

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ PATOLOJİ
ANABİLİM DALI

**MELANOSİTİK NEVÜS VE MALİGN MELANOM TANISINDA
KULLANILAN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BELİRLEYİCİLERİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ
DR. BEHİCE HANDE ERENLER**

Samsun – 2010

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ PATOLOJİ
ANABİLİM DALI

**MELANOSİTİK NEVÜS VE MALİGN MELANOM TANISINDA
KULLANILAN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BELİRLEYİCİLERİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ
DR. BEHİCE HANDE ERENLER**

**TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. LEVENT YILDIZ**

Samsun– 2010

TEŐEKKÜR

Eđitimimde emeği geçen saygıdeğer hocalarıma, tezimin hazırlanmasında yakın ilgi ve desteğini gördüğüm sayın hocam Doç. Dr. Levent Yıldız'a, istatistiksel analiz aşamasında zaman ayırarak yardımcı olan Halk Sağlığı Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Sevgi Canbaz'a, tüm patoloji çalıőanlarına ve asistanlığım süresince desteğini esirgemeyen sevgili aileme çok teőekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
TABLO LİSTESİ	III
ŞEKİL LİSTESİ	IV
ÖZET	V-VI
ABSTRACT	VII-VIII
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	2
GEREÇ VE YÖNTEM	22
BULGULAR	26
TARTIŞMA	40
SONUÇLAR	48
KAYNAKLAR	50

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo I. Melanositler, nevüs hücreleri ve melanom hücreleri arasındaki morfolojik farklılıklar.	3
Tablo II. Melanositik tümörlerin WHO histolojik sınıflaması	4
Tablo III. Melanositik nevüslerin histopatolojik ve klinik özellikleri	8
Tablo IV. Melanomun sınıflandırılması	11
Tablo V. Displastik nevüs ve radyal büyüme fazındaki malign melanomlar arasındaki anahtar özellikler	13
Tablo VI. Modifiye Breslow tümör kalınlığı değerlendirme indeksi	16
Tablo VII. Clark invazyon seviyesi sistemi	16
Tablo VIII. İmmünohistokimyasal skorlama	23
Tablo IX. Olguların gruplara göre cinsiyetlerinin dağılımı	26
Tablo X. Dört alt grup arasındaki yaş karşılaştırmaları	27
Tablo XI. İmmünohistokimyasal sonuçlar	28
Tablo XII. Bileşik immünohistokimya skorlarının benign ve malign gruplar arasında karşılaştırılması	30
Tablo XIII. Bileşik immünohistokimya skorlarının 4 alt grup arasında karşılaştırılması	30
Tablo XIV. S-100 ve HMB45 immünohistokimya skorları için 4 alt grubun kendi aralarında ikili karşılaştırması	31
Tablo XV. Benign ve malign melanositik lezyonların ayırt edilmesinde pozitif immünohistokimyasal belirleyicilerin malign melanom için duyarlılık ve özgüllüğü	31
Tablo XVI. Seçilen konvansiyonel histopatolojik bulguların ve S100 ile HMB45 boyanma paternlerinin dört alt gruptaki dağılımı	32
Tablo XVII. Seçilen konvansiyonel histopatolojik bulguların ve S100 ile HMB45 boyanma paternlerinin dört alt gruptaki görülme oranları	39

ŞEKİL LİSTESİ

		<u>Sayfa No</u>
Şekil 1a.	İntradermal nevi olgusunda, dermal nevi hücrelerinde HMB45 negatifliği.	29
Şekil 1b.	Displastik nevi olgusunda, HMB45 ile nevi hücrelerinde dermoepidermal bileşmeden derin dermise doğru boyanma şiddetinde azalma.	29
Şekil 1c.	Nodüler malign melanom olgusunda, MART-1/Melan-A ile yaygın ve kuvvetli sitoplazmik boyanma.	29
Şekil 1d.	Nodüler malign melanom olgusunda, MiTF ile intranükleer boyanma yanı sıra yaygın sitoplazmik saçılma.	29
Şekil 2a.	İntradermal nevi olgusunda, dermal nevi hücrelerinde yaygın ve kuvvetli S-100 boyanması	36
Şekil 2b.	Yüzeyel yayılan malign melanom olgusunda, melanom hücrelerinde S-100 ile yamasal paternde kuvvetli boyanma	36
Şekil 2c.	Nodüler malign melanom olgusunda, melanom hücrelerinde HMB45 ile lezyon bazaline doğru güçlenen boyanma paterni	36
Şekil 2d.	Nodüler malign melanom olgusunda, melanom hücrelerinde HMB45 ile lezyon bazaline doğru güçlenen boyanma paterni	36
Şekil 3.	Yüzeyel yayılan malign melanom olgusunda, pagetoid tarzda belirgin epidermal yayılım gösteren melanom hücreleri	38

ÖZET

Amaç: Malign melanom tanısında kullanılan S-100, HMB45, MART-1/Melan-A ve MiTF immünohistokimyasal belirleyicilerinin, benign ve malign melanositik lezyonların ayırıcı tanısındaki yerini ve malign ve benign ayırımında kullanılan konvansiyonel histomorfolojik bulguları araştırmak.

Gereç ve Yöntem: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında 2000-2008 yılları arasında tanı almış 32'si malign melanom (15 nodüler malign melanom, 13 yüzeysel yayılan malign melanom, 4 akral lentijinöz malign melanom), 27'si displastik nevüs (5 "junctional" displastik nevüs, 22 "compound" displastik nevüs) ve 20'si intradermal nevüs olmak üzere toplam 79 olguya ait hematoksilen-eozin kesitleri retrospektif olarak incelendi. Uygun bloklar seçilerek S-100, HMB45, MART-1/Melan-A ve MiTF ile immünohistokimyasal çalışma yapıldı. Tümörlü alanlarda S-100, HMB45 ve MART-1/Melan-A için sitoplazmik, MiTF için nükleer boyanma dikkate alınarak, boyanma şiddeti ve boyanma yaygınlığı skorlandı. Bu iki skorun toplamından elde edilen bileşik immünohistokimya skoruna göre, boyanma negatif (0-1), zayıf (2), orta (3) ve kuvvetli (4-5) olarak derecelendirildi. Ek olarak S-100 boyanan olgularda yamasal/yaygın, HMB45 boyananlarda lezyon bazaline doğru güçlenen boyanma paterni araştırıldı. Ayrıca tüm olgulara ait hematoksilen-eozin kesitleri simetri, melanositlerde yuva oluşumu, epidermal yayılım (pagetoid ve lentijinöz), maturasyon, lezyon derininde mitoz, lezyon derininde pigment ve lenfositik infiltrasyon (tümöre infiltre lenfosit ve tümör çevresinde bant tarzında infiltrasyon) varlığı açısından incelendi.

Bulgular: İmmünohistokimyasal değerlendirme sonucunda elde edilen bileşik immünohistokimya skorlarının karşılaştırılmasında, S-100 ve HMB45 için istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. Nodüler malign melanom olgularında S-100 skor ortancasının 4 olması ve intradermal nevüs olgularında HMB45 skor ortancasının 0 olmasının, istatistiksel olarak anlamlı farka neden olduğu saptandı. MART-1/Melan-A ve MiTF ile immünohistokimyasal değerlendirmede, istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Elde edilen veriler ile bu dört immünohistokimyasal belirleyicinin duyarlılık ve özgüllük değerleri hesaplandı. Malign melanom için duyarlılık-özgüllük, S-100 için %93,8 - %4,3, HMB45 için %93,8 - %44,7, MART-1/Melan-A için %87,5 - %8,5 ve MiTF için %25 - %59,6 olarak bulundu. S-100 boyanma paterni değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak anlamlı fark yaratacak şekilde, S-100 ile yamasal boyanma gösteren olguların %88,9'unun malign; yaygın boyanma gösteren olguların %66,7'sinin benign olgulardan oluştuğu görüldü. HMB45 ile lezyon bazaline doğru

güçlenen boyanma paterni ise sadece malign olgularda gözlemlendi, benign olgularda bu bulguya rastlanmadı. Hematoksilen-eozin kesitlerinde konvansiyonel histomorfolojik bulguların araştırılmasında, maturasyon, sadece benign olgularda; epidermal yayılım, lezyon derininde mitoz ve tümöre infiltrasyon lenfosit varlığı ise sadece malign olgularda saptandı. Simetri ve melanositlerde yuva oluşumu daha çok benign olgularda; lezyon derininde pigment ve tümör çevresinde bant tarzında lenfositik infiltrasyon varlığı daha çok malign olgularda görüldü.

Sonuçlar: S-100, HMB45 ve MART-1/Melan-A'nın melanositik tümörleri tanımada duyarlılığı yüksek, kıymetli belirleyiciler olduğu ve HMB45'in test edilen diğer belirleyicilere göre benign/malign melanositik tümör ayırımında ön planda yer alabileceği saptandı. İmmünohistokimyasal boyanma/boyanmama kadar, S-100 ve HMB45'in sergilediği boyanma paterni ile hematoksilen eozin kesitlerdeki belli histomorfolojik parametrelerin değerlendirilmesinin, melanositik kökenli bir lezyonun benign/malign karakterine karar vermede yardımcı bulgular olabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar sözcükler: Malign melanom, S-100, HMB45, MART-1/Melan-A, MiTF

ABSTRACT

Objective: To investigate the value of immunohistochemical markers S100, HMB45, MART1/Melan A and MiTF in differential diagnosis of benign and malignant melanocytic lesions and the conventional histomorphologic findings being used to differentiate the benign and the malignant.

Materials and Methods: Hematoxylin and eosin sections of 79 cases diagnosed as melanocytic tumor between 2000-2008 in Ondokuzmayis University, Faculty of Medicine, Department of Pathology were investigated retrospectively. Of these cases 32 was diagnosed as malignant melanoma (15 nodular melanoma, 13 superficial spreading melanoma, 4 acral lentiginous melanoma), 27 as dysplastic nevi (5 junctional dysplastic nevi, 22 compound dysplastic nevi) and 20 intradermal nevi. Immunohistochemical studies with S100, HMB45, MART1/Melan A and MiTF were performed on appropriate blocks. In fields of tumor, intensity and extensity of staining were scored for S-100, HMB45 and MART-1/Melan-A by taking cytoplasmic staining into consideration and for MiTF by taking nuclear staining into consideration. The values obtained by the addition of newly found scores were graded as negative (0-1), poor (2), moderate (3) and severe (4-5). In addition, patchy/diffuse staining with S-100 and staining pattern getting stronger to the lesion base with HMB45 were investigated in those stained positive with S-100 and HMB45. Besides, the hematoxylin and eosin sections of all cases were researched for symmetry, nesting of melanocytes, epidermal extension (pagetoid and lentiginous), maturation, deep mitosis, deep pigmentation and lymphocytic infiltration (tumor-infiltrating lymphocytes and continuous band beneath the tumor).

Findings: In comparison of immunohistochemical scores provided the addition of newly found scores, a statistical difference was found between S-100 and HMB45. We determined that this statistical difference was present because S-100 score median was 4 for cases of nodular melanoma and HMB45 score median was 0 for cases of intradermal nevi. In immunohistochemical evaluation with MART-1/Melan-A and MiTF, there was no significant statistical difference. Sensitivity and specificity of these four immunohistochemical markers were calculated according to these findings. Sensitivity-specificity values for malignant melanoma were found as 93,8% - 4,3% for S-100, 93,8% - 44,7% for HMB45, 87,5% - 8,5% for MART-1/Melan-A and 25% - 59,6% for MiTF. When S-100 staining pattern was evaluated, it was found statistically significant that 89,9% of the cases stained patchy with S-100 was malignant and 66,7% of the cases showed diffuse staining was benign. Stronger

staining to the base with HMB45 was only observed in malignant cases, while no melanocytic nevi showed this staining pattern with HMB45. When conventional histomorphologic findings were investigated in hematoxylin and eosin sections, maturation was determined only in benign lesions, but the presence of epidermal extension, deep mitosis and tumor-infiltrating lymphocytes were only observed in malignant cases. Symmetry and nesting of melanocytes were observed in benign lesions more than the malignant ones, while deep pigmentation and band-form lymphocytic infiltration beneath the tumor were observed in malignant cases more.

Results: It is determined that S-100, HMB45 and MART1/Melan A are valuable markers with high sensitivity for identifying melanocytic tumors and when compared to other tested markers, HMB45 may be more helpful in differentiation of benign and malignant melanocytic tumors. We concluded that evaluation of staining pattern of S-100 and HMB45 and some obvious histomorphologic parameters in hematoxylin and eosin sections of a melanocytic tumor, as well as the presence or absence of immunohistochemical staining, may be helpful in differentiating the benign and the malignant.

Key words: Malignant melanoma, S-100, HMB45, MART-1/Melan-A, MiTF.

1- GİRİŞ VE AMAÇ

Melanositler, yegane görevi melanin pigment üretimi olan özelleşmiş hücrelerdir. Melanositlerin büyük çoğunluğu deride, özellikle de epidermis ve kıl follikülleri içerisinde bulunur (1). Melanositlerin benign tümörleri melanositik nevüs, maligniteleri malign melanom olarak isimlendirilir (2).

Melanositik nevüsler genel olarak basit lentigo, “junctional” nevüs, “compound” nevüs ve intradermal nevüs olarak ayrılırlar. Melanositik nevüslerin Spitz nevüs, pigmente içsi hücreli nevüs, konjenital melanositik nevüs ve displastik nevüs gibi özel varyantları da vardır (2).

