

**T.C.  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**MELANOM DIŞI DERİ KANSERLERİNDE DÜZENLEYİCİ  
T LENFOSİTLERİN ROLÜNÜN İMMÜNHİSTOKİMYASAL  
METODLARLA İNCELENMESİ**

**AYŞE İŞCAN ÖZDEMİR**

**UZMANLIK TEZİ**

**KIRIKKALE**

**2013**



**T.C.  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**MELANOM DIŞI DERİ KANSERLERİNDE DÜZENLEYİCİ  
T LENFOSİTLERİN ROLÜNÜN İMMÜNHİSTOKİMYASAL  
METODLARLA İNCELENMESİ**

**AYŞE İŞCAN ÖZDEMİR**

**UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŐMANI  
Yrd. Doç Dr. Özgür GÜNDÜZ**

**KIRIKKALE**

**2013**

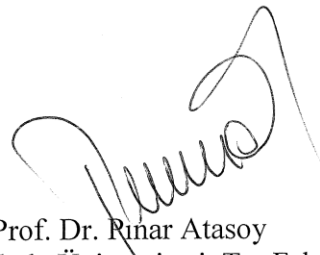
**KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

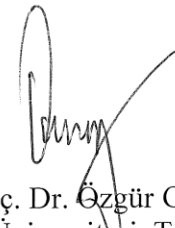
**DERİ VE ZÜHREVİ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı uzmanlık programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **UZMANLIK TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 26/12/2013

  
Prof. Dr. Mukadder Köçak  
Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi  
Deri ve Zührevi Hastalıkları AD  
Jüri Başkanı

  
Prof. Dr. Pınar Atasoy  
Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi  
Patoloji AD  
Üye

  
Yrd. Doç. Dr. Özgür Gündüz  
Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi  
Deri ve Zührevi Hastalıkları AD  
Üye

## TEŞEKKÜR

Danışmanlığımı üstlenerek tez çalışmam boyunca karşılaştığım zorlukları aşmamda daima yol gösterici olan, uzmanlık eğitimim süresince ilgi ve desteğini hiç eksik etmeyen, bilgi ve tecrübesi ile bana yeni ufuklar kazandıran sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Özgür Gündüz'e

Beni birçok konuda yüreklendiren, eşsiz bilgi ve tecrübesini uzmanlık eğitimim boyunca cömertçe benimle paylaşan, hedeflerimi büyüten, ömür boyu saygı, sevgi ve hürmetle anacağım Deri ve Zührevi Hastalıklar AD Başkanı sayın hocam Prof. Dr. Mukadder Koçak'a

Daima güler yüzü ve içtenliği ile hatırlayacağım, desteğini ve yardımlarını benden hiç esirgemeyen, her konuda daima yanımda olduğunu hissettiren, uzmanlık eğitimim boyunca bilgilerinden bolca istifade ettiğim sayın hocam Doç. Dr. Ayşe Anıl Karabulut'a

Uzmanlık eğitimim boyunca her anımı birlikte paylaştığım, desteklerini daima hissettiğim, bana ömür boyu sürecek dostluklarını kazandıran değerli arkadaşlarım Dr. Kıvılcım Çinkır Öz Saraç, Dr. Deniz Öztürk Kara, Dr. Esra Öcal, Dr. Neriman Şahiner ve Dr. Mehtap Kızdır'a, çalışma arkadaşım Dr. Cihan Dikiş'e

Hazırlanan kesitlerin boyanmasında değerli yardımlarını esirgemeyen Veterinerlik Fakültesi Öğretim Üyesi sayın Yrd. Doç. Dr. Hasan Tarık Atmaca'ya

Tez çalışmamdaki değerli katkılarından dolayı histopatolojik incelemeleri gerçekleştiren Patoloji AD Başkanı sayın hocam Prof. Dr. Pınar Atasoy'a

Verilerin istatistiksel analizlerini değerlendirmede desteklerini esirgemeyen Psikiyatri AD Başkanı sayın Doç. Dr. Orhan Murat Koçak'a

Hasta seçimi ve kesitlerin hazırlanmasında desteklerini esirgemeyen Patoloji AD asistan hekim ve teknisyen arkadaşlarıma

Varlıkları en büyük mutluluğum olan sevgili annem, babam ve ablam İlkur İşcan Kaya'ya, sönmeyen ışığı ile bana enerji veren kardeşim ve en yakın arkadaşım Betül İşcan'a

Özellikle de hiçbir zaman esirgemediği sevgi, ilgi ve desteği ile bu zor süreci tamamlamamda en büyük yardımcım olan hayat arkadaşım Ahmet Turan Özdemir'e ve varlığı ile ruhumu aydınlatan biricik oğlum Kaan Burak Özdemir'e teşekkür ederim.

Dr. Ayşe İşcan Özdemir

Aralık 2013

## ÖZET

**Özdemir A, Melanom dışı deri kanserlerinde düzenleyici T lenfositlerin rolünün immünohistokimyasal metodlarla incelenmesi, Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı, Kırıkkale, 2013.**

**Amaç:** Timus kaynaklı olan ya da periferik olarak indüklenen Forkhead box p3<sup>+</sup> (Foxp3<sup>+</sup>) düzenleyici T hücreleri (Treg) fonksiyonel olarak immünsüpresif etki yapan bir T lenfosit alt grubudur. Yapılmış çeşitli çalışmalarda Treg hücrelerinin kanser progresyonu ile yüksek derecede ilişkili olduğu bildirilmiştir. Dendritik hücreler (DH) kutanöz immün cevabı indükleyen antijen sunucu hücrelerdir. Bununla birlikte çalışmalarda dendritik hücrelerin Treg hücrelerini uyararak immünsüpresyona katkıda bulunduğu saptanmıştır. Çalışmamız premalign ve malign deri tümörlerinde Treg sıklığını ve dendritik hücre infiltrasyonunu değerlendirmek ve CD4<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> T hücrelerinin indükledikleri immünsüpresyon ile deri kanserlerinin patogenezi ve progresyonlarındaki muhtemel rollerini incelemeyi hedeflemektedir.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya lokal etik kurul onayı alındıktan sonra Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivlerinde bulunan 32 bazal hücreli karsinoma (BHK), 32 skuamöz hücreli karsinoma (SHK) ve 44 aktinik keratoz (AK) olgusuna ait parafin bloklardan hazırlanan kesitler dahil edildi. Tüm örnekler standart immünohistokimyasal yöntemle S100, ikili immünohistokimyasal yöntemle CD4 ve Foxp3 için boyanarak değerlendirildi.

**Bulgular:** Elde edilen veriler tek yönlü varyans analizi (Anova) yöntemi ile değerlendirildi. Buna göre dendritik hücre infiltrasyonu AK grubunda BHK ve SHK grubuna göre anlamlı derecede düşük olarak saptandı. Treg hücreleri ise SHK grubunda AK grubuna göre anlamlı derecede yüksek olarak belirlendi. Treg varlığı açısından BHK grubunda anlamlı farklılık izlenmedi.

**Tartışma:** Bu çalışma ile Treg hücrelerinin özellikle skuamöz tümörlerde tümör progresyonu ile ilişkili olduğu ve Treg hücre varlığının skuamöz tümörlerde prognozu kötü yönde etkilediği yönündeki çalışmaları destekleyen sonuçlar elde

edilmiştir. Aynı zamanda dendritik hücre infiltrasyonunun da tümör progresyonu ile ilişkisinin olduğu düşünülmektedir

**Anahtar Kelimeler:** Regulator T lenfositleri, CD4<sup>+</sup>, FoxP3, kutanöz dendritik hücreler, aktinik keratoz, skuamöz hücreli karsinom, bazal hücreli karsinom,



## SUMMARY

**Özdemir A, The Role of Regulatory T Lymphocytes in Non Melanoma Skin Cancer Detecting by Immunohistochemical Method, Kırıkkale University Faculty of Medicine, Department of Dermatology, Kırıkkale, 2013.**

**Aim:** Timus derived or peripherally induced Forkhead box P3<sup>+</sup> (Foxp3<sup>+</sup>) regulatory Tregs are a subgroup of T lymphocyte which have functionally immunosuppressive effects. Several previous studies suggested that Tregs are highly correlated with cancer progression. Dendritic cells (DC) are antigen presenting cells which induce cutaneous immune response. It is also found in some studies that DC can contribute to immunosuppression via inducing Tregs. The aim of our study is to evaluate the density of Tregs and DCs infiltration in premalignant and malignant skin tumors and the potential role of immunosuppression induced by CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Tregs in the pathogenesis and progression of skin tumors.

**Materials and Methods:** After the approval of the local ethic committee, skin tissue samples of 32 basal cell carcinoma (BCC), 32 squamous cell carcinoma (SCC) and 44 actinic keratosis (AK) were enrolled from the archives of Kırıkkale University Faculty of Medicine (KUTF). All samples were stained by standard immunohistochemical method with S100 and by double staining immunohistochemically with CD4 and Foxp3 before they were evaluated.

**Results:** Obtained data were evaluated by one-way analysis of variance (ANOVA) method. According to this, the prevalence of DC infiltration was significantly lower in AK groups than in BCC and SCC groups. Treg cells were significantly higher in SCC groups than in AK groups. No significant difference was observed in BCC groups for Treg cells.

**Conclusion:** Our study showed that Treg cells were especially associated with squamous tumor progression, and squamous tumors with increased Tregs affected the prognosis adversely. Our findings supported the results of previous studies and also suggested that DC infiltration may be associated with tumor progression.

**Key Words:** Regulatory T lymphocyte, CD4<sup>+</sup>, Foxp3, cutaneous dendritic cells, actinic keratosis, squamous cell carcinoma, basal cell carcinoma.

## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI .....	iii
ÖZET.....	vi
SUMMARY .....	viii
İÇİNDEKİLER .....	x
TABLolar .....	xiv
ŞEKİLLER.....	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	2
2.1. BAZAL HÜCRELİ KARSİNOM.....	3
2.1.1. Tanım ve Tarihçe .....	3
2.1.2. Epidemiyoloji.....	3
2.1.3. Etyoloji ve Risk Faktörleri .....	4
2.1.4. Patogenez .....	7
2.1.5. Klinik Bulgular .....	9
2.1.6. Tanı .....	10
2.1.7. Histopatoloji.....	10
2.1.8. Ayırıcı Tanı .....	12
2.1.9. Tedavi.....	12
2.1.10. Prognoz .....	15
2.2. SKUAMÖZ HÜCRELİ KARSİNOM .....	16
2.2.1. Tanım ve Tarihçe .....	16
2.2.2. Epidemiyoloji.....	16
2.2.3. Etyoloji ve Risk Faktörleri .....	16
2.2.4. Patogenez .....	22
2.2.5. Klinik Bulgular .....	24
2.2.6. Tanı .....	27
2.2.7. Histopatoloji.....	27
2.2.8. Evreleme ve Prognoz .....	29
2.2.9. Ayırıcı Tanı .....	30

2.2.10.	Tedavi.....	31
2.2.11.	Koruyucu Önlemler.....	32
2.2.12.	Nüks ve Metastaz .....	32
2.3.	AKTİNİK KERATOZ .....	33
2.3.1.	Giriş.....	33
2.3.2.	Epidemiyoloji.....	33
2.3.3.	Etyoloji ve Risk faktörleri.....	33
2.3.4.	Patogenez .....	35
2.3.5.	Klinik Bulgular .....	37
2.3.6.	Ayrırcı Tanı .....	38
2.3.7.	Histopatoloji.....	38
2.3.8.	Seyir ve prognoz .....	39
2.3.9.	Tedavi.....	40
2.3.10.	Korunma.....	41
2.4.	DÜZENLEYİCİ (REGÜLATUAR) T HÜCRELERİ (Treg HÜCRELERİ) VE DENDRİTİK HÜCRELER.....	42
3.	MATERYAL VE METOD .....	49
3.1.	ETİK KURUL VE PROJE DESTEK ONAYI BİLGİLERİ.....	49
3.2.	HASTA SEÇİMİ.....	49
3.3.	İMMÜNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEM.....	51
3.3.1.	S100 immunohistokimyasal boyama yöntemi .....	51
3.3.2.	FOXP3/CD4 ikili immunohistokimyasal boyama yöntemi .....	52
3.4.	İMMÜNOHİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME .....	53
3.5.	İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME .....	53
4.	BULGULAR.....	54
5.	TARTIŞMA .....	60
6.	KAYNAKLAR .....	66

## SİMGELER VE KISALTMALAR

AIDS	: Acquired İmmunodeficiency Syndrome
AK	: Aktinik Keratoz
AP	: Alkalen Fosfataz
BHK	: Bazal Hücreli Karsinom
CD	: Yüzey Farklılaşma Antijenleri
CEA	: Karsinoembriyonik Antijen
DH	: Dentritik Hücre
DLE	: Diskoid Lupus Eritematosus
EB	: Epidermolizis Bülloza
EMA	: Eitelyal Membran Antijen
EV	: Epidermodisplazi Verrusiformis
FDA	: Food and Drug Administration
FOXP3	: Forkhead box protein 3
HIV	: İnsan İmmünyetmezlik Virusü
HPV	: İnsan Papillomavirüs
HS-RDEB	: Hallopeau-Siemens tipi Resesif Distrofik Epidermolizis Bülloza
IR	: İyonize Radyasyon
KÜTF	: Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
LPS	: Lipopolisakkarit
MHC	: Major Histocompatibility Complex
MMC	: Mohs Mikrografik Cerrahisi
NTS	: Neonatal Timektomi Sonrası
PUVA	: Psöralen+UVA
RDEB	: Resesif Distrofik Epidermolizis Bülloza
SHH	: Sonic Hedgehog İleti Yolağı
SHK	: Skuamöz Hücreli Karsinom
SMO	: Smoothened Proteini
SPSS	: Statistical Packages for the Social Sciences
TBF- $\beta$	: Transforme Edici Büyüme Faktörü- $\beta$
TCR	: T Hücre Antijen Reseptörü

Tregs	: Düzenleyici T lenfositleri
p-Treg	: Periferel Olarak İndüklenen Treg Hücreler
t-Treg	: Timus Kaynaklı Treg Hücreler
UV	: Ultraviole
UVA	: Ultraviole A Radyasyonu
UVB	: Ultraviole B Radyasyonu
UVR	: Ultraviole Radyasyon
XP	: Xeroderma Pigmentozum

## TABLOLAR

Tablo 1.1: Coğrafi lokalizasyonlara göre yıllık BHK ve SHK insidansları (hasta/100000).....	2
Tablo 3.1. İmmünohistokimyasal boyamada kullanılan antikorlar.....	51
Tablo 4.1. Tümör gruplarına göre S100, CD4 ve Foxp3 eksprese eden hücre sayısı ortalamaları .....	56
Tablo 4.2. Tek yönlü varyans analizi (Anova) yöntemi ile AK, BHK ve SHK gruplarında epidermal ve dermal S100, Foxp3 ve CD4 boyamalarının istatistiksel olarak analizi .....	57
Tablo 4.3. Post-hoc Bonferroni testi sonuçları.....	59

## ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Deri Tipleri.....	5
Şekil 2.2. Normal deride UV etkisi ile AK ve invaziv karsinom gelişimi.....	35
Şekil 2.3. UV radyasyonun AK oluşturma mekanizması (88).....	36
Şekil 3.1. Olguların yaş gruplarına göre dağılımı .....	50
Şekil 3.2. Olguların cinsiyete göre dağılımı grafikleri.....	50
Şekil 4.1. İmmünohistokimyasal boyama örnekleri.....	54

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Melanom dışı deri kanserleri, insan kanserleri arasında en sık görülen kanser türüdür. Bozulmuş DNA onarım mekanizmaları ile kendini gösteren genetik faktörler, ultraviyole (UV) radyasyonu, insan papilloma virüsleri, iyonize radyasyon, iyatrojenik immünsüpresyon gibi birçok faktör etyolojide suçlanmıştır. Bu etyolojik faktörler arasında özellikle UV radyasyonun (UVR) oldukça önemli bir yeri vardır. UVR deri hücrelerinde DNA mutasyonlarını indüklemesinin yanı sıra koruyucu hücrel antitümoral immün cevabı da baskılayarak karsinogenezde rol oynamaktadır. Ayrıca yakın zamanda yapılan araştırmalarda Ultraviyole B radyasyonun (UVB), bir T lenfosit alt grubu olan düzenleyici T lenfositleri (Treg hücreler) indüklediği saptanmıştır.

Treg hücreler  $CD4^+$  T lenfositlerin %5-10'unu oluşturan bir alt grubudur. Treg hücreler bir tümör ya da otoimmün hastalıkta olduğu gibi kişinin kendi antijenlerine karşı hareket etmesini önleyen (self tolerans) immünsüpresif etkili T lenfositlerdir. Foxp3 proteini (Forkhead box protein 3) Treg hücreler için en güvenilir belirteçtir. Treg hücreler kanser progresyonu ile yüksek derecede ilişkili bulunmuştur. Treg hücrelerinin kanser hastalarında çok sayıda bulunması, bu hücrelerin ortadan kaldırılmasının anti-tümöral immün cevabın artırılmasına katkı sağlayabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte premalign ve malign deri kanserlerinde Treg hücre varlığını tanımlamaya yönelik çalışmalar az sayıda ve yetersizdir.

Dendritik hücreler (DH) kutanöz immün cevabı indükleyen antijen sunucu hücrelerdir. Ancak çeşitli çalışmalarda DH'lerin immünsüpresyonda da rollerinin olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, DH'ler periferdeki  $Foxp3^+CD25^+CD4^+$  Treg hücrelerinin regülasyonunda kritik rol oynayan hücrelerdir. DH'ler Treg hücrelerini uyarak bu hücrelerin oluşturduğu immünsüpresyona katkıda bulunmaktadır.

Bu çalışmada premalign (aktinik keratoz) ve malign (bazal hücreli kanser ve skuamöz hücreli kanser) deri lezyonlarında immünhistokimyasal yöntemle Treg hücre ve DH infiltrasyonunun varlığı araştırılmış, kanser progresyonunda bu hücrelerin rolünün aydınlatılmasına katkıda bulunmak hedeflenmiştir.



## 2. GENEL BİLGİLER

Melanom dışı deri kanserleri tüm dünyada en sık izlenen kanserlerdir (1). Deri kanserlerinin %77'si bazal hücreli karsinom (BHK), %20'si skuamöz hücreli karsinom (SHK), %3'ü melanom ve diğer nadir görülen deri kanserleridir. Amerika'da 2004 yılı verilerine göre 2 milyondan fazla melanom dışı deri kanseri tanısı almış olgu bulunduğu tahmin edilmektedir ve her 5 Amerikalıdan birinde deri kanseri gelişeceği varsayılmaktadır (2).

Melanom dışı deri kanserlerinin gerçek insidansı tam olarak bilinmemektedir. Açık ten renğine sahip bireylerde insidans yüz binde 230, koyu tenlilerde yüz binde 3.4 olarak belirlenmiştir (2). İnsidans yaşla birlikte artış göstermektedir.

**Tablo 1.1:** Coğrafi lokalizasyonlara göre yıllık BHK ve SHK insidansları (hasta/100000) (2).

Coğrafi bölge	BHK (Erkek/Kadın)	SHK (Erkek/Kadın)
Finlandiya	49/45	9/5
İsviçre	52/38	16/8
Hollanda	53/38	.../...
Birleşik Krallık	112/54	32/6
New Hampshire	159/87	32/8
Rochester, Minesota	175/124	63/23
Hawaii	576/298	153/92
Güney Arizona	935/497	270/112
Avustralya	2074/1579	1035/472

## 2.1. BAZAL HÜCRELİ KARSİNOM

### 2.1.1. Tanım ve Tarihçe

Bazal hücreli karsinom (BHK), epidermisin non keratinize bazal hücrelerinden veya kıl folikülünün dış kök kılıfından herhangi bir öncül lezyon olmaksızın geliştiği düşünülen, yavaş büyüyen, tedavi edilmediğinde lokal invazyon ve doku hasarı oluşturan, nadiren metastaz yapan malign kutanöz neoplazidir (3).

Morfolojik olarak tümör kıl folikül yapılarına benzemektedir. Çoğu araştırmacı tümör orijinin, kıl folikülünün dış kök kılıfını içeren epidermis pluripotent tabakaları ya da embriyodaki folikülo-sebaseöz-apokrin germ hücrelerinin analogu olan germinatif hücreler olduğunu düşünmüşlerdir (4). Bu yüzden BHK foliküler germinatif hücrelerin malign tümörü olarak tanımlanabilir.

İlk olarak 1824 yılında Jacob tarafından tanımlanmıştır. 1850 yılında Lebert uzun süredir tedavi edilmeyen BHK'yı tanımlamak için 'rodent ülseri' terimini ilk kez kullanmıştır (5). Birkaç yıl sonra Sir Jonathan Hutchinson birçok farklı klinik ve histolojik formları olan bir tümör olarak tanımladığı 42 olguluk BHK serisi yayınlamıştır. Krompecker 1903 yılında ilk kez BHK'nın epidermisin bazal tabakasındaki hücrelerden kaynaklandığını öne sürmüştür (2, 5).

Tümör sıklıkla kronik olarak güneşe maruz kalan bölgelerde görülür. Sıklıkla baş-boyun yerleşiminde izlenir. Stromaya bağımlı bir tümördür ve lokal olarak invazivdir (6). Mortalite hızı çok düşük olmasına rağmen zaman zaman ciddi doku yıkımına neden olabilecek şekilde agresif büyüme gösterebilir. Metastaz sıklığı çok düşüktür (< %0.1) (7). Lenf nodları, akciğer, kemik ve karaciğer metastazları bildirilmiştir (8).

### 2.1.2. Epidemiyoloji

BHK, insanlarda en sık görülen kanser türüdür. Tüm dünyada insidansı giderek artmakta ve önemli bir halk sağlığı problemi yaratmaktadır. Beyaz ırkta daha fazla görülür. İnsidansının son üç dekatta dünya çapında % 70-80 oranında arttığı düşünülmektedir (9, 10). Beyazlarda BHK gelişimi için yaşam boyu risk ortalama

%30 olarak saptanmıştır (11). Yıllık BHK insidansı coğrafi bölgelere göre değişiklik gösterir. Ekvator bölgesine yakın yaşayan beyaz ırktan kişiler en yüksek BHK gelişim riskine sahiptirler (1). BHK için en yüksek insidans yılda %1-2 ile Avustralya'da izlenir. Daha sonra en sık Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa ülkelerinde görülür. Ozon tabakasının incelmeyeine bağlı olarak karsinogenik ultraviyole B (UVB) ve ultraviyole C (UVC) ışınlarının geçişinin kısıtlanamaması tüm dünyada prevalansın giderek artmasına yol açmaktadır.

BHK en sık erişkinlerde, özellikle yaşlı popülasyonda izlenir. Erkeklerde kadınlardan 2 kat daha sık görülür. 40 yaş altında hastalık kadınlarda daha sık görülmüştür (12). Bu duruma genç kadınlarda artmış güneş maruziyetinin olması ve tekrarlayan güneş yanıklarının sebep olabileceği belirtilmiştir.

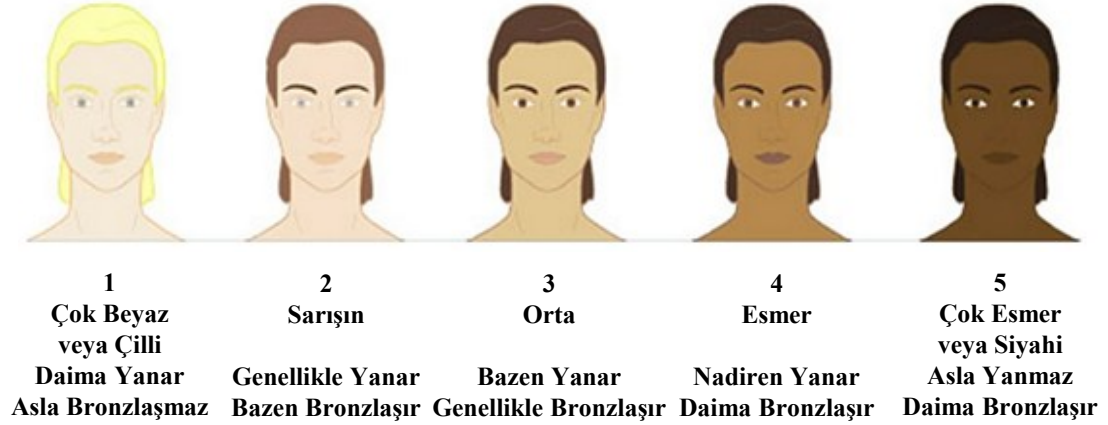
Tümör sıklığının etnik olarak koyu tenli kişilerde daha düşük olmasından dolayı, BHK gelişiminde ultraviyole (UV) radyasyon özellikle suçlanmıştır. Koyu tenli kişilerde risk 19 kat daha düşüktür.

### 2.1.3. Etyoloji ve Risk Faktörleri

BHK'nın nedeni tam olarak bilinmemektedir. Ancak pek çok çevresel ve genetik faktörün predispozan olarak rol oynadığı bilinmektedir. Etyolojide öne çıkan en önemli faktör UV maruziyetidir.

**1. Ultraviyole ışınlarına maruziyet:** Etyopatogeneizde suçlanan en önemli faktördür (5, 13-15). UVB (290-320 nm) ışınları UVA ışınlarına (320-400 nm) göre daha mutajeniktir ve BHK karsinogenezinde daha önemlidir (5, 14, 15). Kronik olarak aralıklı güneş maruziyeti, özellikle çocukluk ve adolesan dönemde yoğun güneş hasarı öyküsü, kümülatif doz ve maruz kalınan UV paterni ve yoğunluğu BHK gelişiminde kritik rol oynar. BHK'ların yaklaşık %20'si güneş maruziyeti olmayan bölgelerde gelişir. Bu tarz tümörlerde BHK'ya yatkınlık UV ışınına maruz kalma süresi, yoğunluğu ve polimorfik genler arasındaki karmaşık ilişkilerle belirlenmektedir.

