

# Benin, Premalin ve Malin Lezyonlarda Hücre Proliferasyon Belirleyicilerinin Ekspresyonu ve İnsan Papilloma Virus İzolasyonu

## Expression of Cell Proliferation Markers in Benign, Premalignant and Malignant Lesions and Human Papillomavirus Isolation

Gamze Serarslan, Esin Atik\*, Barış Otlu\*\*, Sevgi Bakariş\*\*\*, Rıza Durmaz\*\*\*\*

Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji ve \*Patoloji Anabilim Dalı, Antakya  
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Malatya  
Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Kahramanmaraş, Türkiye

### Özet

**Amaç:** Bu çalışmada çeşitli benin, premalin ve malin deri lezyonlarında proliferasyon belirleyicilerinin rolü ve bu lezyonlarda insan papilloma virusu (HPV) pozitifliğinin saptanması amaçlandı.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya, parafin bloktaki 62 doku [12 seboreik keratoz (SK), 10 keratoakantom (KA), 8 aktinik keratoz (AK), 22 bazal hücreli karsinom (BHK) ve 10 skuamöz hücreli karsinom (SHK)] alındı. Doku örnekleri, Ki-67, p21 ve bcl-2 ekspresyonunu belirlemek amacıyla, immünohistokimyasal yöntemle çalışıldı. HPV DNA'sını tespit etmek için PCR uygulandı.

**Bulgular:** BHK tanısı almış olan iki dokuda HPV (tip-16) pozitifliği saptandı. Lezyonlarda Ki-67, p21 ve bcl-2 ekspresyonu sırası ile şu şekildeydi: KA<BHK<AK<SHK<SK (p<0.05), BHK<KA<SK<SHK<AK (p<0.05), AK<KA<BHK<SHK<SK (p<0.05). p21 ekspresyonundaki artışın, premalin lezyonlarda (AK), malin lezyonlara göre (BHK, SHK) daha belirgin olduğu saptandı (p<0.05).

**Sonuç:** Sonuçlarımıza göre HPV'nin benin, premalin ve malin lezyonların etyolojisinde doğrudan rol oynamadığı söylenebilir. Proliferasyon belirleyicilerinin ise benin, premalin ve malin lezyonların ayırd edilmesinde, hematoksilen-eozin boyaması ile birlikte ve yeni prospektif çalışmaların ışığında değerlendirilmesinin uygun olduğu görüşüne varıldı. (*Turkderm 2007; 41: 57-62*)

**Anahtar Kelimeler:** İnsan papilloma virus, Ki-67, bcl-2, p21

### Summary

**Background and Design:** This study was designed to investigate the role of proliferation markers in various benign, premalignant and malignant skin lesions and also aimed to detect HPV positivity in these lesions.

**Material and Method:** A total of 62 paraffin blocks [12 seborrheic keratoses (SK), 10 keratoacantoma (KA), 8 actinic keratoses (AK), 22 basal cell carcinoma (BCC), and 10 squamous cell carcinoma (SCC)] were included in the study. Specimens were studied immunohistochemically for the expression of Ki-67, p21 and bcl-2. PCR was performed to detect HPV DNA.

**Results:** HPV positivity was detected in two tissues of BCC (HPV type-16). In the lesions, the Ki-67, p21 and bcl-2 expressions were found to be increased respectively: KA<BCC<AK<SCC<SK (p<0.005), BCC<KA<SK<SCC<AK (p<0.05), AK<KA<BCC<SCC<SK (p<0.05). p21 expression was more prominent in premalignant (AK) lesions compared with malignant (BCC, SCC) ones (p<0.05).

**Conclusions:** Our results suggest that HPV does not have a direct role in the aetiology of benign, premalignant and malignant lesions. Proliferation markers should be evaluated along with hematoxylen&eosin stained specimens for distinguishing benign, premalignant and malignant lesions. Prospective studies are still needed in this field. (*Turkderm 2007; 41: 57-62*)

**Key Words:** Human papilloma virus, Ki-67, bcl-2, p21

Neoplastik ve proliferatif hastalıklar koordinasyon göstermeyen hücre büyümesi ile karakterizedir. Proto-onkojenlerin aktivasyonu ve tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonunun, neoplastik değişime neden olduğu düşünülmektedir<sup>1</sup>. Tümörün büyümesi ve ilerlemesi ise apoptozise direnç, artmış proliferasyon, büyüme arrestine girememe veya farklılaşmama gibi çeşitli faktörlere bağlıdır<sup>2</sup>.