Malign melanom, etyolojisinde UV ışınları, genetik ve herediter faktörlerin rol oynadığı, daha çok vücudun güneş gören bölgelerinde, melanositlerden gelişen bir tümördür (3). Melanomlar, epitelyal, hematolojik, mezenkimal ve nöronal tümörleri taklit eden oldukça geniş bir spektrumda histolojik özellikler sergileyebilir (4).

Ayırıcı tanıda iki önemli nokta, malign melanomu bu diğer tümörlerden ve benign melanositik lezyonlardan ayırt etmektir. Bu amaçla histopatolojik özellikler yanı sıra immünohistokimyasal belirleyicilerden de faydalanılır (3,4). Malign melanomlar, tipik olarak vimentin, NSE, S-100, NKIC3, HMB45, Melan-A, tirozinaz ve “Microphthalmia transcription factor” (MiTF) pozitifdir (3). Vimentin ve NSE, çok çeşitli tümör gruplarında boyanmaları nedeni ile tanıda en az faydalı olanlarıdır. S-100 ve NKIC3, her ikisi de malign melanom tanısında duyarlılığı yüksek, özgüllüğü düşük belirleyiciler olup; S-100 en yaygın kullanılanıdır (5).

Çalışmamızda, malign melanom tanısında kullanılan S-100, HMB45, MART-1/Melan-A ve MiTF immünohistokimyasal belirleyicilerinin, benign ve malign melanositik lezyonların ayırıcı tanısındaki yerini ve malign ve benign ayırımında kullanılan konvansiyonel histomorfolojik bulguları araştırmayı planladık.

2- GENEL BİLGİLER

Melanositler, yegane görevi melanin pigment üretimi olan özelleşmiş hücrelerdir. Melanin, memelilerdeki zengin çeşitlilikte pigmentasyondan sorumlu olup; bu durum genetik kontrol altındadır. Melaninlerin insanlardaki birincil görevi, güneş ışığının potansiyel toksik ve karsinojenik etkilerinden korunma sağlamaktır. Melaninler, enflamatuvar yanıtta da katkıda bulunurlar. Ayrıca ısı kaybı ve oksijen radikalleri ile metallerin detoksifikasyonunda da rolü olduğu düşünülmektedir (1).

Farklı fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip pigmentleri içeren doğal melaninler sınıflandırıldığında, iki tip melanin tanımlanır: *eumelanin* (kahverengi – siyah) ve *pheomelanin* (kırmızımsı sarı) . *Pheomelanin*, *eumelanine* göre daha fotolabildir. Işığın, *pheomelanin* üzerinden etki ile potansiyel toksik hidroksil radikallerinin açığa çıkmasına sebep olarak karsinogenezde rol oynadığı düşünülmektedir. Bu durumun kızıl saçlı bireylerdeki yüksek melanom insidansına katkısı olabilir (1).

Melanositlerin büyük çoğunluğu deride, özellikle de epidermis ve kıl follikülleri içerisinde bulunur. Bir bölümü dermiste, sebace glandlar çevresinde veya meme başındaki laktiferöz glandlar yakınında bulunabilir. Ayrıca visseral organlar, orbital kavite, leptomeninks ve iç kulak melanositlerin görülebileceği diğer yerlerdir (1).

Melanin pigmenti, H&E boyanmış kesitlerde her zaman görülemeyebilir. İntrasellüler (melanosit, keratinosit ve makrofajların içerisinde) veya ekstrasellüler olarak bulunabilirler. Melanofajlar içerisindeki melanin pigmenti ince granüler, tozsu bir görünüme sahip iken, keratinosit ve makrofajlar içerisinde kaba granülerdir (1).

Epidermis içerisindeki melanositler, ultraviyole ışığa yanıt olarak veya doku rejenerasyonu sırasında proliferere olabilirler. Üç tip proliferasyon paterni tanımlanmıştır (1):

1- Lentijinöz melanositik hiperplazi: Dermoepidermal bileşke boyunca, tek hücre paterninde melanositik proliferasyon (sıklıkla melanositik nevüslerin lentijinöz formlarında).

2- Nesting (yuvalanma): Gruplar halinde melanositik proliferasyon (tipik olarak melanositik nevüslerde).

3- Pagetoid proliferasyon: Tek hücre paterninde melanositik proliferasyon; diskoheziv ve tüm epidermis boyunca (genellikle melanom ile ilişkili; ayrıca

çocuklardaki kazanılmış/konjenital nevüslerde, Spitz nevüs, pigmente iğsi hücreli nevüs ve akral derideki kazanılmış nevüslerde sık).

Melanositik proliferasyonlar şu üç hücreden bir veya daha fazlası ile ilişkilidir: Melanositler, nevüs hücreleri veya melanom hücreleri. Melanositler, nevüs hücreleri ve melanom hücrelerinin temel morfolojik özellikleri Tablo1’de özetlenmiştir (2).

Tablo 1. Melanositler, nevüs hücreleri ve melanom hücreleri arasındaki morfolojik farklılıklar.

	Melanositler	Nevüs hücreleri	Melanom hücreleri
Sitoplazma	dendritik	yuvarlak / iğsi	yuvarlak / iğsi
Hücre dizilimi	tek tek	yuvalar	büyük yuva ve tabakalar
Nükleus	küçük ve düzenli	küçük ve düzenli	geniş, düzensiz, hiperkromatik
Mitoz	nadir	nadir	genellikle mevcut

Melanositlerin benign tümörleri melanositik nevüs, maligniteleri malign melanom olarak isimlendirilir (2).

Dünya sağlık örgütü (WHO), 2002 yılında melanositik tümörleri Tablo 2’de verildiği şekilde sınıflandırmıştır (6).

Tablo 2. Melanositik tümörlerin WHO histolojik sınıflaması

Malign Melanom

Yüzeyel yayılan melanom
Nodüler melanom
Lentigo maligna
Akral lentiginöz melanom
Desmoplastik melanom
“Blue” nevüsten gelişen melanom
Dev konjenital nevüsten gelişen melanom
Çocukluk çağı melanomu
Nevoid melanom
Persistan melanom

Benign melanositik tümörler

Konjenital melanositik nevüs
 Yüzeyel tip
 Konjenital melanositik nevüste proliferatif nodüller
Dermal melanositik lezyonlar
 Mongol lekesi
 Ito ve Ota nevüs
“Blue” nevüs
 Sellüler “blue” nevüs
Kombine nevüs
Melanositik maküller, basit lentigo ve lentiginöz nevüs
Displastik nevüs
Bölge spesifik nevüsler
 Akral
 Genital
 Meyerson nevüs
Persistan (rekürren) melanositik nevüs
Spitz nevüs
Halo nevüs

2.1- Benign Pigmente Lezyonlar

Benign pigmente lezyonlar, epidermal melanositlerden gelişen çil, solar lentigo, Albright Sendromu'nun melanotik makülleri ve Becker'in melanozisi ile dermal melanositlerden gelişen Mongol lekesi, Ota ve Ito nevüs ve "blue" nevüsü kapsar (2).

Melanositik nevüs olarak adlandırılan nevüs hücrelerinin benign tümörleri, genel olarak basit lentigo, "junctional nevüs", "compound nevüs" ve intradermal nevüs olarak ayrılırlar. Melanositik nevüslerin ayrıca Spitz nevüs, pigmente iğsi hücreli nevüs, konjenital melanositik nevüs ve displastik nevüs gibi özel varyantları da vardır (2).

2.1.1- Melanositik Nevüsler

Melanositik nevüs, melanositlerden gelişen konjenital veya edinilmiş benign tümörleri tanımlar (7). Melanositik, nevosellüler ve pigmente sıfatları, aynı nevüs tipini tanımlamak için kullanılır (3).

Melanositik nevüsler, doğumsal olabilecekleri (konjenital melanositik nevüsler) gibi, büyük bölümü adolesan ve çocukluk çağında (edinilmiş melanositik nevüsler) ortaya çıkar. Yapılan çalışmalar, çocukluk çağında güneş ışığı maruziyetinin normalden daha geniş çaplı ve atipik özellikler taşıyan nevüslerin gelişiminde etkisi olduğunu göstermiştir. Nevüsler, erkeklerde kızlara göre ve beyazlarda diğer etnik gruplara göre daha sık olup; ten rengi açık, sarışın veya kıvılcak saçlı çocuklarda daha yaygındır (8).

Melanositik nevüslerin vücuttaki dağılımı, malign melanomlardan farklılık gösterir. Daha çok alt ekstremitelerde yerleşen malign melanomların tersine, nevüsler baş, boyun ve gövde derisinde daha sık görülürler. Nevüsler, değişik boyut, şekil ve pigmentasyona sahip olabilir; az veya çok kıl bulundurabilirler (3).

Edinilmiş melanositik nevüsler, lezyonun yaşı ilerledikçe, progresif bir maturasyon gösterirler. Başlangıçta, proliferatif melanosit yuvalarının dermoepidermal bileşkeye sınırlı olması ile karakterize, "flat" maküler bir lezyon olan "junctional" nevüs, nevüs hücrelerinin dermise düşmesi ile progresif olarak, papülo/nodüler bir lezyon olan "compound" nevüse dönüşür. Maturasyon ilerledikçe, "junctional" aktivite sona erer ve lezyon yalnızca dermal nevüs hücrelerinden oluşan intradermal nevüs halini alır. İlerleyen yıllarda, intradermal nevüs daha az pigmente olur. Bu maturasyon süreci değişkenlik gösterse de, erken erişkinlik döneminde görülen çoğu nevüs intradermaldir (8).

Dermoepidermal bileşmeden dermise doğru maturasyon gösteren nevüs hücreleri üç farklı sitolojik görünüm sergiler. İntraepidermal ve üst dermiste yerleşen ve kaba melanin pigmenti içeren A tipi hücreler epitelooid morfolojidedir. B tipi nevüs hücreleri, orta dermiste yerleşir, daha matür, lenfosit benzeri hücrelerdir. En derindeki fibroblast ve schwann hücrelerini anımsatan iğsi hücreler, C tipi nevüs hücreleridir (1). Bu maturasyon sürecinin varlığı tanısal önem taşır; çünkü melanomlarda maturasyon ya çok azdır ya da hiç görülmez (9).

Melanomu taklit eden lezyonlar olmaları ve melanom için risk teşkil etmeleri sebebi ile nevüsler ile melanomun klinik ve histolojik ayırıcı tanısı kritik öneme sahiptir (2).

Nevüslerin büyük bir çoğunluğu deride görülse de, skuamöz epitel ile örtülü mukozal yüzeylerde de görülebilirler. Ayrıca benign nevüs hücre gruplarına, sıklıkla aksiller bölge olmak üzere lenf nodu kapsülünde de rastlanabilir. Kutanöz melanom nedeni ile uygulanmış bir aksiller lenfadenektomi vakasında, lenf nodunu penetre etmeyen bu hücre gruplarının metastatik melanom olarak değerlendirilmemesi gerekir (3).

2.1.1.1- Basit Lentigo

Melanositik nevüslerin erken veya gelişmekte olan şekli, “junctional” nevüsün prekürsörü olarak kabul edilirler. Histolojik olarak, epidermis bazal tabakasında lentijinöz melanositik proliferasyon ile karakterize olup; nevoid yuvaların olmaması ile nevüslerden ayrılırlar (2,3).

2.1.1.2- “Junctional” Nevüsler

Melanositik proliferasyonun dermoepidermal bileşkede sınırlı kaldığı nevüslerdir. Avuç içi ve ayak tabanında görülen nevüslerin hemen tamamı “junctional” nevüslerdir (3).

Bazen nevüs hücre yuvaları, “compound” nevüse öncülük edercesine, dermise doğru girintiler yapsa da, epidermis ile bağlantısını koparmadığı görülür (2). Bazen de, epidermiste yuva yapan nevüs hücreleri yanında tek tek ve diffüz olarak dağılmış nevüs hücreleri görülebilir. Retelerde elongasyon ve bazal tabakada tek tek nevüs hücreleri, üst dermiste melanofajlar ve mononükleer hücre infiltrasyonu ile lentigoyu anımsatır

özelliklere sahip, kısaca basit lentigo ve “junctional” nevüsün ortak özelliklerini taşıyan bu lezyonlar, lentiginöz “junctional” nevüs olarak isimlendirilir (2).

2.1.1.3- “Compound” Nevüsler

Çoğunlukla çocukluk ve adolesan döneminde görülürler (8). “Compound” nevüsler, hem “junctional” hem de intradermal nevüsün özelliklerini taşıyan, yani hem epidermal hem de intradermal bileşeni bulduran nevüslerdir (3). Üst dermiste sitoplazmasında melanin içeren küboidal nevüs hücreleri gözlenirken, derin dermisteki hücreler daha az melanin içeren küçük hücrelerdir (8).

Dermisin yüzeyinden derine doğru nevüs hücrelerinin boyutlarında küçülme, melanin içeriğinde azalma ve muntazam yuvaların kaybolması maturasyon lehinde bir bulgu olup, melanomda beklenmez (2). Melanomun neoplastik hücreleri, nevüslerden farklı olarak, kollajen liflerini yıkarak ve onların yerini alarak infiltrasyon gösterirler (2). Lezyon tabanındaki mononükleer hücre infiltrasyonu, melanomdaki bant tarzı enflamasyondan ziyade dağınık gruplar şeklindedir (3).

Nevüsler, vücuttaki lokalizasyonlarına göre, farklı mikroskopik görünüm sergileyebilirler. Örneğin avuç içi ve ayak tabanı nevüsleri ömür boyu “junctional” kalma eğiliminde iken; saçlı deri yerleşimli olanlar genellikle belirgin bir nöral bileşene sahiptir. Vulvadaki (vulvar/genital) nevüsler ise, daha büyük, düzensiz sınırlı olmaları ve sıklıkla lentiginöz melanositik hiperplazinin eşlik etmesi nedeni ile malign melanom ile karışabilen lezyonlardır (3).