2. **Deri tipi:** BHK açısından en yüksek risk grubunu kızıl-sarı renk saçlı, açık tenli, açık renk gözlü kişiler oluşturmaktadır. En fazla risk altındaki hastalar Fitzpatrick sınıflamasına göre Tip 1 ve 2' ye uyan, güneş yanığı öyküsü bulunan hastalardır. Tip sınıflandırmaları Şekil 2.1.'de verilmiştir.



Şekil 2.1. Fitzpatrick Deri Tipleri

3. **Yaş-cinsiyet:** BHK sıklıkla orta-ileri yaşta görülmektedir. Erkeklerde kadınlardan daha sık izlenmekle birlikte 40 yaş altında kadınlarda daha sık izlendiği saptanmıştır (16).
4. **Kimyasal karsinojenler:** Kontamine içme suları, deniz ürünleri veya medikasyonlar yoluyla kronik olarak arsenik maruziyeti bulunan kişilerde 30-40 yıl içinde süperfisyal multisentrik BHK geliştiği bildirilmiştir.
5. **İyonize radyasyon maruziyeti:** İyonize radyasyon maruziyeti melanom dışı deri kanserleri gelişiminde rol oynamaktadır. İyonize radyasyona maruz kalan kişilerde, BHK gelişmesi yaklaşık 20 yıllık latent bir dönem sonrasında oluşur. BHK lezyonları yalnızca radyasyona maruz kalan bölgelerle sınırlıdır.
6. **İmmünsüpresyon:** Solid organ transplantasyonları, AIDS, kronik olarak immün sistemi baskılayıcı ilaç kullanımları BHK oluşum riskini artırır. Bu gibi durumlarda BHK daha agresif seyretme eğilimindedir.

## 7. Genetik yatkınlık

- a. **Bazal hücreli nevüs sendromu:** Gorlin sendromu ya da Nevoid bazal hücreli karsinoma sendromu olarak da adlandırılan bu sendrom otozomal dominant geçişli nadir bir hastalıktır. Sendromun sebebi Kr. 9q22.3'deki tümör süpresör gen olan “*Patched 1*” geninin (*PTCH1*) mutasyonudur.

Sendromun karakteristik bulguları;

- Makrosefali, frontal basıklık, hipertelorizm
- Kaburga anormalileri
- Palmar ve plantar çukurcuklar
- Kemik kistleri (özellikle mandibulada)
- Falx cerebri kalsifikasyonu
- Medullablastom
- Multipl BHK gelişimidir.

Bazal hücreli nevüs sendromuna bağlı gelişen BHK'ların histopatolojisi, sporadik olarak gelişen BHK'lardan farklı değildir. Sendroma bağlı olarak gelişen BHK'lar daha genç yaşta, tipik yerleşim bölgelerinden farklı olarak gövde yerleşimli ve çok sayıda olurlar.

- b. **Epidermolizis bülloza:** Epidermolizis bülloza (EB), minör travma ile ya da travma olmaksızın ortaya çıkan bül formasyonları ile karakterize, bir grup hastalığın ortak adıdır.

EB'nin Dowling-Meara simplex formu artmış BHK riski ile birliktelik gösterir. Bir çalışmada kümülatif risk, 40 yaşında %8, 55 yaşında %44 olarak saptanmıştır (17).

- c. Xeroderma pigmentozum:** Xeroderma pigmentozum (XP), nadir görülen, otozomal resesif geçişli bir sendromdur. Etkilenen bireylerde oküler anormaliler, UV maruziyeti olan bölgelerde erken deri yaşlanması, deride pigmentasyon değişiklikleri ve BHK, SHK ve malign melanom gelişimi hastalığın karakteristik özellikleridir. Deri maligniteleri hastalarda 20 yaşından önce görülür. Hastalığın nedeni UV'nin neden olduğu DNA hasarının onarım mekanizmaları tarafından tamir edilme kusurudur.
- d. Bazex's sendromu:** Multipl BHK, foliküler atrofoderma, hipotrikozis, hipohidrozisle karakterize, X'e bağlı dominant geçiş gösteren hastalıktır.
- e. Rombo sendromu:** Otozomal dominant kalıtım gösterir. Vermikulat atrofoderma, milia, hipertrikoz, akral siyanoz, alopesi, trikoepitelyomlar ve çok sayıda BHK ile karakterizedir.
- f. BKH ile ilişkili diğer nadir görülen genetik hastalıklar:**
- Rasmussen sendromu
  - Albinizm
  - Lineer unilaterale bazal hücreli nevüs sendromu

#### 2.1.4. Patogenez

Bazal hücreli kansere yatkınlık, UV ışınına maruz kalma süresi, yoğunluğu ve polimorfik genler arasındaki karmaşık ilişkilerle belirlenmektedir. UVB ışınına maruz kalma, DNA'daki komşu pirimidinler arasında kovalent bağlar oluşmasına neden olur. Böylece, UVB direkt olarak karakteristik C→T ve CC→TT transizyon mutasyonları üreterek DNA ve RNA hasarı oluşturur. C→T, CC→TT dipirimidin baz değişikliklerine fotoyaşlanmaya bağlı hasarlanmış deride sık rastlanması nedeniyle buna "UV imzası" denir. DNA onarım mekanizmaları UV hasarı en çok olan geni onarıırken, tüm çapraz bağları ortadan kaldıramaz. Bu nedenle, kümülatif

DNA hasarları yeni mutasyonların oluşumuna ve sonuç olarak bazal hücreli kanser gelişimine yol açar.

UV kaynaklı mutasyonların BHK gelişimindeki rolü “*sonic hedgehog*” (SHH) yolağı ile açıklanabilir. SHH’de meydana gelen değişiklikler BHK gelişiminde en önemli etken olarak kabul edilmektedir. Embriyonik gelişimin temel düzenleyicisi olan “*hedgehog*” sinyal yolağı, hücre çoğalması ve farklılaşması, kıl follikülü ve sebace bez gelişiminin düzenlenmesinde rol oynar (3, 18). Bir tümör baskılayıcı gen olan PTCH, kromozom 9q22.3 bölgesinde lokalizedir ve SHH ileti yolağının regülasyonunda anahtar rol oynamaktadır. PTCH geninin ürünü olan PTCH proteini hücre membranının silyumlarında yerleşir ve SHH proteini için bir transmembran reseptör olarak görev alır (13). Hedgehog sinyali yokluğunda PTCH proteini ‘*Smoothened*’ (SMO) olarak adlandırılan reseptör benzeri ikinci bir proteine bağlanarak bu proteini inhibe eder (13, 19). SHH sinyal proteinin PTCH proteinine bağlanması ile SMO proteininin inhibisyonu ortadan kalkar ve SMO proteini serbest kalır (19). PTCH gen mutasyonlarında, SHH proteininin bağlanmasına gerek olmadan SMO protein ekspresyonu artar. SMO proteini, PTCH proteinine bağlanmadığında glioblastoma (Gli-1 ve Gli-2) sinyal proteinlerinin ekspresyonunu artırır. Gli-1 proteini, transforme edici büyüme faktörü- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) ekspresyonunu arttırarak fibroblast proliferasyonuna neden olur. Gli-2 ise apoptoz inhibitörü bir protein olan Bcl-2 proteininin ekspresyonunu artırır. Böylece kontrolsüz hücre çoğalması başlar ve kanser gelişir. Sporadik olarak gelişen BHK’lerin %85’inde inaktive edici PTCH mutasyonları, %10’unda aktive edici SMO mutasyonları saptanmıştır (20).

UV ilişkili deri kanseri patogenezinde yeri olan bir diğer faktör, p53 tümör supresor geninin inaktivasyonu ya da mutasyonudur. p53 proteini hücre büyümesinin durdurulması, kontrolsüz hücre çoğalmasına karşı genomun korunması, programlanmış hücre ölümü, hücre farklılaşması ve DNA tamir mekanizmasının başlatılmasında rol alır. Yapılan çalışmalarda skuamoz hücreli karsinom (SHK) vakalarında % 0-72, BHK vakalarında ise % 0-92 oranında p53 gen mutasyonu görülebileceği bildirilmiş, İter ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada ise bu oranlar sırasıyla % 62,5 ve % 47,3 olarak saptanmıştır (21).

### 2.1.5. Klinik Bulgular

Bazal hücreli karsinomlar erkeklerde daha sık görülmektedir. BHK, hemen her zaman kıl follikülü bulunan deride gelişir. Lezyonların %90'ından fazlası baş-boyun bölgesinde yerleşir. Tipik BHK lezyonu keskin sınırlı, şeffaf, inci tanesi benzeri kabarık kenarları olan, lezyon üzerinde ya da lezyon çevresindeki deride telenjektazilerin bulunduğu, genellikle merkezinde ülser bulunan papülonodüler bir lezyondur. Bazen belirgin telenjektaziler gösteren eritematöz plak, skar benzeri lezyon ya da pigmente kistik bir nodül gibi değişik klinik prezentasyonlar gösterebilir (22).

BHK yavaş büyüme özelliği gösterir. Tümör çapı genellikle 1-2 cm.ye ulaşır. Sıklıkla lokal olarak büyür, vücudun başka bölgelerine yayılım göstermez. Ancak tümör bulunduğu bölgede büyümeye devam ederek, yerleşim yerine göre çevre doku ve yapıları invaze edebilir. Özellikle histolojik olarak agresif özellik gösteren alt tipler kemik, sinir, beyin dokusu gibi yapılara invazyon gösterebilir (23). Metastaz çok nadir olup, hastaların %0.003-0.05'inde izlenir. En sık metastaz lenfatik yayılım yolu ile bölgesel lenf nodlarına olur.

BHK'ların histolojik görünüm ve klinik seyirleri farklı olan subtipleri tanımlanmıştır.

1. **Nodülo-ülseratif bazal hücreli karsinom:** En sık görülen klinik tiptir ve tüm olguların % 75-80'ini oluşturur (1, 2). Genellikle baş-boyun lokalizasyonunda olmak üzere, güneşe maruz kalan bölgelerde, sıklıkla yüzeyinde küçük telenjektazilerin olduğu şeffaf ya da mumsu görünümde bir papül ya da nodül şeklinde başlar. Nodülün boyutu genellikle yavaşça artar ve sıklıkla merkezinden ülserasyona uğrar. Merkezde ülseri bulunan, kenarları kalkık ve endürasyon gösteren bu lezyon "*rodent ülser*" olarak adlandırılır. Nodüler BHK dermal nevüs ve amelanotik melanomdan ayrılmalıdır (1, 2).



2. **Yüzeyel bazal hücreli karsinom:** Olguların % 15'ini oluşturur. Lezyonlar %40 oranında baş ve boyun bölgesinde yer almasına rağmen gövde ve ekstremitelerde yerleşimli BHK'ların çoğu yüzeyel BHK'dır. Eritemli ve skuamlı olan bu ekzema benzeri lezyonlar perifere doğru yayılım göstererek büyürler. Ayırıcı tanıda Bowen hastalığı, ekzema türleri ve psöriazis düşünülmelidir (2).
3. **Morfea benzeri bazal hücreli karsinom:** Genellikle düzensiz sınırlı, deri seviyesinde veya deprese, düz ve parlak yüzeyle, soliter, sert, sarımsı bir plak şeklinde klinik verir. Tüm BHK'ların %6'sını oluşturur (23). %95 oranında baş-boyun bölgesinde yer alır. Agresif büyüme özelliğine sahiptir. Klinik olarak görüldüğünden daha geniş bir alana yayılım gösterir. Derin dermal invazyon yapar.
4. **Pigmente bazal hücreli karsinom:** BHK'ların %2.5'ini oluşturan bu varyant, nodülo-ülseratif varyantın artmış melanizasyon gösteren alt tipidir. Lezyon hiperpigmente şeffaf bir papül şeklindedir. Noduler melanomla ayırıcı tanı yapılmalıdır.
5. **Pinkus'un fibroepitelyoması:** Genellikle sırtta yerleşen, bir veya birkaç adet, orta derecede sert, saplı olabilen, üzeri düz, açık kırmızı renkte nodüllerden oluşur. Klinik olarak fibroma benzer. Amelanotik melanomdan ayırıcı tanı yapılmalıdır

#### 2.1.6. Tanı

BHK'da kesin tanı histopatolojik olarak konur. Tanı için daha çok "punch" biyopsi ya da total eksizyonel biyopsi önerilir. "Shave" biyopsi yüzeyel kalabildiği için tercih edilen bir yöntem değildir.

#### 2.1.7. Histopatoloji

Histopatolojik özellikler subtipler arasında bir miktar değişiklik gösterse de BHK'ların çoğu ortak histolojik özellikler taşımaktadır. Histolojide dar sitoplazmalı, bazal hücre tipinden oluşan, hücre nükleuslarının periferik palizadlanmalar yaptığı,

tümör adalarının merkezindeki hücrelerin gelişigüzel dağılım sergilediği ve özelleşmiş stroma ile epitelyum arasında ayrışma artefaktı gözlenen lobüllerden, kolon, band veya kordonlardan oluşan görünüm izlenir. Değişik oranlarda sitolojik atipi ve mitotik aktivite hemen tüm olgularda izlenir.

Nodülo-ülseratif BHK, stroma retraksiyonu ve büyük bazofilik hücrelerin oluşturduğu tümör adacıkları ile karakterizedir. Tümör hücreleri uniform boyutlu, genellikle büyük, oval nükleuslu ve küçük nükleolusludur. Tümör kümelerinin periferindeki hücre nükleusları palizadlanma yapar. Tümör adalarını çevreleyen stroma değişik miktarlarda asit mukopolisakkarit içerir. Tümör adaları ile stroma arasında sıklıkla retraksiyon alanları bulunur ve bu durum peritümöral lakünaların oluşmasına neden olur. Bu lakünalar BHK'lar için oldukça tipik olduğundan, varlığı bazal hücreli karsinomu skuamöz hücreli karsinom gibi tümörlerden ayırmada yardımcıdır. Tümörü çevreleyen dermiste hemen her zaman aktinik elastoz bulunur (23, 24). “*Mikronodüler BHK*” terimi, 15 µm'den küçük çok sayıda mikroskopik nodül içeren tümörleri tanımlamak için kullanılmaktadır.

Yüzeyel BHK, atrofik epidermise bağlanmış düzensiz tümör hücre proliferasyonları ve epidermis bazal tabakasından dermise doğru uzanan malign hücre tomurcukları ile karakterizedir. Dermise penetrasyon çok az ya da yoktur.

Pigmente BHK, nodülo-ülseratif BHK'a benzer histolojik özelliklere ilave olarak melanin pigmenti içermektedir. Tümör hücreleri çok az miktarda melanin içermesine rağmen tümör çevresindeki stroma sayısız melanofaj tarafından doldurulmuştur.

Morfea benzeri ya da infiltratif BHK, yoğun kollajenize fibröz stroma içine gömülmüş tümör hücrelerinden oluşur. İnflamasyon karakteristik olarak seyrek görülür ya da izlenmez. Palizadlanma yoktur. Tümör ile epidermis arasındaki bağlantı genellikle fokaldır (24). Derin dermal invazyon ile karakterizedir.

Pinkus'un fibroepitelyoması, fibröz stroma içerisinde birbiri içine geçmiş, dallanan, ince, uzun diziler halinde tümör hücreleri ile karakterizedir (22). Pinkus'un fibroepitelyoması histolojik olarak retiküler seboreik keratoz ve yüzeyel BHK'a benzer özellikler gösterir.

### 2.1.8. Ayırıcı Tanı

En sık görülen varyant olan nodüloülseratif tipin ayırıcı tanısında, dermal nevüs, deri eki tümörleri, SHK, dermatofibrom, nörom, keratoakantom gibi benzer klinik veren lezyonlar bulunmaktadır.

Pigmente BHK ayırıcı tanısında nodüler malign melanom, birleşik nevüs, mavi nevüs, deri eki tümörleri bulunur.

Yüzeysel BHK'nın ayırıcı tanısında Bowen hastalığı, yüzeysel yayılan malign melanom, Paget hastalığı ve SHK düşünülmelidir.

Morfea benzeri BHK, keloid, dermatofibrosarkom protuberans, morfea ve trikoepitelyoma ile ayırıcı tanıya gider.

Pinkus'un fibroepitelyomasının ayırıcı tanısında fibrom, dermal nevüs ve akrokordon hatırlanmalıdır.

### 2.1.9. Tedavi

BHK'da tedavi planlanırken, tümörün anatomik lokalizasyonu, sayısı, boyutu, primer ya da rekürren tümör oluşu ve hastaya ait özellikler göz önünde bulundurularak planlanır.

Rekürrens için yüksek risk oluşturan tümörler:

1. Yüksek riskli alanlar olarak bilinen yüzün santral bölgesi, periorbital bölge ve periaurikuler alanlarda >6 mm boyutlu tümör varlığı
2. Baş ve boyun bölgesindeki diğer alanlarda >10 mm boyutlu tümör varlığı
3. Gövde ve ekstremitelerde >20 mm boyutlu tümör varlığı
4. Tümör sınırlarının belirgin olmaması
5. Tümörün hızlı büyüme özelliğinde olması
6. Rekürren BHK
7. Eksizyonu yetersiz olan tümörler
8. Tümörün histolojik olarak morfeaform, bazoskuamöz veya mikronodüler tipte olması

BKH’da tedavi yöntemleri şu şekilde sınıflandırılabilir.

**A. Cerrahi yöntemler:**

- Mohs mikrografik cerrahisi
- Standart eksizyon
- Elektrodeseikasyon ve küretaj
- Kriyoterapi
- Lazer cerrahi

**B. Cerrahi olmayan yöntemler:**

- Topikal tedaviler (İmikimod, 5-Florourasil)
- Radyoterapi
- Fotodinamik tedavi

En sık kullanılan ve tedavide “altın standart” olan yöntem cerrahi eksizyondur (24, 25). Cerrahi eksizyonun diğer tedavi yöntemlerine göre basit, ekonomik oluşu ve histopatoloji için materyal sağlaması nedeniyle üstünlüğü bulunmaktadır (26). Mohs mikrografik cerrahisi (MMC) rekürrens için yüksek risk oluşturan tümörlerde klasik eksizyona göre daha sık tercih edilen bir yöntemdir. MMC tüm tümör tipleri için en yüksek kür oranına sahip tedavi yöntemidir. Mosterd ve arkadaşları MMC ile tedavi edilen BHK hastaları için 5 yıllık takipte rekürrens oranının primer tümörde %2.5 olduğunu bildirmişlerdir (27). Paoli ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada ise agresif ve/veya rekürren BHK’sı olup MMC ile tedavi edilen 587 hastanın 5 yıllık takibinde nüks oranı primer tümörde %2.1, rekürren tümörde %5.2 olarak bulunmuştur (28).

Cerrahi yöntemlerin bir diğeri olan klasik cerrahide, tümör çevresindeki sağlam dokudan da bir miktar eksize edilmelidir. Primer BHK’da tümör 3-6 mm çevre doku ile birlikte alınmalıdır. Rekürren BHK’da bu sınır 5-10 mm olmalıdır (26). Agresif tümör alt tiplerinde cerrahi sınır daha geniş bırakılmalıdır.

Elektrodesikasyon/küretaj yöntemi tedavide kullanılan bir diğer yöntemdir. Bu yöntem daha çok çapı 1 cm.den küçük, iyi sınırlı, düşük riskli tümörlerde tercih edilir. Histolojik değerlendirme şansı olmadığı için rekürrens riski yüksektir.

Diğer bir tedavi yöntemi olan kriyoterapide de histolojik inceleme yapılamaz. 5 yıllık takipte rekürrens riski %8'dir. Hastalarda skar ve hipo/hiperpigmentasyon kalma riski daha yüksektir.

BHK'da lazer tedavisi yeni bir tedavi yöntemi olup, yapılmış olan bir çalışmada Nd-YAG ile tedavi edilmiş 37 BHK hastasında %97 başarı sağlandığı ve 5 yıllık takipte rekürrens oranının % 3 olduğu bildirilmiştir (29). CO2 lazer ile yapılmış olan bir çalışmada ise 370 BHK hastasının tamamında düzelme olmuş, rekürrens saptanmamıştır (30). BHK tedavisinde lazer primer kabul görmüş bir tedavi seçeneği değildir ancak çalışmalarda umut verici sonuçlar saptanmıştır.

BHK tedavisinde topikal bir tedavi yöntemi olan imikimod krem, yüzeysel BHK'lar için 2004 yılında ABD Gıda ve İlaç İdaresi (Food and Drug Administration, FDA) onayı almıştır. Sadece biyopsi ile kanıtlanmış 2 cm.den küçük boyun, gövde ve ekstremitelerde yerleşimli BHK'larda onaylıdır (31). İmikimod hücre aracılı immün sistemi stimüle ederek güçlü bir şekilde antiviral, antitümör ve immün düzenleyici etki yapar. İmikimod konak hücrede yardımcı T hücrelerinden interferon ve diğer sitokinlerin üretimini indükleyerek immün düzenleyici rol oynayan toll benzeri reseptör 7 ve 8 agonistidir. Bu yolla aktive olan sitotoksik T hücreleri virüsle infekte konak hücrelerini ve tümör hücrelerini desrükte eder (32, 33). Yapılmış olan bir çalışmada haftada 5 gün imikimod kullanımının 6 hafta sonunda tedavide %83.2 oranında başarı sağladığı bildirilmiştir. Başka bir çalışmada ise %100'e varan kür oranı saptanmıştır (32).

Tedavide kullanılan diğer bir topikal yöntem olan 5-florourasil krem, FDA tarafından yüzeysel BHK tedavisinde onay almış bir antineoplastik ve antimetabolit ilaçtır. Hızlı bölünen hücrelerde timidilat sentetazı inhibe ederek DNA sentezini bozar, hücre proliferasyonunu önler ve tümör nekrozuna neden olur. Yüzeysel BHK tedavisinde %92'ye varan başarı saptanmıştır. Uygulama kolaylığı ve geniş alanlara

uygulanabilmesi nedeniyle özellikle çok sayıda yüzeysel BHK'sı olan hastalarda tercih edilmektedir (32).

### **2.1.10. Prognoz**

Yavaş büyüyen ve genel olarak metastaz beklenmeyen BHK'da prognoz çok iyidir. Ancak mortalitesi çok düşük olan bu tümör yerleşim yeri, tümör çapı ve derinliğine bağlı olarak ciddi morbiditeye neden olabilir. Lokal invaziv bir tümör olduğundan, kemik, kartilaj ve deri destrüksiyonu yaratarak bulunduğu yerde şekil bozukluğu yapabilir. BHK'da metastaz riski %0.0029-0.55 arasında değişir. Metastatik tümöre erkeklerde daha sık rastlanır. Hastalarda metastaz görülmesi kötü prognostik bir bulgudur.

Primer tümörün 10 cm.den büyük olduğu, baş-boyun bölgesinde lokalize, multipl, rekürren, uzun süre veya uygun şekilde tedavi edilmeyen, perinöral yayılım ve damar invazyonu bulunan, derine penetrasyon gösteren tümörü olan hastalar metastaz açısından yüksek riskli grubu oluşturmaktadır. En sık metastaz bölgesel lenf nodlarına (%40-80) olur (34). Bunun dışında akciğer, kemik, deri ve karaciğer metastazı da görülebilir.

BHK öyküsü bulunan bir hastada ilerleyen yıllarda yeniden BHK gelişim riski artmıştır. Burun ve nazolabial olukta yerleşim gösteren BHK'larda rekürrens riski daha fazladır. Rekürrenslerin %82'si ilk 5 yıl içinde olur. Hastalarda ayrıca SHK ve malign melanom gibi diğer kutanöz malignensilerin gelişim riski de artar.

## **2.2. SKUAMÖZ HÜCRELİ KARSİNOM**

### **2.2.1. Tanım ve Tarihçe**

Skumöz hücreli karsinom (SHK), suprabazal keratinositlerden köken alan, uzak metastaz potansiyeline sahip, lokal invaziv malign bir tümördür (35-37).

### **2.2.2. Epidemiyoloji**

SHK, beyaz ırkta en sık görülen ikinci deri kanseridir. Melanom dışı deri kanserlerinin %20'sini oluşturur. İnsidansı %3-10 arasındadır (38). İnsidans son birkaç dekatta, tüm yaş gruplarında artış göstermektedir. Amerika'da yılda yaklaşık 250000 invaziv SHK vakası tanımlanmaktadır (2). Risk 40 yaş üstünde dramatik olarak artar. Tanı alan hastaların %44-50'sinde farklı bir deri kanseri oluşum riski artmıştır. Hastalarda ekstra-kutanöz malignensi riski de artmıştır. Erkeklerde 2 kat daha sıktır. Bu artışın yaşam boyu UV ışınlarına maruz kalma riskinin erkeklerde daha fazla olmasından kaynaklandığı düşünülür. Eumelaninin koruyucu etkisinden dolayı cilt rengi ile insidans arasında ters orantı vardır. Beyaz tenli, mavi gözlü, kıvılc saçlı kişiler ve İskoç kökenlilerde daha sık izlenir (39). Vücudun tüm bölgelerinde ve müköz membranlarda ortaya çıkabilir. Beyazlarda en sık güneş maruziyetine bağlı olarak %50-75 baş, boyun bölgesinde görülürler. Diğer önemli yerleşim bölgeleri perianal bölge, dış genital bölge ve tırnak yatağı çevresidir. Çocuklar ve genç erişkinlerde nadirdir. Eğer çocukluk ve genç erişkinlik çağında SHK izlenirse, genellikle kseroderma pigmentozum, epidermolizis bülloza ve çocukluk çağının pansklerotik morfeası ile beraber izlenir.