Fizyolojik bir süreç olan apoptozis, hasar görmüş veya istenmeyen hücrelerin ortadan kaldırılmasıdır. Apoptozis DNA'ya bağımlı veya bağımsız yolla gerçekleşir. p53 yolu, savunmanın belki de en iyi tanımlanmış mekanizmasıdır. Tümör baskılayıcı gen ailesinden biri olan p53'ün fonksiyon bozukluğunun, deri kanserinin gelişmesinde başlıca predispozan faktör olduğu gösterilmiştir<sup>3</sup>. p21'in hücre büyüme arrestini

indükleyen bir tümör baskılayıcı gen olduğu ileri sürülmektedir. Hem p53 bağımlı, hem p53 bağımsız yolla indüklenir. p21 insan neoplazmlarında mutasyona uğramaz, fakat skuamoproliferatif lezyonlarda aşırı ekspresyona olur. p21'in aşırı ekspresyonu, keratinositlerde G1 hücre döngü arrestini indükleyebilir, fakat daha da önemlisi, keratinositlerin terminal farklılaşmasını inhibe ederek kutanöz karsinogeneze katkı yaptığı düşünülmektedir<sup>2</sup>.

bcl-2 geni proto-onkogen ailesine aittir ve 18. kromozomda yerleşir<sup>2,4</sup>. Doğrudan hücre çoğalması ile ilgili olmamakla birlikte apoptozisin inhibisyonu yolu ile hücre yaşam süresini uzatarak tümör oluşumuna katılır<sup>2</sup>. Normal deride, bazal tabakadaki hücreler bcl-2'yi ekspresyona ederler. Ancak terminal farklılaşmaya giden veya apoptozis yolu ile ölen hücrelerde bcl-2 ekspresyonu olmaz.

Ki-67 nükleer antijendir. Hücre döngüsünün geç G1, S, G2 ve M evresinde ekspresyona edilirken, dinlenen G0 hücrelerinde ekspresyona edilmez. Sıklıkla hücre proliferasyonu belirleyicisi olarak kullanılır<sup>1,2</sup>.

Radyasyon (UV, iyonizan) ve genodermatozlar deri kanserinin nedenleri arasında yer almaktadır<sup>1</sup>. HPV ise insan karsinogenesinde giderek artan sıklıkta tespit edilmekte ve hem benign hem de malin çoğalma gösteren deri hastalıkları ile ilişkili olduğu düşünülmektedir<sup>5,6</sup>.

Çalışmamızda benin, premalin ve malin deri lezyonlarında HPV varlığını saptamak ve bu lezyonlarda hücre döngü proteinlerinin ekspresyon paternlerini tespit etmek amaçlandı.

## Gereç ve Yöntem

Çalışılması planlanan lezyonlardan, biyopsi alınmış olan hastaların dosyaları incelenerek immünitesi sağlam hastalara ait dokular çalışmaya dahil edildi.

Parafin bloktaki 12 seboreik keratoz (SK), 10 keratoakantom (KA), 22 bazal hücreli karsinom (BHK), 8 aktinik keratoz (AK) ve 10 skuamöz hücreli karsinom (SHK) çalışmaya dahil edildi.

### HPV DNA saptanması ve tiplendirilmesi

HPV tespiti, PCR (polymerase chain reaction) metodu kullanılarak gerçekleştirildi. Parafin bloklardaki dokulardan DNA ekstraksiyonu için parafin, ksilol ile uzaklaştırıldıktan sonra %70'lik alkol ve distile su ile yıkama yapıldı. Elde edilen dokulardan Qiagen, PureArt DNA Mini Kit (Qiagen GmbH, Hilden/Germany) kullanılarak DNA ekstraksiyonu tamamlandı. Daha sonra LCD-Array HPV 2.5 (Chipron GmbH, Germany) kiti ile sağlanan ve tüm HPV tiplerini kapsayan, virüsün L1 gen bölgesindeki 125-170 baz çiftlik bölgeyi amplifiye eden "HPV Mix 125" primerleri kullanılarak PCR yapıldı. Amplifikasyon koşulları; 96°C'de 2 dakikalık ilk denatürasyonun ardından, 45 siklus olarak 94°C/40 saniye, 48°C/40 saniye ve 72°C/40 saniye olarak uygulandı. HPV pozitif örneklerde HPV tiplendirmesi için kit prosedürüne göre hibridizasyon ve boyama aşamalarına geçildi. Özetle, işaretli primerler ile çoğaltılan PCR ürünleri, "LCD-array" üzerine sabitlenmiş tiplere özgü problemler ile hibridizasyona tabi tutuldu. Hibridizasyondan sonra yıkama işlemleri ile bağlanmayan ürünler uzaklaştırıldı. Gerçekleşen hibridizasyonu gösterecek boyama işlemlerinden sonra oluşan lekeler otomatik analiz siste-

mi "SlideReader software" (LCD-Analysis package, Chipron, Germany) ile değerlendirilerek HPV tipleri belirlendi.

