

Bazal Hücreli Karsinoma ile Skuamoz Hücreli Karsinomanın Histokimyasal Özelliklerinin Bax, Bcl-2 ve Ki-67 ile Belirlenmesi

Araştırma

Study

Başak Kandi Coşkun*, Bengü Çobanoğlu**

* Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Dalı

** Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı

Özet

Bu çalışmada bazal hücreli karsinoma (BHK) ve skuamoz hücreli karsinoma (SHK)'larda bax ve bcl-2 protein ekspresyonunun özellikleri yanı sıra, proliferasyon belirteci olarak bilinen Ki67'nin de her iki tümör ile ilişkisinin immunhistokimyasal olarak incelenmesi amaçlanmıştır. 20 adet SHK ve 20 adet BHK olgusu, bax, bcl-2 ve Ki67 antikorları ile immunhistokimyasal yöntem kullanılarak değerlendirildi. SHK ve BHK'larda bax, bcl-2 ve Ki67 değerleri arasında belirgin farklılıklar mevcuttu. Genel olarak değerlendirildiğinde BHK'da yüksek bcl-2 pozitifliğine karşılık, bax önemsiz düzeyde tesbit edilmekteydi. SHK'da ise Bax olguların çoğunda belirgin olarak pozitif bulundu. Ki67 değerleri, SHK olgularının %90'ında değişik derecelerde pozitif olmakla birlikte BHK olgularının sadece %10'unda zayıf derecede pozitif bulundu. SHK'larda bax pozitifliğinin, BHK'larda ise bcl-2 pozitifliğinin ön planda olması SHK'da apoptozun çok daha belirgin olduğunu göstermektedir. Bu sonuç BHK'da apoptozun bax ile çok fazla ilişkisi bulunamamakla birlikte apoptotik aktivitenin bcl-2 gen ailesi ile düzenlendiğini düşündürmektedir. Daha agresif seyirli olan SHK'larda diferansiyasyon dereceleri ile ilişkili olarak Ki67 yüksek bulunmuştur. Ancak literatürlerde bu konuda sınırlı sayıda çalışma mevcut olup daha geniş olgu sayılarını içeren çalışmalara gereksinim vardır.

Anahtar Kelimeler: Bazal hücreli karsinoma, skuamoz hücreli karsinoma, Bax, Bcl-2, Ki-67

Coşkun BK, Çobanoğlu B. Bazal hücreli karsinoma ile skuamöz hücreli karsinomanın immunhistokimyasal özelliklerinin Bax, BCL-2 ve Ki-67 ile belirlenmesi. TÜRKDERM 2005; 39: 185-188

Summary

Background and design: The present study aimed at investigating the expression characteristics of bax and Bcl-2 proteins as well as the relation between Ki67, known to be a proliferation marker, and the two tumors immunohistochemically.

Material and method: Twenty squamous cell carcinoma (SCC) and 20 basal cell carcinoma (BCC) cases were evaluated by immunohistochemical method using bax, Bcl-2 and Ki67 antibodies. There were marked differences between Bax, Bcl-2 and Ki67 values in SCC and BCC.

Result: An overall evaluation showed that Bcl-2 was highly positive, whereas Bax expression was ignorable in BCC. However, Bax was evidently positive in most SCC cases. Ki67 was positive at variable degrees in 90% of SCC cases, but only slightly positive in 10% of BCC cases. The fact that Bax positivity is more evident in SCC and Bcl-2 positivity in BCC demonstrates that apoptosis is more marked in SCC.

Conclusion: This result suggests that although apoptosis is not strongly related with Bax in BCC, Bcl-2 gene family regulates apoptosis activity. In SCC cases with a more aggressive course, Ki67 was found high in relation to the degree of differentiation. However, number of literature studies addressing this topic is limited; therefore studies including a higher number of cases are needed.

Key Words: Basal cell carcinoma, squamous cell carcinoma, Bax, Bcl-2, Ki67

Coşkun BK, Çobanoğlu B. Determination of the immunohistochemical characteristics of basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma by Bax, Bcl-2 and Ki67. TÜRKDERM 2005; 39: 185-188

Kıl follikülü bulunan epidermisten (folliküler germinatif hücrelerden) köken alan bazal hücreli karsinoma (BHK) derinin en sık görülen malin tümördür. Metastaz potansiyelinin çok düşük olmasına karşın, lokal olarak invaziv ve destrüktif özelliğe sahiptir. BHK'nın en sık görülen şekli nodüloülseratif tiptir¹.

