

# Keratinöz deri tümörlerinde proliferere olan hücre nükleus antijeni (PCNA)

Nezahat YILDIRIM

Elazığ Devlet Hastanesi, Patoloji Bölümü, ELAZIĞ

## ÖZET

Proliferasyon belirleyicilerin büyük çoğunluğunda taze dokuya ihtiyaç vardır. Bu nedenle retrospektif çalışma mümkün olamamaktadır. Prolifere olan hücre nükleus antijeni (PCNA) ise parafin kesitlere kolayca uygulanabilmektedir. Bu çalışmada, keratinöz deri tümörlerinde PCNA'nın 19A<sub>2</sub> klonu immunohistokimyasal boya uygulanarak incelendi. Skuamöz hücreli karsinom (SHK)'da PCNA pozitifliği tüm keratinositlerin nüvelerinde görüldü. Verruca vulgaris'te de benzer PCNA görüntüsü izlendi. PCNA pozitifliğinin diğer keratinositik tümörlerle karşılaştırıldığında SHK ve VV 'te belirgin olarak arttığı gözlemlendi.

**Anahtar Kelimeler:** PCNA, keratinöz deri tümörleri.

## SUMMARY

**Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) expression in cutaneous keratinous neoplasms.**

Usually markers for proliferating cells need freshly frozen tissues for evaluation; therefore retrospective study is impossible. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) is applicable to formalin-fixed, paraffin embedded tissues. In this study, PCNA expression in cutaneous keratinous neoplasms were determined by immunohistochemical staining using the 19A<sub>2</sub> clone. Squamous cell carcinoma (SCC) a unique expression of PCNA, which frequently involved the nuclei of all keratinocytes within the lesion was found. PCNA expression in verruca vulgaris (VV) and found a pattern similar to that in SCC. SCC and VV showed significantly increased numbers of PCNA positive cells when compared with other keratinocytic neoplasms.

**Key Words:** PCNA, cutaneous keratinous neoplasms.

Malign neoplazmalarda proliferasyon daha hızlıdır. Tümör hücrelerinde proliferasyon ve proliferasyon indeksini belirleyen bazı belirleyiciler kullanılmaktadır (1). Mitoz sayımı(2), timidin işaretleme, bromodeoksiüridin işaretleme, S-faz fraksiyonunun flow-sitometrik analizi(3), argirofilik nükleoler organizatör bölgeler(4) ve Ki-67(5), P<sub>105</sub>, P<sub>147</sub>, PCNA(6,7) gibi assosiyasyon proteinlerinin proliferasyonunun immunohistokimyasal olarak gösterilmesi de bu belirleyicilerdendir. Ancak bu yöntemlerin çoğu frozen kesitlere uygulanabildiğinden retrospektif çalışmalar mümkün olamamaktadır.

PCNA molekül ağırlığı 36 kilodalton olan nonhiston bir nükleer proteindir. İlk olarak 1978 yılında sistemik lupus eritematozus (SLE) 'lu bir hastanın serumundan otoantikor kullanılarak bulunmuştur. Siklin olarak bilinen PCNA, proliferere olan hücrelerde hücre siklusunun özellikle S fazında nüvede bulunan ve immunohistokimyasal yöntemlerle gösterilebilen bir proliferasyon belirleyicisidir. Antijen proliferere olan hücrelerde mevcut olup, istirahat hücrelerinde yoktur(6). Hücre siklusu sırasında PCNA düzeylerinde

değişkenlik görülmektedir. G1 fazının sonunda DNA sentezinden hemen önce giderek artan miktarlarda hücrelerde belirlemekte, S fazı sırasında özellikle yükselmekte ve G2 fazının başında kaybolmaktadır(8,9). Bu çalışmanın amacı, bir grup deri tümörlerinde PCNA pozitifliğinin incelenmesidir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na gelen cilt materyalleri değerlendirmeye alındı. Olgular normal epidermis (NE), seboreik keratoz (SK), bazal hücreli karsinom (BHK), verruca vulgaris (VV) ve skuamöz hücreli karsinom (SHK) olmak üzere herbirinden 10 (toplam 50) olgu çalışmaya alındı.