2.1.1.4- İntradermal Nevüsler

Melanositik nevüslerin en sık ve genellikle erişkinlerde görülen formudur (8). Nevüs hücreleri dermise sınırlıdır ve “junctional” aktivite göstermezler. Multinükleer nevüs hücrelerine rastlanabilir; ancak bu hücreler Spitz nevüs ve bazı melanomlarda görülen irregüler bizar şekilli multinükleer hücrelere benzemezler (2).

Bazı nevüsler ise üst dermiste yuvalar oluşturmadan, kollajen lifleri arasında dağılmış sadece iğsi şekilli C tipi hücrelerden oluşur. Nöral nevüs olarak isimlendirilen bu lezyonların nörofibromlardan ayrımı rutin tetkikler ile güç olabilir. İmmünohistokimyasal olarak nörofibromlarda bulunan MBP (myelin basic protein) ile ayrılırlar (3).

Ayrıca tipik “compound” ve intradermal nevüslerde, belirgin skleroz, nodüler miksoid değişiklik, amiloid depolanması, elastoz ve metaplastik kemik gelişimi gibi pek çok farklı morfolojik bulgu da tanımlanmıştır (3).

Sık karşılaşılan melanositik nevüs tiplerinin belli başlı özellikleri Tablo 3’te özetlenmiştir (9).

Tablo 3. Melanositik nevüslerin histopatolojik ve klinik özellikleri

Nevüs varyantı	Yapısal özellikler	Sitolojik özellikler	Klinik önemi
Konjenital nevüs	Derin dermal ya da bazen deri ekleri, nörovasküler demetler ve damar duvarları etrafında subkutanöz gelişim	Akkiz nevüsle aynı	Doğumda mevcut; büyük olanlarda melanom riski artmıştır.
“Blue” nevüs	Yuvalar oluşturmeyen dermal infiltrasyon ve sıklıkla beraberinde fibrozis	Oldukça dendritik, yoğun pigmentli nevüs hücreleri	Siyah-mavi nodül; sıklıkla klinik olarak melanom ile karışır.
İğsi ve epiteloid hücreli nevüs (Spitz nevüs)	Demetler halinde gelişim	Pembe-mavi sitoplazmalı büyük şişkin hücreler; iğsi hücreler	Çocuklarda sık, kırmızı-pembe nodül; klinik olarak sıklıkla hemanjiyom ile karışır.
Halo nevüs	Nevüs hücrelerini saran lenfositik infiltrasyon	Akkiz nevüs ile aynı	Nevüs hücreleri ve çevredeki normal melanositlere karşı konak immün yanıtı
Displastik nevüs	Büyük, birleşen intraepidermal yuvalar	Sitolojik atipi	Malign melanomun potansiyel prekürsörü

2.2- Displastik Nevüsler

Displastik nevüsler, klinik ve histolojik olarak banal nevüsler ile yüzeysel yayılan melanom arasında bir formu oluşturur (2).

Dünya sağlık örgütü (WHO), displastik nevüsleri, daha çok üst gövde ve ekstremitelerde yerleşen, değişken renk, boyut ve hudutlara sahip, tekli veya çoğul nevüsler olarak tanımlamıştır (6).

Displastik nevüsler sporadik veya famiyal bir zeminde gelişebilir; malign melanoma progresyon gösterebilirler. Etyolojilerinde UV ışınları rol oynar (6).

Klinik karakteristik özellikleri (2,6):

- a) Genellikle 5 mm'den büyük boyutlardadır.
- b) İrregüler pigmentasyon gösterirler.
- c) Kötü sınırlı lezyonlardır.
- d) Maküler bileşeni bulunur; bu bileşen lezyonun tamamında hakim veya merkezdeki bir papülün çevresinde görülebilir.
- e) Daha çok gövdede görülürler.

Displastik nevüslerin temel histopatolojik kriterleri, yapısal ve sitolojik özelliklerini içerir: ≥ 4 mm boyut, "compound" nevüs komşuluğunda "junctional" bileşen varlığı, uzamış "rete ridge"lerde tek tek veya yuvalanan melanositler, stromal reaksiyon ve hafif-orta derecede atipi varlığı (6).

Histolojik klasifikasyonda halen görüş birliğine varılamamıştır. Geçmişte bazı gruplar atipik yapısal özelliklerin tanı için yeterli olduğunu savunurken, bazıları ise sitolojik bulguların gerekli olduğunu öne sürmüşlerdir. Shea ve ark. ise yapısal ve sitolojik özelliklerin her ikisinin de gerekliliğini savunmuşlardır. En yeni tanımlamalara göre displastik nevüs histolojisi şu özellikleri içerir (6):

- Periferinde "junctional" bileşeni bulunan santral dermal nevüs
- Uzamış epidermal "rete ridge"ler
- Dermoepidermal bileşkede yuvalanan melanositlerin köprüleşmesi
- "Rete ridge"lerde yuva yapan melanositler
- Papiller dermiste lameller fibrozis

Dermal bileşenin periferine uzanan "junctional" bileşen, omuz fenomeni olarak adlandırılır (6).

Genel olarak bir displastik nevüsün histolojik tanımlanmasındaki yapısal kriterler, lezyonun sınırları, simetri, kohezyon, suprabazal melanositler, grup ve tek hücre proliferasyonunu içerir. Sitolojik kriterler ise, nükleer şekil ve boyanma, nükleus çapı, nükleol belirginliği ve hücre boyutunu içerir (6).

Bu lezyonların tanımlanmasındaki problemlerden biri de, histolojik değişikliklerin nonspesifik olmasıdır. Çocuklarda ve skalp, fleksör bölgeler gibi belli

anatomik lokalizasyonlarda yerleşen ancak klinik olarak displastik nevüs özelliklerini taşımayan nevüslerde de benzer histolojiye rastlanabilir (6).

2.3- Malign Melanom

Dermoepidermal bileşkedeki melanositlerden gelişen malign melanomun etyolojisinde UV ışınları, genetik ve herediter faktörler rol oynar (3). En sık baş-boyun ve özellikle kadınlarda alt ekstremitede görülür. Diğer nadir lokalizasyonlar subungual bölge ile avuç içi ve ayak tabanıdır (3). Açık ten rengine sahip, kızıl saçlı ve güneş yanığına yatkın beyaz bireyler özellikle risk altındadır. Zencilerde görülen az sayıda melanom vakasında avuç içi, ayak tabanı, tırnak yatağı ve müköz membran lokalizasyonu daha sıktır (3).

Melanomların büyük bölümü puberteden sonra ortaya çıkar, ancak çocukluk çağında da görülebilir ve histolojisi erişkindekine benzer (3).

Vücutta çok sayıda melanositik nevüsün varlığı, displastik olmasalar dahi, melanom için risk oluşturur. Bir genetik hastalık olan kseroderma pigmentozum da melanom gelişimine predispozandır (3).

Çoğu melanom epidermisten gelişir; in situ kalabilir ya da dermise invazyon gösterir. Bazı invaziv melanomlar ise tamamen dermal olabilir. İnvaziv melanom, tümörojenik (vertikal büyüme fazında, VBF) veya non-tümörojenik (radyal büyüme fazında, RBF) olabilir (2).

Tümörojenik melanom: Dermiste, en büyük intraepidermal kümeden daha büyük en az bir yuvadan oluşan melanom hücresi yığını ifade eder ki, bu da dermiste ekspansil büyüme potansiyeli olan tümörün varlığına işarettir (2).

Non-tümörojenik melanom: Dermiste melanom hücresi (yani en büyük intraepidermal kümeden daha büyük grup) yoktur (2).

Vertikal büyüme fazı: Bir lezyon, eğer tümörojenikse veya dermiste mitoz gözlenirse, vertikal büyüme fazındadır. Bir melanomun dermal komponentinde mitoz varlığı, dermiste belirgin bir tümör olmadığında bile, ekspansil büyüme potansiyeli olan bir tümöre işaret eder (2).

Radyal büyüme fazı: Sadece radyal büyüme fazında olan bir tümör, non-tümörojeniktir ve dermal mitoz görülmez. Bazen de, radyal büyüme fazı, bir primer melanomun vertikal büyüme fazına komşu bileşen olarak görülür (2).

Bir tümörojenik melanomu ayıran en büyük özelliği, melanom hücrelerinin dermisteki proliferasyon kapasitesidir. Non-tümörojenik melanomda, epidermiste proliferasyon olan melanom hücreleri dermise invaziv olabilir, ancak dermiste proliferasyon olmazlar. Bu durum, non-tümörojenik melanomların neden metastaz kapasitesine sahip olmadığını açıklayabilir (2).

Melanoma in situ ve non-tümörojenik invaziv melanom, a) lentigo maligna, b) yüzeysel yayılan melanom, c) akrall lentiginöz melanom, d) mukozal lentiginöz melanom tiplerine ayrılır. Altta yatan böyle bir non-tümörojenik bileşen üzerinden tümörojenik melanom gelişebilir. Ya da in situ veya mikroinvaziv bir bileşen olmadan, de novo tümörojenik melanomlar, e) nodüler melanomlar gelişir. Tümörojenik melanomun diğer önemli varyantları f) desmoplastik melanom ve g) nörotropik melanomdur (2).

Radyal ve vertikal büyüme fazındaki melanomun sınıflandırılması Tablo 4'te gösterilmiştir (2).

Tablo 4. Melanomun sınıflandırılması

Radyal büyüme fazı (RBF)
Non-tümörojenik melanom
İn situ veya mikroinvaziv
Yüzeysel yayılan melanom-YYM (tüm melanomların %67'si)
Lentigo maligna melanom-LMM (%9)
Akrall lentiginöz melanom-ALM (%4)
Klasifiye edilemeyen radyal büyüme fazı-KERBF (%5)
Vertikal büyüme fazı (VBF)
Tümörojenik melanom
RBF göstermeyen
Nodüler malign melanom (%10)
RBF gösteren-YYM, LMM, ALM, KERBF olabilir (%90)
Sıradan VBF (%96)
Desmoplastik (%3), çoğu aynı zamanda nörotropik
Nörotropik, ama desmoplastik değil (%1)

Plak benzeri görünümüne sahip, non-tümörojenik, radyal büyüme fazındaki tümörlerin klinik bulguları ABCD (**A**simetri, **B**order- düzensiz sınırlar, **C**olour- çok renkli görünüm, **D**iameter- genellikle 6mm üzerinde çap) kriterleri ile özetlenmiştir. Vertikal büyüme fazındaki tümörojenik olanların ise, plak zemininde papül ve nihayet nodül şeklinde geliştikleri görülür. Genellikle ABCD kriterlerini karşılamayan nodüler lezyon, simetrik, düzgün sınırlı, daha uniform renkte olup; sıklıkla 6 mm'den küçük çaplıdır (2).

2.3.1- Lentigo Maligna – Lentigo Maligna Melanoma

Lentigo maligna, yaşlıların güneş gören cildinde, özellikle de yüz bölgesinde görülen bir melanoma in situ formudur (6). Histolojik olarak, dermoepidermal bileşkede lineer veya yuvalar tarzında proliferasyon gösteren atipik melanositler ile karakterize olup; epidermal atrofi, solar elastoz, papiller dermiste lenfositik infiltrasyon ve fokal fibroplazi eşlik eder (6).

Atipik melanositlerin dermal invazyonu mevcutsa, lezyon lentigo maligna melanoma adını alır (6).

2.3.2- Yüzeyel Yayılan Malign Melanom

Tüm melanomların en sık görülen tipidir (6). Premalign melanozis ve pagetoid melanom olarak da bilinir (3).

Güneş gören bölgeler başta olmak üzere vücutta her yerde görülebilir. Kadınlarda bacaklarda, erkeklerde gövdede en sıktır (6).

İrregüler sınırlı, yüzeyden hafif kabarık ve plak tarzında palpe edilebilen lezyonlardır. Ten, kahve ve siyah renk yanında beyaz, pembe ve gri alanlar içeren çok renkli bir görünüm sergilerler (6). Beyaz renkli alanlar spontan regresyona, pembe ve mavi renkli alanlar ise tümör regresyonuna işaret eder (3).

Mikroinvazyon klinik olarak net seçilemeyebilirse de, papül ve daha geç dönemde nodül gelişimi, bazen de eşlik eden ülserasyon tümörojenik vertikal büyümenin bulgusudur (2).

Erken dönemdeki yüzeyel yayılan bir malign melanom, klinik olarak displastik nevüsten ayırt edilemeyebilir. Doğru tanı için altın standard, histolojik

değerlendirmedir. Displastik nevüs ve radyal büyüme fazındaki malign melanomların ayırımında faydalanılabilecek yapısal ve sitolojik özellikler Tablo 5’te özetlenmiştir (2).