### İmmünohistokimya

Doku örneklerinin hematoksilin-eozin preparatları gözden geçirildi ve seçilen dokulara Ki-67, p21 ve bcl-2 monoklonal antikoları ile immünohistokimyasal teknik uygulandı. İmmünohistokimyasal boyama deparafinizasyon, dehidrasyon ve tamponlu sitratta inkübe edilerek uygulandı. Ultra Vision Polyvalent, HRP-AEC kiti (Neomarkers-Biogen, Lab Vision Corp. USA) kullanılarak Ki-67 (rabbit), p21 (mouse) ve bcl-2 (mouse) proteini ile antijen boyama yapıldı. Farklı mikroskopik alanlarda X400 büyütmede en az 1000 hücre sayılarak değerlendirildi. İmmünboyanma, pozitif boyanan hücrelerin yüzdeleri temel alınarak hesaplandı. Buna göre;

0: Boyanma yok

1 (Hafif): <%10 pozitif hücre

2 (Orta): %10-50 pozitif hücre

3 (Şiddetli): >%50 pozitif hücre

Verilerin istatistiksel analizinde Kruskal-Wallis, Ki kare, Pearson korelasyon kullanıldı, p< 0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## Bulgular

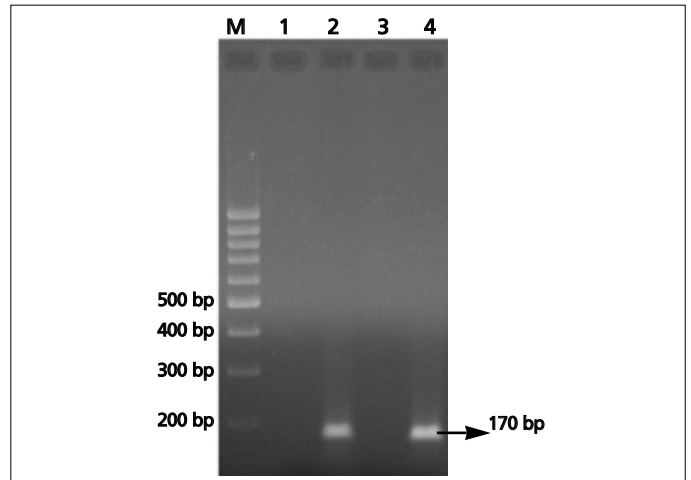
### PCR sonuçları

BHK tanısı almış olan dokuların, yalnızca iki tanesinde HPV DNA pozitifliği saptandı (Şekil 1). Pozitif olan dokular tiplendirildi ve her iki dokuda da HPV 16 tespit edildi.

### İmmünohistokimya sonuçları

Hastalıklara göre Kruskal-Wallis varyans analizi ile saptanan hücre sayılarının ortalama değerleri (mean rank) Tablo 1'de gösterildi.

Hastalıklara göre proliferasyon belirleyicilerinin immünopozitiflik oranının şiddeti tablo 2'de gösterildi. SK doku örneklerinde Ki-67 ile yedi doku bazal ve/veya suprabazal seviyede, iki doku tam kat olarak boyanırken; p21 ile bazal tabakada boyanma tespit edildi. bcl-2 ile genellikle tam kat bo-



Şekil 1.

M- Molecular size marker 100 bp DNA ladder (Biotools, Ispain)

1- Negatif hasta; özgül olmayan amplifikasyon olmadığını göstermektedir.

2- Pozitif hasta; HPV'ye özgül amplifikasyon ürününü içermektedir.

3- Negatif kontrol; herhangi bir kontaminasyon olmadığını göstermektedir.

4- Pozitif kontrol; spesifik bölgenin (~170 bp) amplifiye olduğunun göstergesi.

yanma saptandı (Resim 1). KA doku örneklerinde Ki-67 ile zayıf immüno pozitiflik saptandı. bcl-2 ile tam kat, p21 ile bazal tabakada ve tam kat olarak boyanma tespit edildi. Ki-67 BHK dokularında tümör periferinde boyanma gösterirken (Resim 2), p21 ve bcl-2 (Resim 3) tam kat olarak boyandı. HPV DNA'sı pozitif olan BHK dokularının her ikisinde de bcl-2 şiddetli boyanırken, p21'de boyanma saptanmadı. Ki-67 ile bir dokuda hafif boyanma saptanırken, diğerinde boyanma tespit edilmedi. AK'da Ki-67 ve p21 ile bazal ve suprabazal tabakada, bcl-2 ile tam katta pozitiflik saptandı. SHK'da Ki-67 ile iki doku örneği bazal, bir doku örneği ise tam kat olarak boyanırken, p21 ile bazal ve suprabazal tabakada (Resim 4), bcl-2 ile tam katta boyanma saptandı.

SK, KA, BHK, AK arasında proliferasyon belirleyicileri yönünden korelasyon tespit edilmezken, SHK'da p21 ile bcl-2 arasında pozitif korelasyon saptandı ( $r=0.90$ ,  $p<0.001$ , Pearson korelasyon)

Lezyonlar, benin (SK, KA), premalin (AK), ve malin (BHK, SHK) olarak sınıflandırılarak proliferasyon belirleyicileri karşılaştırıldığında ise, premalin lezyonların malin lezyonlara göre p21 ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı oranda artış saptanırken ( $p<0.05$ ), diğerleri arasında istatistiksel olarak anlamlılık tespit edilmedi.