### **2.2.3. Etyoloji ve Risk Faktörleri**

Kazanılmış ve genetik faktörler SHK için predispozisyon yaratabilir. Hastaların çoğunda birden fazla predispozan faktör bir arada görülür. Yaşam boyu maruz kalınan kümülatif UVB ışını miktarı etyopatogeneizde en önemli faktördür. Aralıklı UV maruziyeti ise daha çok BHK ve malign melanom riskini artırır (40, 41).

## 1. Prekürsör lezyonlar

Kutanöz SHK hemen daima öncül bir lezyonu takiben gelişir. Bu prekürsör lezyonlar aktinik keratoz ve Bowen hastalığı gibi durumlardır.

## 2. Ultraviyole (UV)

UV radyasyon DNA tarafından emilerek DNA’da hasara, mutasyonlara ve genlerde değişkenliğe yol açar. UV kaynaklı DNA hasarı gelişen hücreler “güneş yanığı hücreleri” olarak adlandırılmaktadır. Bu hasar onarım mekanizmaları tarafından onarılamazsa malign dönüşüme neden olabilir. Epidemiyolojik çalışmalar özellikle UVB ışınlarına bağlı gelişen kümülatif güneş maruziyetinin SHK gelişiminde ana etken olduğunu göstermektedir. Özellikle p53 tümör baskılayıcı geninde UVB ışınlarına bağlı oluşan nokta mutasyonlar etyolojide önemli rol oynar (40-43). SHK hastalarının %45-60’ında p53 mutasyonu saptanmıştır (44). Son 5-10 yıl içinde maruz kalınan güneş hasarının derecesi (45), mesleki güneş maruziyeti (46), açık deri rengi, açık göz rengi, kıvılc saç, Kuzey Avrupalı olmak gibi fenotipik özellikler UVB ile ilişkili SHK gelişiminde önemli diğer faktörlerdir (45, 46).

SHK etyolojisinde UVB primer faktör olsa da, kanser gelişiminde UVA’nın da rolü bulunmaktadır.

- Dermatolojik tedavide sıkça kullanılan Psöralen+UVA (PUVA) tedavisi artmış SHK riski ile ilişkili bulunmuştur (47-49). PUVA tedavisi alan 1380 psöriazis hastası ile 30 yıl boyunca yapılan prospektif bir kohort çalışmasında 450’den fazla PUVA tedavisi almış hastalarda SHK riskinde 35 kat artış saptanmıştır (49).
- Özellikle UVA ışını yayan solaryumlar güneş hasarı benzeri deri değişikliklerine neden olurlar. Gözlemsel çalışmalarda solaryuma girenlerde hem SHK, hem de BHK riskinin arttığı bildirilmiştir (50, 51). 2012’de yapılan gözlemsel bir çalışmanın metaanalizinde solaryum kullanan hastalarda, daha önce hiç kullanmamış olanlara oranla SHK riskinde %67 artış olduğu saptanmıştır (52).



### **3. Kimyasallar**

Pek çok çevresel ve mesleki kimyasal ile kanser gelişimi arasındaki ilişki çok iyi tanımlanmıştır. Bu kimyasalların prototipi arseniktir (53, 54). Diğer predispozan kimyasallar ise polisiklik aromatik hidrokarbonlar, kömür katranı, mineral yağlar, poliklorinatlı bifeniller, 4 bipidril, asfalt, böcek ve bitki öldürücü kimyasallar, psöralenler, nitrojen mustard olarak belirtilmektedir. Kimyasal karsinojenlere bağlı SHK genelde kollarda ve çok sayıda görülür. Ortalama 20-40 yıllık bir süre sonunda ortaya çıkar. Ayrıca sigara içme, tütün çiğneme ve alkol ile oral SHK arasında sıkı bir ilişki vardır.

### **4. İyonize radyasyon (IR)**

IR'a maruz kalmak melanom dışı deri kanseri riskini 3 kat artırır. Risk radyasyon dozu ile orantılıdır. Epidermin bazal tabakası daha yüzeysel tabakalara göre IR'dan daha fazla etkilenir (55). Bu yüzden IR'a bağlı BHK gelişimi göreceli olarak daha sık görülür.

### **5. HPV enfeksiyonları**

HPV enfeksiyonu -özellikle 16 ve 18 gibi onkojenik tipler- SHK gelişimine eşlik edebilir. Özellikle HIV (+) kişilerde, anogenital ve periungal bölgede oluşan SHK'lar ve SHK'nın verrüköz karsinoma alt tiplerinde HPV ilişkisi mevcuttur (56-60). HPV aynı zamanda organ transplant hastalarında da SHK gelişiminde rol oynar. Yapılmış çalışmalarda kutanöz SHK olgularında HPV antikorları kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (56, 60).

### **6. İmmünsüpresyon**

Solid organ transplantasyonları, HIV enfeksiyonları, uzun süreli glikokortikoid kullanımları gibi kronik immünsüpresyon durumları SHK gelişim insidansını artırır (61-65). Organ nakli yapılmış bireylerde SHK riski 65-250 kat artmaktadır (61, 62, 66). Patogenezi multifaktöriyel olan bu hastalarda risk faktörleri başlıca; deri tipi,

kümülatif güneş hasarı, transplantasyon yaşı ve immünsüpresyonun süresi ile derecesidir (67, 68).

Transplantasyon sonrası oluşan güneş maruziyeti SHK gelişiminde majör risk faktörüdür. İsveç'te 5356 transplant hastası ile yapılmış olan bir çalışmada melanom dışı deri kanserleri için rölatif riskin dudak üzerinde diğer güneş görmeyen bölgelerden (ağız içi, anüs, rektum) 40 kat yüksek olduğu saptanmıştır (69). UV radyasyonun neden olduğu DNA hasarının, immünsüpresif ajanın direkt etkileri ve azalmış immün yanıtın derideki prekanseröz oluşumları yok edememesi nedeni ile arttığı düşünülür (62).

SHK organ nakli hastalarında en önemli mortalite ve morbidite sebepleri arasındadır. Gelişen SHK'lar genelde çok sayıda olup, lokal ve bölgesel rekürrens gösterir ve yüksek oranda metastaz yaparlar. Ayrıca lezyonların %70-90'ında değişik tiplerde HPV DNA'sı tespit edilmektedir.

## **7. Kronik inflamasyon**

Deri kanserlerinin %1'i inflamasyonlu deride gelişir ve bunların %95'i SHK'dır. Kronik yara zemininde gelişen SHK'ya Marjolin ülseri adı verilmektedir.

Yanıklar, skar dokuları, kronik ülserler, skar gelişimi ve akıntı ile karakterize kronik enfeksiyonlar (osteomyelit, perianal sinüs, kromomikoz, lupus vulgaris, granüloma inguinale, lepra) ve skarla seyreden kronik inflamatuvar dermatozlar (liken skleroz, morfea, oral liken planus, venöz ülser, hidradenitis süpurativa, dissekan follikülit, hailey-hailey hastalığı, nekrobiyozis lipoidika) SHK gelişimine zemin oluştururlar. Deri hasarının başlangıcı ile SHK gelişimi arasında 6 hafta-60 yıl arasında değişen bir interval bulunmaktadır (70, 71).

## **8. Genetik değişiklikler**

SHK gelişiminde UV kaynaklı p53 tümör süpresör gen mutasyonlarına ek olarak başka genetik değişiklikler de tanımlanmıştır. Sorafenib gibi RAF inhibitörü olan kemoterapötik ilaçlar, CDKN2A lokus eksonlarında oluşan mutasyonlar ve RAS

yolları keratoakantoma ve SHK ile ilişkilendirilmiştir (44, 72). Genetik değişikliklerin keratinositleri UV ilişkili apoptoza dirençli hale getirerek klonal genişlemeye öncülük ettiği, selektif büyüme avantajı sağladığı ve bazı olgularda invaziv veya metastatik özellik kazandırdığı saptanmıştır (44, 72, 73).

## 9. Genodermatozlar

**a. Xeroderma pigmentosum (XP):** UV'nin neden olduğu DNA hasarının onarım bozukluğu ile seyreden, multigenik, multiallelik, otozomal resesif geçişli nadir görülen bir hastalıktır. Sıklığı yaklaşık 1/250000'dir. Hastalıkla ilişkili 8 gende mutasyon saptanmıştır. Bu genlerin 7 tanesi (XPA- XPG genleri arası) UV radyasyon maruziyeti sonrası oluşan karsinojen genlerin nükleotid eksizyon tamirine katılır (74-76). Diğer gen ise (XPV) UV ışınları ile hasarlanmış DNA'nın hatasız replikasyonundan sorumludur (76). XPV, DNA polimeraz eta veya hRAD30 genindeki mutasyonlardan kaynaklanır (77).

XP homozigot hastalarda, deri ve gözde dejenerasyona yol açan ve erken çocuklukta BHK, SHK ve melanom gelişimine neden olan ciddi güneş duyarlılığı bulunur. Hastalıkla ilişkili oküler anormaller; keratit, korneal opasite, sineşi oluşumuna neden olan iritis ve koroid melanomudur.

XP hastalarında 20 yaşından önce deri kanseri gelişim riski genel popülasyonun yaklaşık 2000 katıdır. 132 hasta ile yapılmış retrospektif bir çalışmada yaşam boyu melanom dışı deri kanseri prevalansı %57 olarak saptanmıştır (78). Tümör tanısı ilk olarak ortalama 8 yaşta konmuştur, SHK:BHK oranı 1:2 olarak hesaplanmıştır.

**b. Epidermolizis bülloza (EB):** EB ile ilgili verilere göre resesif distrofik EB'lı (RDEB) hastaların özellikle Hallopeau-Siemens (HS-RDEB) alt tipinde adölesan dönemde SHK gelişim riski artmıştır (17). HS-RDEB hastalarında SHK gelişimi için kümülatif risk 20 yaşında %7.5, 55 yaşında %90 olarak saptanmıştır. SHK'ların yalnızca %10'u güneş gören bölgelerde oluşurken, çoğunluğu uzun süreli deri lezyonları üzerinde gelişir. Tümör iyi diferansiye olsada biyolojik olarak agresif davranış

gösterir ve yüksek metastaz riskine sahiptir. SHK'a bağlı ölüm riski agresif cerrahi rezeksiyona rağmen 55 yaşında %78.7, 35 yaşında %38.7'dir (17).

- c. **Albinizm:** Okulokutanöz albinizm anormal melanosit fonksiyonuna bağlı olarak deri, göz ve saçta jeneralize pigmentasyon azalması ile seyreden en az 10 farklı kalıtsal deri hastalığından oluşur. Albinizimli hastalar erken dönemde SHK ve BHK gelişimi için risk altındadır.
- d. **Epidermodisplazi verrusiformis (EV):** EV insan papillomavirüs 5 ve 8 suşlarına aşırı duyarlılığın olduğu, kutanöz SHK riskinin arttığı nadir bir hastalıktır (79).
- e. **SHK ile ilişkili diğer nadir görülen sendromlar**
  - Fanconi anemisi
  - Ferguson-Smith sendromu
  - Diskeratozis konjenita
  - Rothmund-Thompson sendromu
  - Bloom sendromu
  - Werner sendromu

## 10. Aile öyküsü

SHK için aile öyküsü olan bireylerde SHK gelişim riski normal popülasyona göre artmıştır (80-82). Benzer fenotipik özellikler, ortak çevresel maruziyetler ve genetik faktörler ailesel risk faktörünü potansiyelize eder. İsveç'te 11 milyondan fazla kişi ile yapılan bir kohort çalışmada 3867 invaziv SHK vakası incelenmiş, ebeveynlerinde ya da kardeşlerinde invaziv SHK öyküsü bulunan hastalarda aynı tanının oluşma riskinin 2-3 kat arttığı saptanmıştır (80).

## 11. İlaçlar

- **Vorikonazol:** Olgu sunumları ve küçük serilerde immünsüprese hastalarda antifungal bir ilaç olan vorikonazolün uzun süre kullanımı ile SHK gelişimi arasında ilişki olduğu bildirilmiştir (83-87). İlaç

fotosensitiviteyi indükleyebilir ancak SHK gelişimindeki esas etkisi hala bilinmemektedir. Vorikonazole indüklenen fotosensitivite, SHK gelişen tüm hastalarda bildirilmiştir.

- **Diğer fotosensitizan ilaçlar:** SHK'nın UV maruziyeti ve PUVA tedavisi ile yakın ilişkili olması fotosensitizan ilaçların SHK için risk yaratıp yaratmadığı sorusunu akla getirmiştir. Gözlemsel çalışmalarda fotosensitizan ilaç kullanım öyküsü olan hastalarda SHK gelişimi yönünden küçük bir risk artışı saptanmıştır (88, 89).

#### 2.2.4. Patogenez

Normal keratinositlerden SHK gelişimi selüler DNA mutasyonları ve genomik instabilite ile başlar. Gen ekspresyonundaki değişiklikler büyüme kontrolünün kaybına, bazal membran penetrasyonuna ve çevre dokuya invazyona neden olur. SHK'da genetik analizler en sık oral mukoza, baş ve boyun bölgesinde yerleşenlerde çalışılmıştır. Kromozomal delesyonlar sıklıkla kromozom 3, 9, 11 ve 17'de tanımlanmıştır. En sık alanlar 9p21 ve 17p13' tür. Bu alanlarda sırasıyla INK4A ve p53 tümör baskılayıcı genleri lokalizedir. Bu genetik belirteçlerin prognostik değeri aydınlatılamamıştır.

p53 insan kanser biyolojisinde oldukça fazla çalışılmış genlerden biridir. Hücre siklus düzenleme mekanizmalarının merkezinde bulunan önemli bir transkripsiyon faktörüdür. p53 insan kanserlerinde en sık değişikliğe uğrayan genidir. İnaktivasyonu insan karsinogenezisinde anahtar olay olarak kabul edilmektedir. İnsan tümörlerinin yarısından fazlasında p53 mutasyonları saptanmıştır. p53 proteini normal dokularda DNA'ya hasar verici ajanlara yanıt olarak hızla artar. Bu gendeki mutasyonlar p53 fonksiyonlarının kaybına, onkojenik fonksiyonların kazanımına neden olur. Normal p53 fonksiyonu birkaç mekanizma ile kaybolabilir. Bunlar; genetik değişiklikler (mutasyonlar, delesyonlar, yeniden yapılanmalar ve genomik eklentiler) ve viral onkoproteinler ile protein komplekslerinin oluşumu (yüksek riskli HPV E6, EBV nükleer antijen-5 ve EBV çok erken protein) ile selüler gen ürünlerine bağlanmadır. Devamlı UV maruziyetine bağlı DNA hasarında keratinosit apoptozu, p53 tümör

süpresör genine ihtiyaç duyar. p53 hücre siklusunu, DNA hasarı onarılincaya ya da hasarlı hücre apoptozla elimine edilinceye kadar geciktirir. p53 fonksiyonundaki bozukluklar, apoptoz temelli bu korunma mekanizmasını baltalar. Böylece UV hasarlı hücrelerde tekrarlayan UV maruziyetinde hücrelerin hayatta kalması sağlanır. p53 hasarı ve diğer genlerde tekrarlayan UV radyasyona bağlı oluşan mutasyonlar apoptoz direncine, artmış proliferasyona ve sonuçta SHK oluşumuna yol açar. UV radyasyon p53 geninde timidin dimerleri oluşturacak spesifik mutasyonlara yol açar. Çoğu olguda C--T tek baz ve CC--TT çift transizyon mutasyonu, UVB hasarlı DNA'da görülen en sık nükleotid değişiklikleridir. p53 geninde UV sonucu oluşan tek mutasyonda keratinositler apoptoza girer. Disfonksiyonel p53 geni ve devamlı UV ışınlarına bağlı ek p53 mutasyonları durumunda hücreler apoptoza gidemez. Bu durumda klinik olarak aktinik keratoz oluşur. Anormal hücrelerde kontrolsüz çoğalma ise in situ SHK ve invaziv SHK'a yol açar.

SHK'da p53 dışında başka apoptotik protein disregülasyonları da tanımlanmıştır. Vulvar SHK'lar için yapılan bir çalışmada apoptoz inhibitörü olan Bcl-2 ekspresyonunun metastazla korele olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde özefajial SHK'da Bcl-XL, tümör invazyonu ve metastazla korele bulunmuştur. Dil yerleşimli SHK'da pro-apoptotik Bax proteininin azalmış ekspresyonu kötü prognozla, düşük Bcl-2 ekspresyonu da olumlu klinik gidişle korele bulunmuştur. Oral SHK'da anti-apoptotik BAG-1 ekspresyonu nodal metastazla ilişkili bulunmuştur.

Bcl-2 ve Bcl-XL proteinlerine ek olarak “*survivin*” proteini de apoptozu inhibe ederek etki gösterir. Survivin hem SHK'da hem de prekürsör lezyonlarda eksprese edilir. Agresif tümör fenotipi ile koreledir.

Melanocortin reseptör 1'i kodlayan MC1R isimli gen melanogenezise katılır. Melanocortin reseptör 1 deri pigmentasyonu ve saç renginin majör belirleyicisidir. Bu gen yüksek derecede polimorfiktir. 20'den fazla varyantı tanımlanmıştır. MC1R alellerinin birkaç varyantı deri tipi ve saç renginden bağımsız olarak artmış SHK riski ile ilişkilidir.

### 2.2.5. Klinik Bulgular

Beyaz ırkta SHK daha çok baş, boyun, el dorsalleri gibi güneş gören bölgelerde yerleşir. Siyahlarda güneş gören ve görmeyen alanlar eşit tutulur. Tipik olarak prekürsör bir lezyondan gelişen soliter tümörlerdir. Vücuttaki değişik bölgelerin tutulma oranları; baş-boyun: %55, el sırtı-ön kol: %18, bacaklar: %13, omuz-sırt: %4, göğüs-karın: %4, kol: %3 ve nadiren de genital bölgede olarak bilinmektedir (90).

Sıklıkla deri renginde veya eritematöz keratotik papül/plak şeklinde izlenir fakat pigmente de olabilir. Ülser, düz nodül ya da kalın bir kutanöz boynuz şeklinde klinik görünümleri de vardır.

Genital ve periungal SHK nadir görülür ve insan papilloma virüs (HPV) ile ilişkilidir. SHK verrüköz görünümde ya da periungal lokalizasyonda ise abse ile birlikte olabilir. Lezyon sınırları belirsizdir. BHK tersine lezyonlar kısa sürede, hızlı gelişme gösterirler. Hızlı büyüme ile lezyonda bazen yumuşama, alt dokuya invazyon nedeniyle fiksasyon, ülserasyon ve nekroz gelişebilir. Genellikle asemptomatik olan lezyon bazen ağrılı ya da kaşıntılı olabilir.

SHK klinik görünümü lezyon tipi ve yerleşim yerine göre değişir.

#### Klinik varyantlar

1. **İn situ SHK:** '*Bowen hastalığı*' olarak da bilinir. İyi sınırlı, skuamlı yama ya da plaktır. Lezyonlar sıklıkla eritematözdür ancak deri renginde ya da pigmente de olabilir. Yavaş büyüme özelliğinde olan in situ SHK sıklıkla asemptomatiktir. Penis bölgesinin in situ SHK'sı '*Queyrat eritroplazisi*' olarak bilinir. Bu lezyonlar iyi sınırlı, kadifemsi, kırmızı renkli plaklardır. Hastalarda ağrı, kanama ya da kaşıntı olabilir.
2. **İnvaziv SHK:** İnvaziv SHK'nın klinik görünümü sıklıkla tümör farklılaşma düzeyi ile koreledir.

İyi diferansiye lezyonlar genellikle endure ya da sert kıvamlı, hiperkeratotik papül, plak ya da nodüldür. Lezyonlar genellikle 0.5-1.5 cm çapındadır. Lezyonlarda ülserasyon olabilir.

Kötü diferansiye lezyonlarda genellikle hiperkeratoz bulunmaz, yumuşak, granülatöz papül ya da nodüllerdir. Lezyonlarda ülserasyon, hemoraji veya nekroz alanları olabilir.

İnvaziv SHK sıklıkla asemptomatiktir, fakat ağrı ya da kaşıntı olabilir. Uyuşma, batma, yanma, parestezi, paralizi gibi lokal nörolojik semptomlar histolojik olarak perinöral invazyonu bulunan hastaların üçte birinde izlenir. Perinöral invazyon kötü prognoz göstergesidir.

- 3. Oral SHK:** Sıklıkla oral kavitede ülser ya da endure plak şeklinde izlenir. En sık ağız tabanı ve dil ventral ve lateral bölgelerinde izlenir.

Risk faktörleri; uzun süreli sigara içme, tütün çiğneme, alkol kullanımı olarak bilinmektedir. Erkeklerde daha sık görülür. Genellikle asemptomatik eritroplaki zemininde gelişmekle birlikte, lökoplaki ve liken planus öncül lezyonlar olabilir.

Dudak üzerinde yoğun güneş maruziyeti nedeniyle SHK sık görülür. Özellikle alt dudakta yerleşir. Genellikle hafif kabalaşmış, skuamlı ve fissüre aktinik keilit ve lökoplaki zemininden gelişir. Lezyonlar nodül, ülser veya endure beyaz plaklar şeklinde izlenir. Tümöral evreye geçişte vermilion sınırı belirsizleşir. Ağrı ve duyu değişikliği perinöral invazyon işareti olabilir.

- 4. Keratoakantoma:** Klinik olarak keratositik epitelyal tümörlerdir ve histolojik olarak SHK'a benzer. Keratoakantomun SHK'nın iyi diferansiye bir alt tipi olduğu veya ayrı bir antite olup olmadığı tartışmalı bir konudur.



Genellikle aktinik hasarlı deride izlenir. Lezyonlar tipik olarak hızlı büyüyen, birkaç hafta içinde gelişen, kubbe veya krater şeklinde, merkezinde keratotik tıkcacın olduğu nodüllerdir.

**5. Verrüköz Karsinom:** Düşük dereceli skuamöz hücreli karsinomdur. Başlangıçta ekzofitik, verrüköz bir tümör şeklindedir, doku içinde derinlere penetre olabilir. 3 majör formu tanımlanmıştır:

**a. Oral kavitenin verrüköz karsinomu:** Oral florid papillomatozis olarak da adlandırılır. Beyaz, karnıbahar benzeri lezyondur.

**b. Genitoanal bölgenin verrüköz karsinomu:** Buschke ve Loewenstein'in dev kondiloma aküminatumu olarak da adlandırılır. En sık glans penis yerleşimli papillamatöz proliferasyon şeklinde görülür. Üretraya penetrasyon gösterebilir. Kadınlarda vulvada ve anal bölgede de ortaya çıkabilir.

**c. Plantar verrüköz karsinom:** “*Epitelyoma künikulatum*” olarak da adlandırılır. Başlangıçta iyileşmeyen plantar verrü şeklinde izlenir. Ekzofitik kitle derinlere doğru büyüme eğilimi göstererek çok sayıda içi keratin veya püy dolu derin kriptler oluşturur. Tümör plantar fasiaya penetre olur, metatarsal kemikleri hasara uğratarak ayak dorsumunun derisini invaze edebilir.

Çoğu lezyonda in situ hibridizasyon yöntemi ile HPV genomları tip 1, 2, 11, 16 ve 18 saptanmıştır. Diğer potansiyel etyolojik faktörler skar ve kronik inflamasyondur. Verrüköz karsinom belirgin morbidite gösterir. Anal ve perianal lezyonlarda yaklaşık %70 tekrarlama ve %20-30 arasında değişen mortalite oranları mevcuttur. Metastazlar nadiren bildirilmiştir.

- 6. Genital SHK:** Vulvar SHK genellikle anterior labium majör bölgesinde kaşıntılı ve kanamalı bir nodül ya da erode eritemli bir plak şeklinde ortaya çıkar. Liken sklerozus et atrofikus iyi bilinen bir premalign hastalıktır. Serviks SHK genellikle HPV 16 ve 18 ile ilişkilidir. Skrotum SHK verrüköz lezyonlar ile ortaya çıkar. Penil SHK, genellikle kötü hijyen şartları altında, sünnet olmamış erkeklerde görülür. Fimozis, kondiloma aküminata ve liken sklerozus varlığı SHK gelişimine zemin hazırlar. Spesifik bir prekanseröz lezyon olan Queyrat eritroplazisi, kırmızı kadifemsi plaklarla karakterizedir.
- 7. Skar zemininde gelişen SHK:** Çok uzun yıllar içinde olur. En sık alt ekstremitelerde ve venöz staz zemininde gelişir. Skar dokusunun sertliğinden dolayı nodularite gelişimi hissedilemeyebilir. Kronik sinüslerde ise nodül olmayabilir. Bu nedenle ağrı, akıntı, kanama gibi bulgular iyi değerlendirilip, erken tanı sağlanmalıdır.

#### **2.2.6. Tanı**

SHK tanısında altın standart deri biyopsisidir. İnatçı, hızlı büyüyen ve iyileşme göstermeyen her deri lezyonundan özellikle güneş gören bir alanda ise mutlaka biyopsi yapılmalıdır. Biyopsinin yeterli derinlikte olması, in situ-invaziv karsinom ayrımı açısından çok önemlidir. Deriden kabarık lezyonlarda tümörün tüm yapısının görülmesi tanı için önemli olduğundan total eksizyon tercih edilmelidir.

#### **2.2.7. Histopatoloji**

İnvaziv SHK'nın temel histopatolojik göstergesi bazal membran boyunca ve dermise doğru yayılan atipik keratinositlerin bulunmasıdır. Tümör hücreleri üzerinde sağlam bir epidermis olması kesin olmamakla birlikte metastatik SHK'yı akla getirmelidir. Her olguda öncül lezyon hakkındaki ipuçlarının aranması önemlidir. Örneğin tümör sınırında solar elastoz ve keratinosit atipisi görülmesi SHK'nın aktinik kaynaklı olduğunu, çevrede skar dokusu görülmesi rekürren veya skar kaynaklı SHK'yı düşündürür.

