basal Cell Carcinoma of the Skin. *J Surg Oncol* 2008; 97: 615–620.
- 94) Diaconu NC, Kaminska R, Naukkarinen A, Harvima RJ, Harvima IT. The increase in tryptase- and chymase-positive mast cells is associated with partial inactivation of chymase and increase in protease inhibitors in basal cell carcinoma. *JEADV* 2007; 21: 908–915

95) Dabiri S, Huntsman D, Makretsov N, et al. The presence of mast cells identifies a subset of invasive breast cancers with a favourable prognosis. *Mod Pathol* 2004; 17: 690–695.

96) Claudatus JC Jr, d'Ovidio R, Lospalluti M, Meneghini CL. Skin tumors and reactive cellular infiltrate: further studies. *Acta Derm Venereol* 1986; 66: 29–34.

97) Mohtasham N, Babakoochi S, Salehinejad J, et al. Mast cell density and angiogenesis in oral dysplastic epithelium and low- and high-grade oral squamous cell carcinoma. *Acta Odontol Scand* 2010; 68: 300–304.