**Tablo 1.** Hastalıklara göre proliferasyon belirleyicilerinin immüno pozitifliği (Ortalama değerler verilmiştir)

	Hücre Sayısı			
	n	Ki-67	p21	bcl-2
SK	12	40.42	37.00	44.75
KA	10	16.65	31.20	25.60
BHK	22	30.14	21.23	27.86
AK	8	34.63	42.00	23.00
SHK	10	36.15	39.40	36.30
Toplam	62			

## Tartışma

İnsan papilloma virüsleri, kutanöz ve mukokutanöz epiteli enfekte eden küçük DNA virüsleridir. Kutanoz, mukozal ve epidermodisplaziya verrüsiformis (EV) tipleri olmak üzere üç taksonomik gruba ayrılır<sup>7</sup>. HPV'ler insan karsinogenezinde giderek artan sıklıkta saptanmaktadır. Bazı tipleri benin genital verrülere (HPV 6 ve 11) neden olurken, bir grup yüksek riskli tipler ise (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 58) servikal ve diğer anogenital karsinom gelişimi ile ilgilidir<sup>8</sup>. HPV'nin melanom dışı deri kanserinde etyolojik rolü olduğuna dair en anlamlı kanıt, nadir bir hastalık olan EV ile ilgili yapılan çalışmalardan gelmektedir. Yaygın deri verrüleri ile karakterize olan bu hastalıkta, hastaların yaklaşık %30'unda SHK gelişir<sup>8</sup>. Benin, premalin ve malin deri lezyonlarında HPV DNA'sının varlığını saptamaya yönelik yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Yapılan bir çalışmada prekanseröz lezyonların %60.4'ünde, SHK'nın %59.7'sinde, BHK'nın %27.8'inde HPV DNA'sı saptanırken, bir diğer çalışmada bu oranlar SHK'da %69, BHK'da %52, AK'de %41, KA'da %22, normal deride ise %16 olarak belirlenmiştir<sup>9,10</sup>. Forslund ve arkadaşları AK, SHK ve BHK'dan alınan deri biyopsilerinin %44'ünde HPV DNA'sı tespit etmişlerdir. Ancak HPV tipi ile malinite arasında ilişki saptanmamıştır<sup>8</sup>. Bir başka çalışmada SK'lı hastaların %76'sında EV ilgili HPV saptanmış ve SK patogenezi içinde rolü olabileceği ileri sürülmüştür<sup>11</sup>. Lu ve arkadaşları 100 adet AK dokusunun hiçbirinde HPV DNA'sı saptanmamışlardır<sup>1</sup>. Renal transplant alıcılarında yapılan bir çalışmada SHK'da 24 dokunun beşinde, yedi AK dokusunun ikisinde, beş KA'nın birinde HPV DNA'sı saptanırken, BHK'da saptanmamıştır<sup>12</sup>. Kawashima ve arkadaşları ise 314 benin, premalin ve malin lezyonun sekizinde HPV DNA'sı saptamışlardır<sup>13</sup>. Çalışmamızda ise iki BHK dokusu dışında HPV DNA'sı tespit edilmedi. Yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçların birbirinden farklı olmasının nedeni, çevresel veya irksal faktörler gibi nedenlere bağlı olabilir.

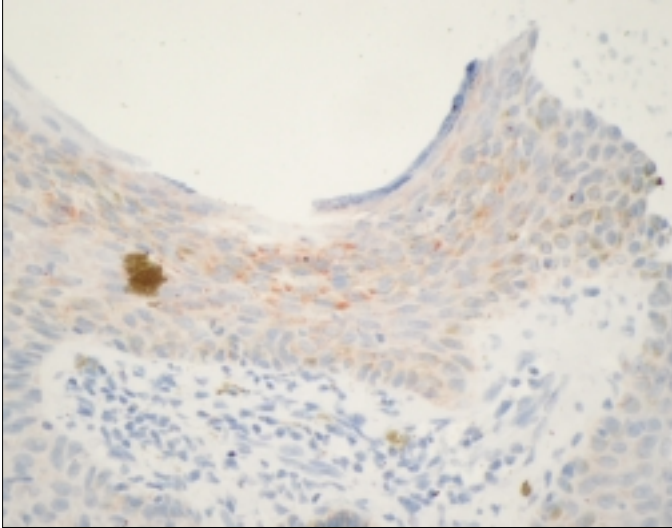
**Tablo 2.** Proliferasyon belirleyicilerinin hastalıklara göre boyanma şiddetleri