Tablo 5. Displastik nevüs ve radyal büyüme fazındaki malign melanomlar arasındaki anahtar özellikler

	Displastik nevüs	Radyal büyüme fazında malign melanom
Yapısal özellikler	<p>6 mm’den küçük olabilir, sıklıkla 10 mm’yi geçmez. Bir miktar simetrik. Sıklıkla bir matür dermal nevüsün omuzlarında simetrik olarak düzenlenir. Uniform uzamış, dar rete uçları</p> <p>Stratum korneumda değişiklik yok. Epidermiste tek hücreden çok yuvalar vardır. Epidermise pagetoid yayılım yok veya azdır. Papiller dermiste yama şeklinde lenfositik infiltrasyon Regresyon yok. Yan sınırlardaki en son lezyonlu hücreler sıklıkla yuva şeklinde</p>	<p>Genellikle 6 mm’den, sıklıkla 10 mm’den büyük. Yüksek oranda asimetrik. Eğer dermal bir nevüs mevcutsa asimetrik olma eğilimindedir. Düzensiz kalınlaşmış epidermis, sıklıkla silinmiş rete uçları Stratum korneum hiperkeratotik olabilir. Epidermiste, geç lezyonlar hariç, daha çok tek hücreler Genellikle, epidermise belirgin pagetoid yayılım (stratum korneuma ilerleyen) Aktif bant tarzı lenfositik infiltrasyon</p> <p>Regresyon sık. En son lezyonlu hücreler sıklıkla tek hücreler ve bazal tabakadan daha yukarıda olabilir.</p>
Sitolojik özellikler	<p>Saçılmış atipik epitelooid hücrelerde tozsu melanin pigmenti, nukleol, anizokaryoz Hücrelerin çoğunda atipi yok (“random” atipi). Epidermis ve dermiste mitoz yok.</p> <p>Dermisteki hücreler epidermisteki hücrelerden daha az ve küçük.</p>	<p>Atipik epitelooid hücrelerde tozsu melanin pigmenti, nukleol, anizokaryoz baskın Hücrelerin çoğu atipik (üniform atipi).</p> <p>Vakaların 1/3’ünde intraepidermal mitoz görülür. Dermiste mitoz yok. Dermisteki hücreler epidermisteki hücrelere benzerler.</p>

Histopatolojik olarak, epidermiste irregüler bir kalınlaşma veya incelme görülebilir. Tümör üniform ve geniş sitoplazmalı, değişen oranda melanin pigmenti içeren hücrelerden oluşur. Atipik melanositlerin epidermis içerisinde pagetoid bir paternde dağıldığı görülür (2).

İn situ bir lezyonda, dermiste neoplastik hücreler görülmez. İnvaziv ama non-tümörojenik lezyonda (invaziv RBF veya mikroinvaziv melanomda), dermiste görülen

hücre yuvaları epidermistekilerden daha küçüktür ve dermal mitoz yoktur. Tümörojenik VBF’da ise, dermiste en büyük intraepidermal yuvadan daha büyük en az bir veya daha fazla hücre kümesi ve mitoz görülür (2).

2.3.3- Nodüler Malign Melanom

İkinci en sık görülen malign melanom alt tipidir. Yüzeysel yayılan melanoma göre daha yaşlı bireylerde; en sık gövde, baş-boyun ve bacak alt kısmında görülür (6).

Klinikte genellikle iyi sınırlı ve simetrik, hızla büyüyen papül veya nodüler lezyonlar şeklinde ortaya çıkar. Mavi-siyah ve hatta amelanotik olabilirler. Tanı anında sıklıkla 1 cm çapa kadar ulaşmış olurlar. Yüzeyde ülserasyon görülebilir (6). Tümör öncelikle lokal lenf nodlarına, ardından iç organlara yayılım gösterir (6).

Histopatolojik değerlendirmede, dermisi dolduran tümör hücrelerinin polipoid bir yapı oluşturduğu görülür. Epidermis incelmış veya ülser olabilir. Tümör hücrelerinin epidermise yayılımı, dermal bileşenin ötesine geçmeyecek şekilde, tümörün hemen yüzeyindeki epidermis ile sınırlıdır (6).

Tümör genellikle epiteloid hücreler, arada iğsi hücreler, nevüs benzeri küçük hücreler, dev mononükleer veya multinükleer hücrelerden oluşur. Maturasyon göstermeyen bu neoplastik hücreler, değişen oranda melanin içerir. Amelanotik lezyonlarda melanin görülmez. Komşu stromada mononükleer hücre infiltrasyonu, fibroplazi, telenjektazi ve melanofajlar görülebilir (6).

Nodüler melanom, nevüs zemininde gelişebileceği gibi, daha sık olarak de novo başlar (6).

2.3.4- Akral Lentijinöz Malign Melanom

Akral lentijinöz melanom, daha çok siyahlarda ve Asyalılarda görülen, karakteristik histopatolojik özelliklere sahip kutanöz melanom formudur. En sık avuç içi, ayak tabanı, subungal bölgeler ile anüs, oral ve nazal kavite mukokutanöz birleşim yerlerinde görülür (3,6).

Radyal büyüme fazındaki tümör, belirgin akantoz, korneum tabakasında kalınlaşma, “rete ridge”lerde uzama ve lezyon kenarlarında bazal epidermisteki atipik melanositlerin lentijinöz proliferasyonu ile karakterizedir (6). Lentijinöz tipteki intraepidermal bileşen, lentigo malignaya benzese de; farklı olarak epidermis atrofik

değil, hiperplastiktir ve intraepidermal melanositler bol melanin içeren iri bizar hücrelerdir. Papiller dermis genişlemiş ve enflamedir (3).

Atipik melanositler, deri ekleri boyunca dermise ilerleyebilirler (6). Vertikal büyüme fazında ise, desmoplastik reaksiyon gösteren tümör nodülü daha çok iğsi hücrelerden oluşur. Daha kalın tümörlerde “junctional” bileşeni oluşturan hücrelerin yuvalanma yaptığı ve korneum tabakasına ilerlediği görülür (6).

2.3.5- Desmoplastik ve Nörotropik Melanom

Malign melanomun, nadir görülen, iğsi hücreli tipleridir.

Desmoplastik melanom, agresif seyirli olması ve sık karışan bir lezyon olması sebebi ile ayrıcalıklı bir öneme sahiptir. Mikroskopik olarak, yoğun desmoplazi gösteren bir stromada iğsi hücreler ile karakterizedir. Tümör hücreleri az sayıda olabilir ve fazla atipi göstermeyebilir. Bu hücreler S-100 ile pozitif boyanırken; HMB45, Melan-A ve diğer spesifik melanom belirleyicileri ile boyanmazlar. Ayırıcı tanıya hipertrofik skar, atipik fibroksantom, iğsi skuamöz hücreli karsinom ve periferik sinir kılıfı tümörleri girer. Hücrelerde fasiküler patern, derin invazyon, sinir invazyonu, tümör periferinde nodüler lenfositik infiltrasyon ve lezyonu örten epidermiste lentigo malignaya ait bulguların varlığı tanıda yardımcı olabilir (3).

Nörotropik melanom, bir periferik sinir kılıfı tümörü paterninde gelişim gösteren desmoplastik/iğsi hücreli melanom varyantıdır (3).

2.3.6- Prognoz

Evreleme, prognozda en önemli belirleyici faktördür. Evrelemede, Breslow tümör kalınlığı değerlendirme indeksi, Clark invazyon seviyesi sistemi, metastatik lenf nodu sayısı, lenf nodlarının tutulum şekli, mikrosatellit lezyonlar, bölgesel ve uzak metastazlar önemli rol oynar (3).

Modifiye Breslow tümör kalınlığı değerlendirme indeksi ve Clark invazyon seviyesi sistemi, Tablo 6 ve Tablo 7’de gösterilmiştir (10).

Tablo 6. Modifiye Breslow tümör kalınlığı değerlendirme indeksi

Evre	Breslow indeksi
Tis	In situ
T1	≤1 mm
T2	1.01-2 mm
T3	2.01-4 mm
T4	≥4 mm

Tablo 7. Clark invazyon seviyesi sistemi

Evre	Clark sistemi
I	Dermal invazyon yok
II	Tümör hücreleri papiller dermiste
III	Tümör hücreleri papiller dermisi doldurmuş
IV	Tümör hücreleri retiküler dermiste
V	Subkutan yağ dokusu invazyonu

Malign melanomda prognozun değerlendirilmesine yönelik olarak geliştirilmiş, bazı histolojik ve klinik özelliklere dayanan bir model, şu değişkenleri içermektedir (9):

1. Tümör derinliği/kalınlığı
2. Milimetre karedeki mitoz sayısı
3. Regresyon bulguları (radyal büyüme bileşenine karşı immün yanıt)
4. Vertikal büyüme bileşeni tabanındaki tümörü infiltre eden lenfositlerin (TİL) varlığı ve derecesi
5. Cinsiyet
6. Yerleşim

Bu modeldeki daha iyi prognoz belirleyicileri, 1,7 mm'den daha küçük tümör derinliği, mitozun olmaması ya da az sayıda olması, regresyon olmayışı, belirgin bir TİL yanıtı, kadın cinsiyet ve ekstremitte yerleşimini kapsar (9).

Yapılan çalışmalarda, ayrıca, ülserasyon, vasküler/lenfatik invazyon, satellit nodüllerin varlığı kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur (2).

2.3.7- Ayırıcı tanı

Malign melanomun ayırıcı tanısında iki önemli nokta vardır (3):

1. Malign melanomu benign melanositik lezyonlardan ayırt etmek (spitz nevüs, halo nevüs, aktive ve displastik nevüs ile vulvar nevüslerde ayırıcı tanı güç olabilir)
2. Özellikle melanin pigmenti içermeyen lezyonlarda, malign melanomu diğer tümörlerden ayırt etmek

Ayırıcı tanıda histopatolojik özellikler önemlidir. Melanomlar, epitelyal, hematolojik, mezenkimal ve nöronal tümörleri taklit eden oldukça geniş bir spektrumda histolojik özellikler sergileyebilir. Hem bu tümörlerden hem de benign melanositik lezyonlardan ayırımında histopatoloji yanısıra immünohistokimyadan faydalanılır (4).

Malign melanomlar, tipik olarak vimentin, NSE, S-100, NKIC3, HMB45, MART-1/Melan-A, tirozinaz ve “Microphthalmia transcription factor” (MiTF) pozitifdir (3). Vimentin ve NSE, çok çeşitli tümör gruplarında boyanmaları nedeni ile tanıda en az faydalı olanlardır. S-100 ve NKIC3, her ikisi de malign melanom tanısında duyarlılığı yüksek, fakat özgüllüğü düşük belirleyiciler olup; S-100 en yaygın kullanılanıdır (5).

2.3.7.1- S-100:

İlk olarak glial hücrelerde tespit edilmiş, asidik kalsiyum bağlayıcı bir protein olan S-100, melanom tanısında yaygın olarak kullanılan bir belirleyicidir (11).

Isobe ve ark. , beyinden izole edilen S-100 proteininin tek bir protein değil de; $\alpha\alpha$ (S-100 ao), $\alpha\beta$ (S-100 a) ve $\beta\beta$ (S-100 b) alt üniteleri olmak üzere en az üç benzer proteinden oluştuğunu tespit etmiştir. Aynı araştırmacılar, ayrıca, beyindeki S-100 proteininin büyük oranda, S-100 b ($\beta\beta$) ve S-100 a ($\alpha\beta$)’yı içeren, β alt ünitesinden oluştuğunu göstermişlerdir (12-15).

S-100, melanomda, nükleer ve sitoplazmik boyanma gösterir; %97-100 duyarlılığa sahiptir. Sinir kılıfı hücreleri, myoepitelyal hücreler, adipositler, kondrositler ve Langerhans hücrelerinde ve bu hücrelerden kaynaklanan tümörlerde de ekspres olmaları nedeniyle, melanomdaki özgüllüğü sınırlı olup, %75-87 olarak bildirilmiştir (4).

S-100 antikorları, intraepidermal melanositik proliferasyonları değerlendirmede, özgüllüklerinin olmaması (Langerhans hücreleri S-100 ile pozitif boyanır) ve soliter

intraepidermal melanositlere olan düşük duyarlılıkları nedeni ile güvenilir belirleyiciler değildirler (16).

Alfa ve beta alt ünitelerine karşı geliştirilmiş monoklonal antikorlar ile bu alt ünitelerin melanositik nevüs ve melanomlardaki immünohistokimyasal lokalizasyonunu saptamaya yönelik çalışmalar yapılmıştır. Bir çalışmada, tüm nevüs ve melanoma hücrelerinde poliklonal anti-S-100 ile uniform bir reaktivite gözlenmiştir. Oysa monoklonal anti-S-100 α ve anti-S-100 β ile “junctional” nevüs veya “compound” nevüs “junctional” yuvalarında reaktivite ya gözlenmemiş ya da nadir olarak saptanmıştır. “Junctional” displastik nevüslerin “junctional” yuvalarında ve displastik “compound” nevüslerin “junctional” komponentlerinde, monoklonal anti-S-100 α reaktivitesinde artış görülürken, monoklonal anti-S-100 β yine negatif kalmıştır. Melanomların yüzeysel (YYMM ve LMM) tiplerinde, vertikal büyüme ile invazyon başlayana dek, S-100 β 'nın negatif olduğu görülmüştür. Çoğu nodüler melanomada ise, her iki monoklonal anti-S-100- α ve anti-S-100- β ile pozitif boyanma saptanmıştır. Poliklonal anti-S100'ün yüksek duyarlılığa sahip olduğunu gösteren bu çalışmada da, melanositik hücreler için özgül olmayan bir belirleyici olduğu doğrulanmıştır (11).

Bazen melanomu S-100 pozitif tümörlerden güvenle ayırabilmek için, poliklonal anti-S-100 ile birlikte melanom için daha özgül immünohistokimyasal belirleyicileri kullanmak gerekebilirse de (4), genellikle S-100 pozitif boyanan non-melanositik tümörler, tipik morfolojik yapıları ile veya çeşitli non-melanositik belirleyicilerin de yardımıyla melanositik tümörlerden ayrılabilir. Bu nedenle, non-melanositik tümörlerdeki S-100 pozitifliği, çoğunlukla majör bir tanısal sorun yaratmaz (16).