Bu ipuçları tedavi seçiminde ve prognoz belirlemede önemlidir. Tümör tekli hücrelerden, yuva yapmış hücre kümelerinden ya da tek bir kitleden oluşabilir. Dermis invazyonu geniş bir alanda veya mikroinvazyonlar şeklinde olabilir. İnvaziv tümörler genellikle dermise sınırlıdır ve subkutan tutulum görülmez.

Atipik hücre oranı oldukça değişken olabilir. Atipik hücreler; artmış mitoz, düzensiz mitotik figürler, nükleer hiperkromazi ve hücreler arası bağ kaybı gösterirler. Skuamöz ayrılaşmasını tamamlayabilmiş hücreler keratinize odaklar halinde görülür ve “*boynuz incileri*” olarak adlandırılırlar. Ayrılaşma kaybı keratin sentezinin azalması ile sonuçlanır.

İyi diferansiye SHK genellikle AK ile uyumlu epidermal değişiklikler üzerinde ortaya çıkar. Nükleolus belirgin olabilir. Keratin incileri ve apoptotik hücreler ile desmozomlar sıklıkla belirgindir. Nükleer atipinin derecesi ve hücreler arası farklılaşma tümörler arasında ve kendi içlerinde değişir. Sitoplazmanın pembe görünümü yüksek moleküler ağırlıklı keratinden kaynaklanır. İnvazyon dermis içinde değişen seviyelerde serbest uzanan ayrılmış tümör adaları olarak görülür. Kötü diferansiye SHK’lar progresyon gösterir ve belirgin keratinizasyon olmaksızın oldukça infiltratif işi hücreleri tümörün özellikleri ile örtüşür. Perinöral infiltrasyon ve sklerotik stromal değişiklik bu formlarda daha belirgin hale gelir.

İnvaziv SHK’nın çeşitli varyantları tanımlanmıştır

### **1. Berrak Hücreli SHK**

En sık baş-boyunda görülen nadir bir tümördür. Sıklıkla ileri yaşta ve erkeklerde saptanır. Tipik skuamöz tümörlerde berrak hücreler odak halinde görülebileceği gibi bu hücreler lezyonun çoğunu da oluşturabilir. Berrak hücreler sıklıkla glikojen birikimine bağlı olarak gelişir ancak hidropik dejenerasyon sonucu da meydana gelebilirler. Taşlı yüzük hücreli görünüm çok nadiren izlenir ve bu durum taşlı yüzük hücreli skuamöz hücreli karsinom olarak adlandırılır.

## 2. İğsi Hücreli SHK

Genellikle aktinik hasarlı deride gelişir. Çoğunlukla saçlı deri ve yüz yerleşimlidir. İyi prognozla ilişkili olup sık olmayarak tekrarlar ve nadiren metastaz yapar. Klinikte genellikle 1-2 cm çapında sıklıkla ülser nodül şeklindedir. Skuamöz tümör içinde iğsi hücreli alanlar vardır. Diskeratoz veya intersellüler köprülerin görülmesi tanıda yardımcıdır. İmmünohistokimyasal çalışmalarda sıklıkla keratin ve EMA ekspresyonu en azından fokal alanda saptanabilir.

## 3. Desmoplastik SHK

İnvaziv tümörlerin % 7'sini oluşturur. Artmış lokal tekrarlama ve metastaz oranları ile karakterizedir. İleri yaşta, özellikle erkeklerde görülür. En sık kulak yerleşimlidir. Histolojik olarak bu varyant yoğun desmoplastik stromal reaksiyon içinde yuvalar ve kordonlar şeklinde gelişim gösterir. Sellüler pleomorfizm ve perinöral invazyon sık saptanan bulgulardır.

## 4. Akantolitik SHK

Sık görülmeyen bir tümördür. Sıklıkla ülser ve nodüler yapıda olup genellikle baş-boyun yerleşimlidir. Yüksek mortalite ve morbidite ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Histolojik olarak psödoglandüler komponenti olan SHK görünümündedir. Glandüler odaklar aslında belirgin akantoliz sonucu gelişmiştir. Akantolitik SHK pansitokeratin ve EMA ile pozitif boyanırken CEA ile boyanma saptanmaz.

### 2.2.8. Evreleme ve Prognoz

Histolojik evreleme hücresel ayrılaşma düzeyine göre yapılmaktadır. Histolojik olarak düşük evre tümörler; hücreler arası bağları korunmuş, keratin üretimi mevcut, olgun keratinositlere benzeyen tek tip hücrelerden oluşur. Yüksek evre SHK'lar ise intersellüler köprü ve keratin üretimi kaybı gösteren atipik hücrelerden oluşur. Ayrıca komşuluğundaki stroma ile ayırım kaybolmuştur. Histolojik evrelemede farklılaşmamış hücrelerin oranını esas alan Broder sınıflaması kullanılmaktadır.

Buna göre farklılaşmamış hücre oranı %25'ten az ve keratinizasyon mevcut ise Evre 1, %50'ye kadar Evre 2, %75'e kadar Evre 3, %75 ve üzeri ise Evre 4 olarak kabul görmektedir.

Ayrıca Evre 4'te atipi ve interselüler köprülerin kaybı görülmektedir. Evreye ek olarak histopatoloji raporunda mutlaka penetrasyon derinliği, tümör kalınlığı, kıl folikül tutulumu, perinöral invazyon varlığı ve saptanmış ise öncül lezyona ait bilgi bulunmalıdır.

Prognozu etkileyen faktörler; diferansiyasyon derecesi, yerleşim, tümör büyüklüğü, tümör derinliği, perinöral invazyon, hızlı büyüme, rekürrens ve metastaz olarak bilinmektedir.

### **2.2.9. Ayırıcı Tanı**

SHK ayırıcı tanı listesi çok kalabalık olmasına karşın lezyon morfolojisine dayanılarak liste daraltılabilir.

Verrüköz ve skuamlı lezyonların ayırıcı tanısında; verrü, seboreik keratoz, aktinik keratoz, BHK, Bowen hastalığı, melanositik nevüs, melanom, piyojenik granülom, ekrin poroma, derin mikozlar, atipik fibroksantom ve Merkel hücreli karsinom bulunmaktadır.

Pigmentli lezyonlar melanomdan, ülserle lezyonlar ise travma, BHK ve Herpes virüs enfeksiyonlarından ayrılmalıdır.

Histolojik olarak iyi differansiye SHK; verruka vulgaris, inverted foliküler keratoz ve reaktif epidermal hiperplaziden ayırt edilmelidir.

Reaktif epidermal hiperplazi; travma, mantar enfeksiyonu sonrası, bromoderma, iyododerma lezyonlarında görülür. Bu lezyonlarda keratinositler iyi ayrımlaşmıştır.

Kötü diferansiye SHK, melanom, fibrosarkom ve Merkel hücreli karsinomdan ayrılmalıdır. Bu tip durumlarda belli sitokeratinlere karşı yapılan immunohistokimyasal boyalar tanıda yardımcıdır.

Melanoma özgül S-100, atipik fibroksantoma özgül CD-68, leiomyosarkoma özgül düz kas vimentin ve aktin boyaları ayırıcı tanıda çok önemlidir.

### 2.2.10. Tedavi

Tedavi seçimi tümörün rekürrens ve metastaz riskine göre planlanmalıdır. Elektrokoter, kriyoterapi, küretaj, CO<sub>2</sub> lazer, intralezyonel kemoterapi ve fotodinamik terapi yüzeysel tedavi yöntemleridir ve histolojik sınır kontrolüne olanak tanımazlar. Bu nedenle invaziv SHK tedavisi için uygun yöntemler değildirler.

Küçük primer SHK tedavisinde klasik cerrahi ilk seçenek olmalıdır. Düşük riskli lezyonlarda ve tümör kalınlığı <2mm ise 4mm sağlam deri ile eksizyon önerilir. Tümör >1cm ve kalınlığı >6mm ise Mohs cerrahisi önerilir.

Mohs mikrocerrahisinin özellikle tercih edildiği durumlar; başlıca göz ve kulak çevresi tümörleri, rekürren veya büyük tümörler, klinik sınırı belirsiz tümörler, sağlam doku korunmasının önemli olduğu burun ucu, dudak, göz kapağı, kulak ve genital bölge tümörleri, derin, infiltrate ve alt dokuları invaze etmiş tümörler, radyasyon maruziyeti zemininde gelişen tümörler, yüksek rekürrens bölgeleri, immünsüpresyon altındaki hastalar, verrüköz karsinomlar ve skar zemininde gelişen tümörlerdir.

Radyasyon tedavisi yüzeysel invaziv ve orta riskli lezyonlarda adjuvan tedavi olarak seçilebilir. Özellikle eksizyon sonrası mikroskopik tümör kalıntılarını ve metastaz riskini azaltmak açısından önerilmektedir. Cerrahi eksizyona uygun olmayan perinöral invazyonlu SHK hastalarında palyatif tedavi olarak uygulanabilir. Nüks oranları bir çalışmada; Mohs cerrahisinde %3.1, elektrokoter ve küretaj tedavisinde %3.7, klasik cerrahi eksizyonda %8.1, radyoterapide ise %10 olarak bildirilmiştir.

Koter ve küretajdaki düşük rekürrens oranlarının bu yüzeysel tedavilerin daha çok ufak ve risksiz lezyonlarda tercih edilmesinden kaynaklandığı yorumu yapılmıştır. Mohs mikrocerrahisi pek çok çalışmada tam iyileşme ve rekürrens oranlarında diğer tedavi yöntemlerinden anlamlı düzeyde daha iyi bulunmuştur.

Metastatik SHK seyrinde 5 yıllık sağ kalım oranı %27'dir. Klasik tedavilere dirençli yüksek riskli lezyonlarda sistemik 5-FU kullanılmıştır. Retinoidler, interferon ve beta karoten kullanımı değişken sonuçlar vermiştir. İleri evre hastalarda gerektiğinde sentinel lenfadenektomi veya radikal lenf nodu diseksiyonunda uygulanabilmektedir. SHK tanısı alan hastalar ikinci SHK ve BHK gelişimi açısından yüksek risk grubunda oldukları için sıkı takip edilmelidir. Hastalığın şiddet ve evresine göre 3-12 ay arasında bir sıklıkta kontrol edilmelidir.

### **2.2.11. Koruyucu Önlemler**

SHK gelişimini engellemede en önemli yöntem güneşten korunmadır. Karsinojen etkisi bilinen HPV enfeksiyonundan korunmada kondom kullanımı ve uygulanmasına yeni başlanan HPV aşuların yaptırılması bu riski azaltacaktır. Alkol ve sigara kullanımının azaltılması oral SHK gelişim riskini azaltır. Retinoid ve interferon kullanımının SHK gelişim riskini azalttığı düşünülmektedir.

### **2.2.12. Nüks ve Metastaz**

SHK metastazları genellikle ilk tanıdan 1-3 yıl sonra lokal lenf nodlarına olmaktadır. Pek çok olguda metastaz lokal nüksü takiben ortaya çıkmaktadır. Yani lokal nüksün kendisinde metastaz riskini arttırmaktadır. Metastaz gelişme oranı % 0.5-6 arasındadır. Nüks ve metastaz açısından yüksek risk taşıyan SHK'nın bazı ortak özellikleri mevcuttur. Bunlar; Tümör çapı (>2cm); Derinlik (>4mm ve Clark seviyesi 4 veya 5); Derin doku invazyonu (kas, kemik veya sinir); Anatomik bölge (kulak ve dudak); Öncül lezyon (skar dokusu); Broders evresi 3-4; Hastada immunsupresyon ve inflamatuvar infiltratın olmamasıdır.

## **2.3. AKTİNİK KERATOZ**

### **2.3.1. Giriş**

Aktinik keratoz (AK) atipik epidermal keratinositlerin proliferasyonu ile oluşan kutanöz lezyondur. SHK için öncü lezyon olan AK insanlardaki en yaygın prekanseröz lezyondur (91). Sıklıkla eritemli ve skuamlı makül ya da papül olarak klinik verir, lezyonlar en sık açık ten renkli kişilerde izlenir. Lezyonlar sıklıkla güneş gören alanlarda yerleşir ve gelişiminde majör risk faktörü kronik güneş maruziyetidir. (92, 93).

AK ilk olarak 1826'da Dubreuilh tarafından tanımlanmıştır, ancak SHK için prekürsör olduğunun anlaşılması bir yüzyıldan fazla sürmüştür.

### **2.3.2. Epidemiyoloji**

Amerika'da AK dermatologlara en sık başvuru nedenlerinden biridir (94-96). 1990-1999 yılları arasında Dermatoloji bölümlerine başvuru nedenlerinin %14'ü AK ile ilişkili bulunmuştur (91, 94, 96). Bu oran kuzey yarımkürede %11-25, Avusturalya'da %40-60 olarak saptanmıştır (91, 96, 97).

AK 50 yaş üstü bireylerde sık karşılaşılan bir durumdur. Son on yılda AK insidansında belirgin artış saptanmıştır. Güney Kore'de yapılmış bir çalışmada 1991-2006 yılları arasında AK insidansında 2.14 kat artış olduğu bildirilmiştir (98).

### **2.3.3. Etyoloji ve Risk faktörleri**

#### **1. UV maruziyeti**

UV ışınlarının epidermal keratinositlerin uzun ömürlü olması ve çoğalmasını sağlayacak mutasyonlara neden olarak AK gelişimine neden olduğu düşünülmektedir (99). AK'lu hastaların lezyonel derisinde, hücre siklus regülasyonu, apoptoz ve DNA onarımı gibi görevleri olan p53 tümör süpresör gen mutasyonu saptanmıştır (100).



Çiftçiler ya da dış ortamda çalışılan meslek gruplarındaki gibi yoğun güneş maruziyeti olan kişilerde, güneş yanığı öyküsü olanlarda AK riski daha yüksektir (101, 102). Güneşten koruyucu ürün kullanımının AK riskini anlamlı ölçüde azalttığı hatta spontan remisyonlara neden olduğu bildirilmiştir (103, 104).

## **2. Deri fenotipi**

Deri rengi AK için önemli bir risk faktörüdür. Cilt tipi Fitzpatrick 1-2 olan kişilerde, 60 yaş sonrası %80 oranında bir ya da daha çok sayıda AK oluşumu izlenir (91, 101, 102, 105). AK için rölatif risk açık cilt rengine sahip kişilerde koyu renkli insanlardan 14.1 kat daha fazladır (106). Epidermal melanin UV ışınlarını absorbe eder ve keratinositleri UV hasarından korur. Bu durum koyu cilt rengine sahip insanlarda AK riskini azaltır.

Saçsız kafa derisi erkeklerde AK için ortak bir tutulum alanıdır ve lezyon gelişiminde bir risk faktörüdür. Hollanda'da 50 yaşın üstündeki 2061 kadın ve erkek birey ile yapılan toplum kökenli bir kohort çalışmasında ciddi kelliği olan kişilerde, normal saçlı ya da minimal kelliği olan kişilere göre AK riskinde belirgin artış saptanmıştır (107).

## **3. Yaş, cinsiyet, yaşanılan yer**

AK ileri yaşta ve erkeklerde belirgin olarak daha sık görülür (102). Yaşla birlikte kümülatif güneş maruziyetinin artması AK oluşumunda rol oynar.

AK gelişiminde ekvator bölgesinde yaşayanlarda belirgin risk artışı izlenir. Örneğin 40 yaş üstü bireylerde AK prevalansı Avusturalya'da %60 iken bu oran İngiltere'de erkeklerde %15.4, kadınlarda %5.9 olarak bildirilmiştir (108).

## **4. Genetik bozukluklar**

AK ile ilişkisi olduğu düşünülen genetik bozukluklar kseroderma pigmentozum, Bloom sendromu, Rothmund-Thompson sendromu gibi UV maruziyetinin yarattığı DNA hasarının onarımında yetersizlik ile seyreden hastalıklardır.

## 5. HPV enfeksiyonu

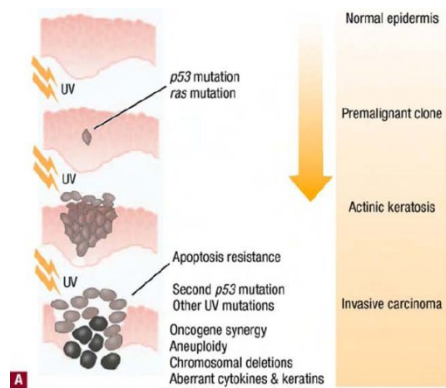
Yapılan çalışmalarda AK, SKH ve BHK'da insan papilloma virüsleri saptanmıştır (105, 109-113). Ancak HPV normal deride de saptanabildiğinden etyolojideki önemi hala bilinmemektedir (105, 110). Diğer risk faktörleri ile HPV varlığı kombine olduğunda AK riskinin arttığı düşünülür.

## 6. İmmünsüpresyon

SHK için önemli bir risk faktörü olan immünsüpresyon AK riskini de artırır (114, 115). Transplantasyon sonrası AK gelişen tüm hastalarda yoğun güneş maruziyeti öyküsü bulunur.

### 2.3.4. Patogenez

AK, SHK'nın öncü lezyonu olduğundan patogenezleri genel olarak ortaktır. Kronik UV maruziyeti hücresel DNA'da mutasyonlara neden olarak tümör gelişimine öncülük eder. Ayrıca immün baskılanma yoluyla tümör rejeksiyonunu önler. Normal p53 tümör baskılayıcı gene sahip olan keratinositler güneş ışığına maruz kaldığında apoptoza uğrar, mutasyona uğramış p53'ü olan keratinositlerde hücre bölünmesi devam eder. Bu durum AK gelişimine neden olur (Şekil 2.2). Mutant p53 geni olan keratinositlerde UV etkisi ile ikinci bir mutasyon oluşursa (ikinci vuruş) malign dönüşüm oluşur ve SHK gelişir. p53 gen mutasyonları AK lezyonlarının %50'den fazlasında saptanmıştır (92).

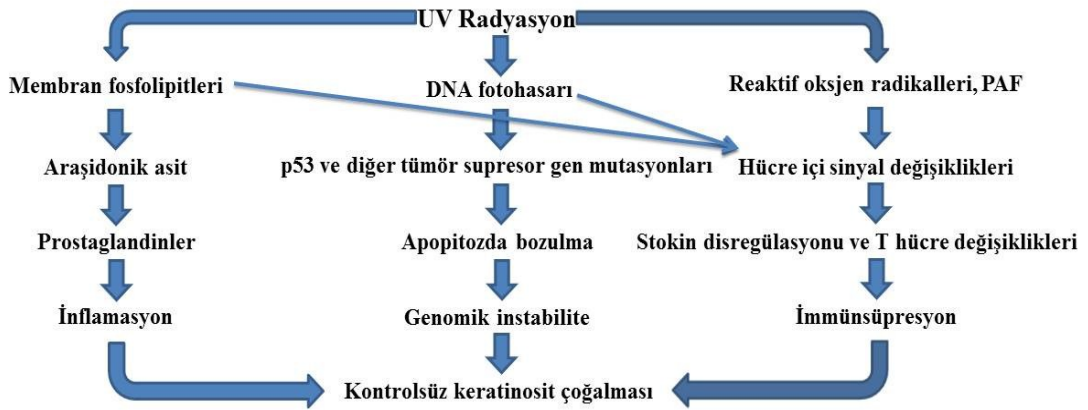


Şekil 2.2. Normal deride UV etkisi ile AK ve invaziv karsinom gelişimi

Doğal ya da tedavi amaçlı olarak UV ışınlarına uzun süreli maruziyetin deney hayvanlarında ve insanlarda kanserojen etkisinin olduğu bilinmektedir. UV etkisi ile insan derisinde pirimidin dimerlerinin olduğu in vivo olarak gösterilmiştir. Bu foto ürünler, eğer onarım mekanizmaları da bozursa DNA yıkımına ve mutasyona neden olur. DNA hasarı olan hücreler çoğalmaya devam eder ve keratinizasyonda bozulma sonucu klinik olarak deride pürüzlü bir görünüm oluşur.

UV ışınları epidermal dendritik hücrelerinin sayısını ve işlevlerini etkileyerek antijen sunma yetisini azaltır. Bu durum antijene özgü T hücrelerinin gelişimini uyaran geç tipte aşırı duyarlılığın baskılanmasına yol açar ve böylece tümör reddini engeller. UV ışınları dendritik hücre işlevlerinin düzenlenmesinde rolü olan keratinosit ve diğer inflamatuvar hücrelerin işlevlerini bozarak da etki eder (Şekil 2.3).

Siklooksijenaz enzimi (COX), araşidonik asit metabolizması yoluyla prostaglandin üretiminin hız kısıtlayıcı basamağıdır. COX-2 insanlarda primer olarak UV ışınlarına yanıt veren COX izoformudur ve UV'nin indüklediği deri inflamasyonu, immünsüpresyon ve apoptozda anahtar rol oynar. AK hastalarında COX-2 salınımının arttığı saptanmıştır. AK hastalarında %31, SHK'da %40 COX salınımı izlenir (91). Bu yüzden COX-2 inhibitörleri AK tedavisinde kullanılmaktadır (92).



**Şekil 2.3.** UV radyasyonun AK oluşturma mekanizması (92)

### 2.3.5. Klinik Bulgular

AK'nin gelişiminde en önemli risk faktörü kümülatif güneş maruziyeti olduğundan lezyonlar tipik olarak en sık yüz, boyun, göğüs, el dorsumları, omuzlar ve alopesisi olan erkeklerde saçlı deri gibi güneş maruziyetinin en yoğun olduğu bölgelere yerleşir (91, 97). Lezyonlar sıklıkla 1 cm.den küçük, yavaş büyüyen, eritemli, bazen pigmente, sarı ya da kahverengi yapışık skuamli papül ya da plaktır. Lezyon çevresinde sarı diskolorasyon ve telenjektaziler ve kronik solar hasar bulguları sık olarak bulunabilir. Lezyonlar genel olarak asemptomatiktir ancak bazı hastalarda lokal hassasiyet ya da batma hissi bulunabilir.

AK'da 5 klinik varyant tanımlanmıştır.

#### 1. Klasik AK

Klasik AK lezyonu eritemli, telenjektazik, sarı-kahverengi yapışık skuamli makül, papül veya plaktır. Lezyonlar tipik olarak birkaç mm-2 cm arasındadır. Lezyon çevresindeki deride kronik solar hasar bulguları mevcuttur.

#### 2. Hipertrofik AK

Eritematöz bir zemin üzerinde kalın, yapışık skuam varlığı ile karakterizedir. Klasik AK üzerinde gelişebilir. SHK'dan klinik olarak ayırımı zordur, lezyon üzerinde ağrı, endurasyon, ülserasyon gibi bulguların varlığı SHK lehinedir.

#### 3. Kutanöz boynuz

Deri renginde ya da eritematöz, kalın kornifiye, yüksekliği çapının en az 1.5 katı olan, diken ya da koni şeklindeki hipertrofik AK türüdür. Lezyonlar genellikle güneş maruziyeti olan bölgelere yerleşir. Çevre deri genellikle normaldir.

#### 4. Aktinik keilit

AK'un özellikle alt dudakta yerleşen varyantıdır. Genellikle alt dudakta kuruluk, kabalaşma veya skuamli alanlar şeklinde klinik verir. Fissür ve ülserasyon görülebilir.

## 5. Pigmente AK

Hiperpigmente, skuamlı makül ya da plaktır. Bazı vakalarda 1.5 cm genişliğe kadar ulaşabilir. Lentigo malignadan ayırıcı tanısı önemlidir. Ayırıcı tanıda dermoskopi önemli rol oynar.

### 2.3.6. Ayırıcı Tanı

AK tanısı sıklıkla klinik olarak konur. Çoğu eritemli maküler AK lezyonu palpasyonla hissedilen kabalaşma özelliği ile kolaylıkla tanınır. Klinik bulgular eşliğinde %74-94 doğru tanı konur (97).

Kesin tanı için belirlenmiş patognomonik kriterler yoktur. Ancak in vivo konfokal reflektans mikroskopisi ile histolojik tanıya yakın bir doğrulukta tanı koyulabilmektedir (116, 117).

Bazı otörler lezyonları kliniklerine göre 3 evreye ayırmaktadırlar: evre 1: görünür ve hafifçe palpe edilebilir, evre 2: görünür ve palpe edilebilir, evre 3: açıkça görünür ve hiperkeratotik lezyon

AK tanısı için biyopsi tercih edilen bir yöntem değildir. Ancak malignensi şüphesi olduğunda ve ayırıcı tanıda histopatolojik inceleme önemlidir.

Ayırıcı tanıda klinik varyantlara göre değişiklik gösterse de genel olarak SHK, seboreik keratoz, stucco keratozu, Bowen hastalığı akla gelmelidir. Ayrıca klasik eritematöz tip benign likenoid keratoz, yüzeysel BHK, diskoid lupus eritematosus (DLE) ve porokeratozlardan, hipertrofik tip viral siğil, DLE, keratoakantom gibi durumlardan, pigmente AK solar lentigo ve lentigo malignadan, kutanöz horn ise viral siğilden ayırt edilmelidir.

### 2.3.7. Histopatoloji

AK hastalarında biyopsi genellikle tanıyı doğrulamak için tercih edilir. Lezyon çapı 1 cm.den büyük, endure, hızlı büyüme özelliğinde, ülsere, hassas lezyonlarda, tedaviye cevap vermeyen olgularda SHK'yı dışlamak için biyopsi gerekebilir.

Histopatolojik bulgular klinik varyantlara ve lezyon karakteristiklerine göre değişir. Ortak histopatolojik bulgu epidermise sınırlı atipik keratinosit proliferasyonudur.

Atipik keratinositler büyük hiperkromatik ve pleomorfik nükleuslu ve soluk veya vakuolize eozinofilik sitoplazmalıdır. Tipik olarak inter-adneksiyal epidermis tutulmuş, kıl folikülü çevresindeki epidermis ve ekrin duktuslar korunmuştur. Bu durum sağlıklı epidermis ve atipik keratinositlerden oluşan interadneksiyal epiderminin birbirini takip ettiği hiperkeratoz ve parakeratoz alanlarının, şerit şeklinde histolojik görünüm oluşturmalarına neden olur. Dermiste sıklıkla solar elastoz ve lenfositik infiltrasyon bulunur.