	Ki-67				p21				bcl-2			
	Yok (n)	Hafif (n)	Orta (n)	Şiddetli (n)	Yok (n)	Hafif (n)	Orta (n)	Şiddetli (n)	Yok (n)	Hafif (n)	Orta (n)	Şiddetli (n)
SK	3 %25	4 %33.3	5 %41.7	0	6 %50	0	5 %41.7	1 %8.3	3 %25.0	0	0	9 %75.0
KA	8 %80	2 %20	0	0	4 %40	6 %60	0	0	5 %50	0	4 %40	1 %10
BHK	10 %45.5	6 %27.3	2 %9.1	4 %18.2	20 %90.9	1 %4.5	1 %4.5	0	12 %54.5	0	2 %9.1	8 %36.4
AK	2 %25	6 %75	0	0	2 %25	0	6 %75	0	4 %50	2 %25	2 %25	0
SHK	2 %20	6 %60	2 %20	0	4 %40	0	6 %60	0	2 %20	0	4 %40	4 %40
Toplam	25 %40.3	24 %38.7	9 %14.5	4 %6.5	36 %58.1	7 %11.3	18 %29.0	1 %1.6	26 %41.9	2 %3.2	12 %19.4	22 %35.5

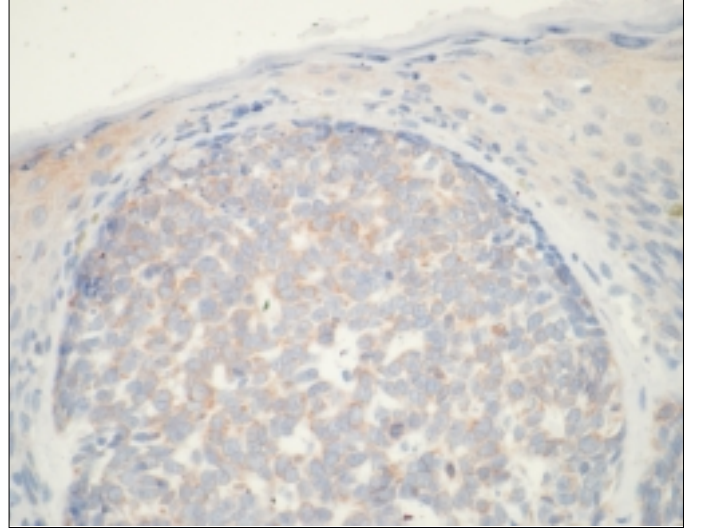
Çalışmamızda iki BHK dokusunda saptanan HPV DNA'sı, tip 16 olarak tespit edildi. Mukozal tip olan HPV 16 melanom dışı deri kanserlerinde de saptanabilmektedir. Derinin yüksek riskli genital HPV tipleri ile persistan enfeksiyonunun, immünitesi sağlam populasyonda melanom dışı deri kanseri için bir risk faktörü olabileceği ileri sürülmektedir<sup>9</sup>.

bcl-2, normal erişkin insan epidermisinde keratinositlerin bazal tabakasında eksprese edilir. bcl-2'nin BHK'da aşırı ekspresyonu, bazal ve/veya totipotent kök hücre keratinositlerinden köken alması nedeni ile olabilir<sup>2</sup>. Proto-onkojen olan bcl-2, apoptotik hücre ölümünü inhibe ederek hücre çoğalmasını düzenler<sup>14</sup>. Çalışmamızda, SK dokularının %75'inde bcl-2'nin pozitif olduğunu ve pozitifliğin daha çok bazal ve suprabazal tabakada olduğunu saptadık. Ko ve arkadaşları ile Hussein ve arkadaşları SK'da bcl-2'yi pozitif tespit ederlerken, Nakagawa ve arkadaşları ise nadiren eksprese edildiğini saptamışlardır<sup>15-17</sup>. Çalışmamızda, KA dokularının