PCNA ekspresyonunu göstermek için %10'luk formalinle tespitli parafin bloklardan elde edilen kesitler, jelatinle kaplanmış lam üzerine alındı. Alkol ve ksilolden geçirildikten sonra streptavidin biotin yöntemi ile boyandı.

Tüm inkübasyonlar oda ısısında, nemli ve kapalı bir ortamda gerçekleştirildi. Yıkamalarda fosfatlı tampon solüsyonu (PBS) kullanıldı. Negatif kontrol için

Haberleşme Adresi: Dr. Nezahat YILDIRIM, Elazığ Devlet Hastanesi ELAZIĞ

Geliş Tarihi : 25.11.2002

Yayına Kabul Tarihi : 03.04.2003

mouse immunoglobulin, pozitif kontrol olarak tonsil dokusu kullanıldı. Daha sonra tüm kesitler mikrodalga ortamında tutuldu. Gücü 980 W olan mikrodalga fırın kullanıldı. 150 ml 'lik beher içine sitrat tampon solüsyonu konularak preparatlar yerleştirildi. Bu beher içinde buz ile soğutulmuş su bulunan 600 ml'lik ikinci bir beher içine konuldu. Işınlama %100 güç kullanılarak bir dakika süreyle altı defa uygulandı.

Oda ısısında primer antikor solüsyonu dokuların üzerini örtecek şekilde damlatıldı ve 90 dakika inkübe edildi. Daha sonra sırasıyla link ile 20 dakika, label ile 20 dakika, kromojen-substrat solüsyonu ile 30 dakika inkübe edildi. Daha sonra mayer hematoksilin ile zıt boyama yapıldı ve gliserin jel ile kapatıldı.

PCNA pozitif hücrelerin değerlendirilmesinde, epidermin tüm katlarındaki granüler yada diffüz tüm nükleer boyanmalar boyanma şiddetindeki farklılıklara bakılmaksızın pozitif kabul edildi.

#### BULGULAR

NE, SK, BHK, VV ve SHK olmak üzere herbirinden 10 (toplam 50) olgu incelendi.

NE'te pozitif immün boyanmanın bazal ve suprabazal tabaka hücre nüvelerinde olduğu, ancak boyanma pozitiflik oranının zayıf olduğu görüldü. Orta ve yüzeysel tabakada ise pozitifliğe rastlanmadı.

SK'da PCNA pozitifliğinin düşük olduğu ve akan-  
tolitik epidermal kitlenin alt tabakasında olduğu belir-  
lendi.

BHK 'da pozitif nükleer boyamanın arttığı gözlen-  
di. Boyanmanın tümör agregatlarının bazal hücrelerinde sınırlı ve fokal olduğu belirlendi (Şekil 1).

VV 'te SHK 'a benzer boyanma görülmesine karşın pozitiflik oranının SHK 'dan daha az yoğunluk-  
ta ve epidermin bütün tabakalarında olduğu görüldü (Şekil 2).

SHK 'da üst epidermal tabaka keratinositlerinin nüvelerinde oldukça yoğun pozitif boyanma olduğu gözlemlendi. Ayrıca tüm epidermal tabaka, tümör yuvaları ve kordlarda boyanma izlendi (Şekil 3).

Çalışmamızda, Keratinöz deri tümörlerinde PCNA pozitifliğinin yeri ve tümör cinsine göre dağılımı tablo 1 'de özet halinde sunulmuştur.

#### TARTIŞMA

Neoplazmalarda proliferatif aktiviteye önceleri genel-  
likle mitotik figür veya timidin işaretleme yöntemi ile bakılırken, son yıllarda bromodeoksiüridin işaretleme yöntemi, Ki-67 ve DNA polimeraz alfa belirleyicileri kullanılmaktadır(1).