Histopatolojik incelemede AK 6 tipe ayrılır: hipertrofik, atrofik, bowenoid, akantolitik, likenoid ve pigmente tipler. Histolojik tiplerin karakteristik özellikleri örtüşebilir (91). Bu durumda histolojik tipi daha baskın olan varyant belirler.

Hipertrofik tipte epiderminin bazı alanlarında hiperkeratoza bağlı kalınlaşma, üst epidermiste düzensiz proliferasyon izlenir.

Atrofik tip AK'da bazal tabakada epidermal atrofi ve orta derecede hiperkeratoz atipik hücrelere eşlik eder.

Bowenoid tip AK'da atipi tüm epidermis boyunca uzanır. Bowen hastalığından farklı olarak foliküler kılıf epiteli tutulmaz.

Akantolitik tipte interselüler boşluklar ve atipik keratinositler izlenir.

Likenoid tip bazal membran zonunda bant tarzı infiltrasyon ile karakterizedir.

Pigmente tip AK'da özellikle bazal hücrelerde melanin artışı ve dermiste melanofaj konsantrasyonunda artma izlenir.

### **2.3.8. Seyir ve prognoz**

Derinin in situ karsinomu olarak kabul edilen AK'dan invaziv SHK gelişim riski değişik kaynaklarda %0.025-20 arasında bildirilmiştir (118-120). SHK'ların yaklaşık %20-65'i önceden var olan AK'lardan kaynaklanır (120, 121). Endurasyonu ve inflamasyonu artmış, çapı 1 cm.den daha büyük, hızlı büyüyen, kanama, eritem ve ülserasyon izlenen lezyonlarda malignensi riski artmıştır.

AK'ların BHK'a progresyonu bir yılda %0.5, dört yılda %1.6 olarak bildirilmiş olmasına rağmen (120), bu oranın gerçek bir progresyon mu, AK olarak yanlış tanı alan erken BHK lezyonu mu olduğu tam olarak aydınlatılamamıştır.

AK'ların çoğu SHK'a ilerlemeden sebat eder ya da spontan regülasyona uğrar (40, 120). Yapılmış olan bir kohort çalışmasında tedavisiz AK'ların %55'inin 1 yıl içinde, %70'inin 5 yılda spontan regresyona uğradığı saptanmıştır (120).

### 2.3.9. Tedavi

AK tedavisi lezyonların SHK'ya dönüşüm riski nedeniyle önemlidir. Tedavi seçenekleri kriyoterapi, cerrahi, dermabrazyon gibi destrüktif yöntemler, 5-florourasil, imikimod, diklofenak gibi topikal tedavi yöntemleri, kimyasal soyma (trikloroasetik asit) yöntemleri ve fotodinamik tedavidir. Tedavi seçilirken lezyon sayısı ve dağılımı, lezyonun karakteristikleri ve hastanın tercihi göz önünde bulundurulmalıdır. Tüm hastalara efektif olarak güneşten korunma önerilmelidir.

Genel olarak tek bir lezyonda kriyoterapi ve cerrahi gibi lezyon hedefli tedaviler ilk seçenektir (122, 123). Çok sayıda lezyonu olan hastalarda topikal 5-florourasil, imikimod, diklofenak, fotodinamik tedavi gibi alana yönelik tedaviler tercih edilir.

Kriyoterapi tedavide en sık tercih edilen yöntemdir. İnce lezyonlarda çok etkilidir, ancak kalın, hiperkeratotik lezyonlarda daha az efektiftir (123). Sıvı nitrojen deriye uygulandığında tedavi edilen alanın sıcaklığı  $-50^{\circ}\text{C}$ 'ye iner ve atipik keratinositler destrükte olur. Yüksek etkinlik için lezyonda yeterli donma olmalı ve bazal membranda ayrışma ile bül oluşumu gerçekleşmelidir. Agresif uygulanan kriyoterapide hipopigmentasyon ve skar riski vardır.

Küretaj ve elektrosikasyon daha büyük ve hiperkeratotik lezyonlarda tercih edilir. Ancak bu yöntemlerde lokal anestezi gerekir ve skar kalma riski vardır. Küretaj hiperkeratotik lezyonları kriyoterapiden önce debride etmek için uygulanabilir. İşlem sonrasında ise elektrokoterizasyon ile hemostaz ve kalan atipik hücrelerin destrüksiyonu sağlanabilir.

5-florourasil (5-FU) DNA sentezinde görevli bir enzim olan timidilat sentetazı inhibe eder. Böylece özellikle hızlı bölünen displastik hücrelerde hücre çoğalmasını önler

ve hücre ölümüne neden olur. Topikal 5-FU multipl AK' u olan hastaların tedavisinde etkili bir ajandır. Lezyonlarda inflamasyon ve destrüksiyona neden olur. İnflamasyon 5-FU kesildikten 2 hafta sonra azalmaya başlar. 2-4 hafta süren aktif tedavide genellikle lezyonlu deride gelişen eritem, bül, nekroz, erozyon ve re-epitelizasyon süreci 4-6 hafta sürer. Tedavi başarısı %75-90 olarak bildirilmiştir.

İmikimod %5 krem lokal sitokin indüksiyonu sağlayan topikal immün cevap düzenleyicidir. 2004 yılında yurt dışında AK tedavisinde FDA onayı almıştır. Tedavide günde 2 kez 16 hafta kullanımı önerilmiştir. Tedaviden 1-2 hafta sonra lokal eritem, kabuklanma, erozyon, ülserasyon olabilir (124).

Tedavide kullanılan bir diğer topikal ilaç olan diklofenak krem siklooksijenaz inhibisyonu ve araşidonik asit kaskad up-regülasyonu yapan steroid dışı anti inflamatuardır. Araşidonik asitten prostaglandinlerin üretimi UVB ilişkili deri kanseri oluşumu patogenezinde rol oynar, bu durum siklooksijenaz inhibitörlerinin AK tedavisindeki etkinliğini açıklar. Tedavi sırasında uygulama bölgesinde deri kuruluğu, kaşıntı, eritem ve döküntü oluşabilir.

Fotodinamik tedavi AK lezyonu üzerine fotosensitizan bir madde olan aminolevulinik asit uygulandıktan sonra belli dalga boyunda ışık uygulanması ile hücre ölümü yaratılan bir tedavi yöntemidir. Tek uygulama ile %88 başarı sağlanır. Hipertrofik AK'da etkili değildir. İnce ve çok sayıda olan lezyonlarda tercih edilir. Tedavi ile ödem, ağrı, yanık, ülserasyon ve hipo ya da hiperpigmentasyon oluşabilir.

AK tedavisinde kullanılan diğer tedaviler dermabrazyon, kimyasal soyma ve topikal retinoidlerdir. Shave eksizyon şüpheli lezyonların histopatolojik olarak incelenmesini olanaklı kılar.

### **2.3.10. Korunma**

AK'dan korunmada en önemli basamak özellikle çocukluk ve adolesan dönemde etkili bir şekilde güneş maruziyeti ve güneşe bağlı oluşan yanıklardan korunmadır. Uzun süreli retinoid kullanımının AK riskini azalttığı saptanmıştır. Bu nedenle AK tedavisinden sonra koruyucu amaçlı topikal retinoidler kullanılabilir.



## 2.4. DÜZENLEYİCİ (REGÜLATUAR) T HÜCRELERİ (Treg HÜCRELERİ) VE DENDRİTİK HÜCRELER

İmmün sistemin önemli komponentleri olan lenfositler çaplarına göre küçük, orta ve büyük olmak üzere 3 tipe ayrılır. Küçük tip lenfositler T ve B lenfosit alt gruplarına ayrılır. T ve B lenfositlerin gelişimi ve fonksiyonları birbirlerinden farklıdır. Morfolojik olarak ayırtedilemeyen bu hücreler belirleyici yüzey belirteçlerine karşı immünohistokimyasal boyamalar yapılarak ayrılabilir. Periferik kanda bulunan küçük lenfositlerin %80'ini T lenfositler oluşturur. 'T' kısaltması bu hücrelerin son olgunlaşma evrelerinin geçtiği organ olan timusdan gelmektedir. Etkili her immün yanıt T hücrelerinin etkinleştirilmesini içerir. Ancak T hücreleri özellikle, tümör hücrelerine ve vücut hücrelerinin içindeki patojenik organizmalara karşı savunma olan, kazanılmış hücre-aracılıklı bağışıklıkta önemlidirler.

Kemik iliğinde bulunan pluripotent kök hücreler bazı sitokinlerin etkisi ile pre-T lenfosit haline dönüşürler. Bu aşamadan sonra timus korteksine göç eden bu hücreler hızla çoğalarak ve spesifik yüzey molekülleri kazanarak (T hücre antijen reseptörü (TCR) ve yüzey farklılaşma antijenleri (CD)) antijenik uyarımlara yanıt verebilme yeteneği kazanırlar. Daha sonra timus medullasına gelen T hücrelerde özellikle CD'ler iki farklı karakter gösterir.  $CD4^+CD8^-$  yapısında olanlar yardımcı T hücreleri,  $CD4^-CD8^+$  özellik gösterenler sitotoksik T lenfositleri ismini alır. T lenfositler timusda bu gelişimlerinin yanında kendilerinden kaynaklanan ile kendilerinden kaynaklanmayan antijenik molekülleri ayırtedebilme kabiliyeti kazanarak organizmadaki tüm yapıları antijen kabul ederek saldırılarının önüne geçmiş olurlar. Kendine ait MHC moleküllerini tanıyan ve onlara karşı reaksiyon gösteren hücreler negatif seleksiyona uğrarlar. Seleksiyon sonucu timus korteksindeki immature lenfositlerin yaklaşık olarak %90'ı apoptoza uğrar. Vücuda ait MHC molekülleri ile bağlanmış olan yabancı protein yapısındaki antijenleri tanıma yeteneği kazanılmasına da pozitif seleksiyon denir. Pozitif seleksiyona uğrayan T lenfositler ise medulladan dolaşıma geçerek dalak, lenf düğümleri, Peyer plakları, tonsiller ve sekonder lenfoid organ görevi gören diğer mukoza ile ilişkili lenfoid dokulara giderek kendilerine ait bölgelere yerleşirler.

T lenfositler görevleri ve yüzey farklılaşma antijenlerine göre 3 gruba ayrılmıştır

- 1- **CD8<sup>+</sup> Sitotoksik T lenfositler:** Tümör hücrelerini ya da enfekte hücreleri yok eder.
- 2- **CD4<sup>+</sup> Yardımcı T lenfositler:** CD4<sup>+</sup> immün yanıtta aracı hücrelerdir. Etkinleştirildiklerinde, hızla çoğalıp sitokinler salarak efektör lenfosit fonksiyonunu düzenler veya yardım eder. Antijen vücuttan arındırıldığında immün yanıtı sonlandıran sitokinler salarlar.
- 3- **CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Düzenleyici T lenfositler:** Süpresör T hücreleri olarak da bilinirler. Bu hücreler bağışıklık sisteminin etkinleşmesini bastırır ve bağışıklık sistemi homeostazını korurlar. Düzenleyici T hücrelerinin uygun biçimde görev yapamamaları durumunda otoimmün hastalıklar oluşabilir.

Vücudumuzun bağışıklık sisteminin kontrolünde görev alan özel bir baskılayıcı T lenfosit grubuna dair hipotezler ilk olarak 1970'li yıllarda ortaya atılmıştır (125). Süpresör (baskılayıcı) T lenfositler olarak adlandırılan bu grup lenfositler o günlerden bu yana çok sayıda araştırmanın konusu olmuştur. Bu araştırmalar sonucunda süpresör T lenfositlerin farklı tipleri olduğu keşfedilmiştir. Bu lenfositlerden bazıları antijene spesifik lenfositler iken, bazılarının herhangi bir antijene karşı spesifitesi yoktu. Ayrıca bazı lenfositler karşılaştıkları antijene özel baskılayıcı faktörler salgılamakta, bazıları ise nonspesifik faktörler salgılamakta ve bu lenfositlerin farklı fenotipleri ve farklı süpresyon metodları bir dizi değişik zincir reaksiyonlar (kaskad) içerisinde birlikte rol almaktaydılar (126, 127). Bu dönemlerde yapılan araştırmalarda süpresör T lenfositlerin fenotipleri, Lyt-1 (CD5) ve Lyt-2 (CD8) proteinlerinin ekspresyon durumuna göre değerlendiriliyordu ve süpresör T lenfositlerin fenotipi çoğunlukla Lyt-2<sup>+</sup> olarak bulunmuştu. Baskılayıcı bu lenfosit grubunun bir kısmında ise Lyt ekspresyonunun Lyt 1<sup>+</sup>2<sup>-</sup> şeklinde olduğu gösterilmişti ve bu grup özellikle gecikmiş tip hipersensitivitenin baskılanmasında rol oynuyordu. Yine bu dönemde CD8<sup>+</sup> T lenfositlerin I-J olarak adlandırılan bir molekülünü eksprese ettiği ve bu molekülün hücrenin süpresyon fonksiyonunda önemli rol aldığı düşünülüyordu (126). Ancak moleküler biyoloji teknikleri ile fare MHC geninin detaylı incelenmesi ile I-J proteinini kodladığı düşünülen lokus bulunamamıştır (126,

128). Süpresör T lenfositlerini, diğer T lenfositlerden ayırmaya yarayacak bir biyolojik işaretin (marker) bulunamaması, bu lenfositlere olan ilginin 1980'lerin ortasında kaybolmasına neden olmuştur.

Bu araştırmalara paralel olarak giden CD4 lenfosit araştırmaları ise daha net sonuçlar vermiştir. 1969 yılında Nishikuza ve Sakakura'nın farelere uyguladıkları neonatal timektomi sonrası (NTS) overlerin destrükte olduğunu göstermişlerdir (129). Takip eden diğer çalışmalarda yetişkin farelerde yapılan timektomi sonrası, diğer organlarda da inflamasyon ve doku hasarı geliştiği bulunmuştur (130) ve ayrıca, haftalık iki doz subletal X ışınlarına maruz bırakılarak yapılan fare timektomileri sonrası, dolaşımda doku spesifik (anti tiroglobulin antikoları gibi) antikorların oluştuğu gözlenmiştir (131). Benzer protokoller uygulanarak diğer fare suşlarında tip 1 Diyabet Mellitus oluşturulabilmiştir (132, 133) ve tüm bu sonuçlara ilaveten, genetik olarak identik (syngeneic) olan hayvanlardan yapılan normal T lenfosit inokülasyonları ile her iki sistemde de hastalığın ilerlemesi durdurulabilmiştir (134, 135). Ayrıca, otoimmünite bir kere geliştikten sonra, CD<sup>4</sup> T lenfositlerinin transferi ile genetik identik diğer ratlarda otoimmün aracılı doku yıkımları olduğu görülmüştür (136).

Tüm araştırma sonuçlarından normal timusun otoimmün supresif aktiviteye sahip özel bir CD4<sup>+</sup> T lenfosit klonu ürettiği hipotezinin doğmasına yol açmıştır. Bu hipoteze göre; Normal bir timus otoimmün aktiviteyi baskılama yeteneğine sahip bir T lenfosit grubu üretmektedir. Doğumdan kısa bir süre sonra (3 gün) timektomi uygulanan farelerde otoimmün supresif CD4<sup>+</sup> T lenfositlerin üretilmesi engellenmekte, böylece timektomi öncesi üretilmiş olan otoreaktif CD4<sup>+</sup> T lenfositleri spontan olarak aktive olmaktadır. Periferde süpresif T lenfositlerin sayıca az olduğu bu durumda, otoreaktif bu lenfositler otoimmün hastalıklara yol açmaktadır. Bu hipoteze göre deney hayvanlarının periferik dolaşımında biri otoimmün reaksiyon verme yeteneğinde, diğeri ise bunu baskılama özelliğinde olan iki grup T lenfosit bulunmaktadır (136).

Doğal olarak bundan sonra gelen soru; bu iki T lenfosit alt grubunun nasıl ayırt edilebileceği idi. Yapılan çok sayıda çalışmadan sonra otoimmünitenin baskılanmasında görev alan T lenfositler ile CD25 yüzey belirteci arasında bir ilişki

olduğu gösterilmiştir (137-139). Buna göre timus; hem CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> süpresör hem de potansiyel patojenik, oto reaktif T lenfositler üretmektedir. Bu süpresör aktiviteye sahip lenfosit alt grubu; reglutar lenfositler (Treg) olarak adlandırılmıştır.

CD25'in reglutar lenfositlerin tanınmasında olduğu kadar fonksiyonlarında da çok önemli rol oynadığı takip eden çalışmalarda ortaya konmuştur (140-142). Bu çalışmalarda elde edilen sonuçlardan, IL-2'nin doğal Treg için kilit rolde bir büyüme faktörü olduğu ve CD25'in, yüksek affiniteli IL-2 reseptörünün (IL-2R) bir parçası olduğu gösterilmiştir.

Treg araştırmalarındaki ikinci dönüm noktası 2001 yılında Foxp3 fonksiyonunun keşfedilmesiyle yaşanmıştır. Foxp3 geni ilk olarak X kromozomunda bulunan tek gen mutasyonu sonucu Scufy mice'larda fatal lenfoproliferatif hastalıklara yol açması sonucu hastalık yapan gen olarak tanımlanmıştır (143). İnsan Foxp3 genindeki mutasyonların, IPEX (immune dysregulation, poliendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome) olarak bilinen, endokrin organlarda otoimmün hastalıklar (tip 1 DM ve tiroidit) ve şiddetli alerji içeren, bir hastalık tablosuna yol açtığı bildirilmiştir (144-146). Foxp3 üzerine yapılan diğer çalışmalar bu molekülün Treg gelişimi ve fonksiyonu için kritik önemde olduğunu ortaya koymuştur. 2003 yılında periferik dolaşımda bulunan CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> T lenfositlerin ve CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup> T lenfositlerin spesifik olarak Foxp3 mRNA eksprese ettikleri gösterilmiştir ve CD25<sup>-</sup>CD4<sup>+</sup> lenfositlerin aktive olmasının Foxp3 ekspresyonunun indüklenmesine yetmediği bulunmuştur (147-149). Ayrıca, Foxp3'ün retroviral olarak normal CD25<sup>-</sup>CD4<sup>+</sup> hücrelerine transdüksiyonu, bu hücreleri fenotipik ve fonksiyonel olarak Treg benzeri hücrelere dönüştürmüştür. Foxp3'e karşı monoklonal antikor geliştirilmesi ve bu antikor kullanılarak intrasellüler Foxp3 boyamalarının yapılması ile bu proteinin doğal Treg hücrelerinde çok miktarda olduğu gösterilmiştir. Foxp3 halen Treg hücreleri için en güvenilir moleküler işaretleyicidir (150).

Otoimmün hastalıklarla başlayan Treg hücre çalışmaları günümüzde karsinogeneze kadar uzanmıştır. CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> hücrelerin kanser gelişim üzerindeki etkisi günümüzde pek çok prelinik modelde gösterilmiştir (151).

Dendritik hücreler (DH) ilk olarak 19. yüzyıl sonlarında Paul Langerhans tarafından tanımlanmıştır. Bununla birlikte ilk olarak 1973 yılında Ralph M. Steinman ve Zanvil A. Cohn tarafından "dendritik hücreler" tanımı ortaya çıkarılmıştır. DH özelleşmiş antijen sunucu hücrelerdir, bağışıklık ve self tolerans mekanizmalarında rol oynarlar ve doğal ve kazanılmış bağışıklığı birbirine bağlarlar (152). DH'ler hem immün sistemin aktivasyonunda hem de oto antijenler (self-antigen) ortamda mevcut olduğunda immün toleransın gelişmesinde önemli rol oynarlar (153). Ayrıca, DH'ler timustan anerjik olarak çıkan doğal Treg'leri indükleyerek antijen spesifik Foxp3'lerin ortaya çıkmasına katkıda bulunmaktadır (154). Sakaguchi ve ark. neonatal timektomi sonrası görülen otoimmün hastalıkları araştırmışlar ve timustan köken alan ve IL-2 reseptör- $\alpha$  (CD25) eksprese eden bir CD4<sup>+</sup> T lenfosit alt grubunun immunolojik self-toleransın idamesinde rol aldığını keşfetmişlerdir (138). En çarpıcı bulguları; CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> Treg'lerin, immünize edilmemiş farelerde periferdeki CD4<sup>+</sup> T lenfosit popülasyonunun içinde bulunduğunu göstermeleri idi. Yine o dönemde, Shevach ve Sakaguchi grupları simultane olarak splenik antijenle uyarılmış farelerde CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> Treg'lerin anerjik ve T lenfosit reseptör (TCR) stimülasyonunu suprese ettiklerini bildirmişlerdir (137, 155). Bu ve benzeri bildirimler nedeniyle o zamanlar, timus kökenli doğal Treg'lerin nonproliferatif olduğu ve çoğaltılamıyacağı, bu yüzden Treg kullanılarak yapılması planlanan otoimmünite tedavilerinin imkansızla yakın olduğu düşünülüyordu.

Günümüzde Treg'ler timüs kaynaklı doğal Treg hücreler ve periferal indüklenmiş Treg hücreler olarak ikiye ayrılmıştır (156). Yapılan son çalışmalarda doğal Treg'ler ve indüklenmiş Treg'lerin fonksiyonel ve epigenetik olarak farklı olabileceği düşünülmüştür (157-159). Doğal ve indüklenmiş Treg hücrelerin isimlendirilmesinde son öneriler "timus kaynaklı Treg hücreler (t-Treg)" ve "periferal olarak indüklenen Treg hücreler (p-Treg)" şeklindeki isimlendirmedir (156). Bu iki grup Treg hücreler görünüm olarak birbirlerinden ayırt edilemez. Farelerde Nörofilin ekspresyonu doğal ve indüklenmiş Treg'leri birbirinden ayırmaktadır, fakat bu madde insanlarda gösterilememiştir. Helios isimli transkripsiyon faktörü t-Treg hücrelerin ayırımında bir belirteç olabilir (160) ancak bazı durumlarda bu protein p-Treg hücreleri tarafından da salınabilmektedir (161-163).

Yapılmış çalışmalarda DH'ler antijen sunucu hücre olarak kullanıldığında, CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> doğal Treg hücrelerinin, bu hücreler için büyüme faktörü görevi yapan eksojen IL-2 olmadan da büyüebileceği gösterilmiştir (164, 165). DH'ler ile uyarımı takiben hem periferal CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> Treg hücreler hem de timus kaynaklı CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup> T hücreler az miktarda IL-2 üretirler (164, 165). Ayrıca CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> Treg hücrelerinin büyümesi kısmen DH'ler ve IL-2'den CD86 ve CD80 ekspresyonuna bağlıdır (164).

Özelleşmiş DH alt grupları periferde doğal olarak meydana gelen Foxp3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> Treg hücrelerin (doğal Treg) büyümesinde anahtar rol oynadığı gibi Foxp3<sup>-</sup>CD4<sup>+</sup> T hücrelerinden Foxp3 ekspresyonunu da indükler (indüklenmiş Treg hücreler). Örneğin in vivo olarak anti-DH alt grup monoklonal antikolar ile yapılan çalışmalarda lenfoid organlarda bulunan DH'lerin 2 majör alt grubunun Foxp3<sup>-</sup> hücrelerden Foxp3<sup>+</sup> Treg oluşumunun indüklenmesi ve doğal Treg'lerin büyümesinde farklı olarak hareket ettikleri anlaşılmıştır (dh-1). Ayrıca intestinal dokuda DH'ler tarafından eksprese edilen CD103'ün endojen TGF- $\beta$  ve retinoik asitle birlikte Foxp3<sup>-</sup> hücrelerden Foxp3<sup>+</sup> Treg oluşumunu indükledikleri bulunmuştur. Ek olarak deri ve intestinal dokuya benzer şekilde oral kavitede de Foxp3<sup>+</sup> Treg oluşturan antijen sunucu DH'ler saptanmıştır. Deride ve deriye açılan lenf nodlarında en az altı DH alt grubu tanımlanmıştır.

### **Dendritik Hücrelerin doğal (natural) Treg'lerin çoğalmasındaki olası rolü**

Çeşitli antijen sunucu hücrelerin incelenmesi sonucu Lipopolisakkarit (LPS) ile stimüle edilmiş kemik iliği kökenli DH'ler ile komplet Freund adjuvanı ile muamele edilmiş farelerden elde edilen lenf nodu kökenli DH'lerin doğal Treg'leri en çok çoğaltan iki antijenik uyarıcı olduğu bulunmuştur (164).

Yakın zamanlarda yapılan bazı çalışmalar, DC-SIGN/CD209a<sup>+</sup> monosit kökenli DH'lerin LPS enjeksiyonu ile uyarıldığını göstermiştir. Bu hücreler derinin lenfatik drenajından primer sorumlu olan lenf bezlerinin T lenfosit bölgesinde biriktikleri görülmüştür (166). Antijen yakalanması ve efektör T lenfositlerin uyarılması için MHC sınıf I ve II'ye sunulması aşamalarında test edilen, DC-SIGN/CD209a<sup>+</sup> monosit kökenli DH'lerin lenf bezinde, orada varolan DH'ler kadar fonksiyonel

olarak aktif olduğu görülmüştür. Spesifik olarak, DC-SIGN/CD209a<sup>+</sup> hücreleri dolaşımdaki monositlerde toll-like reseptör 4, CD14 gibi aracı mekanizmalarla dönüştürülmektedir (166). Bu bulgular, özellikle DC-SIGN/CD209a<sup>+</sup> monosit kökenli DH'lerin, hem efektör hem de doğal (natural) Treg'leri, inflamasyon kontrolü amacıyla, uyararak çoğalmaya zorladıklarını düşündürmektedir. Yamazaki ve Morita; bu verilere göre, mikrobik sinyallerin DH maturasyonunu uyardığını, efektör hücreleri aktive ettiğini ve eş zamanlı olarak natural Treg'lerin çoğalmasını indüklediğini öne sürmüşler ve TLR-4 harici başka uyanların da DH maturasyonundaki muhtemel rollerinin araştırılması gerektiğini belirtmişlerdir (154).