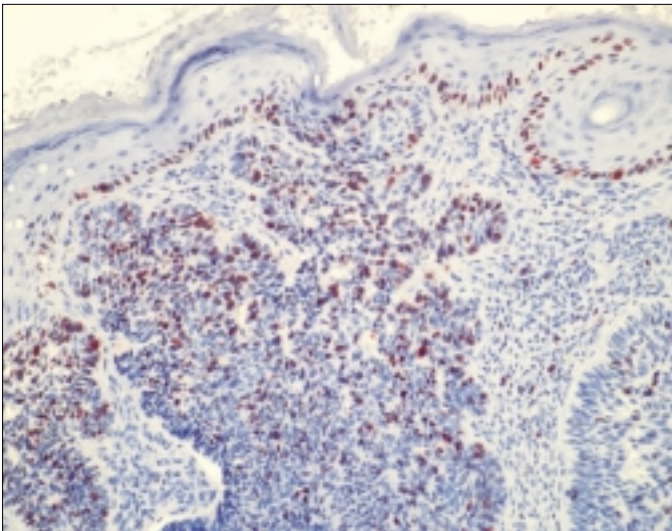
nın yarısında boyanma saptarken, Lu ve arkadaşları bcl-2'yi negatif olarak tespit etmişlerdir<sup>1</sup>. AK'da bcl-2 pozitifliğinin yüzdesi hakkında genel bir görüş birliği yoktur. Çalışmamızda AK olgularının yarısında boyanma saptadık. Stanimorovic ve arkadaşları, AK dokularında bcl-2'yi pozitif olarak saptarken, Alan ve arkadaşları negatif bulmuşlardır<sup>18,14</sup>. Çalışmamızda, SHK dokularının %80'i boyanma gösterdi. Boyananlar orta ve kötü diferensiye olanlardı. Bu sonuçlar, Coşkun ve arkadaşlarının sonuçları ile uyumluydu<sup>19</sup>. Nakagawa ve arkadaşları, pozitifliğin lezyon içeren bölgelerde sınırlı olduğunu bildirmiştir<sup>17</sup>. Ancak yapılan diğer çalışmalarda SHK'da bcl-2 pozitifliği saptanmamıştır<sup>2,20,21</sup>. BHK'da İlter ve arkadaşları ile Tucci ve arkadaşları bcl-2'yi kuvvetli pozitif olarak saptarlarken, Coşkun ve arkadaşları BHK'lı olguların yarısında orta-şiddetli düzeyde bcl-2 pozitifliği tespit etmişlerdir<sup>19-21</sup>. Çalışmamızda da benzer olarak BHK dokularının yaklaşık yarısı pozitif ve tam kat olarak boyandı.



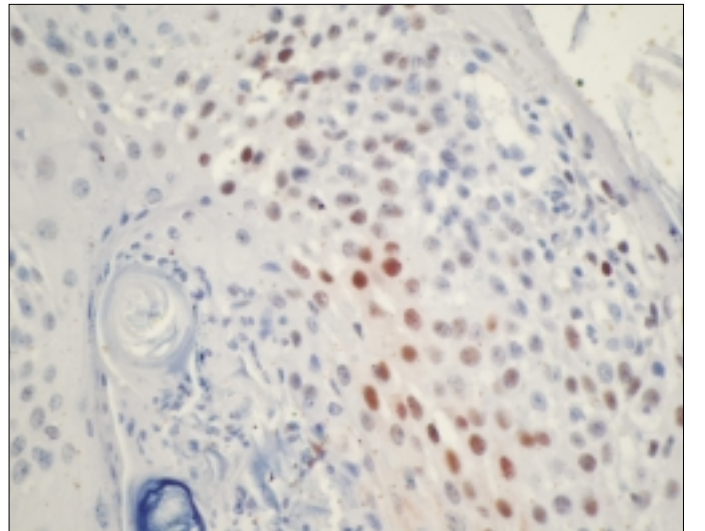
Resim 1. Seboreik keratoz olgusunda epidermiste sitoplazmik bcl-2 immünekspresyonu (bcl-2 X400)



Resim 3. Bazal hücreli karsinomda sitoplazmada bcl-2 immünekspresyonu (bcl-2 X 400)



Resim 2. Bazal hücreli karsinomda tümör adalarında ve epidermin bazalinde nükleer Ki67 pozitifliği (Ki67 X200)



Resim 4. Skuamöz hücreli karsinomda epidermal hücrelerde p21'in nükleer pozitifliği (P21 X 400)

p21 proteini, siklin-bağımlı protein kinaz komplekslerini inhibe ederek DNA replikasyonunun başlamasını engeller ve böylece hücre döngüsünün kontrolünü etkiler<sup>1,211</sup>. Çalışmamızda, SK ve KA dokularının yarısında p21 pozitifliği saptandı. Orta-şiddetli derecede ve daha çok bazal tabakada immünopozitiflik tespit edildi. Yapılan bir çalışmada SK ve KA'da bazal ve suprabazal tabakada p21 pozitifliği tespit edilirken, bir diğer çalışmada SK'da eksprese edilmediği gösterilmiştir<sup>22,23</sup>. AK dokularımızın bazal ve suprabazal tabakalarında p21 pozitifliği saptadık. Lu ve arkadaşları AK dokularının %25'inde orta-şiddetli derecede pozitiflik tespit ederken, Tucci ve arkadaşları zayıf pozitif olarak saptamıştır<sup>1,21</sup>. Bir diğer çalışmada p21 pozitifliğinin daha çok üst spinöz tabakada olduğu bildirilmiştir<sup>22</sup>. SHK'da p21'in zayıf-orta derecede pozitiflik gösterdiği saptanmıştır<sup>1,2,21</sup>. Tucci ve arkadaşları, çalışmamızda olduğu gibi SHK'da p21'in daha çok bazal ve suprabazal tabakada eksprese edildiğini göstermişlerdir<sup>21</sup>. p21 proteinin SHK'da artışının, skuamöz hücre karsinogenezinde erken bir olay olduğu ileri sürülmüştür. Ayrıca Lu ve arkadaşları çalışmalarında prekanseröz lezyonlarda da p21 proteinini saptamışlardır<sup>1</sup>. Çalışmamızda prealın lezyonlarda p21 ekspresyonu, malin lezyonlara göre anlamlı oranda yüksek olarak saptandı. Bu sonuç, prealın lezyonların çoğalmasında belirgin oranda artış olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda BHK'da nadiren pozitiflik saptadık ve elde ettiğimiz sonuç, yapılan diğer çalışmaların sonucu ile uyumluydu<sup>22,23</sup>.