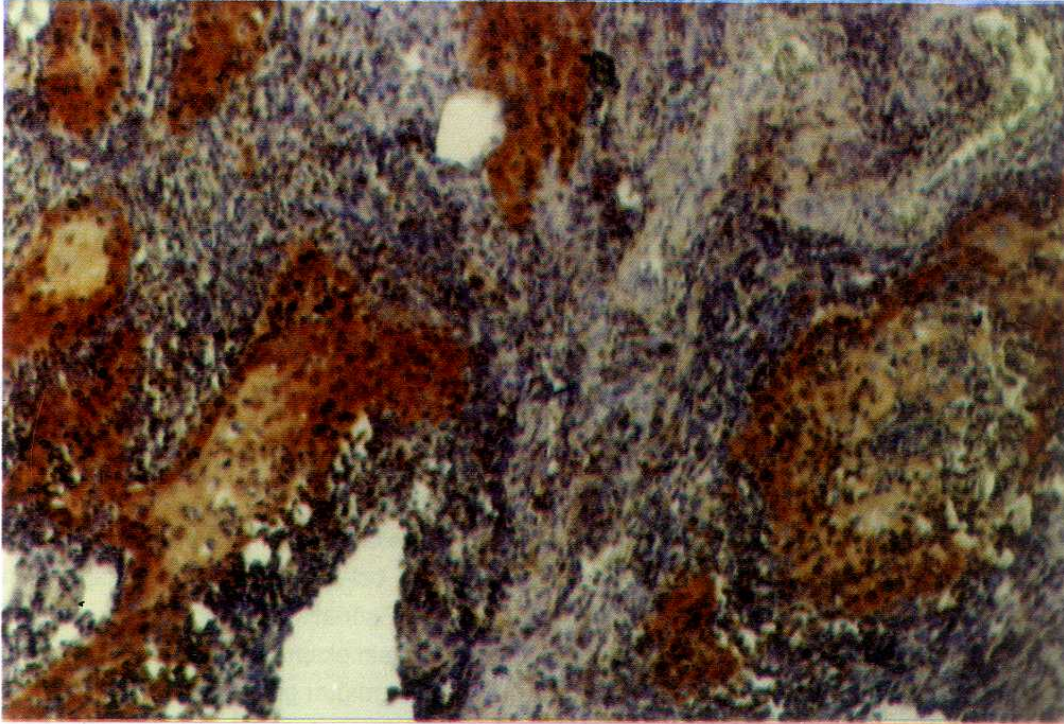
Penneys ve ark. (10) SK 'da PCNA pozitif kerati-  
nositlerin nadiren mevcut olduğu, aktinik keratoz ve keratoakantomda ise bazal hücre tabakasında yoğunlaşma olduğunu gözlemişlerdir. BHK 'da nükleer boyanmanın fokal ve tümör agregatlarının bazal tabakası ile sınırlı olduğu; SHK insitu'da yoğun PCNA pozitifliğinin daima üst epidermal tabakadaki keratinosit nüvelerinde olduğu ; VV 'te SHK insitu'dan daha