### **Derideki Dendritik Hücreler**

Derideki DH'ler epidermal Langerhans hücreleri ve dermal DH'lerden oluşur. Langerin, C-tipi bir lektin olup baskın olarak Langerhans hücreleri üzerinde eksprese edilir. Dermal DH'ler arasında ise Langerin ekspresyonu olmayanlar da vardır. (Langerin<sup>+</sup> ve Langerin<sup>-</sup> dermal DH'ler) (154). Yakın zamanda yapılan bazı araştırmalar ile dermal DH'ler daha detaylı incelenmiş ve 3 alt gruba ayrılmıştır. Langerin<sup>+</sup>CD11b<sup>low</sup>, Langerin<sup>-</sup>CD11b<sup>-</sup>, ve Langerin<sup>-</sup>CD11b<sup>+</sup> (167). Bu çalışmalarda Langerin<sup>+</sup>CD11b<sup>low</sup> hücrelerin yarısında CD103 eksprese edildiği, diğer yarısında ise edilmediği gösterilmiştir. Tüm bu veriler derideki DH- Treg ilişkisinin çok komplike olduğuna işaret etmektedir. Bu konuda yapılan bazı deneysel çalışmalar sonucu; Langerhans hücrelerinin TGF- $\beta$  aracılığı ile (168), Langerin<sup>-</sup>CD103<sup>-</sup>CD11b<sup>+</sup> dermal DH'lerin retinaldehit dehidrogenaz (RALDH) aracılığıyla (169), Langerin<sup>+</sup> dermal DH'lerinde TGF- $\beta$  aracılığı ile (170) Treg dönüşümünü indüklediği gösterilmiştir.

### **3. MATERYAL VE METOD**

#### **3.1. ETİK KURUL VE PROJE DESTEK ONAYI BİLGİLERİ**

Bu tez çalışması 22.04.2010 tarihinde, 2010/011 karar numarası ile, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi (KÜTF) Girişimsel Olmayan Klinik Araştırma Etik Danışma Kurulu Başkanlığı tarafından değerlendirmeye alınarak yazılı olarak onaylanmış, 10.06.2010 tarihinde, 2010/27 proje numarası ile Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmesi uygun bulunmuştur. Çalışma Helsinki Bildirgesi ilkelerine uygun olarak yürütülmüştür.

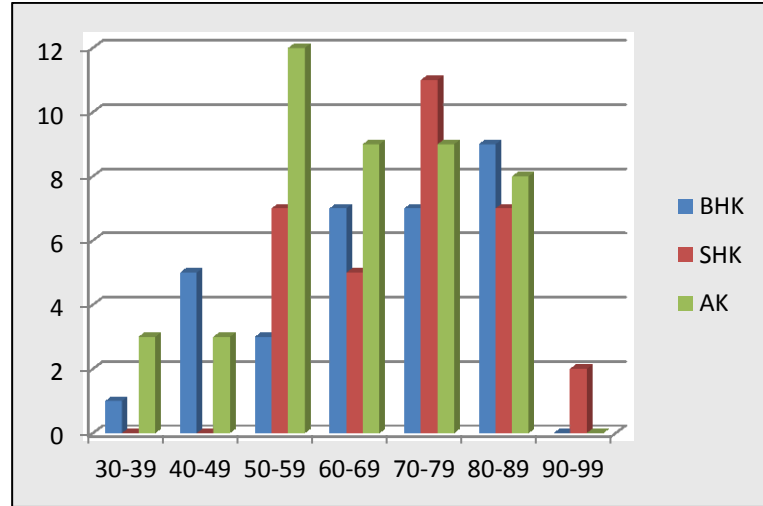
#### **3.2. HASTA SEÇİMİ**

Bu çalışma gerekli onay ve izinlerin alınmasını takiben Haziran 2010-Haziran 2013 tarihleri arasında KÜTF Deri ve Zührevi Hastalıklar ve Patoloji Anabilim Dalları tarafından yürütülmüştür.

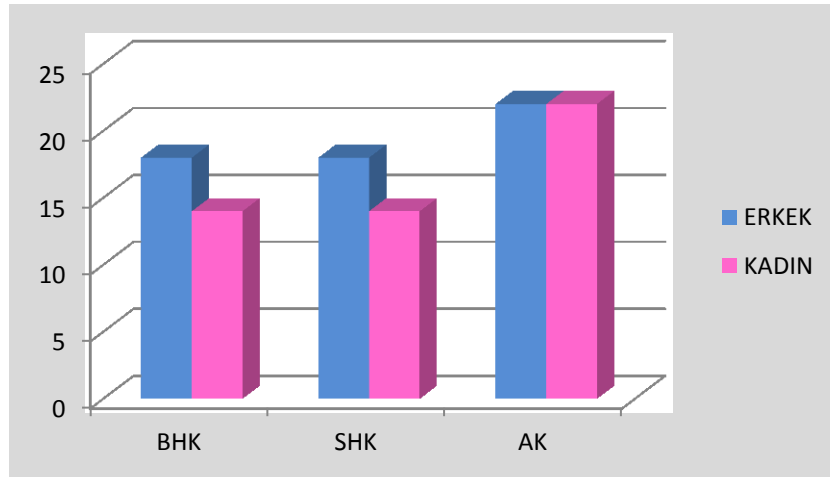
Çalışmaya 2007-2013 yılları arasında tanı almış 32 adet bazal hücreli karsinoma (BHK), 32 adet skuamöz hücreli karsinoma (SHK) ve 44 aktinik keratoz (AK) olgusuna ait KÜTF Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı arşivinde yer alan, rutin biyopsi ve eksizyon materyallerine ait parafin bloklardan hazırlanan kesitler dahil edildi. Olgulara ait H-E boyalı preparatlar tekrar değerlendirilerek immünohistokimyasal inceleme için tümörü temsil eden uygun bloklar seçildi.

BHK olguları, yaş aralığı 37-89 arasında değişen 14'ü kadın (%44) 18'i erkek (%56) hastadan oluşmakta idi. Ortalama yaş 66.78 olarak hesaplandı. SHK olgularını, yaşları 50-93 arasında değişen 14 kadın (%44), 18 erkek (%56) hasta oluşturmakta idi. Hastaların yaş ortalaması 71.37 olarak saptandı. AK olguları ise, yaşları 31-89 arasında değişen 22'si kadın (%50), 22'si erkek (%50) hastadan oluşmaktaydı. AK grubunun yaş ortalaması 62.22 olarak hesaplandı.





Şekil 3.1. Olguların yaş gruplarına göre dağılımı



Şekil 3.2. Olguların cinsiyete göre dağılımı grafikleri.

Hastalara ait elde edilen materyaller CD4, Foxp3 ve S100'ün doku dağılımının araştırılması ve gruplar arası karşılaştırmalar yapılmak üzere KÜTF Patoloji Anabilim Dalı İmmünohistokimya Laboratuvarında ilgili parametrelere ait kitler kullanılarak standart ve ikili immünohistokimyasal yöntemle hazırlanmıştır. KÜTF Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi tarafından gerçekleştirilen değerlendirme sonucu elde edilen veriler arasında istatistiksel karşılaştırma yapılmıştır

### 3.3. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEM

Hastalara ait KÜTF Patoloji Bölümü arşivinde yer alan doku örnekleri çalışmayı yürüten Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi tarafından tekrar gözden geçirildi. Her hastadan histolojik kriterleri karşılayan parafin doku blokları histopatolojik incelemeye alındı. İlgili parafin doku bloklarında; CD4, Foxp3 ve S100 ekspresyonunu immünohistokimyasal olarak belirlemek amacıyla 4 µm kalınlığında kesitler hazırlanarak poli-L-lizin kaplı lamlar üzerine yerleştirildi. Standart streptavidin-biotin immünoperoksidaz metodu ile ilgili antikorlar uygulandı (Tablo 3.1)

**Tablo 3.1.** İmmünohistokimyasal boyamada kullanılan antikorlar

ANTİKOR	AÇIKLAMA	İSİM	FİRMA KATALOG NO
<b>Anti-CD4</b>	T yardımcı lenfositler için belirteç	Rabbit policlonal anti-CD4 antibody prediluted	Abcam ab75682
<b>Anti-Foxp3</b>	Düzenleyici T lenfosit belirteci	Mouse monoclonal anti-Foxp3 antibody	Abcam ab20034
<b>S100</b>	Dendritik hücre belirteci	Rabbit policlonal anti-S100 antibody	Abcam ab66041

#### 3.3.1. S100 immunohistokimyasal boyama yöntemi

Deri tümörleri örneklerinde S100 proteinin gösterilmesi amacıyla ticari indirekt immunoperoksidaz streptavidin/biotin immunoperoksidaz kiti (Novacastra, HRP, Katolog no: RE7110-K, USA) kullanıldı ve tüm uygulamalar kit protokolüne uyularak gerçekleştirildi. Buna göre; immünohistokimyasal inceleme için seçilen parafin bloklardan 4 µm kalınlığında üçer adet kesit adeziv lama alındı. Preparatlar bir gece boyunca 37°C’de etüvde bekletildi, bir sonraki gün 60°C’de 20 dakika etüvde bekletildi. Kesitler üç ksilol serisinde 5’er dakika tutularak

deparafinize edildi ve absolü alkol, % 95 ve % 70'lik alkol ve distile suda 5'er dakika tutularak rehidrate edildi. Dokular metanolde hazırlanmış % 3'lük hidrojen peroksitte 7-10 dakika tutularak endojen peroksidaz aktivitesi giderildi. % 0.1'lik proteinase K ile 37 C<sup>o</sup>'de enzimatik digesyon uygulanacak ve protein bloke edici serumda (Novacastra, Katolog no: RE7102, USA) 7 dakika bekletildi. Sonrasında her bir deri tümörü kesiti S100 antikoru ile oda ısısında 50 dk süreyle inkube edildi. Biotinle işaretli anti-mouse, rat, rabbit polivalent sekonder antiserumla (Novacastra, Katolog no: RE7103, USA) 15 dakika, streptavidin-peroksidaz enzimi ile 15 dakika tutulduktan sonra renk reaksiyonu için DAB kromojeni ile kontrollü olarak 10-15 dakika boyandı. Arka plan boyanması için hematoksilin ile boyanarak kesitler entellan ile kapatıldı. Işık mikroskopunda değerlendirildi.

### **3.3.2. FOXP3/CD4 ikili immunohistokimyasal boyama yöntemi**

İkili immunohistokimyada ilk önce Foxp3 antikoru tekli immunohistokimyasal boyama metodunda göre boyandı. Entellan ile kesitler kapatılmadan önce ikinci antikor (CD4) ile boyama aşamasına geçildi. İkinci boyamada HRP kit yerine Alkale Fosfataz (AP) kitiyle devam edildi ve kromojen olarak BCIP/NBT kullanıldı. Foxp3 boyaması yapıldıktan sonra yıkanan kesitler metanolde hazırlanmış % 3'lük hidrojen peroksitte 7-10 dakika tutularak endojen peroksidaz aktivitesi giderildi. Sonrasında CD4 antikoru ile oda ısısında 50 dakika bekletildi. Biotinle işaretli anti-mouse, rat, rabbit polivalent sekonder anti-serumla (Novacastra, Katolog no: RE7103, USA) 15 dakika, sonrasında AP enzimi ile 15 dakika tutulduktan sonra renk reaksiyonu için BCIP/NBT kromojeni ile kontrollü olarak 30-60 dakika boyandıktan arka plan boyanması yapılmaksızın kesitler kapatıldı ve ışık mikroskobu ile değerlendirildi.

### 3.4. İMMÜNOHİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Hazırlanan kesitler ışık mikroskopunda çalışmayı yürüten KÜTF Patoloji AD öğretim üyesi olan tek bir patolog tarafından değerlendirildi. Tüm belirleyiciler için epidermis ve dermisteki mononükleer inflamatuvar hücre infiltratı üzerinde değerlendirme yapıldı. Dermiste mononükleer hücrelerce sergilenen Foxp3 boyanma paterninin, nükleer veya intranükleer±perinükleer olması özelliği arandı.

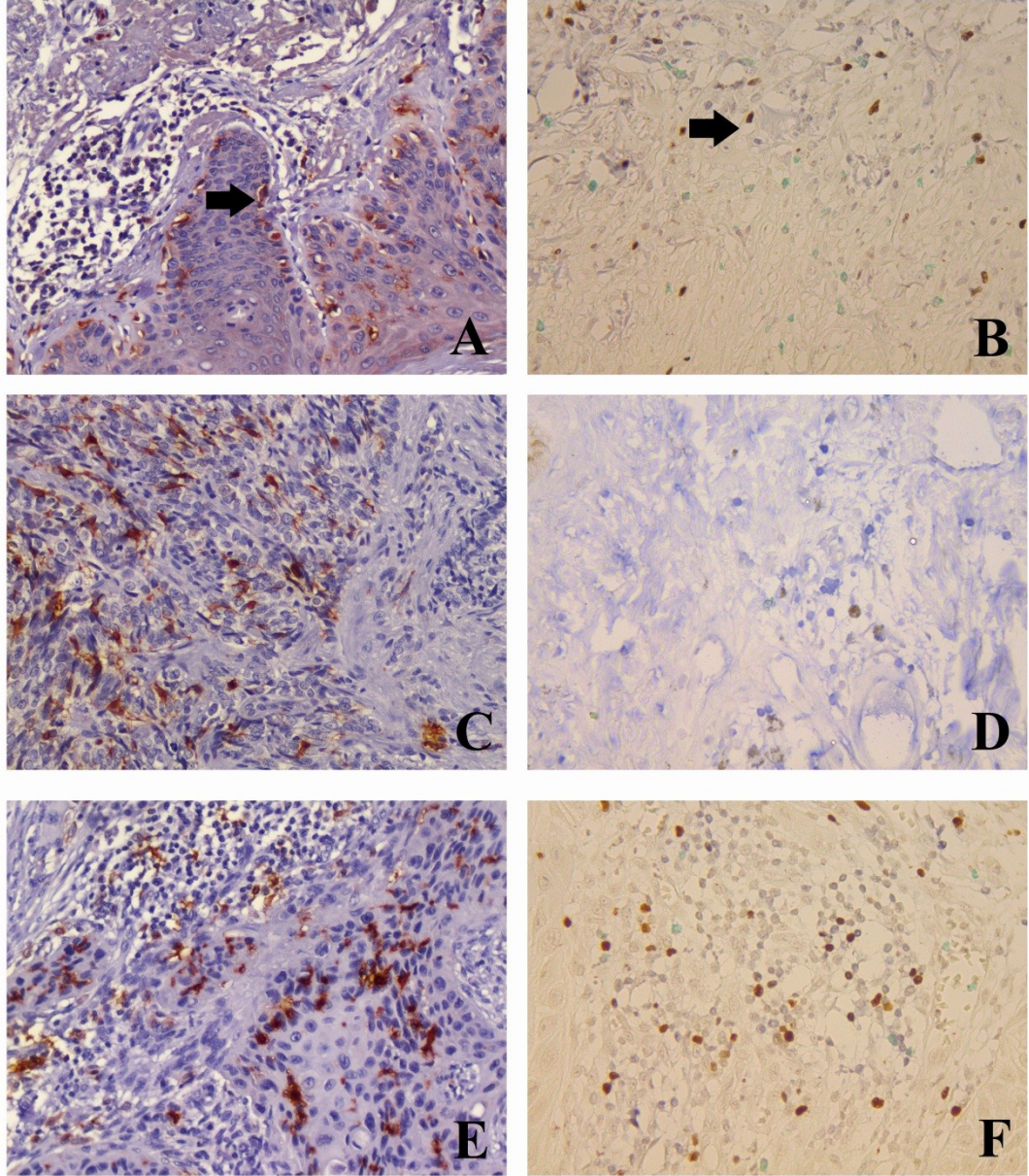
İkili immünohistokimyasal yöntemle boyanmış kesitlerde Foxp3 ve CD4 pozitif hücre sayısı epidermis ve dermis için ayrı ayrı sayıldı. Sayım, 10 büyük büyütme alanındaki (BBA) (x400) pozitif hücrelerin ortalaması alınarak yapıldı. S100 boyalı kesitlerdeki hücre sayımı da benzer şekilde yapıldı.

### 3.5. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Elde edilen veriler “Statistical Packages for the Social Sciences” (SPSS) for Windows 17.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, ABD) programına kaydedilerek, istatistiksel değerlendirmeler yapıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemlerle (Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk testleri kullanılarak) incelendi. Tanımlayıcı analizler normal dağılım değişkenler için ortalama ve standart sapmalar kullanılarak verildi. 3 grubun epiS100, derS100, derCD4, derFoxp3 ile boyanma sonuçlarının normal dağılım gösterdiği belirlendiğinden bu parametreler AK, SHK, BHK grupları arasında tek yönlü varyans analizi (Anova) yöntemi ile karşılaştırıldı. Gruplar arasında anlamlı farklılık bulunan durumlarda ikişerli post-hoc karşılaştırmalar Bonferroni testi kullanılarak yapıldı. CD4 ve Foxp3 için epidermisteki boyanma sonuçları normal dağılıma uygun olmadığından istatistiksel değerlendirmeye epidermisteki CD4 ve Foxp3 boyanmaları dahil edilmedi. Bütün istatistiklerde anlamlılık düzeyi  $p < 0.05$  olarak değerlendirildi.

#### 4. BULGULAR

Tümör gruplarından alınan kesitlerin immünohistopatolojik olarak boyanmaları sonucu elde edilen Foxp3, CD4 ve S100 boyamalarına ait örnekler Şekil 4.1’de gösterilmektedir.



**Şekil 4.1.** Sol sütun S100 ile dendritik antijen sunucu hücrelerin boyanması (resim A, ok). Sağ sütun FOXP3 boyası ve ikili immünohistokimya metodu ile düzenleyici T lenfositlerin boyanması (resim B, ok). (A) Aktinik keratoz kesitinde S100 ile antijen sunucu hücre dendritik hücrelerin boyanması (C) Bazal hücreli karsinom kesitinde S100 ile dendritik hücrelerin boyanması, (E) Skuamöz hücreli karsinom kesitinde S100 ile dendritik hücrelerin boyanması (B) Aktinik keratoz kesitinde ikili immün boyama “double immunostaining” metodu ile düzenleyici T lenfositlerin boyanması, (D) Bazal hücreli karsinomda ikili immünohistokimya ile düzenleyici T lenfositlerin boyanması, (F) Skuamöz hücreli karsinom kesitlerinde ikili immünohistokimya metodu ile düzenleyici T lenfositlerin boyanması

Tanımlayıcı analizlere göre tümör gruplarına göre S100, CD4 ve Foxp3'ün doku dağılım ortalamaları Tablo 4.1'de özetlenmiştir.

Buna göre;

Epidermiste S100 proteinini eksprese eden hücre sayıları açısından ortalama değerler (ort±SS);

- AK grubunda 19.05±10.76
- BHK grubunda 28.19±14.77
- SHK grubunda 27.56±15.98 olarak saptandı.

Dermiste S100 eksprese eden hücre sayıları için ortalama değerler;

- AK grubunda 26.30±19.59
- BHK grubunda 28.31±19.02
- SHK grubunda 28.38±20.91 olarak saptandı.

Dermiste CD4 eksprese eden hücre sayıları için ortalama değerler:

- AK grubunda 10.30±15.70
- BHK grubunda 9.50±15.66
- SHK grubunda 8.94±13.16 olarak belirlendi.

Dermiste Foxp3 eksprese eden hücreler açısından ortalama değerler:

- AK grubunda 12.05±11.08
- BHK grubunda 17.25±12.72
- SHK grubunda 23.97± 18.68 olarak saptanmıştır.

**Tablo 4.1.** Tümör gruplarına göre S100, CD4 ve Foxp3 eksprese eden hücre sayısı ortalamaları

Antikor	Grup	N	Ortalama	SS	% 95 GA alt	% 95 GA üst	Min.	Max.	
Epidermal	S100	AK	44	19.05	10.76	15.78	22.32	0	49
		BHK	32	28.19	14.77	22.86	33.51	3	60
		SHK	32	27.56	15.98	21.80	33.32	2	52
Dermal	S100	AK	44	26.30	19.59	20.34	32.25	1	67
		BHK	32	28.31	19.02	21.46	35.17	0	67
		SHK	32	28.38	20.91	20.83	35.92	2	69
	CD4	AK	44	10.30	15.70	5.52	15.07	0	69
		BHK	32	9.50	15.66	3.86	15.14	0	64
		SHK	32	8.94	13.16	4.19	13.68	0	53
	Foxp3	AK	44	12.05	11.08	8.68	15.41	1	53
		BHK	32	17.25	12.72	12.66	21.84	3	67
		SHK	32	23.97	18.68	17.23	30.70	2	69

Tek yönlü varyans analizi (Anova) yöntemine göre gruplar arasında epiS100 ve derFoxp3 değerleri açısından anlamlı farklılık saptanmıştır. (epiS100 için  $F_{[2-105]} = 5.449$ ,  $p=0.006$ , epiCD4 için  $F_{[2-105]} = 0.594$ ,  $p=0.554$ , epiFoxp3 için  $F_{[2-105]} = 2.613$ ,  $p=0.078$ , derS100 için  $F_{[2-105]} = 0.139$ ,  $p=0.870$ , derCD4 için  $F_{[2-105]} = 0.079$ ,  $p=0.924$ , derFoxp3 için  $F_{[2-105]} = 6.551$ ,  $p=0.002$ ). Tümör grupları arasında Anova yöntemi ile yapılan istatistiksel analiz sonuçları tablo 4.2’de gösterilmiştir.

**Tablo 4.2.** Tek yönlü varyans analizi (Anova) yöntemi ile AK, BHK ve SHK gruplarında epidermal ve dermal S100, Foxp3 ve CD4 boyamalarının istatistiksel olarak analizi

ANOVA						
		Karelerin Toplamı	df	Ortalama	F	p
EPI S100	Gruplar arası	2039.008	2	1019.504	5.449	.006
	Grup içi	19646.659	105	187.111		
	Toplam	21685.667	107			
EPI CD4	Gruplar arası	.098	2	.049	.594	.554
	Grup içi	8.670	105	.083		
	Toplam	8.769	107			
EPI FOX P3	Gruplar arası	25.934	2	12.967	2.613	.078
	Grup içi	520.983	105	4.962		
	Toplam	546.917	107			
DER S100	Gruplar arası	109.457	2	54.728	.139	.870
	Grup içi	41267.534	105	393.024		
	Toplam	41376.991	107			
DER CD4	Gruplar arası	35.290	2	17.645	.079	.924
	Grup içi	23563.034	105	224.410		
	Toplam	23598.324	107			
DER FOX P3	Gruplar arası	2634.557	2	1317.279	6.551	.002
	Grup içi	21112.878	105	201.075		
	Toplam	23747.435	107			



epiS100 için saptanan anlamlı farkın post-hoc Bonferroni testi ile, AK grubundan kaynaklandığı, bu grubun anlamlı olarak her iki gruba göre daha az boyanma gösterdiği saptanmıştır (AK-BHK arasındaki fark  $p=0.015$ , AK-SHK arasındaki fark  $p=0.026$ ).

Bonferroni testi ile derFoxp3 için anlamlı farkın AK ile SHK grubu arasında olduğu, BHK grubunun iki gruba da farklılık göstermediği gözlenmiştir ( $p=0.001$ ). Buna göre AK grubunda boyanma, SHK grubuna göre anlamlı derecede daha azdır. Bonferroni testi sonuçları Tablo 4.3'te gösterilmiştir.

Tek yönlü Anova'ya göre derS100 ve derCD4 açısından gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

**Tablo 4.3.** Post-hoc Bonferroni testi sonuçları

POST – HOC BONFERRONI							
BD	1. Grup	2. Grup	OF (1-2)	Std. Hata	p	%95 Güven Aralığı	
						Alt Sınır	Ust Sınır
EPİS100	AK	BCC	-9,142*	3,178	,015	-16,87	-1,41
		SCC	-8,517*	3,178	,026	-16,25	-,79
	BCC	AK	9,142*	3,178	,015	1,41	16,87
		SCC	,625	3,420	1,000	-7,69	8,94
SCC	AK	8,517*	3,178	,026	,79	16,25	
	BCC	-,625	3,420	1,000	-8,94	7,69	
EPİCD4	AK	BCC	,006	,067	1,000	-,16	,17
		SCC	,068	,067	,928	-,09	,23
	BCC	AK	-,006	,067	1,000	-,17	,16
		SCC	,063	,072	1,000	-,11	,24
SCC	AK	-,068	,067	,928	-,23	,09	
	BCC	-,063	,072	1,000	-,24	,11	
EPİFOXP3	AK	BCC	-,287	,518	1,000	-1,55	,97
		SCC	-1,162*	,518	,081	-2,42	,10
	BCC	AK	,287	,518	1,000	-,97	1,55
		SCC	-,875	,557	,357	-2,23	,48
SCC	AK	1,162*	,518	,081	-,10	2,42	
	BCC	,875	,557	,357	-,48	2,23	
DER S100	AK	BCC	-2,017	4,606	1,000	-13,22	9,19
		SCC	-2,080	4,606	1,000	-13,29	9,13
	BCC	AK	2,017	4,606	1,000	-9,19	13,22
		SCC	-,063	4,956	1,000	-12,12	12,00
SCC	AK	2,080	4,606	1,000	-9,13	13,29	
	BCC	,063	4,956	1,000	-12,00	12,12	
DER CD4	AK	BCC	,795	3,480	1,000	-7,67	9,26
		SCC	1,358	3,480	1,000	-7,11	9,83
	BCC	AK	-,795	3,480	1,000	-9,26	7,67
		SCC	,563	3,745	1,000	-8,55	9,67
SCC	AK	-1,358	3,480	1,000	-9,83	7,11	
	BCC	-,563	3,745	1,000	-9,67	8,55	
DER FOXP3	AK	BCC	-5,205	3,294	,351	-13,22	2,81
		SCC	-11,923*	3,294	,001	-19,94	-3,91
	BCC	AK	5,205	3,294	,351	-2,81	13,22
		SCC	-6,719	3,545	,182	-15,34	1,91
SCC	AK	11,923*	3,294	,001	3,91	19,94	
	BCC	6,719	3,545	,182	-1,91	15,34	

\* Ortalama Farkı (OF)  $p < 0.05$  olduğu durumda anlamlıdır.  
BD, Bağımlı Değişken.