Ki-67 immünoaktivitesi, hücre çoğalması ile ilişkilidir<sup>1</sup>. Çalışmamızda, KA dokularının %20'sinde pozitiflik saptadık. Yapılan çalışmalarda %83'e varan oranlarda Ki-67 pozitifliği saptanmış ve pozitifliğin daha çok bazal tabakada gözlemlendiği bildirilmiştir<sup>1,2</sup>. Lu ve arkadaşları AK'da orta-şiddetli derecede tüm epidermiste Ki-67 pozitifliği saptamışlardır<sup>1</sup>. Çalışmamız bu sonuçlar ile uyumluydu. SHK'da ise farklı sonuçlar elde edilmiştir: Lu ve arkadaşları, Mansoor ve arkadaşları, Tucci ve arkadaşları pozitif olarak saptarlarken, Wrone-Smith ve arkadaşları ile İlter ve arkadaşları negatif olarak bildirmişlerdir<sup>1,2,20,21,24</sup>. Çalışmamızda, dokuların %80'inde pozitiflik saptandı. Coşkun ve arkadaşları SHK dokularında değişik oranlarda Ki-67 pozitifliği tespit etmişlerdir<sup>19</sup>. AK ve SHK'da Ki-67'nin yüksek seviyede olması, bu lezyonların patogenezinde proliferatif aktivitenin olması ile açıklanabilir<sup>21</sup>. Çalışmamızda, BHK dokularının yaklaşık yarısında immünopozitiflik saptadık. Chang ve arkadaşları da benzer olarak BHK'da Ki-67 pozitifliği saptamışlardır<sup>25</sup>. Coşkun ve arkadaşları BHK'lı 20 dokunun ikisinde Ki-67 pozitifliği tespit etmişlerdir<sup>19</sup>.

Sonuçlarımız, deri karsinogenezinde HPV'nin doğrudan etkisi olmadığını göstermektedir. Ayrıca yapılan çalışmalarda HPV'nin sıklığı konusunda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bu durum irksal ve coğrafik konum gibi çeşitli etkenlere bağlı olabilir.

Proliferasyon belirleyicileri arasında daha önce benzer konuda yapılmış olan yurtiçi ve yurtdışı çalışmalar arasında farklı sonuçlar alındığı görüldü. Bizim bulgularımız da bazı yazarların sonuçları ile uyumlu olmakla birlikte, proliferasyon belirleyicilerinin prognostik değer, malinite ya da prealın lez-

yonların göstergesi olarak çok fazla güvenilir olmadığı sonucuna vardık. Bu da, proliferasyon belirleyicilerinin standart hematoksilen-eozin ile birlikte değerlendirildiğinde anlamlı olduğunu göstermektedir. Bu konuda "survey" takibinin yapıldığı prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