Skuamoz hücreli karsinoma (SHK) deri ve mukozalardaki epitelyal keratinositlerden köken alan, anaplazi, hızlı büyüme, lokal invazyon ve metastaz özellikleri bulunan bir malin tümördür. BHK'dan sonra ikinci en sık görülen kutanöz malignitedir¹.

Alındığı Tarih: 09.11.2004 **Kabul Tarihi:** 07.07.2005

Yazışma Adresi: Dr. Başak Coşkun, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dermatoloji Anabilim Dalı, 23119, Elazığ

Fax: 0 424 237 91 38, 238 76 88, Tel: 233 35 55/1772, e-mail:basakcc@hotmail.com

Apoptozis (programlanmış hücre ölümü) morfolojik, biyolojik ve moleküler genetik değişikliklerle karakterize bir hücre ölüm biçimidir. İlk olarak 1972 yılında tanımlanmıştır. Selim ve malin tümörlerde proliferasyon ve hücre dönüşümünde kritik bir rol oynamakta olup, mitozun aksine iyi bir prognostik bulgudur².

İnsanlarda apoptotik mekanizmanın bozulması kanser gelişmesine neden olmaktadır. Tümörlerde apoptozisi kontrol eden mekanizmaların anlaşılması yeni tedavi çabalarına kapı açabileceği için oldukça önemli görünmektedir². Apoptozis kısmen bcl-2 ve bax arasındaki denge ile düzenlenir³.

Bcl-2 prototipik anti-apoptozis genidir. 18. kromozomda yerleşen Bcl-2 ve ilişkili sitoplazmik proteinler, apoptotik sürecin düzenlenmesinde önemli bir role sahiptir. Bax, Bcl-2 ile zıt etkilidir, apoptozis agonistidir ve böylece hücre ölümünü artırır. Bcl-2 fazlalığında hücre hayatı korunur, ancak Bax homodimerleri baskın olduğu zaman hücrelerin apoptozise duyarlılığı artar^{2,4,5}.

Her iki protein de incebarsak, kolon, meme, prostat, respiratuar sistem ve deride epitelyal hücrelerde eksprese edilir⁶.

Ki-67 proliferasyon belirteci olarak tanımlanan büyük bir nükleer proteindir. Diğer bilinen proteinler ile benzerlik göstermez. Hücre siklusunun geç G1,S,M ve G2 fazındaki hücrelerde reaksiyon verirken G0 fazında görülmez. Ki-67 proliferatif hücreleri işaretleyen önemli bir proteindir⁷⁻⁹.

Bu çalışmada amacımız BHK ve SHK'da apoptotik ve proliferatif indekslerin immünohistokimyasal olarak belirlenmesi ve bu iki kutanöz malinite arasındaki farkların ortaya konulmasıdır.

Gereç ve Yöntem

Çalışma için 20 SHK, 20 nodülo-ülseratif BHK olgusu değerlendirildi. Tüm olgulardan elde edilen 4 mikron kalınlığındaki kesitler histokimyasal olarak Hematoksi-len-eozin (HE), immünohistokimyasal olarak da Bax, Bcl-2 ve Ki-67 antikorları ile boyandı.

Proliferatif indeks ise rastgele seçilen alanlarda sayılan 1000 hücre arasındaki Ki-67 pozitif hücre sayısının yüzde oranı olarak hesaplandı.

Bax ve Bcl-2 antikorları boyanma özellikleri skrolama ile gösterildi. Buna göre;

Skor 0 : negatif boyanma
Skor 1 : %25'den az pozitif hücre
Skor 2 : %26-50 pozitif hücre
Skor 3 : %51-75 pozitif hücre
Skor 4 : %75'den fazla pozitif olarak kabul edildi.

İstatistiksel yöntem olarak ² testi kullanıldı. Bu amaçla SPSS v11.0 programından yararlanıldı.

Bulgular

20 SHK olgusunun sekizi iyi diferansiye, altısı orta derecede diferansiye ve altısı da az diferansiye idi.

Diferansiyasyon derecelerine göre ele alındığında Bax ile;

İyi diferansiye SHK olgularının ikisinde hiç boyanma yoktu (skor 0).

Üç iyi diferansiye SHK olgusunda %25'den az (skor 1) pozitif hücre saptandı.

Üç iyi diferansiye SHK olgusunda %26-50 (skor 2) pozitif hücre vardı.

Altı orta derece diferansiye SHK olgusunun ikisinde %25'den az pozitif hücre (skor 1) varken dört olguda %26-50 (skor 2) pozitif hücre saptandı.

Az diferansiye olgulardan ikisinde %26-50 (skor 2), ikisinde %51-75 (skor 3), ikisinde de %75'den fazla (skor 4) pozitiflik görüldü (Tablo I) (Şekil 1).