Taşlı yüzük hücreli ve rabdoid melanom gibi morfolojik olarak atipik tümörlerde ise S-100 genellikle negatiftir. Ama neyse ki, tanısı güç bir grup olan desmoplastik melanomlarda, hemen tüm vakalarda fokal veya diffüz boyanma görülür (5). Özellikle desmoplastik melanomun immünohistokimyasal olarak belirlenebilmesinde S-100'ün hala en geçerli antikor olarak değerini koruduğu bildirilmektedir (17, 18). S-100 halen, primer ve metastatik melanomların, özellikle de amelanotik (desmoplastik ve non-desmoplastik) iğsi hücreli melanomların tanısında, en duyarlı ve kıymetli immünohistokimyasal belirleyicidir (16).

2.3.7.2- HMB45:

HMB45, melanoma spesifik olduğu düşünülerek bulunan ilk belirleyicilerdendir. Sitoplazmik premelanozomal glikoprotein gp100 belirleyicisidir (4). İlk defa 1980'lerde, fetal melanositler ve melanomada pozitif, ama erişkin melanositlerinde negatif olan bir onkofetal premelanozomal antijen olarak tanımlanmıştır (19).

HMB45, S-100 kadar duyarlı olmasa da, daha yüksek özgüllüğe sahiptir. Sitoplazmada eksprese olur. Özgüllüğü için %69 ile %93 arasında değişen oranlar bildirilmiş olup; ekspresyonu primer melanomlarda maksimum (%77-100), metastazlarında daha azdır (%58-83). Boyanma yamasal olabilir ve diffüz pozitif boyanma diğer belirleyicilere göre daha az görülür (4).

Bu antijenin dikkat çeken bir özelliği, "junctional" nevüslerde yüksek ekspresyon göstermesine rağmen, intradermal nevüs hücrelerinde olmayışdır (20).

HMB45'in malign melanomdaki boyanma paterni ile ilgili farklı görüşler mevcuttur. Literatürde, çoğu nevüsten farklı olarak, melanom olgularının HMB-45 ile daha çok yamasal tarzda bir boyanma gösterdiğini bildiren çalışmalar (4, 21) yanı sıra; bazı yayınlarda, melanomda lezyon bazaline doğru güçlenen HMB45 boyanması (22) ve bazılarında ise, HMB45 ile epidermal bileşende güçlü, vertikal büyüme fazında derine doğru gidererek azalan boyanma görülebileceği bildirilmiştir (17, 23, 24).

HMB45'in amelanotik melanomlarda daha az duyarlı olduğu iddiaları yanında (23, 25), non-melanositik tümörlerde boyanmadığı Wick ve ark. (133/133), Ordonez ve ark. (98/98), Kaufman ve ark. (150/150) ile Trefzer ve ark.'nın (84/84) yaptığı çalışmalarda raporlanmıştır (25-28). Gerçi PEComalar (anjyomyolipomlar, pulmoner "sugar" tümörler ve lenfanjyomyomatozis), ter bezi tümörleri, meningeal melanositomlar, tendon ve aponevrozların şeffaf hücreli sarkomları, bazı over steroid hücreli tümörleri, bazı meme kanserleri ve t(6,11)(p21;q12) translokasyonlu renal hücreli karsinomlarda da HMB45 boyanması görülebilir. Neyse ki bu tümörlerin birçoğu histolojik olarak melanomdan ayırt edilebilir durumdadır (4).

Metastatik melanomlarda daha az duyarlı olması nedeniyle, HMB45 ile beraberinde başka belirleyicilerin de kullanılması gerekir (4). İğsi hücreli/desmoplastik melanomlarda, duyarlılık en düşüktür (20, 21, 29).

2.3.7.3- MART-1/Melan-A:

Son yıllarda, tanımlanan melanosit spesifik melanozomal proteinlerle ilgili gelişmeler çok önemli bir değişim getirmiştir. Otolog sitotoksik T hücreleri tarafından tanınan melanom antijenleri üzerindeki çalışmalar sonucunda yeni genler kodlanmıştır. MART-1 (klon M2-7C10) ve Melan-A (klon A103), farklı gruplar tarafından geliştirilmiş, ancak aynı antijeni tanıyan iki antikordur. Bu nedenle literatürde bu antikordan MART-1/Melan-A olarak bahsedilmektedir (30). Bu iki klon arasında melanomda boyanma açısından hemen hemen %100 korelasyon görülürken, A103 (Melan-A) klonu, M2-7C10 (MART-1)'den farklı olarak adrenokortikal tümörlerde ve gonadal steroid tümörlerinde de boyanma gösterir. Ayrıca her iki klon da PEComalarda boyanır. Şeffaf hücreli sarkomlarda da boyanma görülebilir (4).

HMB-45'ten farklı olarak, premelanozomlarda değil, erişkin melanositlerinde eksprese edilen bir belirleyici olup (20); aktive melanositler kadar, istirahat halindeki normal melanositleri de boyadığı bildirilmektedir (31, 32). Yine HMB45'ten farklı olarak, daha diffüz ve güçlü boyanma gösterir ve melanomun dermal bileşeninde boyanmanın azaldığı görülmez. Bu da özellikle metastatik melanomda daha kolay tespit edilmesini sağlar (4). Desmoplastik, iğsi hücreli ve metastatik melanomlar hariç S-100'e benzer bir boyanma paterni gösterirler (33).

HMB-45 gibi, epiteloid hücreli melanomlarda en iyi boyanma görülür; desmoplastik/iğsi hücreli melanomlarda duyarlılık en düşük, büyük hücreli andiferansiye melanomlarda ise duyarlılık belirgin yüksektir (16, 20).

Bu antikorlar, HMB45'e benzer olarak, %75-92 duyarlılık ve %95-100 özgüllüğe sahiptir (4).

Genel kabul gören görüş, Melan-A'nın, malign ve benign melanositik lezyon ayırımında değil ama melanositik tümörleri non-melanositik lezyonlardan ayırmada faydalı bir belirleyici olduğu yönündedir (34).

Literatürdeki MART-1/Melan-A ile non-melanositik hücrelerde (pigmente keratinositler, histiyositler) boyanma olduğuna dair raporlar, muhtemel boyanma artefaktlarına bağlı olabilir. Çünkü PCR çalışmalarında ne keratinositler ne de histiyositlerde MART-1/Melan-A ekspresyonu olmadığı bildirilmiştir (20, 35).

2.3.7.4- MiTF (Microphthalmia transcription factor):

“Microphthalmia” (mi) geni tarafından kodlanan protein, melanositlerin embriyogenez sırasındaki gelişimleri ve postnatal sağkalımı için gerekli olan bir transkripsiyon faktörüdür (18).

MiTF, nükleer boyanma gösterir ve bu boyanma paterni diğer belirleyicilere göre teorikte bazı avantajlar sağlar. Nükleer boyanma ile sellüler yapı korunur. Zemin boyanması varlığı, bazen de yoğun sitoplazmik pigment, sitoplazmik belirleyiciler ile olan boyanmayı değerlendirmede güçlük yaratabilirken; böyle bir durumda, MiTF, değerlendirilmesi daha kolay bir belirleyicidir (4, 36).

Melanomlardaki duyarlılığı %81-100'dür ve S100 negatif melanomlarda pozitifliği rapor edilmiştir (18, 36-39).

İlk raporlarda %100 özgül olduğu iddia edilmişse de, sonraki çalışmalarda, iğsi hücreli melanomlarda daha da düşük olmak üzere, %88 gibi düşük oranlar rapor edilmiştir (18, 36-38, 40). Ayrıca iğsi hücreli tümörler, lenfoid neoplaziler, bazı meme karsinomları ve renal hücreli karsinomları içeren muhtelif tümörlerde yanlış pozitiflik bildirilmiştir (37, 38, 40). Diğer melanositik belirleyiciler gibi, MiTF de, anjiyomyolipomlarda pozitif boyanır (4).

Busam ve ark. , histiyositler, lenfositler, fibroblastlar, Schwann hücreleri ve düz kas hücrelerinde MiTF boyanması olduğunu rapor etmişlerdir (40).

3- GEREÇ VE YÖNTEM

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivinden 2000-2008 yılları arasında tanı almış 32'si malign melanom (15 nodüler malign melanom, 13 yüzeysel yayılan malign melanom, 4 akral lentiginöz malign melanom), 27'si displastik nevüs (5 "junctional" displastik nevüs, 22 "compound" displastik nevüs) ve 20'si intradermal nevüs olmak üzere toplam 79 olgu çalışmaya alındı.

Olgulara ait hematoksilen-eozin kesitler yeniden değerlendirilerek tanıları teyid edildi. Değerlendirmede 2002 yılı WHO sınıflaması esas alındı (Tablo 2). Tümörün en iyi temsil edildiği, kanama, nekroz içermeyen bloklar seçilerek, bu bloklardan hazırlanan kesitlere S-100, HMB45, MART-1/Melan-A ve MiTF primer antikoları ile immünohistokimyasal çalışma yapıldı.

3.1- İmmünohistokimya

Toplam 85 olguya ait tamponlanmış nötral formalinde tespit edilmiş, parafinde bloklanmış dokulardan hazırlanan 4-6 mikrometre kalınlığındaki kesitler pozitif şarjlı lamlara (Menzel, Superfrost Plus Slides) alındı. Bu kesitlere S100 Ab-1 (4C4.9, Neomarkers, Fremont, CA, USA), Melanoma (gp 100) Ab-1 (HMB45, Neomarkers, Fremont, CA, USA), MART-1/Melan-A (Melanoma marker) Ab-4 (A103, Neomarkers, Fremont, CA, USA) ve MiTF Ab-2 (D5, Neomarkers, Fremont, CA, USA) primer antikoları ile immünohistokimyasal çalışma yapıldı.

S100, HMB45 ve MART-1/Melan-A boyanacak kesitler, deparafinize edildikten sonra, endojen peroksidaz aktivitesini gidermek için %3'lük hidrojen peroksit solüsyonunda 10 dakika inkübe edildi. Ardından antijen geri kazanımı amacıyla sitrat tamponu içerisinde 35 dakika kaynatılıp, oda ısısında 20 dakika soğumaya bırakıldı. Bundan sonra kesitlere S-100, HMB45 ve MART-1/Melan-A primer antikoları damlatılarak, 30 dakika inkübe edildi. Biotinli anti-immünglobulin ve streptavidin-peroksidaz konjugat ile 10'ar dakika inkübe edildi. Renklendirici ajan olarak, kahverengi melanin pigmenti ile karışmaması için, AEC (3-amino-9-etilkarbazol) kullanıldı. Son olarak karşıt boyanma için kesitler Mayer hematoksilen ile 60 saniye boyandı. Kesitler, AEC uygulamasına kadar tüm aşamalarda pH 7.6 fosfat tamponu ile, AEC uygulamasından sonra ise distile su ile yıkandı. İşlemler oda sıcaklığında gerçekleştirildi.

MiTf için ise, deparafinize edilen kesitlere Ventana Benchmark LT cihazında (Ventana Medical System, Inc., Tucson, Arizona, U.S.A.) otomatik boyama yapıldı.

İmmünohistokimya uygulanan tüm kesitler, iki bağımsız gözlemci tarafından çift kör incelendi. AEC'nin kiremit kırmızısı rengi baz alınarak, S100, HMB45 ve MART-1/Melan-A için sitoplazmik, MiTf için ise nükleer boyanma aşağıdaki skorlama sistemi uygulanarak değerlendirildi.

Tablo 8. İmmünohistokimyasal skorlama

Parametre	Skor
(a) Boyanma şiddeti	
Negatif	0
Zayıf	1
Orta	2
Kuvvetli	3
(b) Boyanma yaygınlığı	
Tümör hücrelerinin \leq %10'unda boyanma	0
Tümör hücrelerinin %11-50'sinde boyanma	1
Tümör hücrelerinin $>$ %50'sinde boyanma	2
Toplam skor	(a+b)
Negatif	0-1
1 (zayıf pozitif)	2
2 (orta şiddette pozitif)	3
3 (kuvvetli pozitif)	4-5

Pozitif kontrol olarak bir malign melanom kesiti alındı. Negatif kontrol çalışmasında, primer antikor yerine non-immün serum kullanıldı.

İmmünohistokimya kesitlerinin değerlendirilmesinde, S-100'ün periferik sinirde gösterdiği boyanma en kuvvetli kabul edilerek, buna göre boyanma şiddeti negatif, zayıf, orta veya kuvvetli olarak belirlendi. İmmünohistokimyasal değerlendirme sonucu bulunan skorlar toplanarak elde edilen bileşik immünohistokimya skoru ile de, olgular boyanma açısından negatif, zayıf pozitif, orta şiddette pozitif veya kuvvetli pozitif olarak yorumlandı.

Ek olarak S-100 ve HMB45 için boyanma paternleri değerlendirildi. S100 ile boyanan olgular, yaygın veya yamasal boyanma açısından değerlendirilirken; HMB45 boyananlarda tümör bazaline doğru gelişen güçlü boyanma varlığı arandı.

Ayrıca tüm olgulara ait hematoksilen-eozin kesitleri simetri, melanositlerde yuva oluşumu, epidermal yayılım (pagetoid ve lentijinöz), maturasyon, lezyon derininde mitoz, lezyon derininde pigment ve lenfositik infiltrasyon (tümöre infiltre lenfosit ve tümör çevresinde bant tarzında infiltrasyon) varlığı açısından incelendi.