## Kaynaklar

1. Lu S, Tiekso J, Hietanen S, Syrjanen K, Havu VK, Syrjanen S: Expression of cell-cycle proteins p53, p21 (WAF-1), PCNA and Ki-67 in benign, premalignant and malignant skin lesions with implicated HPV involvement. *Acta Derm Venereol* 1999;79:268-73.
2. Wrone-Smith T, Bergstrom J, Quevedo ME, Reddy V, Gutierrez-Steil C, Nikoloff BJ: Differential expression of cell survival and cell cycle regulatory proteins in cutaneous squamoproliferative lesions. *J Dermatol Sci* 1999;19:53-67.
3. Murphy M, Mabruk MJEMF, Lenane P, Liew A, McCann P, Buckley A, Flatharta CO, Hevey D, Bilet P, Robertson W, Javed S, Leader M, Kay E, Murphy GM: Comparison of the expression of p53, p21, Bax and the induction of apoptosis between patients with basal cell carcinoma and normal controls in response to ultraviolet irradiation. *J Clin Pathol* 2002;55:829-33.
4. Berhane T, Halliday GM, Cooke B, Barnestson RSC: Inflammation is associated with progression of actinic keratoses to squamous cell carcinomas in humans. *Br J Dermatol* 2002;146:810-5.
5. Harwood CA, Suretheran T, Sasieni P, Proby CM, Bordea C, Leigh IM, Wojnarowska F, Breuer J, McGregor JM: Increased risk of skin cancer associated with the presence of epidermodysplasia verruciformis human papillomavirus types in normal skin. *Br J Dermatol* 2004;150:949-57.
6. Termorshuizen F, Feltkamp MCW, Struijk L, Gruijl FR, Bavinck JNB, Loveren H: Sunlight exposure and (sero)prevalence of epidermodysplasia verruciformis-associated human papillomavirus. *J Invest Dermatol* 2004;122:1456-62.
7. De Villiers EM: Taxonomic classification of papillomaviruses. *Papillomavirus Report* 2001;12:57-63.
8. Forslund O, Reid C, Higgins G: A broad spectrum of human papillomavirus types is present in the skin of Australian patients with non-melanoma skin cancers and solar keratosis. *Br J Dermatol* 2003;149:64-73.
9. Iftner A, Klug SJ, Garbe C, Blum A, Stancu A, Wilczynski SP, Iftner T: The prevalence of human papillomavirus genotypes in non-melanoma skin cancers of nonimmunosuppressed individuals identifies high-risk genital types as possible risk factors. *Cancer Res* 2003;63:7515-9.
10. Meyer T, Arndt R, Christophers E, Nindi I, Stockfleth E: Importance of human papillomaviruses for the development of skin cancer. *Cancer Detect Prev* 2001;25:533-47.
11. Li Y-H, Chen G, Dong X-P, Chen H-D: Detection of epidermodysplasia verruciformis-associated human papillomavirus DNA in nongenital seborrheic keratosis. *Br J Dermatol* 2004;151:1060-5.
12. Tieben LM, Berkhout RJ, Smiths HL, Bouwes BJN, Vermeer BJ, Bruijn JA, Van der Woude FJ, Ter SJ: Detection of epidermodysplasia verruciformis-like human papillomavirus types in malignant and premalignant skin lesions of renal transplant recipients. *Br J Dermatol* 1994;131:226-30.
13. Kawashima M, Favre M, Obalek S, Jablonska S, Orth G: Premalignant lesions and cancers of the skin in the general population: evaluation the role of human papillomaviruses. *J Invest Dermatol* 1990;95:537-42.
14. Mills A: Solar keratosis can be distinguished from superficial basal cell carcinoma by expression of bcl-2. *Am J Dermatopathol* 1997;19:443-5.
15. Ko CJ, Shintaku P, Binder SW: Comparison of benign keratoses using p53, bcl-1, and bcl-2. *J Cutan Pathol* 2005;32:356-9.

16. Hussein MR, Al-Badaiwy ZH, Guirguis MN: Analysis of p53 and bcl-2 protein expression in the nontumorigenic, pretumorigenic, and tumorigenic keratinocytic hyperproliferative lesions. *J Cutan Pathol* 2004;31:643-51.
17. Nakagawa K, Yamamura K, Maeda S, Ichihashi M: bcl-2 expression in epidermal keratinocytic diseases. *Cancer* 1994;15:1720-4.
18. Stanimirovic A, Cupic H, Bosnjak B, Kruslin B, Belicza M: Expression of p53, bcl-2 and growth hormone receptor in actinic keratosis, hypertrophic type. *Arch Dermatol Res* 2003;295:102-8.
19. Coşkun BK, Çobanoğlu B: Bazal hücreli karsinoma ile skuamöz hücreli karsinomanın histokimyasal özelliklerinin Bax, Bcl-2 ve Ki-67 ile belirlenmesi. *TÜRKDERM* 2005;39:185-8.
20. İltner N, Poyraz A, Dursun A, Akyol G, Gürer MA: Melanom dışı deri kanserlerinde bcl-2 ve p53 protein ekspresyonu. *T Klin Dermatoloji* 2001;11:191-4.
21. Tucci MG, Offidani A, Lucarini G, Simonelli L, Amati S, Celini A, Biagini G, Ricotti G: Advances in the understanding of malignant transformation of keratinocytes: an immunohistochemical study. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 1998;10:118-24.
22. Ahmed NU, Ueda M, Ichihashi M: p21WAF1/CIP1 expression in non-melanoma skin tumors. *J Cutan Pathol* 1997;24:223-7.
23. Tanikawa E, Mari O, Hachisuka H, Sasai Y: Expression of ras proto-oncogene related protein p21 in normal human skin and cutaneous tumours. *Acta Histochem* 1992;93:282-9.
24. Mansoor A, McKee PH, Simpson JA, McGuine B, Hobbs C: Prognostic significance of Ki-67 and p53 immunoreactivity in cutaneous squamous cell carcinomas. *Am J Dermatopathol* 1996;18:351-7.
25. Chang CH, Tsai RK, Chen GS, Yu HS, Chai CY: Expression of bcl-2, p53 and Ki-67 in arsenical skin cancers. *J Cutan Pathol* 1998;25:457-62.