## 5. TARTIŞMA

Melanom dışı deri kanserleri tüm dünyada en sık görülen, insidans ve prevalansı hızla artan malignitelerdir. Deri kanserleri ile ilişkili olarak bulunan etyolojik faktörler; bozulmuş DNA onarım mekanizmaları ile kendini gösteren genetik faktörlerden, UV radyasyonu, insan papilloma virüsleri, iyonize radyasyon, iyatrojenik immünsupresyon gibi ekzojen faktörlere uzanan oldukça geniş bir yelpaze içersinde yer almaktadır. Bu etyolojik faktörler arasında özellikle UV radyasyonun (UVR) oldukça önemli bir yeri vardır. UVR hem DNA mutasyonlarını indükleyerek hem de koruyucu hücrel anti-tümoral immün cevabı suprese ederek karsinogenezde rol oynamaktadır. Deri kanserlerinde önemli bir etken olan ultraviole B radyasyonun (UVB), düzenleyici T hücrelerini indüklediği geçtiğimiz yıllarda gösterilmiştir.

Özellikle son yıllarda yapılan çalışmalarda bu özel grup T lenfositlerin (Tregs) immün homeostazda rol aldığını düşündüren sonuçlar ortaya çıkmıştır. Bu çalışmalara göre düzenleyici T lenfositleri aktive olduktan sonra immünsüpresif fonksiyon göstermektedirler. Düzenleyici T lenfositlerin (Tregs) immünsüpresyonda rol aldığı ve bunun için immatür dendritik hücreler tarafından uyarıldığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Yakın dönemde yapılmış olan bazı araştırmalar regulatuar T hücrelerinin çeşitli inflamatuvar hastalıklar, kanserler ve otoimmünite ile ilişkili hastalıkların patogenez ve progresyonunda önemli bir yeri olduğuna işaret etmektedir. Bununla birlikte Treg hücrelerinin premalign ve malign deri tümörlerindeki rolünü destekleyen bilimsel kanıtlar oldukça sınırlıdır.

Efektif inflamatuvar yanıt tümör gelişiminin başlangıç, invazyon ve metastaz gibi farklı aşamalarında önemli rol oynar. Foxp3<sup>+</sup> Treg hücrelerinin keşfi tümörlerin immün sistemden kaçış mekanizmalarının anlaşılması açısından heyecan yaratmıştır. Foxp3 düzenleyici T lenfositlerin gelişimi ve fonksiyonunda ana kontrol transkripsiyon faktörü olmasının yanı sıra immün kaçışta da kritik bir rol oynar. Foxp3 ekspresyon eksikliği otoimmün hastalıkların oluşumuna zemin hazırlarken, aşırı ekspresyonu immün baskılanmaya neden olur. Foxp3<sup>+</sup> Treg hücrelerinin tümörle ilişkili T hücre immünitesine engel olduğu düşünülmektedir. Bu durum başarılı

immünoterapi ve aktif aşılamanın önündeki temel engellerden biridir. Son zamanlarda bazı tümör dokuları ve hücre kümelerinden de Foxp3 eksprese edildiği bildirilmiştir (171). Her ne kadar Foxp3'ün tümör hücreleri üzerindeki rollerinin tam olarak aydınlatılması için daha ileri çalışmalar gerekse de, Foxp3'ün potansiyel değerlerinin tümörün malignensi progresyonunun tahmininde, relapsında ve tedaviye cevabının izleminde anlamlı olduğu düşünülmektedir (171-174). Tümör hücresinde Treg'lerin varlığının kötü prognozla ilişkili olduğu ve gastrik (175), meme (176) ve over karsinomlarında (177, 178) sağkalım oranlarını düşürdüğü bildirilmiştir.

Çalışmamızda uyarılmış  $CD4^+CD25^+Foxp3^+$  T hücrelerinin indükledikleri immünsupresyon ile deri kanserlerinin invazyon ve metastazlarındaki muhtemel rollerini incelemek hedeflenmiş ve bu amaçla biyopsi ile doğrulanmış kutanöz BHK ve premalign ve malign skuamöz lezyonlarda (AK ve SHK) Treg varlığı ve dendritik hücre infiltrasyonu immünohistokimyasal boyama yöntemi ile araştırılmıştır. Treg hücrelerinin dokudaki yoğunluğu Foxp3 ekspresyonu esas alınarak belirlenmiştir. Araştırılan diğer parametreler Treg hücrelerinin de içinde bulunduğu  $T_{yardımcı}$  hücre popülasyonunun temel yüzey belirteci olan CD4 ekspresyonu ve Treg hücrelerini uyaran dendritik hücrelerin belirteci olan S100 olmuştur.

Melanom dışı deri kanserlerinde Treg hücrelerinin etyopatogenezdeki rolünü ortaya çıkarmaya yönelik sınırlı sayıdaki çalışmada düzenleyici T lenfositlerin tümör invazyon derecesi ile ilişkileri aydınlatılmaya çalışılmıştır. Çalışmamız düzenleyici T lenfositlerin tümör invazyonu ile ilişkisini araştırmanın yanı sıra BHK ve SHK'larda Treg hücre yoğunluğunun karşılaştırılması açısından önem kazanmaktadır.

Chen ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada 25 iyi diferansiye SHK, 15 kötü diferansiye SHK, 14 Bowen hastalığı ve 21 BHK hastasında UV maruziyetinin Foxp3 infiltrasyonuna etkisi araştırılmış, Foxp3 ekspresyonu SHK'de Bowen hastalığına göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (171). Aynı çalışmada kötü diferansiye SHK hastalarında iyi diferansiye olanlara göre daha yüksek oranda Foxp3 ekspresyonu saptanmış, SHK ve Bowen hastaları için hastalık süresi arttıkça Foxp3 ekspresyonunun arttığı bulunmuştur. Chen ve ark. çok parametrelili çalışmalarında iyi diferansiye SHK ve Bowen hastalığında UV maruziyeti olan alanlarda Foxp3 ekspresyonu belirgin olarak yüksek bulunmuştur. Cinsiyetler

açısından yapılan karşılaştırmada ise Bowen hastalığında cinsiyetler arasında fark saptanmamış, SHK'da ise kadınlarda Foxp3 ekspresyonu erkeklere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bu durum Foxp3 ekspresyonunun kutanöz SHK progresyonu ile özellikle kadın hastalarda ilişkili olduğu şeklinde yorumlanmıştır. BHK'de ise UV maruziyeti olan ve olmayan alanlarda, kadın ve erkeklerde yapılan karşılaştırmalarda Foxp3 açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır. Ancak pigmente BHK'lerde daha az pigmente olanlara göre kadınlarda ve erkeklerde belirgin olarak daha düşük Foxp3 ekspresyonu olduğu belirlenmiştir. Tüm bu sonuçlar Foxp3 infiltrasyonunun SHK ve BHK progresyonu ile özellikle UV maruziyeti varlığında direkt olarak ilişkili olduğu, UV radyasyonun Foxp3 ekspresyonu ve/veya transkripsiyonunu direkt olarak etkilediği ve Foxp3 infiltrasyonunun SHK immün sürveyansında hayati rol oynadığı şeklinde yorumlanmıştır.

Çalışmamızda Treg hücresine özgü bir transkripsiyon faktörü olan Foxp3 ekspresyonu dermiste SHK grubunda AK grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olarak tespit edildi. BHK grubunda Foxp3 ekspresyonu açısından SHK ve AK grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark saptanmadı. SHK grubunda dermal Foxp3 ekspresyonunun, premalign AK grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek olması Chen ve ark.nın SHK ile premalign Bowen hastalığını karşılaştırdıkları çalışmada elde ettiği sonuçları desteklemektedir. Chen ve arkadaşları çalışmalarında BHK'da UV maruziyeti olan ve olmayan hastaları karşılaştırdığından, BHK grubunu AK ve SHK grubu ile karşılaştırdığımız çalışmamızla karşılaştırılma olanağı bulunmamaktadır.

Çalışmamızda Treg hücreleri için yüzey belirteci olan CD4 ekspresyonu ve T hücre uyarıcısı dendritik hücrelerin belirteci olan S100 ekspresyonunun da tümör grupları için değerlendirilmesi ile literatüre katkıda bulunulmuştur.

Jang tarafından 32 AK, 24 Bowen hastalığı, 27 SHK olgusu üzerinde ikili immünohistokimyasal yöntemle yapılmış olan çalışmada, tümör gruplarında Treg ve dendritik hücre infiltrasyonu ve bu infiltrasyonun tümör progresyonuna etkisi araştırılmış, sonuç olarak Foxp3 infiltrasyonu SHK ve Bowen hastalığında AK'a göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (179). Ayrıca, toplam dendritik hücre infiltrasyonu da SHK ve Bowen hastalığı gruplarında AK grubuna

göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır. Yaş, cinsiyet ve SHK diferansiyasyonu açısından Foxp3 ve S100 ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır (179). Tüm bu sonuçlar Treg hücrelerinin tümör progresyonu ile ilişkisi olduğu şeklinde yorumlanmıştır.

Çalışmamızda dermiste Foxp3 ve epidermiste S100 ekspresyonunun SHK'da AK grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek olması Jang tarafından yapılmış olan çalışmayı destekler niteliktedir.

Kambayashi ve ark.nın 10 keratoakantom ve 18 kutanöz SHK olgusunda immünesüpresif ve immümodülatuar hücreleri karşılaştırdıkları çok parametrelili çalışmaları, tekli immünohistokimya metodu ile değerlendirilen parametrelerden olan CD4<sup>+</sup> hücreler açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (180). Aynı çalışmada CD3 ile birlikte ikili immünohistokimyasal metodu ile değerlendirilen Foxp3<sup>+</sup> hücreler keratoakantom grubunda SHK grubuna göre anlamlı derecede daha düşük olarak saptanmıştır.

Keratoakantom benzer şekilde SHK öncül lezyonu kabul edilen AK ile SHK ve BHK gruplarını karşılaştırdığımız çalışmamızda ikili immünohistokimyasal yöntemle değerlendirdiğimiz parametrelerden olan CD4<sup>+</sup> hücreler açısından gruplar arasında fark bulunmazken, Foxp3<sup>+</sup> hücreler AK grubunda SHK grubuna göre anlamlı derecede daha düşük olarak saptandı. Çalışmamızda elde ettiğimiz bu veriler Kambayashi ve ark.nın çalışmasını desteklemektedir (180).

Kaporis ve ark. 20 nodüler BHK hastası ile yaptıkları çok parametrelili çalışmaları Foxp3 ekspresyonu juxta-tümöral alanda non-lezyonel papiller dermis ve normal deri papiller dermisine göre anlamlı derecede yüksek olarak saptanmıştır (181). Elde edilen sonuçlar CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> Treg'ler BHK epitelyal agregatlarının çevresinde yerleştiği şeklinde yorumlanmıştır. Çalışmada ayrıca Treg hücrelerinin otoimmüniteyi kontrol ettiği ve anti-tümör cevabı baskılayabileceği bildirilmiştir. BHK'da Foxp3<sup>+</sup> hücrelerin tümör nodüllerinin çevresine yerleşmesinin dendritik hücre ve sitotoksik T hücrelerinin fonksiyonunu zayıflattığı düşünülmüştür.

Çalışmamızda BHK'da Foxp3 ekspresyonu AK ve SHK grubu ile karşılaştırılmış olup bu gruplarla arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Ayrıca Treg hücre yüzey belirteci olan CD4 açısından da diğer gruplarla arasında fark saptanmamış, dendritik hücre belirteci olan S100 BHK grubunda AK grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptanırken, SHK grubu ile fark bulunmamıştır. BHK patogeneğinde düzenleyici T lenfositlerin rolünün anlaşılmasına yönelik daha ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Yakın zamanda Zhang ve ark. tarafından yapılan çalışmada transplant sonrası gelişen SHK'lar (TSHK), spontan gelişen SHK'lar ve normal deri alanlarında çeşitli parametreler karşılaştırılmış ve Foxp3 ekspresyonu SHK ve TSHK gruplarında normal deriye göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır (182). Aynı zamanda TSHK grubunda Foxp3/CD8 oranı SHK grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (182). Düzenleyici T lenfosit belirteci olan Foxp3'ün sitotoksik T lenfosit belirteci olan CD8'e oranının yüksek olmasının anti-tümör cevabın baskılanmasına neden olabileceği ve bu durumun TSHK'un agresif doğasına katkıda bulunabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda SHK'larda Foxp3 ekspresyonunu preinvaziv AK'lara oranla daha yüksek bulduğumuz sonuçlarımız, tümör agresif özellik kazandıkça düzenleyici T lenfosit sayısının arttığı şeklinde yorumlanan Zhang ve ark.nın çalışmasına benzer özellik göstermektedir.

Araştırmamızın sonucunda invazyon gösteren deri tümörlerinde (SHK-BHK) epidermiste antijen sunucu DH'lerin, dermiste ise Treg hücrelerin sayıca arttığı bulunmuştur. Bu bulgular DH'lerin stimülasyonunu takiben dermiste Foxp3 Treg hücrelerin uyarıldığını ve bu uyarım sonucu dermiste kanser hücrelerinin invazyonuna uygun bir ortam yaratıldığını düşündürmektedir.

Bu ilişkinin daha net bir şekilde ortaya konması için DH'lerde IL-2 $\alpha$  reseptörünün ekspresyonuna bakılması ve daha geniş vaka serileri ve in vivo çalışmalar gereklidir.

Sonuç olarak DH aracılı lokal immünsupresyon deri tümör invazyonunda önemli rol oynuyor gibi görünmektedir. Deri tümörlerinde DH veya Treg hücrelerini

baskılamayı hedef alacak muhtemel tedaviler özellikle opere edilemeyecek tümörlerde etkili bir tedavi seçeneği olabilir.



## 6. KAYNAKLAR

1. Goldsmith LA, Fitzpatrick TB. Fitzpatrick's dermatology in general medicine. 8th ed. New York: McGraw-Hill Medical, 2012.
2. Bologna J, Jorizzo JL, Schaffer JV. Dermatology. 3rd ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2012.
3. Terziođlu FY. Melanom, bazal hücreli karsinom, displastik nevüs ve seboreik keratozlu olguların demografik ve dermoskopik özellikleri., Dermatoloji Anabilim Dalı. Ankara: Gazi Üniversitesi, 2010.
4. Owens DM, Watt FM. Contribution of stem cells and differentiated cells to epidermal tumours. Nature reviews Cancer. 2003; 3: 444-51.
5. Roewert-Huber J, Lange-Asschenfeldt B, Stockfleth E, et al. Epidemiology and aetiology of basal cell carcinoma. The British journal of dermatology. 2007; 157 Suppl 2: 47-51.
6. Temel M. Bazal hücreli karsinomda büyüme inhibe edici faktör-2'nin (ING-2) fonksiyonlarının araştırılması., Plastik, rekonstrüktif ve estetik cerrahi. Gaziantep: Gaziantep Üniversitesi, 2011.
7. Tilli CM, Van Steensel MA, Krekels GA, et al. Molecular aetiology and pathogenesis of basal cell carcinoma. The British journal of dermatology. 2005; 152: 1108-24.
8. Moser S, Borm J, Mihic-Probst D, et al. Metastatic basal cell carcinoma: report of a case and review of the literature. Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology. 2013.
9. Miller DL, Weinstock MA. Nonmelanoma skin cancer in the United States: incidence. Journal of the American Academy of Dermatology. 1994; 30: 774-8.
10. Rogers HW, Weinstock MA, Harris AR, et al. Incidence estimate of nonmelanoma skin cancer in the United States, 2006. Archives of dermatology. 2010; 146: 283-7.
11. Baxter JM, Patel AN, Varma S. Facial basal cell carcinoma. BMJ. 2012; 345: e5342.
12. Staples M, Marks R, Giles G. Trends in the incidence of non-melanocytic skin cancer (NMSC) treated in Australia 1985-1995: are primary prevention programs

starting to have an effect? International journal of cancer Journal international du cancer. 1998; 78: 144-8.

13. Tilli CMLJ, Van Steensel MAM, Krekels GAM, et al. Molecular aetiology and pathogenesis of basal cell carcinoma. Brit J Dermatol. 2005; 152: 1108-24.

14. Situm M, Buljan M, Bulat V, et al. The role of UV radiation in the development of basal cell carcinoma. Collegium antropologicum. 2008; 32 Suppl 2: 167-70.

15. Madan V, Hoban P, Strange RC, et al. Genetics and risk factors for basal cell carcinoma. The British journal of dermatology. 2006; 154 Suppl 1: 5-7.

16. Netscher DT, Spira M. Basal Cell Carcinoma: An Overview of Tumor Biology and Treatment. Plast Reconstr Surg. 2004; 113: 74e-94e.

17. Fine JD, Johnson LB, Weiner M, et al. Epidermolysis bullosa and the risk of life-threatening cancers: The National EB Registry experience, 1986-2006. J Am Acad Dermatol. 2009; 60: 203-11.

18. Athar M, Tang XW, Lee JL, et al. Hedgehog signalling in skin development and cancer. Exp Dermatol. 2006; 15: 667-77.

19. de Zwaan SE, Haass NK. Genetics of basal cell carcinoma. Australas J Dermatol. 2010; 51: 81-92.

20. Tostar U, Malm CJ, Meis-Kindblom JM, et al. Deregulation of the hedgehog signalling pathway: a possible role for the PTCH and SUFU genes in human rhabdomyoma and rhabdomyosarcoma development. The Journal of pathology. 2006; 208: 17-25.

21. Nilsel İter AP, Ayşe Dursun, Gülen Akyol, Mehmet Ali Gürer. Melanom Dışı Deri Kanserlerinde bcl-2 ve p53 Protein Ekspresyonu. Türkiye Klinikleri Journal of Dermatology. 2001; 11: 191-94.

22. Rubin AI, Chen EH, Ratner D. Current concepts - Basal-cell carcinoma. New Engl J Med. 2005; 353: 2262-69.

23. McGuire JF, Ge NN, Dyson S. Nonmelanoma skin cancer of the head and neck I: histopathology and clinical behavior. American journal of otolaryngology. 2009; 30: 121-33.

24. Carr RA, Taibjee SM, Sanders DSA. Basaloid skin tumours: Basal cell carcinoma. Current Diagnostic Pathology. 2007; 13: 252-72.

25. Hussain M, Earley MJ. The incidence of incomplete excision in surgically treated basal cell carcinoma: a retrospective clinical audit. *Irish medical journal*. 2003; 96: 18-20.
26. Roozeboom MH, Arits AHM, Nelemans PJ, et al. Overall treatment success after treatment of primary superficial basal cell carcinoma: a systematic review and meta-analysis of randomized and nonrandomized trials. *Brit J Dermatol*. 2012; 167: 733-56.
27. Mosterd K, Krekels GA, Nieman FH, et al. Surgical excision versus Mohs' micrographic surgery for primary and recurrent basal-cell carcinoma of the face: a prospective randomised controlled trial with 5-years' follow-up. *The lancet oncology*. 2008; 9: 1149-56.
28. Paoli J, Daryoni S, Wennberg AM, et al. 5-year Recurrence Rates of Mohs Micrographic Surgery for Aggressive and Recurrent Facial Basal Cell Carcinoma. *Acta dermato-venereologica*. 2011; 91: 689-93.
29. El-Tonsy MH, El-Domyati MM, El-Sawy AE, et al. Continuous-wave Nd:Yag laser hyperthermia: a successful modality in treatment of basal cell carcinoma. *Dermatology online journal*. 2004; 10: 3.
30. Nouri K, Chang A, Trent JT, et al. Ultrapulse CO2 used for the successful treatment of basal cell carcinomas found in patients with basal cell nevus syndrome. *Dermatol Surg*. 2002; 28: 287-90.
31. Lazareth V. Management of non-melanoma skin cancer. *Seminars in oncology nursing*. 2013; 29: 182-94.
32. Love WE, Bernhard JD, Bordeaux JS. Topical imiquimod or fluorouracil therapy for basal and squamous cell carcinoma: a systematic review. *Archives of dermatology*. 2009; 145: 1431-8.
33. Dauden E, Grp BS. Effectiveness and satisfaction with imiquimod for the treatment of superficial basal cell carcinoma in daily dermatological practice. *J Eur Acad Dermatol*. 2011; 25: 1304-10.
34. 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.

35. Netscher DT, Leong M, Orengo I, et al. Cutaneous Malignancies: Melanoma and Nonmelanoma Types. *Plast Reconstr Surg*. 2011; 127: 37e-56e.
36. Behshad R, Garcia-Zuazaga J, Bordeaux JS. Systemic treatment of locally advanced nonmetastatic cutaneous squamous cell carcinoma: a review of the literature. *Brit J Dermatol*. 2011; 165: 1169-77.
37. Weinberg AS, Ogle CA, Shim EK. Metastatic cutaneous squamous cell carcinoma: An update. *Dermatol Surg*. 2007; 33: 885-99.
38. Society AC. *Global Cancer Facts & Figures 2007*. 2007.
39. Alam M, Ratner D. Cutaneous squamous-cell carcinoma. *The New England journal of medicine*. 2001; 344: 975-83.
40. Harvey I, Frankel S, Marks R, et al. Non-melanoma skin cancer and solar keratoses .1. Methods and descriptive results of the South Wales skin cancer study. *Brit J Cancer*. 1996; 74: 1302-07.
41. Zanetti R, Rosso S, Martinez C, et al. Comparison of risk patterns in carcinoma and melanoma of the skin in men: a multi-centre case-case-control study. *Brit J Cancer*. 2006; 94: 743-51.
42. de Gruijl FR, van Kranen HJ, Mullenders LHF. UV-induced DNA damage, repair, mutations and oncogenic pathways in skin cancer. *J Photoch Photobio B*. 2001; 63: 19-27.
43. Armstrong BK, Krickler A. The epidemiology of UV induced skin cancer. *J Photoch Photobio B*. 2001; 63: 8-18.
44. Tsai KY, Tsao H. The genetics of skin cancer. *Am J Med Genet C*. 2004; 131C: 82-92.
45. Rosso S, Zanetti R, Martinez C, et al. The multicentre south European study 'Helios' .2. Different sun exposure patterns in the aetiology of basal cell and squamous cell carcinomas of the skin. *Brit J Cancer*. 1996; 73: 1447-54.
46. Schmitt J, Seidler A, Diepgen TL, et al. Occupational ultraviolet light exposure increases the risk for the development of cutaneous squamous cell carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Brit J Dermatol*. 2011; 164: 291-307.
47. Nijsten TEC, Stern RS. The increased risk of skin cancer is persistent after discontinuation of Psoralen plus Ultraviolet A: A cohort study. *Journal of Investigative Dermatology*. 2003; 121: 252-58.

48. Lindelof B, Sigurgeirsson B, Tegner E, et al. PUVA and cancer risk: the Swedish follow-up study. *Brit J Dermatol.* 1999; 141: 108-12.
49. Stern RS, Study PF-U. The risk of squamous cell and basal cell cancer associated with psoralen and ultraviolet A therapy: A 30-year prospective study. *Journal of the American Academy of Dermatology.* 2012; 66: 553-62.
50. Lever LR, Lawrence CM. Nonmelanoma Skin-Cancer Associated with Use of a Tanning Bed. *New Engl J Med.* 1995; 332: 1450-51.
51. Karagas MR, Stannard VA, Mott LA, et al. Use of tanning devices and risk of basal cell and squamous cell skin cancers. *J Natl Cancer I.* 2002; 94: 224-26.
52. Wehner MR, Shive ML, Chen MM, et al. Indoor tanning and non-melanoma skin cancer: systematic review and meta-analysis. *Brit Med J.* 2012; 345.
53. Guo HR, Yu HS, Hu H, et al. Arsenic in drinking water and skin cancers: cell-type specificity (Taiwan, ROC). *Cancer causes & control : CCC.* 2001; 12: 909-16.
54. Karagas MR, Stukel TA, Morris JS, et al. Skin cancer risk in relation to toenail arsenic concentrations in a US population-based case-control study. *Am J Epidemiol.* 2001; 153: 559-65.
55. Kishikawa M, Koyama K, Iseki M, et al. Histologic characteristics of skin cancer in Hiroshima and Nagasaki: Background incidence and radiation effects. *Int J Cancer.* 2005; 117: 363-69.
56. Karagas MR, Nelson HH, Sehr P, et al. Human papillomavirus infection and incidence of squamous cell and basal cell carcinomas of the skin. *J Natl Cancer I.* 2006; 98: 389-95.
57. Struijk L, Bavinck JNB, Wanningen P, et al. Presence of human papillomavirus DNA in plucked eyebrow hairs is associated with a history of cutaneous squamous cell carcinoma. *Journal of Investigative Dermatology.* 2003; 121: 1531-35.
58. Iftner A, Klug SJ, Garbe C, et al. The prevalence of human papillomavirus genotypes in nonmelanoma skin cancers of nonimmunosuppressed individuals identifies high-risk genital types as possible risk factors. *Cancer research.* 2003; 63: 7515-19.
59. Hall L, Struijk L, Neale RE, et al. Re: Human papillomavirus infection and incidence of squamous cell and basal cell carcinomas of the skin. *J Natl Cancer I.* 2006; 98: 1425-26.