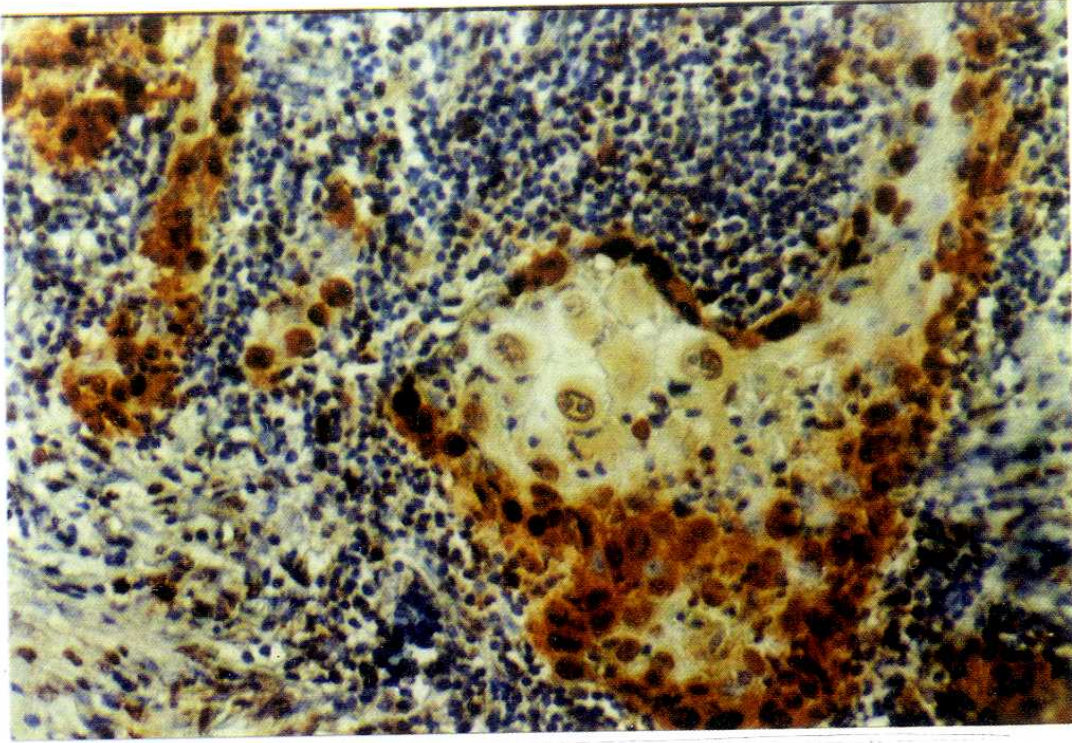
Şekil 1. Bazal hücreli karsinom'un x100 büyütmedeki PCNA görüntüsü (Tümör yuvalarının periferindeki palizad tabakada pozitif immün boyanma görülmektedir.)



**Şekil 2.** Verruca vulgaris'in x200 büyütmedeki PCNA görüntüsü (Tüm epidermal tabaka keratinositlerinde immun boyanma izlenmektedir.)



**Şekil 3a.** Skuamöz hücreli karsinom'un PCNA görüntüsü (Tüm epidermal tabaka ve tümör yuvalarında verruca vulgaris'ten daha yoğun immun boyanma vardır). x200 büyütme görüntü



**Şekil 3b.** Skuamöz hücreli karsinom'un PCNA görüntüsü (Tüm epidermal tabaka ve tümör yuvalarında verruca vulgaris'ten daha yoğun immun boyanma vardır). x400 büyütmedeki görüntü.

**Tablo 1.** Keratinöz deri tümörlerinde PCNA pozitifliğinin yeri ve tümör cinsine göre

	Boyanma Yeri	PCNA Pozitiflik Oranı
NE	Bazal ve suprabazal tabaka	+
	Orta ve yüzeysel tabaka	-
SK	Akantolitik epidermal kitlenin alt tabakasında	+
BHK	Tümör agregatlarının bazal hücrelerinde sınırlı ve fokal boyanma	+
VV	Epidermin tüm tabakalarında	++
SHK	Tüm epidermal tabaka, tümör yuvaları ve kordlarda dağılımı	+++

NE: Normal epidermis, SK: Seboreik keratoz, BHK: Bazal hücreli karsinom, VV: Verruca vulgaris, SHK: Skuamöz hücreli karsinom, PCNA: Prolifere olan nükleus antijeni.

az yoğunlukta boyanma ve en güçlü boyanmanın epidermin üst tabakasında mevcut olduğunu saptamışlardır. Yine aynı araştırmacılar SHK 'da tümör kitlesinde PCNA pozitif nüveli hücre sayısının arttığını belirtmişlerdir.

Phillips ve ark. (11) ile Özkal Üstün ve ark. (12) keratoakantom ve SHK 'da PCNA dağılımını incelemişler. Keratoakantomda PCNA pozitif hücrelerin skuamöz yuvaların periferinde toplandığını, SHK 'da ise PCNA pozitif hücrelerin diffüz bir dağılım gösterdiğini bildirmişlerdir.

Saida ve ark. (13) 'nın çalışmalarında, keratinositik neoplazmlarla karşılaştırıldığında SHK ve bowen hastalığında PCNA pozitif hücre sayısının önemli derecede arttığını göstermişlerdir.