3.2- İstatistiksel yöntemler

İstatistiksel değerlendirme, "SPSS 10,0" programı ile bilgisayar ortamında yapıldı. Yaş verisi, Shapiro-Wilk testi ile normal dağılıma uygunluk yönünden araştırıldı ve normal dağılıma uyduğu bulundu. Normal dağılıma uyan veriler, ortalama \pm standart sapma; diğer veriler ortanca (minimum-maksimum) ve sayı (%) olarak verilmiştir.

İmmünohistokimyasal belirleyicilerin duyarlılık ve özgüllük değerlendirmesi için 4 gözlü bir düzenenек elde etmek amacı ile benign (intradermal nevüs ve displastik nevüs olguları) ve malign (nodüler, yüzeysel yayılan ve akral lentijinöz malign melanom olguları) melanositik lezyon grupları oluşturuldu. İstatistiksel değerlendirme için akral lentijinöz malign melanom olgularının sayıca az olması nedeni ile bu grup yüzeysel yayılan malign melanom olgularına eklendi. Tüm parametreler, benign ve malign gruplar arasında ve bunların alt grupları arasında karşılaştırıldı.

Benign ve malign grup arasındaki yaş parametresini karşılaştırmak için, Student-T testi; 4 alt grup arasındaki yaş parametresini karşılaştırmak için, tek yönlü varyans analizi (Posthoc Tukey testi) kullanıldı. Benign ve malign gruplar arasındaki bileşik immünohistokimya skorlarının karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi; 4 alt grup arasındaki bileşik immünohistokimya skor karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi ve sonrasında Bonferonni düzeltmeli Mann-Whitney U testi kullanıldı.

Hematoksilen eozin kesitlerde, benign ve malign gruplardaki parametrelerin karşılaştırılmasında Fisher'in kesin testi; dört alt gruptaki parametrelerin karşılaştırılmasında ki-kare testi kullanıldı. S-100 boyanma paterni için istatistiksel değerlendirmede ki-kare testi kullanıldı.

İstatistiksel anlamlılık düzeyi, $p < 0,05$ olarak alındı. Bonferonni düzeltmeli Mann-Whitney U testinde ise p/ikili karşılaştırma sayısı $0,05/ 6 = 0,0083$ olarak çıkmasına rağmen, alınabilecek en düşük istatistiksel anlamlılık düzeyi olan $p < 0,01$ olarak alındı (41, 42).

Hematoksilen eozin referans test olarak kabul edilerek, S-100, HMB45, MART-1/Melan-A ve MiTF için, benign ve malign melanositik lezyonların ayırt edilmesindeki duyarlılık ve özgüllükleri hesaplandı.

$$\text{Duyarlılık} = \frac{\text{Yeni testin saptadığı hastalar (doğru pozitifler)}}{\text{Toplam hasta sayısı (geçerli teste göre)}}$$

$$\text{Özgüllük} = \frac{\text{Yeni testin saptadığı sağlamlar (doğru negatifler)}}{\text{Toplam sağlam sayısı (geçerli teste göre)}}$$

Geçerli test: Altın standart, hematoksilen-eozin kesitlerde morfolojik olarak malign melanom tanısı

Yeni test: S-100, HMB45, MART-1/Melan-A ve MiTF immünohistokimyasal belirleyicileri

4- BULGULAR

Çalışmaya alınan 79 olgunun 51'i (%64,6) kadın, 28'i (%35,4) erkek olup; yaşları 7-83 yıl arasında değişmekteydi. Olguların gruplara göre cinsiyetlerinin dağılımı Tablo 9'da verilmiştir.

Tablo 9. Olguların gruplara göre cinsiyetlerinin dağılımı

	<u>Kadın</u>		<u>Erkek</u>		<u>P, χ^2</u>
	<u>N</u>	<u>%</u>	<u>N</u>	<u>%</u>	
Benign	33	41,8	14	17,7	> 0,05
Malign	18	22,8	14	17,7	
İDN	18	22,8	2	2,5	= 0,030, 8,92
DN	15	19,0	12	15,2	
NMM	10	12,7	5	6,3	
YYMM	8	10,1	9	11,4	

(İDN: intradermal nevüs, DN: displastik nevüs, NMM: nodüler malign melanom, YYMM: yüzeysel yayılan malign melanom)

Buna göre, benign ve malign gruplar arasında cinsiyet açısından bir fark görülmedi ($p > 0,05$). Ancak 4 alt grup karşılaştırıldığında, intradermal nevüs en fazla kadın cinsiyette görülmüş olup, fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p = 0,030$, $\chi^2 = 8,92$).

Benign ve malign gruplar yaş açısından karşılaştırıldığında; benign grubun yaş ortalaması $27,7 \pm 1,3$ yıl iken, malign grubun yaş ortalaması $62,3 \pm 2,3$ yıl olarak bulunmuş olup; benign ve malign gruplar arasında yaş açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p = 0,000$, $t = 13,98$).

Dört alt grup, yaş açısından karşılaştırıldığında; intradermal nevüs için $27,9 \pm 1,9$ yıl, displastik nevüs için $27,5 \pm 1,8$ yıl, nodüler malign melanom için $67,9 \pm 2,9$ yıl ve yüzeysel yayılan malign melanom için $57,8 \pm 3,1$ yıl olarak bulunmuştur. Bu dört alt grubun ikili karşılaştırılmasında, intradermal nevüs-displastik nevüs karşılaştırması hariç, diğer alt gruplar arasında yaş açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p = 0,000$, $F = 72,14$). Dört alt grup arasındaki yaş karşılaştırmaları Tablo 10'da verilmiştir.

Tablo 10. Dört alt grup arasındaki yaş karşılaştırmaları

Alt gruplar	P
İntradermal nevüs - Displastik nevüs	> 0,05
İntradermal nevüs - Nodüler MM	= 0,000
İntradermal nevüs -Yüzeyel yayılan MM	= 0,000
Displastik nevüs - Yüzeyel yayılan MM	= 0,000
Displastik nevüs - Nodüler MM	= 0,000
Nodüler MM - Yüzeyel yayılan MM	= 0,044

Çalışmaya alınan 79 olguya ait kesitlere S-100, HMB45, MART-1/Melan-A ve MiTF ile immünohistokimyasal boyama yapıldı.

S-100 ile immünohistokimyasal çalışmada, intradermal nevüs olgularında 20/20 (%100) pozitif boyanma görüldü. Bu olguların 8'i 4+, 12'si 5+ olarak skorlandı. Yani tümünde kuvvetli boyanma mevcuttu. Displastik nevüs olgularında 25/27 (%92,6) pozitif boyanma saptandı. Bir olgu 2+, 7 olgu 4+, 17 olgu 5+ olarak skorlandı. Nodüler malign melanom olgularında 13/15 (%86,7) pozitif boyanma görüldü. Skorlamada 1 olgu 2+, 4 olgu 3+, 6 olgu 4+, 2 olgu 5+ olarak skorlandı. Yüzeyel yayılan malign melanom olguları 17/17 (%100) pozitif. Olguların 1'i 2+, 7'si 3+, 3'ü 4+, 6'sı 5+ olarak skorlandı.

HMB45 ile immünohistokimyasal çalışmada, intradermal nevüs olgularında 1/20 (%5) pozitif boyanma görüldü ve bu olgu 3+ olarak skorlandı (Şekil 1a). Displastik nevüs olguları 25/27 (%92,6) pozitif. Skorlamada 1'i 2+, 5'i 3+, 11'i 4+, 8'i 5+ olarak değerlendirildi (Şekil 1b). Nodüler malign melanom olgularında 14/15 (%93,3) pozitif boyanma saptandı. Bir olgu 2+, 3 olgu 3+, 3 olgu 4+, 7 olgu 5+ skor aldı. Yüzeyel yayılan malign melanom olgularında 16/17 (%94,1) pozitif boyanma görüldü. Bu olguların 2'si 2+, 1'i 3+, 6'sı 4+, 7'si 5+ olarak skorlandı.

MART-1/Melan-A ile immünohistokimyasal çalışmada, intradermal nevüs olgularında 20/20 (%100) pozitif boyanma görüldü. Bu olguların 7'si 2+, 5'i 3+, 8'i 4+ olarak skorlandı. Displastik nevüs olguları 23/27 (%85,2) pozitif. Olguların 1'i 2+, 7'si 3+, 7'si 4+, 8'i 5+ skor aldı. Nodüler malign melanom olgularında 13/15 (%86,7) pozitif boyanma saptandı. İki 2+, 3'ü 3+, 3'ü 4+, 5'i 5+ olarak skorlandı (Şekil 1c).

Yüzeyel yayılan malign melanom olgularında 15/17 (%88,2) pozitif boyanma görüldü ve 2'si 2+, 6'sı 3+, 3'ü 4+, 4'ü 5+ skor aldı.

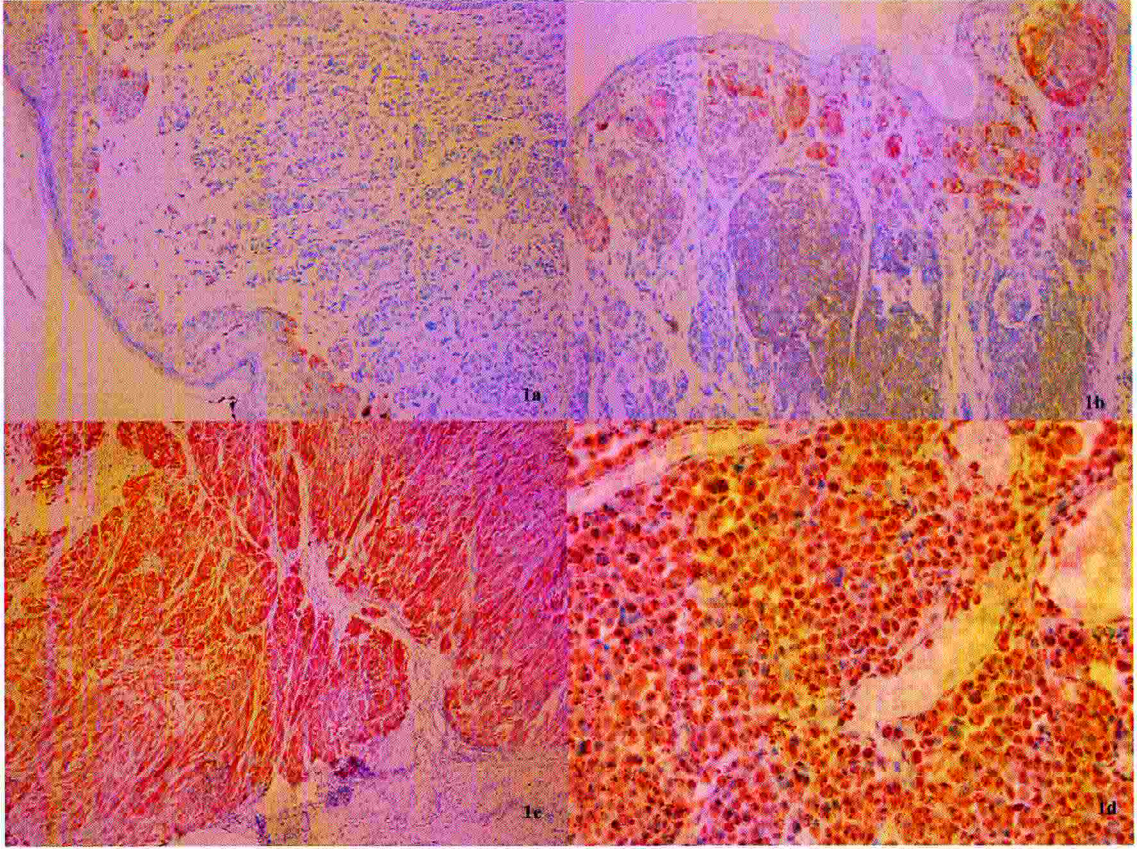
MiTTF ile immünohistokimyasal çalışmada, intradermal nevüs olgularında 11/20 (%55) pozitif boyanma görüldü. Bu olguların 1'i 2+, 3'ü 3+, 5'i 4+, 2'si 5+ skorlandı. Displastik nevüs olgularında 8/27 (%29,6) pozitif boyanma saptandı ve skorlamada olguların 2'si 3+, 3'ü 4+, 3'ü 5+ olarak değerlendirildi. Nodüler malign melanom olguları 4/15 (%26,7) pozitif. Bir olgu 2+, 1 olgu 3+, 2 olgu 4+ skor aldı (Şekil 1d). Yüzeyel yayılan melanom olgularında 4/17 (%23,5) pozitif boyanma görüldü. Olguların 1'i 3+, 3'ü 4+ olarak skorlandı.

İmmünohistokimyasal çalışmanın sonuçları Tablo 11'de özetlenmiştir.

Tablo 11. İmmünohistokimyasal sonuçlar

Belirleyici	n	(%)	Negatif			Orta	Kuvvetli	
			0	1+	2+		3+	4+
İDN								
S-100	20/20	(100)	0	0	0	0	8	12
HMB45	1/20	(5)	19	0	0	1	0	0
Melan-A	20/20	(100)	0	0	7	5	8	0
MiTTF	11/20	(55)	9	0	1	3	5	2
DN								
S-100	25/27	(92,6)	2	0	1	0	7	17
HMB45	25/27	(92,6)	2	0	1	5	11	8
Melan-A	23/27	(85,2)	4	0	1	7	7	8
MiTTF	8/27	(29,6)	19	0	0	2	3	3
NMM								
S-100	13/15	(86,7)	2	0	1	4	6	2
HMB45	14/15	(93,3)	1	0	1	3	3	7
Melan-A	13/15	(86,7)	2	0	2	3	3	5
MiTTF	4/15	(26,7)	11	0	1	1	2	0
YYMM								
S-100	17/17	(100)	0	0	1	7	3	6
HMB45	16/17	(94,1)	1	0	2	1	6	7
Melan-A	15/17	(88,2)	2	0	2	6	3	4
MiTTF	4/17	(23,5)	13	0	0	1	3	0

(İDN: intradermal nevüs, DN: displastik nevüs, NMM: nodüler malign melanom, YYMM: yüzeyel yayılan malign melanom)



Şekil 1a. İntradermal nevüs olgusunda, dermal nevüs hücrelerinde HMB45 negatifliği. Dermoepidermal bileşkedeki melanositlerde kuvvetli pozitiflik gözlenmektedir (HMB45, X200, avidin-biotin peroksidaz, AEC kromojen).