60. Paradisi A, Waterboer T, Sampogna F, et al. Seropositivity for human papillomavirus and incidence of subsequent squamous cell and basal cell carcinomas of the skin in patients with a previous nonmelanoma skin cancer. *Brit J Dermatol.* 2011; 165: 782-91.
61. Jensen P, Hansen S, Moller B, et al. Skin cancer in kidney and heart transplant recipients and different long-term immunosuppressive therapy regimens. *Journal of the American Academy of Dermatology.* 1999; 40: 177-86.
62. Berg D, Otley CC. Skin cancer in organ transplant recipients: Epidemiology, pathogenesis, and management. *Journal of the American Academy of Dermatology.* 2002; 47: 1-17.
63. Kempf W, Mertz KD, Hofbauer GFL, et al. Skin Cancer in Organ Transplant Recipients. *Pathobiology.* 2013; 80: 302-09.
64. Fortina AB, Piaserico S, Caforio ALP, et al. Immunosuppressive level and other risk factors for basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma in heart transplant recipients. *Arch Dermatol.* 2004; 140: 1079-+.
65. Silverberg MJ, Leyden W, Warton EM, et al. HIV Infection Status, Immunodeficiency, and the Incidence of Non-Melanoma Skin Cancer. *Jnci-J Natl Cancer I.* 2013; 105: 350-60.
66. Zwald FO, Brown M. Skin cancer in solid organ transplant recipients: Advances in therapy and management Part II. Management of skin cancer in solid organ transplant recipients. *J Am Acad Dermatol.* 2011; 65: 263-79.
67. Brewer JD, Colegio OR, Phillips PK, et al. Incidence of and Risk Factors for Skin Cancer After Heart Transplant. *Arch Dermatol.* 2009; 145: 1391-96.
68. Ramsay HM, Reece SM, Fryer AA, et al. Seven-year prospective study of nonmelanoma skin cancer incidence in UK renal transplant recipients. *Transplantation.* 2007; 84: 437-39.
69. Lindelof B, Sigurgeirsson B, Gabel H, et al. Incidence of skin cancer in 5356 patients following organ transplantation. *Brit J Dermatol.* 2000; 143: 513-19.
70. Love RL, Breidahl AF. Acute squamous cell carcinoma arising within a recent burn scar in a 14-year-old boy. *Plast Reconstr Surg.* 2000; 106: 1069-71.
71. Friedman R, Hanson S, Goldberg LH. Squamous cell carcinoma arising in a Leishmania scar. *Dermatol Surg.* 2003; 29: 1148-49.

72. Robert C, Arnault JP, Mateus C. RAF inhibition and induction of cutaneous squamous cell carcinoma. *Curr Opin Oncol*. 2011; 23: 177-82.
73. Black APB, Ogg GS. The role of p53 in the immunobiology of cutaneous squamous cell carcinoma. *Clin Exp Immunol*. 2003; 132: 379-84.
74. Nakane H, Takeuchi S, Yuba S, et al. High-Incidence of Ultraviolet-B-Induced or Chemical-Carcinogen-Induced Skin Tumors in Mice Lacking the Xeroderma-Pigmentosum Group-a Gene. *Nature*. 1995; 377: 165-68.
75. Tu YQ, Bates S, Pfeifer GP. Sequence-specific and domain-specific DNA repair in xeroderma pigmentosum and Cockayne syndrome cells. *J Biol Chem*. 1997; 272: 20747-55.
76. Cleaver JE, Thompson LH, Richardson AS, et al. A summary of mutations in the UV-sensitive disorders: Xeroderma pigmentosum, Cockayne syndrome, and trichothiodystrophy. *Hum Mutat*. 1999; 14: 9-22.
77. Johnson RE, Kondratick CM, Prakash S, et al. hRAD30 mutations in the variant form of xeroderma pigmentosum. *Science*. 1999; 285: 263-65.
78. Kraemer KH, Lee MM, Andrews AD, et al. The Role of Sunlight and DNA-Repair in Melanoma and Nonmelanoma Skin-Cancer - the Xeroderma-Pigmentosum Paradigm. *Arch Dermatol*. 1994; 130: 1018-21.
79. Majewski S, Jablonska S. Skin autografts in epidermodysplasia verruciformis: Human papillomavirus-associated cutaneous changes need over 20 years for malignant conversion. *Cancer research*. 1997; 57: 4214-16.
80. Hussain SK, Sundquist J, Hemminki K. The Effect of Having an Affected Parent or Sibling on Invasive and In Situ Skin Cancer Risk in Sweden. *Journal of Investigative Dermatology*. 2009; 129: 2142-47.
81. Milan T, Verkasalo PK, Kaprio J, et al. Malignant skin cancers in the Finnish Twin Cohort: a population-based study, 1976-97. *Brit J Dermatol*. 2002; 147: 509-12.
82. Kharazmi E, Fallah M, Sundquist K, et al. Familial risk of early and late onset cancer: nationwide prospective cohort study. *Brit Med J*. 2012; 345.
83. Cowen EW, Nguyen JC, Miller DD, et al. Chronic phototoxicity and aggressive squamous cell carcinoma of the skin in children and adults during treatment with voriconazole. *J Am Acad Dermatol*. 2010; 62: 31-37.

84. McCarthy KL, Playford EG, Looke DFM, et al. Severe photosensitivity causing multifocal squamous cell carcinomas secondary to prolonged voriconazole therapy. *Clin Infect Dis*. 2007; 44: 55-56.
85. Vanacker A, Fabre G, Van Dorpe J, et al. Aggressive cutaneous squamous cell carcinoma associated with prolonged voriconazole therapy in a renal transplant patient. *Am J Transplant*. 2008; 8: 877-80.
86. Epaulard O, Saint-Raymond C, Villier C, et al. Multiple aggressive squamous cell carcinomas associated with prolonged voriconazole therapy in four immunocompromised patients. *Clin Microbiol Infect*. 2010; 16: 1362-64.
87. Brunel AS, Fraisse T, Lechiche C, et al. Multifocal squamous cell carcinomas in an HIV-infected patient with a long-term voriconazole therapy. *Aids*. 2008; 22: 905-06.
88. Kaae J, Boyd HA, Hansen AV, et al. Photosensitizing Medication Use and Risk of Skin Cancer. *Cancer Epidem Biomar*. 2010; 19: 2942-49.
89. Jensen AO, Thomsen HF, Engebjerg MC, et al. Use of photosensitising diuretics and risk of skin cancer: a population-based case-control study. *Brit J Cancer*. 2008; 99: 1522-28.
90. English DR, Armstrong BK, Krickler A, et al. Demographic characteristics, pigmentary and cutaneous risk factors for squamous cell carcinoma of the skin: A case-control study. *Int J Cancer*. 1998; 76: 628-34.
91. Schmitt JV, Miot HA. Actinic keratosis: a clinical and epidemiological revision. *An Bras Dermatol*. 2012; 87: 425-34.
92. Berman B, Cockerell CJ. Pathobiology of actinic keratosis: Ultraviolet-dependent keratinocyte proliferation. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2013; 68: S10-S19.
93. Spencer J. Understanding actinic keratosis: Epidemiology, biology, and management of the disease. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2013; 68: S1-S1.
94. Gupta AK, Cooper EA, Feldman SR, et al. A survey of office visits for actinic keratosis as reported by NAMCS, 1990-1999. *Cutis*. 2002; 70: 8-13.
95. Warino L, Tusa M, Camacho F, et al. Frequency and cost of actinic keratosis treatment. *Dermatol Surg*. 2006; 32: 1045-49.



96. Feldman SR, Fleischer AB, McConnell RC. Most common dermatologic problems identified by internists, 1990-1994. *Arch Intern Med.* 1998; 158: 726-30.
97. Ko CJ. Actinic keratosis: Facts and controversies. *Clin Dermatol.* 2010; 28: 249-53.
98. Kim HS, Cho EA, Bae JM, et al. Recent Trend in the Incidence of Premalignant and Malignant Skin Lesions in Korea between 1991 and 2006. *J Korean Med Sci.* 2010; 25: 924-29.
99. Leffell DJ. The scientific basis of skin cancer. *J Am Acad Dermatol.* 2000; 42: S18-S22.
100. Nelson MA, Einspahr JG, Alberts DS, et al. Analysis of the P53 Gene in Human Precancerous Actinic Keratosis Lesions and Squamous-Cell Cancers. *Cancer Lett.* 1994; 85: 23-29.
101. Hensen P, Muller ML, Haschemi R, et al. Predisposing factors of actinic keratosis in a North-West German population. *Eur J Dermatol.* 2009; 19: 345-54.
102. Frost CA, Green AC, Williams GM. The prevalence and determinants of solar keratoses at a subtropical latitude (Queensland, Australia). *Brit J Dermatol.* 1998; 139: 1033-39.
103. Thompson SC, Jolley D, Marks R. Reduction of Solar Keratoses by Regular Sunscreen Use. *New Engl J Med.* 1993; 329: 1147-51.
104. Ulrich C, Jurgensen JS, Degen A, et al. Prevention of non-melanoma skin cancer in organ transplant patients by regular use of a sunscreen: a 24 months, prospective, case-control study. *Brit J Dermatol.* 2009; 161: 78-84.
105. McBride P, Neale R, Pandeya N, et al. Sun-related factors, Betapapillomavirus, and actinic keratoses - A prospective study. *Arch Dermatol.* 2007; 143: 862-68.
106. Lebowhl M. Actinic keratosis: epidemiology and progression to squamous cell carcinoma. *Brit J Dermatol.* 2003; 149: 31-33.
107. Flohil SC, van der Leese RJT, Dowlatsahi EA, et al. Prevalence of Actinic Keratosis and Its Risk Factors in the General Population: The Rotterdam Study. *Journal of Investigative Dermatology.* 2013; 133: 1971-78.
108. Rosen T, Lebowhl MG. Prevalence and awareness of actinic keratosis: Barriers and opportunities. *Journal of the American Academy of Dermatology.* 2013; 68: S2-S9.

109. Pfister H, Fuchs PG, Majewski S, et al. High prevalence of epidermodysplasia verruciformis-associated human papillomavirus DNA in actinic keratoses of the immunocompetent population. *Arch Dermatol Res.* 2003; 295: 273-79.
110. Forslund O, Ly H, Reid C, et al. A broad spectrum of human papillomavirus types is present in the skin of Australian patients with non-melanoma skin cancers and solar keratosis. *Brit J Dermatol.* 2003; 149: 64-73.
111. Weissenborn SJ, Nindl I, Purdie K, et al. Human papillomavirus-DNA loads in actinic keratoses exceed those in non-melanoma skin cancers. *Journal of Investigative Dermatology.* 2005; 125: 93-97.
112. Forslund O, Lindelof B, Hradil E, et al. High prevalence of cutaneous human papillomavirus DNA on the top of skin tumors but not in "stripped" biopsies from the same tumors. *Journal of Investigative Dermatology.* 2004; 123: 388-94.
113. Astori G, Lavergne D, Benton C, et al. Human papillomaviruses are commonly found in normal skin of immunocompetent hosts. *Journal of Investigative Dermatology.* 1998; 110: 752-55.
114. Keller B, Braathen LR, Marti HP, et al. Skin cancers in renal transplant recipients: a description of the renal transplant cohort in Bern. *Swiss Med Wkly.* 2010; 140.
115. Chen QP, Aw DCW. Epidemiology of Skin Diseases in Renal Transplant Recipients in a Tertiary Hospital. *Ann Acad Med Singap.* 2010; 39: 904-08.
116. Ulrich M, Forschner T, Rowert-Huber J, et al. Differentiation between actinic keratoses and disseminated superficial actinic porokeratoses with reflectance confocal microscopy. *Brit J Dermatol.* 2007; 156: 47-52.
117. Mogensen M, Jemec GBE. Diagnosis of nonmelanoma skin cancer/keratinocyte carcinoma: A review of diagnostic accuracy of nonmelanoma skin cancer diagnostic tests and technologies. *Dermatol Surg.* 2007; 33: 1158-74.
118. Padilla RS, Sebastian S, Jiang ZY, et al. Gene Expression Patterns of Normal Human Skin, Actinic Keratosis, and Squamous Cell Carcinoma A Spectrum of Disease Progression. *Arch Dermatol.* 2010; 146: 288-93.
119. Quaedvlieg PJF, Tirsi E, Thissen MRTM, et al. Actinic keratosis: how to differentiate the good from the bad ones? *Eur J Dermatol.* 2006; 16: 335-39.

120. Criscione VD, Weinstock MA, Naylor MF, et al. Actinic Keratoses Natural History and Risk of Malignant Transformation in the Veterans Affairs Topical Tretinoin Chemoprevention Trial. *Cancer-Am Cancer Soc.* 2009; 115: 2523-30.
121. Fuchs A, Marmur E. The kinetics of skin cancer: Progression of actinic keratosis to squamous cell carcinoma. *Dermatol Surg.* 2007; 33: 1099-101.
122. Uhlenhake EE. Optimal treatment of actinic keratoses. *Clin Interv Aging.* 2013; 8: 29-35.
123. Ceilley RI, Jorizzo JL. Current issues in the management of actinic keratosis. *J Am Acad Dermatol.* 2013; 68: S28-S38.
124. Hadley G, Derry S, Moore RA. Imiquimod for actinic keratosis: Systematic review and meta-analysis. *Journal of Investigative Dermatology.* 2006; 126: 1251-55.
125. Gershon RK, Kondo K. Cell interactions in the induction of tolerance: the role of thymic lymphocytes. *Immunology.* 1970; 18: 723-37.
126. Green DR, Flood PM, Gershon RK. Immunoregulatory T-cell pathways. *Annual review of immunology.* 1983; 1: 439-63.
127. Sakaguchi S, Wing K, Miyara M. Regulatory T cells - a brief history and perspective. *Eur J Immunol.* 2007; 37: S116-S23.
128. Kronenberg M, Steinmetz M, Kobori J, et al. RNA transcripts for I-J polypeptides are apparently not encoded between the I-A and I-E subregions of the murine major histocompatibility complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 1983; 80: 5704-08.
129. Nishizuka Y, Sakakura T. Thymus and reproduction: sex-linked dysgenesis of the gonad after neonatal thymectomy in mice. *Science.* 1969; 166: 753-5.
130. Kojima A, Prehn RT. Genetic Susceptibility to Post-Thymectomy Autoimmune-Diseases in Mice. *Immunogenetics.* 1981; 14: 15-27.
131. Penhale WJ, Farmer A, McKenna RP, et al. Spontaneous thyroiditis in thymectomized and irradiated Wistar rats. *Clin Exp Immunol.* 1973; 15: 225-36.
132. Penhale WJ, Stumbles PA, Huxtable CR, et al. Induction of Diabetes in Pvg/C Strain Rats by Manipulation of the Immune-System. *Autoimmunity.* 1990; 7: 169-79.
133. Fowell D, Mason D. Evidence That the T-Cell Repertoire of Normal Rats Contains Cells with the Potential to Cause Diabetes - Characterization of the Cd4+

- T-Cell Subset That Inhibits This Autoimmune Potential. *J Exp Med.* 1993; 177: 627-36.
134. Sakaguchi S, Takahashi T, Nishizuka Y. Study on Cellular Events in Post-Thymectomy Autoimmune Oophoritis in Mice .2. Requirement of Lyt-1 Cells in Normal Female Mice for the Prevention of Oophoritis. *J Exp Med.* 1982; 156: 1577-86.
135. Penhale WJ, Irvine WJ, Inglis JR, et al. Thyroiditis in T cell-depleted rats: suppression of the autoallergic response by reconstitution with normal lymphoid cells. *Clin Exp Immunol.* 1976; 25: 6-16.
136. Sakaguchi S, Fukuma K, Kuribayashi K, et al. Organ-Specific Autoimmune-Diseases Induced in Mice by Elimination of T-Cell Subset .1. Evidence for the Active Participation of T-Cells in Natural Self-Tolerance - Deficit of a T-Cell Subset as a Possible Cause of Autoimmune-Disease. *J Exp Med.* 1985; 161: 72-87.
137. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, et al. Immunologic Self-Tolerance Maintained by Activated T Cells Expressing IL-2 Receptor alpha-Chains (CD25) Breakdown of a Single Mechanism of Self-Tolerance Causes Various Autoimmune Diseases. *Journal of Immunology.* 2011; 186: 1151-64.
138. Asano M, Toda M, Sakaguchi N, et al. Autoimmune disease as a consequence of developmental abnormality of a T cell subpopulation. *J Exp Med.* 1996; 184: 387-96.
139. Itoh M, Takahashi T, Sakaguchi N, et al. Thymus and autoimmunity: Production of CD25(+)CD4(+) naturally anergic and suppressive T cells as a key function of the thymus in maintaining immunologic self-tolerance. *Journal of Immunology.* 1999; 162: 5317-26.
140. Almeida ARM, Legrand N, Papiernik M, et al. Homeostasis of peripheral CD4(+) T cells: IL-2R alpha and IL-2 shape a population of regulatory cells that controls CD4(+) T cell numbers. *Journal of Immunology.* 2002; 169: 4850-60.
141. Malek TR, Yu A, Vincek V, et al. CD4 Regulatory T Cells Prevent Lethal Autoimmunity in IL-2R $\beta$ -Deficient Mice: Implications for the Nonredundant Function of IL-2. *Immunity.* 2002; 17: 167-78.

142. Setoguchi R, Hori S, Takahashi T, et al. Homeostatic maintenance of natural Foxp3(+) CD25(+) CD4(+) regulatory T cells by interleukin (IL)-2 and induction of autoimmune disease by IL-2 neutralization. *J Exp Med.* 2005; 201: 723-35.
143. Brunkow ME, Jeffery EW, Hjerrild KA, et al. Disruption of a new forkhead/winged-helix protein, scurf, results in the fatal lymphoproliferative disorder of the scurfy mouse. *Nat Genet.* 2001; 27: 68-73.
144. Chatila TA, Blaeser F, Ho N, et al. JM2, encoding a fork head-related protein, is mutated in X-linked autoimmunity-allergic dysregulation syndrome. *J Clin Invest.* 2000; 106: R75-R81.
145. Wildin RS, Ramsdell F, Peake J, et al. X-linked neonatal diabetes mellitus, enteropathy and endocrinopathy syndrome is the human equivalent of mouse scurfy. *Nat Genet.* 2001; 27: 18-20.
146. Bennett CL, Christie J, Ramsdell F, et al. The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3. *Nat Genet.* 2001; 27: 20-21.
147. Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science.* 2003; 299: 1057-61.
148. Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY. Foxp3 programs the development and function of CD4(+)CD25(+) regulatory T cells. *Nat Immunol.* 2003; 4: 330-36.
149. Khattri R, Cox T, Yasayko SA, et al. An essential role for Scurfin in CD4(+)CD25(+) T regulatory cells. *Nat Immunol.* 2003; 4: 337-42.
150. Roncador G, Brown PJ, Maestre L, et al. Analysis of FOXP3 protein expression in human CD4(+)CD25(+) regulatory T cells at the single-cell level. *Eur J Immunol.* 2005; 35: 1681-91.
151. Darrasse-Jeze G, Podsypanina K. How numbers, nature and immune status of Foxp3+ regulatory T cells shape the early immunological events in tumor development. *Frontiers in Immunology.* 2013; 4.
152. Steinman RM. Decisions About Dendritic Cells: Past, Present, and Future. *Annual Review of Immunology, Vol 30.* 2012; 30: 1-22.
153. Hawiger D, Inaba K, Dorsett Y, et al. Dendritic cells induce peripheral T cell unresponsiveness under steady state conditions in vivo. *J Exp Med.* 2001; 194: 769-79.

154. Yamazaki S, Morita A. Dendritic cells in the periphery control antigen-specific natural and induced regulatory T cells. *Front Immunol.* 2013; 4: 151.
155. Thornton AM, Shevach EM. CD4(+)CD25(+) immunoregulatory T cells suppress polyclonal T cell activation in vitro by inhibiting interleukin 2 production. *J Exp Med.* 1998; 188: 287-96.
156. Abbas AK, Benoist C, Bluestone JA, et al. Regulatory T cells: recommendations to simplify the nomenclature. *Nat Immunol.* 2013; 14: 307-8.
157. Josefowicz SZ, Niec RE, Kim HY, et al. Extrathymically generated regulatory T cells control mucosal TH2 inflammation. *Nature.* 2012; 482: 395-9.
158. Ohkura N, Hamaguchi M, Morikawa H, et al. T Cell Receptor Stimulation-Induced Epigenetic Changes and Foxp3 Expression Are Independent and Complementary Events Required for Treg Cell Development. *Immunity.* 2012; 37: 785-99.
159. Samstein RM, Josefowicz SZ, Arvey A, et al. Extrathymic Generation of Regulatory T Cells in Placental Mammals Mitigates Maternal-Fetal Conflict. *Cell.* 2012; 150: 29-38.
160. Thornton AM, Korty PE, Tran DQ, et al. Expression of Helios, an Ikaros Transcription Factor Family Member, Differentiates Thymic-Derived from Peripherally Induced Foxp3(+) T Regulatory Cells. *Journal of Immunology.* 2010; 184: 3433-41.
161. Akimova T, Beier UH, Wang LQ, et al. Helios Expression Is a Marker of T Cell Activation and Proliferation. *Plos One.* 2011; 6.
162. Gottschalk RA, Corse E, Allison JP. TCR ligand density and affinity determine peripheral induction of Foxp3 in vivo. *J Exp Med.* 2010; 207: 1701-11.
163. Gottschalk RA, Corse E, Allison JP. Expression of Helios in Peripherally Induced Foxp3(+) Regulatory T Cells. *Journal of Immunology.* 2012; 188: 976-80.
164. Yamazaki S, Iyoda T, Tarbell K, et al. Direct expansion of functional CD25(+) CD4(+) regulatory T cells by antigen-processing dendritic cells. *J Exp Med.* 2003; 198: 235-47.
165. Fehervari Z, Sakaguchi S. Control of Foxp3(+) CD25(+)CD4(+) regulatory cell activation and function by dendritic cells. *Int Immunol.* 2004; 16: 1769-80.

166. Cheong C, Matos I, Choi JH, et al. Microbial Stimulation Fully Differentiates Monocytes to DC-SIGN/CD209(+) Dendritic Cells for Immune T Cell Areas. *Cell*. 2010; 143: 416-29.
167. Guilliams M, Henril S, Tamoutounour S, et al. From skin dendritic cells to a simplified classification of human and mouse dendritic cell subsets. *Eur J Immunol*. 2010; 40: 2089-94.
168. Kaplan DH, Li MO, Jenison MC, et al. Autocrine/paracrine TGF $\beta$ 1 is required for the development of epidermal Langerhans cells. *The Journal of Experimental Medicine*. 2007; 204: 2545-52.
169. Guilliams M, Crozat K, Henri S, et al. Skin-draining lymph nodes contain dermis-derived CD103(-) dendritic cells that constitutively produce retinoic acid and induce Foxp3(+) regulatory T cells. *Blood*. 2010; 115: 1958-68.
170. Azukizawa H, Dohler A, Kanazawa N, et al. Steady state migratory RelB+ langerin+ dermal dendritic cells mediate peripheral induction of antigen-specific CD4+ CD25+ Foxp3+ regulatory T cells. *Eur J Immunol*. 2011; 41: 1420-34.
171. Chen L, Shen Z, Wu JJ. Effects of ultraviolet radiation exposure on FOXP3+infiltration in cutaneous squamous cell carcinoma and basal cell carcinoma. *Photodermatol Photo*. 2011; 27: 297-303.
172. Ladoire S, Arnould L, Apetoh L, et al. Pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy of breast carcinoma is associated with the disappearance of tumor-infiltrating Foxp3(+) regulatory T cells. *Clin Cancer Res*. 2008; 14: 2413-20.
173. Ebert LM, Tan BS, Browning J, et al. The regulatory T cell-associated transcription factor FoxP3 is expressed by tumor cells. *Cancer research*. 2008; 68: 3001-09.
174. Karanikas V, Speletas M, Zamanakou M, et al. Foxp3 expression in human cancer cells. *J Transl Med*. 2008; 6.
175. Beyer M, Schultze JL. Regulatory T cells in cancer. *Blood*. 2006; 108: 804-11.
176. Bates GJ, Fox SB, Han C, et al. Quantification of regulatory T cells enables the identification of high-risk breast cancer patients and those at risk of late relapse. *J Clin Oncol*. 2006; 24: 5373-80.

177. Wolf D, Wolf AM, Rumpold H, et al. The expression of the regulatory T cell-specific forkhead box transcription factor FoxP3 is associated with poor prognosis in ovarian cancer. *Clin Cancer Res.* 2005; 11: 8326-31.
178. Curiel TJ, Coukos G, Zou LH, et al. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival. *Nat Med.* 2004; 10: 942-49.
179. Jang TJ. Prevalence of Foxp3 Positive T Regulatory Cells is Increased during Progression of Cutaneous Squamous Tumors. *Yonsei Med J.* 2008; 49: 942-48.
180. Kambayashi Y, Fujimura T, Aiba S. Comparison of Immunosuppressive and Immunomodulatory Cells in Keratoacanthoma and Cutaneous Squamous Cell Carcinoma. *Acta dermato-venereologica.* 2013; 93: 663-68.
181. Kaporis HG, Guttman-Yassky E, Lowes MA, et al. Human basal cell carcinoma is associated with Foxp3(+) T cells in a Th2 dominant microenvironment. *Journal of Investigative Dermatology.* 2007; 127: 2391-98.
182. Zhang SL, Fujita H, Mitsui H, et al. Increased Tc22 and Treg/CD8 Ratio Contribute to Aggressive Growth of Transplant Associated Squamous Cell Carcinoma. *Plos One.* 2013; 8.