Bcl-2 ile, iyi diferansiye SHK'ların hiçbirinde pozitiflik saptanmadı (skor 0).

Orta derecede ve az diferansiye SHK olgularının dörder tanesinde yine boyanma saptanmazken ikisinde skor 1 düzeyinde soluk sitoplazmik boyanma mevcuttu (Tablo II). Sonuç olarak; istatistiksel olarak bakıldığında SHK'da Bax pozitifliği orta ve az diferansiye SHK'larda anlamlı olarak yüksek tesbit edilirken, iyi diferansiye SHK'larda Bcl-2 pozitifliği daha yüksekti (Tablo I).

20 BHK olgusu için yapılan immünohistokimyasal incelemede ise ;

Bax ; Dört olguda skor 1 düzeyinde hafif bir pozitiflik, iki olguda da skor 2 düzeyinde pozitiflik saptanırken, kalan 14 olgu Bax için negatifti (skor 0) (Tablo II).

Bcl-2 ise iki olguda negatif (skor 0) olup, dört olguda skor 1 düzeyinde, dört olguda skor 2 düzeyinde, altı olguda skor 3, dört olguda da skor 4 düzeyinde pozitifliği (Tablo II) (Şekil 2). İstatistiksel olarak bakıldığında iyi diferansiye BHK'da Bcl-2 pozitifliği anlamlı olarak yüksek tesbit edildi (Tablo II).

Ki-67 indeksi sadece iki SHK olgusunda negatifti. Diğer SHK olgularında değişik oranlarda Ki-67 pozitifliği (Tablo III). Buna karşılık iki BHK olgusunda Ki-67 pozitifken diğer olgularda negatifti (Tablo III) (Şekil 3). İstatistiksel olarak bakıldığında SHK'da BHK'ya göre Ki-67 pozitifliği anlamlı olarak yüksek tesbit edildi (Tablo III).

Tartışma

Çalışmamızda SHK'da Bax (+)'liğinin BHK'ya göre belirgin derecede yüksek olduğu saptanmıştır. Bu sonuç bize SHK'da apoptozisin çok daha fazla olduğunu göstermektedir. BHK'da ise Bcl-2 (+)'liği ön plandadır, bu durumda da anti-apoptitik faktörlerin daha ön planda olduğu ortaya konulmaktadır. Bax'ın fazla ekspresyonu bilindiği üzere apoptozisi indükler, bcl-2'nin fazla ekspresyonu ise hücrenin yaşaması ile sonuçlanır³. Nitekim çalışmamızda da BHK' da bcl-2'nin Bax ekspresyonuna göre anlamlı derecede yüksek olması, BHK'nın daha yavaş büyümesi ve daha selim seyretmesinin hücre proliferasyonu ve hücre kaybı arasındaki denge ile sağlandığı görüşünü desteklemektedir^{3,4}.

Tablo I: SHK'da Bax ve Bcl-2 boyanma skorlarının olgu sayılarına göre dağılımı (AD: Anlamlı değil).

Skor	Bax	Bcl-2	
Skor 0	2	16	P<0.001
Skor 1	4	4	AD
Skor 2	4	-	AD
Skor 3	6	-	P<0.05
Skor 4	4	-	AD

Tablo II: BHK'da Bax ve Bcl-2 boyanma skorlarının olgu sayılarına göre dağılımı (AD: Anlamlı değil).

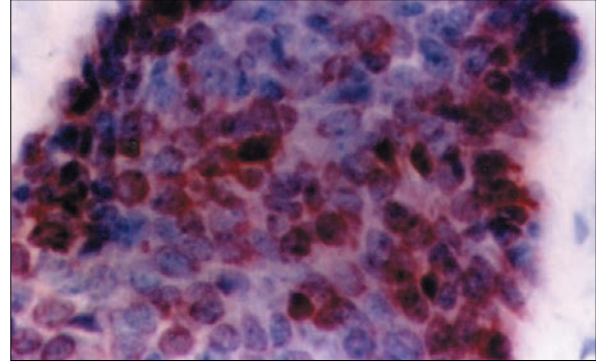
Skor	Bax	Bcl-2	
Skor 0	14	2	P<0.001
Skor 1	4	4	AD
Skor 2	2	4	AD
Skor 3	---	6	P<0.05
Skor 4	---	4	AD

Tablo III: SHK ve BHK'da Ki-67 Pozitif ve negatif olgu sayıları.