Şekil 1b. Displastik nevüs olgusunda, HMB45 ile nevüs hücrelerinde dermoepidermal bileşkeden derin dermise doğru boyanma şiddetinde azalma (HMB45, X200, avidin-biotin peroksidaz, AEC kromojen).

Şekil 1c. Nodüler malign melanom olgusunda, MART-1/Melan-A ile yaygın ve kuvvetli sitoplazmik boyanma (MART-1/Melan-A, X100, avidin-biotin peroksidaz, AEC kromojen).

Şekil 1d. Nodüler malign melanom olgusunda, MiTF ile intranükleer boyanma yanı sıra yaygın sitoplazmik saçılma (MiTF, X400, avidin-biotin peroksidaz, AEC kromojen).

Bileşik immünohistokimya skorları, benign ve malign gruplar arasında karşılaştırıldığında, S-100 ve HMB45 için fark anlamlı bulundu ($p < 0,05$). MART-1/Melan-A ve MiTF için anlamlı fark bulunmadı ($p > 0,05$). İstatistiksel olarak, 4 alt grup kendi aralarında ikili karşılaştırıldığında ise, yine S-100 ve HMB45 için fark anlamlı bulunurken ($p < 0,0125$); MART-1/Melan-A ve MiTF için anlamlı fark bulunmadı ($p > 0,0125$). İstatistiksel verilerin açılımı Tablo 12, Tablo 13 ve Tablo 14’te özetlenmiştir.

Tablo 12. Bileşik immünohistokimya skorlarının benign ve malign gruplar arasında karşılaştırılması

	S100*	HMB45*	Melan-A*	MiTF*
Benign grup	5 (0-5)	3 (0-5)	3 (0-5)	0 (0-5)
Malign grup	4 (0-5)	4 (0-5)	3 (0-5)	0 (0-4)
p değeri	0,000	0,001	>0,05	>0,05

* ortanca (minimum-maksimum)

Tablo 13. Bileşik immünohistokimya skorlarının 4 alt grup arasında karşılaştırılması

	S-100*	HMB45*	Melan-A*	MiTF*
İDN	5 (4-5)	0 (0-3)	3 (2-4)	2,5 (0-5)
DN	5 (0-5)	4 (0-5)	4 (0-5)	0 (0-5)
NMM	4 (0-5)	4 (0-5)	4 (0-5)	0 (0-4)
YYMM	4 (2-5)	4 (0-5)	3 (0-5)	0 (0-4)
p değeri	0,001	0,000	>0,05	>0,05

*ortanca (minimum-maksimum)

(İDN: intradermal nevüs, DN: displastik nevüs, NMM: nodüler malign melanom, YYMM: yüzeysel yayılan malign melanom)

Tablo 14. S-100 ve HMB45 immünohistokimya skorları için 4 alt grubun kendi aralarında ikili karşılaştırması

	S-100	HMB45
İDN-DN	p> 0,01	p= 0,000
İDN- NMM	p= 0,001	p= 0,000
İDN – YYMM	p> 0,01	p= 0,000
DN – NMM	p= 0,002	p> 0,01
DN – YYMM	p> 0,01	p> 0,01
NMM – YYMM	p> 0,01	p> 0,01

(İDN: intradermal nevüs, DN: displastik nevüs, NMM: nodüler malign melanom, YYMM: yüzeysel yayılan malign melanom)

Benign ve malign melanositik lezyonların ayırımında, her bir pozitif immünohistokimyasal belirleyici için duyarlılık ve özgüllük hesaplandı; Tablo15’de gösterildi.

Tablo 15. Benign ve malign melanositik lezyonların ayırt edilmesinde pozitif immünohistokimyasal belirleyicilerin malign melanom için duyarlılık ve özgüllüğü

	Duyarlılık	Özgüllük
S-100	%93,8	%4,3
HMB45	%93,8	%44,7
MART-1/Melan-A	%87,5	%8,5
MiTTF	%25,0	%59,6

Çalışmaya alınan tüm olgulara ait hematoksilen-eozin kesitleri simetri, melanositlerde yuva oluşumu, epidermal yayılım (pagetoid ve lentijinöz), maturasyon, lezyon derininde mitoz, lezyon derininde pigment ve tümöre infiltre lenfosit ile tümör çevresinde bant tarzında lenfositik infiltrasyon varlığı açısından incelendi. Ayrıca immünohistokimya preparatlarında S-100 boyanma paterni (yaygın veya yamasal) ve HMB45’in tümör bazaline doğru gelişen güçlü boyanma varlığı (var veya yok) araştırıldı. Değerlendirilen konvansiyonel histopatolojik bulguların, dört alt gruba ait olgulardaki dağılımı tablo 16’da özetlenmiştir.

Tablo 16. Seçilen konvansiyonel histopatolojik bulguların ve S100 ile HMB45 boyanma paternlerinin dört alt gruptaki dağılımı

Simetri (n= 38)		14 (%36,9) İDN 13 (%34,2) DN 7 (%18,4) NMM 4 (%10,5) YYMM
Melanositlerde yuva oluşumu (n= 51)		18 (%35,3) İDN 20 (%39,2) DN 4 (%7,9) NMM 9 (%17,6) YYMM
Epidermal yayılım (n= 26)		0 (%0,0) İDN 0 (%0,0) DN 9 (%34,6) NMM 17 (%65,4) YYMM
Maturasyon (n= 39)		20 (%51,3) İDN 19 (%48,7) DN 0 (%0,0) NMM 0 (%0,0) YYMM
Derin mitoz (n= 8)		0 (%0,0) İDN 0 (%0,0) DN 5 (%62,5) NMM 3 (%37,5) YYMM
Derin pigment (n= 17)		0 (%0,0) İDN 5 (%29,4) DN 4 (%23,5) NMM 8 (%47,1) YYMM
Tümöre infiltre lenfosit (n= 12)		0 (%0,0) İDN 0 (%0,0) DN 6 (%50) NMM 6 (%50) YYMM
Tümör çevresinde bant lenfositik infiltrasyon (n= 28)		0 (%0,0) İDN 4 (%14,3) DN 11 (%39,3) NMM 13 (%46,4) YYMM
S-100 boyanma paterni (n= 75)	Yaygın (n= 66)	20 (%30,3) İDN 24 (%36,4) DN 8 (%12,1) NMM 14 (%21,2) YYMM
	Yamasal (n= 9)	0 (%0,0) İDN 1 (%11,1) DN 5 (%55,6) NMM 3 (%33,3) YYMM
Bazalde güçlü HMB45 boyanması (n= 5)		0 (%0,0) İDN 0 (%0,0) DN 3 (%60) NMM 2 (%40) YYMM

(İDN: intradermal nevüs, DN: displastik nevüs, NMM: nodüler malign melanom, YYMM: yüzeysel yayılan malign melanom)

Sonuçlar intradermal nevüs, displastik nevüs ve malign melanom olguları arasında karşılaştırıldığında:

Simetri varlığı gözlenen 38 olgunun 14'ünü (%36,9) intradermal nevüs, 13'ünü (%34,2) displastik nevüs ve 11'ini (%28,9) malign melanom olgularının oluşturduğu görüldü. İstatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,044$, $X^2=6,26$).

Melanositlerde yuva oluşumu gözlenen 51 olgunun 18'ini (%35,3) intradermal nevüs, 20'sini (%39,2) displastik nevüs ve 13'ünü (%25,5) malign melanom olgularının oluşturduğu görüldü. İstatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,001$, $X^2=14,74$).

Epidermal yayılım gözlenen 26 olgunun tamamını (%100) malign melanom olguları oluşturmaktaydı. İntadermal nevüs ve displastik nevüs olgularında bu bulguya rastlanmadı.

Maturasyon gözlenen 39 olgudan 20'si (%51,3) intradermal nevüs, 19'u (%48,7) displastik nevüs idi. Malign melanom olgularında bu bulguya rastlanmadı.

Derin mitoz gözlenen 8 olgunun tamamının (%100) malign melanom olgularından oluştuğu saptandı. İntadermal nevüs ve displastik nevüs olgularında bu bulguya rastlanmadı.

Derin pigment gözlenen 17 olgunun 5'inin (%29,4) displastik nevüs, 12'sinin (%70,6) malign melanom olgularından oluştuğu görüldü. İntadermal nevüs olgularında bu bulguya rastlanmadı.

Tümöre infiltrate lenfosit varlığı gözlenen 12 olgunun tamamı (%100) malign melanom olgularından oluşmakta idi. İntadermal nevüs ve displastik nevüs olgularında bu bulguya rastlanmadı.

Tümör çevresinde bant tarzında lenfositik infiltrasyon gözlenen 28 olgudan 4'ünün (%14,3) displastik nevüs, 24'ünün (%85,7) malign melanom olduğu görüldü. İntadermal nevüs olgularında bu bulguya rastlanmadı.

S-100 boyanma paterni için araştırıldığında, 66 olguda yaygın boyanma, 9 olguda yamasal boyanma, 4 olguda negatif boyanma saptandı. Yaygın boyanma gözlenen 66 olgunun 20'sinin (%30,3) intradermal nevüs, 24'ünün (%36,4) displastik nevüs ve 22'sinin (%33,3) malign melanom; yamasal boyanma gözlenen 9 olgudan 1'inin (%11,1) displastik nevüs, 8'inin (%88,9) malign melanom olgularından oluştuğu saptandı. Negatif boyanan 4 olgunun 2'si (%50) displastik nevüs ve 2'si (%50) malign

melanom idi. Tüm intradermal nevüs olgularının S-100 ile yaygın boyanma gösterdiği dikkati çekti (Şekil 2a).

Bazalde güçlü HMB-45 boyanması gösteren 5 olgunun tamamını (%100) malign melanom olgularının oluşturduğu görüldü. İntradermal nevüs ve displastik nevüs olgularında bu bulguya rastlanmadı.

Sonuçlar, benign ve malign olgular arasında karşılaştırıldığında:

Simetri bulgusu gözlenen 38 olgunun 27'si (%71,1) benign, 11'i (%28,9) malign gruba ait olup; fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,037$).

Melanositlerde yuva oluşumu gözlenen 51 olgunun 38'i (%74,5) benign, 13'ü (%25,5) oranında malign gruba aitti ve fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,001$).

Maturasyon için istatistiksel değerlendirme yapılamadı; ancak maturasyon gözlenen 39 olgunun tamamının (%100) benign olduğu görüldü. Malign olguların hiçbirinde maturasyon görülmedi.

Lezyon derininde pigment varlığı gözlenen 17 olgudan 5'i (%29,4) benign, 12'si (%70,6) malign olgulardan oluşmakta olup; fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,005$).

Epidermal yayılım (26 olgu), derin mitoz (8 olgu) ve tümöre infiltrat lenfosit (12 olgu) açısından araştırıldığında elde edilen sonuçlar için istatistiksel değerlendirme yapılamadı; ancak sadece malign olgularda görüldüğü saptandı. Benign olguların hiçbirinde bu bulgulara rastlanmadı.

Tümör çevresinde bant tarzında lenfositik infiltrasyon saptanan 28 olgudan 4'ü (%14,3) benign, 24'ü (%85,7) malign olup; fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,000$).

S-100 boyanma paterni araştırıldığında, negatif, yamasal ve yaygın boyanma açısından, benign ve malign gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,006$, $X^2=10,301$). Yaygın boyanma gözlenen 66 olgudan 44'ü (%66,7) benign, 22'si (%33,3) malign; yamasal boyanma gözlenen 9 olgudan 1'i (%11,1) benign, 8'i (%88,9) malign gruba aitti. Yamasal boyanmanın en çok malign grupta görülmesinin, istatistiksel olarak anlamlı farka neden olduğu saptandı (Şekil 2b).