Baum ve ark. (14) bowen hastalığı ve bu hastalık çevresinde gelişmiş bowen karsinomunda PCNA ve Ki-67 dağılımını incelemişler. Bowen hastalığından bowen karsinomu 'na doğru hem PCNA, hem de Ki-67 de boyanma indeksinde artış olduğunu izlemişlerdir.

Başkan ve ark. (15) psöriasis lezyonlarında Ki-67, PCNA, bcl-2 ve P53 protein ekspresyonlarını incelemişler. Psöriatik keratinositlerde artmış PCNA ve Ki-67 protein ekspresyonlarının hücre çoğalma kinetiğini hızlandığını göstermişlerdir.

Bizim çalışmamızda SK 'da bazal tabakada seyrek pozitif boyanma, BHK 'da tümör agregatlarının çevresindeki palizad tabakada SK 'dan daha yoğun pozitif boyanma izlenirken, VV 'te bazal hücreli karsi-

nomdan daha az yoğun olmakla birlikte tüm epidermal tabakada nükleer boyanmalar dikkat çekmiştir. SHK 'da ise nükleer boyanmaların tüm epidermal tabaka ile birlikte tümöral adacık ve kordlarda da yoğun pozitiflik gösterdiği izlenmiştir.

## KAYNAKLAR

1. Quinn LM, Wright NA. The clinical assesment of proliferation and growth in human tumors: evaluation of methods and applications as prognostic variables. J Pathol 1990;160:93
2. Ellis PSJ, Whitehead R. Mitosis counting-anced for reappraisal. Hum pathol 1981;12:3
3. Dressler LG, Bartow SA. DNA flow cytometry in solid tumors practical aspects and clinical applications. Semin Diagn Pathol 1989;6:55
4. Therere D, Pession A, Derenzini M. The silver-stained proteins of interphasic nucleolar organizer regions as a parameter of cell duplication rate. Exp Cell Res 1989;184:131
5. Brown DC, Gatter KC. Monoclonal antibody Ki-67: Its use in histopathology. Histopathology 1990;17:489
6. Miyachi K, Fritzler MJ, Tan EM. Autoantibody to a nuclear antigen in proliferating cells. J Immunol 1978;121:2228
7. Bravo R, Celis JE. A search for differantial polypeptide synthesis throughout the cell cycle of He La cells. J Cell Biol 1980; 84:795
8. Celis JE, Celis A. Cell cycle dependent variations in the distribution of the nuclear protein cyclin / proliferating cell nuclear antigen in cultured cells: Subdivision of the S-phase. Proc Natl Acad Scr USA 1985;82:33262-6
9. Morris GF, Mathews MB. Regulation of proliferating cell nuclear antigen during the cell cycle. J Biol Chem 1989;264:13856-64
10. Penneys NS, Bogaert M, Serfling U, Sisto M. PCNA expression in cutaneous keratinous neoplasms and verruca vulgaris. Am J Pathol 1992;141:139-142
11. Phillips P, Helm KF. Proliferating cell nuclear antigen distribution in keratoacanthoma and squamous cell carcinoma. J Cutan Pathol 1993;20:424-428
12. Özkal Üstün M, Gülkesen KH, Peker S, Alpsoy E, Karpuzoğlu G. Keratoakantom ve iyi derecede diferansiye yassı epitel hücreli karsinom ayırıcı tanısında Proliferating cell nuclear antigen boyanma paterni ve proliferasyon indeksi. Turkish Journal of Dermatopathology 1997;6.
13. Saida T, Dohi S, Sadaki M, Ikegawa S, Takasaki Y. Distribution patterns and frequency of proliferating cells in cutaneous keratinocytic neoplasms. J Am Acad Dermatol 1992; 26:744-748
14. Baum HP, Meurer I, Unterregger G. Expression of proliferation associated proteins (proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 antigen) in Bowen's disease. Br J Dermatol 1994;131:231-236
15. Başkan E, Tunalı Ş, Filiz G, Aydoğan K, Sarıcaoğlu H. Psöriasis lezyonlarında Ki-67, PCNA, bcl-2 ve P53 protein ekspresyonlarının immunohistokimyasal yöntemle değerlendirilmesi. Türkiye klinikleri Dermatoloji 2001;11:68-72.