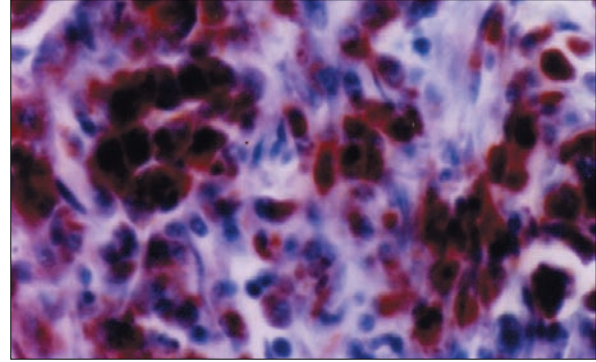
	SHK	BHK	
Ki-67 (+) olgu sayısı	18	2	P<0.001
Ki-67 (-) olgu sayısı	2	18	P<0.001

Ki-67'ye ait sonuçlara bakıldığında; SHK'da anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. SHK'da proliferatif indeks belirgin olarak daha fazladır. SHK'da tümörün BHK'ya göre daha hızlı büyüdüğü bilinmektedir, bu durum proliferatif indeksin fazla olması ile ilişkilidir.

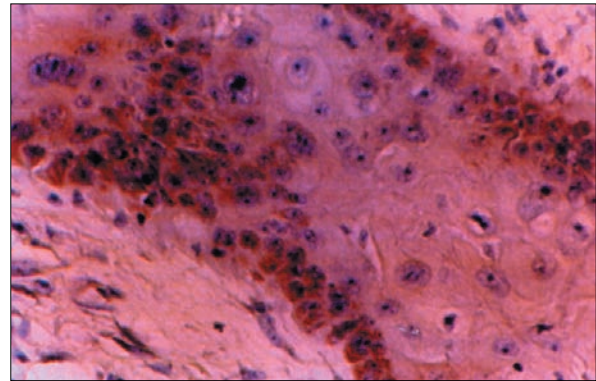
Healy ve arkadaşları¹⁰ 17 primer BHK ile 17 rekürren BHK vakasının proliferatif indekslerini karşılaştırmalı



Şekil 1: SHK'da bax pozitifliği.



Şekil 2: BHK'da bcl-2 pozitifliği.



Şekil 3: SHK'da Ki67 pozitifliği.

olarak incelemişlerdir. Sonuç olarak Ki-67 pozitifliğini her iki grupta da anlamlı yüksek bulurken, rekürren BHK grubunda primer BHK grubundan anlamlı olarak yüksek tesbit etmişlerdir. BHK'da özellikle de rekürren grubta takip sıklığının gerekliliğine dikkat çekmişlerdir.

Al-Sader ve arkadaşları¹¹ 40 SHK ile 40 BHK olgusunu proliferatif indeks ve apoptozis açısından karşılaştırmışlardır. Bu çalışmada ilginç olarak mitotik ve apoptotik indeks açısından bir fark bulunamamıştır. Bizim çalışmamızda SHK'da apoptotik indeks belirgin olarak yüksek bulunmuştur. Proliferatif indeks bizim çalışmamızı destekler şekilde SHK'da daha yüksek tesbit edilmiştir.

Bir önceki çalışmaya karşıt olarak, bizim çalışmamızı destekler özellikte; Delehedde ve arkadaşları¹² BHK ile SHK'lı olguları apoptotik indeks açısından karşılaştırmışlar ve SHK'da anlamlı olarak yüksek tesbit etmişlerdir. Bulguları ışığında Bcl-2 aile üyelerinin ekspresyonunun melanoma dışı deri kanserlerinin patogenezinde önemli role sahip olduklarını belirtmişlerdir.

Abdelsayed ve arkadaşları¹³ BHK ile trikoepitelyoma'yı Bcl-2, p53 ve Ki-67 ile karşılaştırmışlardır. BHK ile trikoepitelyoma arasında Bcl-2 ve p53 açısından bir fark saptayamazken Ki-67'yi BHK'da belirgin olarak yüksek tesbit etmişler ve BHK'nın trikoepitelyoma'ya göre proliferatif ve agresif seyri bu duruma bağlamışlardır. Tilli ve arkadaşları³ ise BHK ile normal deriyi Bcl-2, Bax ve Ki-67 ile karşılaştırmışlardır. BHK'da Ki-67 ve Bax'ı yüksek tesbit ederken, normal deride Bcl-2'yi yüksek bulmuşlardır. BHK'nın proliferatif indeks olarak agresif özellik kazandığını ve anti-apoptotik özelliğini ise kaybettiğini belirtmişlerdir.

Yan ve arkadaşları¹⁴ BHK'da Bcl-2, Bax ve p53 ekspresyonunu araştırmışlar ve BHK kliniğini destekler tarzda apoptotik özelliğin az olduğunu belirlemişlerdir.

Bozdoğan ve arkadaşları¹⁵ da amiloid pozitif agresif BHK ile non-agresif BHK'lı olgularını karşılaştırmışlar ve agresif BHK'da Bcl-2 ekspresyonunu düşük tesbit etmişlerdir, bu özelliğin klinik takipte yol gösterici olabileceğini belirtmişlerdir.

Çalışmamızda SHK'da apoptotik özelliğin belirgin olarak yüksek olduğunu saptadık. Proliferatif indeks açısından bakıldığında SHK'da indeks nodülo-ülseratif BHK'ya göre anlamlı derecede yüksekti. Literatürde

BHK ile SHK'nın apoptotik ve proliferatif özelliklerinin belirlendiği birbiri ile çelişkili çok az sayıda çalışmada olup, diğer BHK tiplerini de içeren geniş vakalı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kaynaklar

1. Odom RB, James WD, Berger TG: *Andrews' Diseases of the skin*. 9'uncu baskı. Philadelphia, WB Saunders Company, 2000; 800-68.
2. Cotran RS, Kumar V, Collins T: *Pathologic basis of disease*. 5'inci baskı. Philadelphia, WB Saunders Company, 2000; 1173-1211.
3. Tilli Claudia M.L.J, Stavast-Kooy A.J.W, Ramaekers F.C.S, Martino Neumann H.A: Bax expression and growth behavior of basal cell carcinomas. *J Cutan Pathology* 2002; 29 (2) : 79-83.
4. Wang SH, Koenig RJ, Giardano TJ, Myc A, Thompson NW, Baker JR: 1- Alfa,25 Dihidroxyvitamin D3 up-regulates Bcl-2 expression and protects normal human thyrocytes from programmed cell death. *Endocrinology* 1999;140 (4) : 1649-1656.
5. Koga M, Hiromatsu Y, Jimi A, Toda S, Koika N, Nonaka K: Immunohistochemical Analysis of bcl-2, bax and bak expression in thyroid glands from patients with subacute thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84 (6) : 2221-2225.
6. Manetto V, Lorenzini R, Cordon-Cardo C: Bcl-2 and bax expression in thyroid tumours. *Virchows Arch* 1997; 430 (2) : 125-130.
7. Delahunt B, Bethwaite PB, Thronton A, Ribas JL: Proliferation of renal cell carcinoma assessed by fixation-resistant polyclonal Ki-67 antibody labelling cancer. *Cancer* 1995; 75 : 2714-2719.
8. Key G, Peterson JL, Becker MHG, Duchrow M, Schlueter C, Askaa J: Antiserum against Ki-67 antigen suitable for double immunostaining of paraffin wax sections. *J Clin Pathol* 1993; 46 : 1080-1084.
9. Sato H, Abe Y, Noguchi M, Kurukawa K, Sakai H: Inhibitory effect of thyrotropic hormone on apoptosis induced by Actinomycin D in a functioning rat thyroid cell line. *Endocr J* 1999; 46 (2) : 309-315.
10. Healy E, Angus B, Lawrence CM, Rees JL: Prognostic value of Ki-67 antigen expression in basal cell carcinomas. *Br J Dermatol* 1995; 133(5) : 737-741.
11. al-Sader MH, Doyle E, Kay EW: Proliferation indexes a comparison between cutaneous basal and squamous cell carcinomas. *J Clin Pathol* 1997; 50 (4) : 355.
12. Delehedde M, Cho SH, Sarkiss M: Altered expression of bcl-2 family member proteins in nonmelanoma skin cancer. *Cancer* 1999; 85(7) : 1514-1522.
13. Abdelsayed RA, Guijarro-Rojas M, İbrahim NA, Sanguenza OP: Immunohistochemical evaluation of basal cell carcinoma and trichopitelyoma using Bcl-2, Ki67, PCNA and P53. *J Cutan Pathol* 2001; 28(4) : 219-221.
14. Yan L, Chen M, Yu G: Expression of bcl-2, bax and p53 protein in the basal cell carcinoma. *Hunan Yi Ke Da Xue Xue Bao* 1999; 24 (2) : 179-180.
15. Bozdogan O, Erkek E, Atasoy P, Koçak M, Birol A, Caydere M: Bcl-2-related proteins, alpha-smooth muscle actin and amyloid deposits in aggressive and non-aggressive basal cell carcinomas. *Acta Derm Venereol* 2002; 82(6) : 423-427.