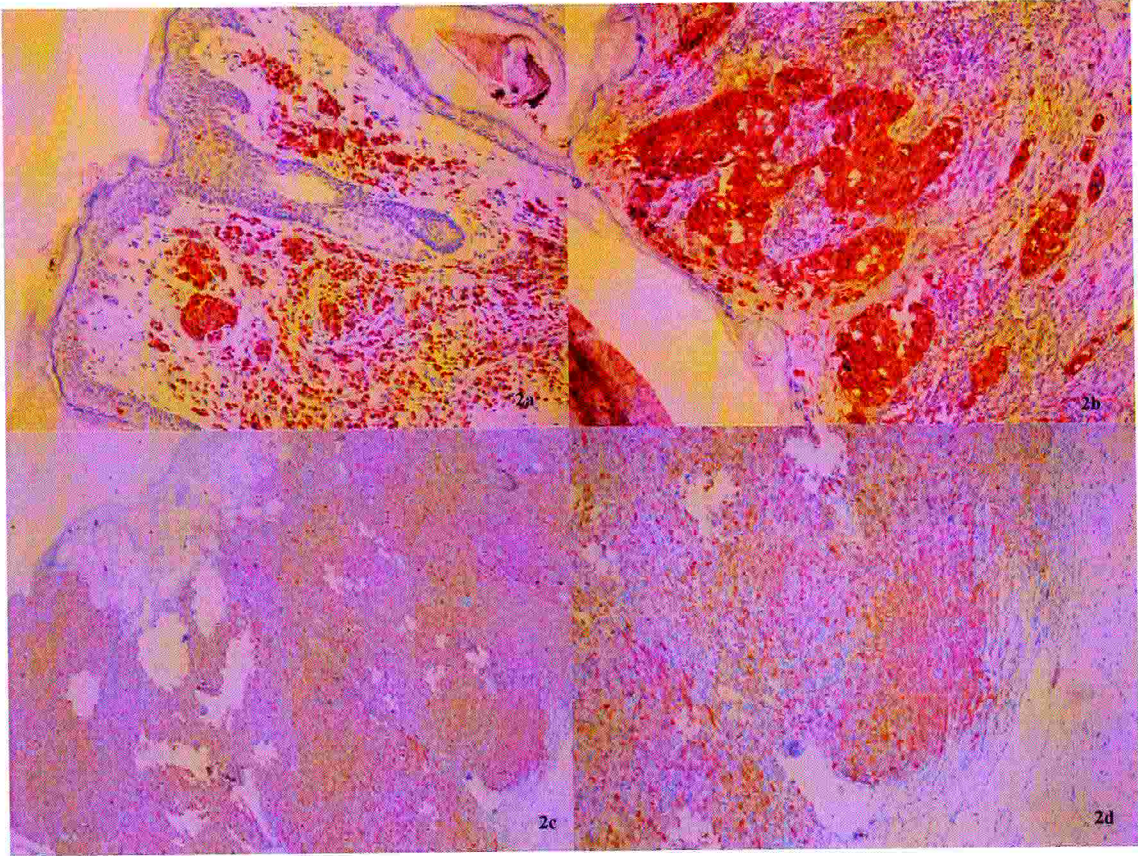
Bazalde güçlü HMB45 boyanması açısından istatistiksel değerlendirme yapılamadı; ancak bazalde güçlü HMB45 boyanması saptanan 5 olgunun tümü (%100) maligndi (Şekil 2c-2d). Benign olgularda bu bulguya rastlanmadı.

Dört alt grup kendi arasında karşılaştırıldığında:

Simetri varlığı gözlenen 38 olgunun 14'ü (%36,9) intradermal nevüs, 13'ü (%34,2) displastik nevüs, 7'si (%18,4) nodüler malign melanom, 4'ü (%10,5) yüzeysel yayılan malign melanom olgularından oluşmakta olup; fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p= 0,047$, $X^2 = 7,97$).

Melanositlerde yuva oluşumu gözlenen 51 olgunun 18'ini (%35,3) intradermal nevüs, 20'sini (%39,2) displastik nevüs, 4'ünü (%7,9) nodüler malign melanom, 9'unu (%17,6) yüzeysel yayılan malign melanom olgularının oluşturduğu saptandı. Fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p= 0,001$, $X^2 = 17,14$).

Epidermal yayılım, maturasyon, derin mitoz, derin pigment, tümöre infiltrasyon, lenfosit, tümör çevresinde bant tarzında lenfositik infiltrasyon, S-100 boyanma paterni ve bazalde güçlü HMB45 boyanması için, 4 gruba ayrıldığında gruplardaki olgu sayısının azlığı nedeni ile istatistiksel değerlendirme yapılamadı. Displastik nevüs olguları içinde yer alan 5 "junctional" displastik nevüs olgusunun hiçbirinde maturasyon saptanmadı.



Şekil 2a. İntradermal nevüs olgusunda, dermal nevüs hücrelerinde yaygın ve kuvvetli S-100 boyanması (S-100, X200, avidin-biotin peroksidaz, AEC kromojen).

Şekil 2b. Yüzeysel yayılan malign melanom olgusunda, melanom hücrelerinde S-100 ile yamasal paternde kuvvetli boyanma (S-100, X200, avidin-biotin peroksidaz, AEC kromojen).

Şekil 2c-2d. Nodüler malign melanom olgusunda, melanom hücrelerinde HMB45 ile lezyon bazaline doğru güçlenen boyanma paterni (HMB45, X40- X100, avidin-biotin peroksidaz, AEC kromojen).

Seçilen konvansiyonel histopatolojik bulguları, intradermal nevüs, displastik nevüs, yüzeysel yayılan malign melanom ve nodüler malign melanom olgularındaki görülme oranları açısından özetleyecek olursak (tablo 17):

Simetri varlığı, intradermal nevüslerin %70'inde, displastik nevüslerin %48,1'inde, nodüler malign melanomların %46,6'sında, yüzeysel yayılan malign melanomların %23,5'inde gözlenmiştir.

Melanositlerde yuva oluşumu, intradermal nevüslerin %90'ında, displastik nevüslerin %74,1'inde, nodüler malign melanomların %26,6'sında, yüzeysel yayılan malign melanomların %52,9'unda gözlenmiştir.

Epidermal yayılım bulgusu, sadece malign olgularda; nodüler malign melanomların %60'ında ve yüzeysel yayılan malign melanomların tamamında gözlenmiştir (Şekil 3).

Maturasyon, sadece benign olgularda; intradermal nevüslerin tamamında (%100) ve displastik nevüslerin %70,3'ünde saptanmıştır.

Lezyon derininde mitoz, sadece malign olgularda; nodüler malign melanomların %33,3 ünde, yüzeysel yayılan malign melanomların %17,6 sında gözlenmiştir.

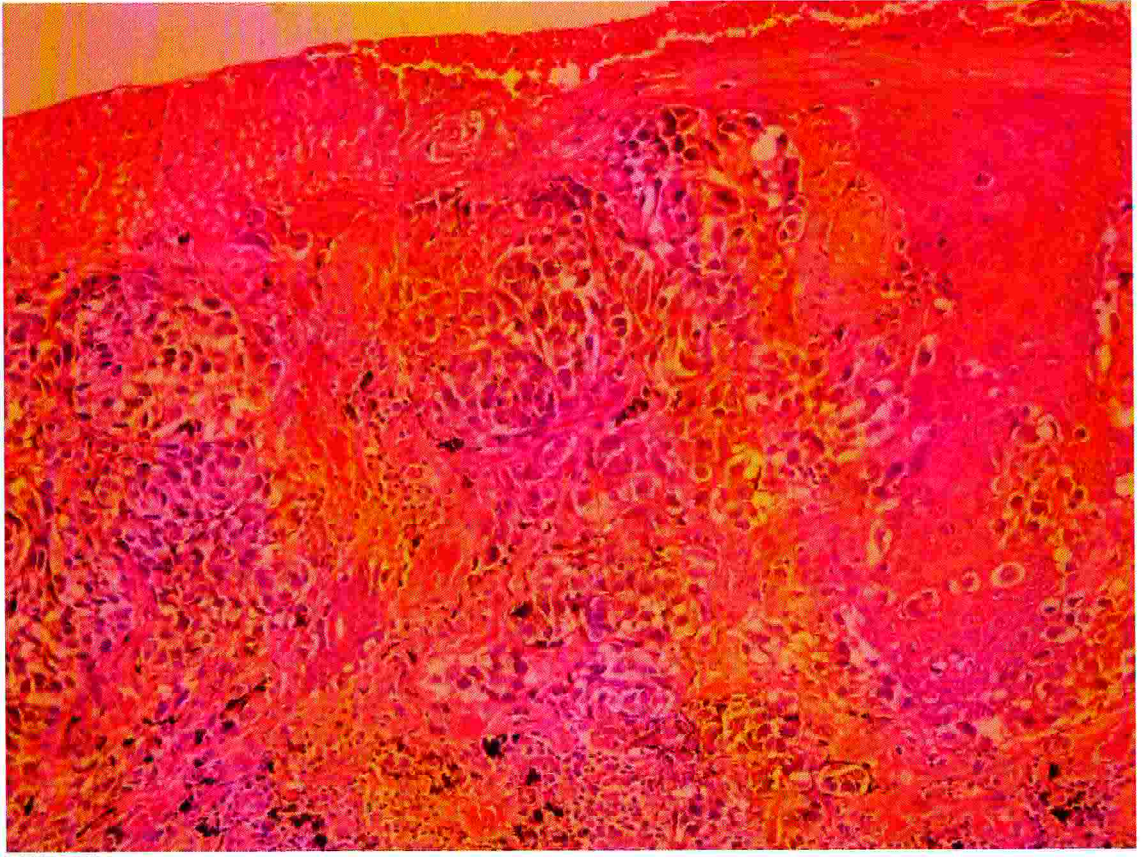
Lezyon derininde pigment varlığı, intradermal nevüslerde gözlenmez iken; displastik nevüslerin %18,5'inde, nodüler malign melanomların %26,6'sında, yüzeysel yayılan malign melanomların %47,1'inde gözlenmiştir.

Tümöre infiltre lenfositler, sadece malign olgularda; nodüler malign melanomların %40'ında, yüzeysel yayılan malign melanomların %35,2'sinde gözlenmiştir.

Tümör çevresinde bant tarzında lenfositik infiltrasyon, intradermal nevüslerde gözlenmez iken; displastik nevüslerin %14,8'inde, nodüler malign melanomların %73,3'ünde, yüzeysel yayılan malign melanomların %76,4'ünde gözlenmiştir.

S-100 boyanma paternine bakıldığında, intradermal nevüslerin tamamının (%100) yaygın boyanma gösterdiği saptanmıştır. Displastik nevüslerin %88,9'u yaygın boyanırken, %3,7'si yamasal boyanmıştır. Nodüler malign melanom olgularının ise %53,4'ü yaygın, %33,3'ü yamasal boyanma göstermiştir. Yüzeysel yayılan malign melanomların %82,3'ü yaygın, %17,7'si yamasal bir paternde boyanmıştır.

HMB45'in tümör bazaline doğru gelişen güçlü boyanma varlığı, sadece malign olgularda; nodüler malign melanomların %20'sinde, yüzeysel yayılan malign melanomların %11,7'sinde görülmüştür.



Şekil 3. Yüzeyel yayılan malign melanom olgusunda, pagetoid tarzda belirgin epidermal yayılım gösteren melanom hücreleri (H&E, X100).

Tablo 17. Seçilen konvansiyonel histopatolojik bulguların ve S100 ile HMB45 boyanma paternlerinin dört alt gruptaki görülme oranları

Olgular	Simetri	Melanositlerde yuva oluşumu	Epidermal yayılım	Maturasyon	Derin mitoz	Derin pigment	Tümöre infiltrate lenfosit	Tümör çevresinde bant lenfositik infiltrasyon	S-100 boyanma paterni	Bazalde güçlü HMB45 boyanması
İDN (n=20)	14 %70,0	18 %90,0	0 %0,0	20 %100	0 %0,0	0 %0,0	0 %0,0	0 %0,0	Yaygın 20 %100 Yamasal 0 %0,0 Negatif 0 %0,0	0 %0,0
DN (n=27)	13 %48,1	20 %74,1	0 %0,0	19 %70,3	0 %0,0	5 %18,5	0 %0,0	4 %14,8	Yaygın 24 %88,9 Yamasal 1 %3,7 Negatif 2 %7,4	0 %0,0
NMM (n=15)	7 %46,6	4 %26,6	9 %60,0	0 %0,0	5 %33,3	4 %26,6	6 %40,0	11 %73,3	Yaygın 8 %53,4 Yamasal 5 %33,3 Negatif 2 %13,3	3 %20,0
YYMM (n=17)	4 %23,5	9 %52,9	17 %100	0 %0,0	3 %17,6	8 %47,1	6 %35,2	13 %76,4	Yaygın 14 %82,3 Yamasal 3 %17,7 Negatif 0 %0,0	2 %11,7

(İDN: intradermal nevüs, DN: displastik nevüs, NMM: nodüler malign melanom, YYMM: yüzeysel yayılan malign melanom)

5- TARTIŞMA

Geçtiğimiz son iki dekat boyunca, endüstriyel ülkelerde yaşayan beyaz ırktaki malign melanom insidansında belirgin bir artış görülmüştür (8). Özellikle erişkin ve yaşlıları etkileyen ve insidansı hayatın 6. dekadında pik yapan malign melanomun, son yıllarda, orta yaşta ve genç erişkinlerde görülme sıklığı da artmıştır (6). Çalışmamızda, benign melanositik lezyonlar daha çok yaşamın 3. on yılında, malign melanositik lezyonlar ise daha çok 6-7. on yılında görülmüştür. Malign lezyonlar içinde de, nodüler malign melanom olgularının, yüzeysel yayılan malign melanom olgularına göre bir on yıl daha ileri yaşta görüldüğü gözlenmiştir. Sonuç olarak, benign nevüslerin de prekürsör olabildikleri bir tümör olan melanomlarda benign nevüsten yüzeysel yayılan malign melanoma geçiş için 5-6, nodüler malign melanoma geçiş için ise 6-7 on yıllık bir sürece ihtiyaç olduğu söylenebilir. Bu süreç, literatürdeki gözlemler ile uyumludur (6).

Malign melanom, genellikle kadın ve erkek cinsiyette benzer oranlarda görülmekle birlikte, son yıllarda yaşlı (>55 yaş) erkek bireylerde, aynı yaş grubundaki kadınlara göre belirgin artış göstermiştir (1, 43). Çalışmamızda, benign ve malign gruplar arasında, cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmazken; 4 alt grup arasında intradermal nevüs, istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde kadın cinsiyette daha çok görülmüştür.

Melanomlar, epitelyal, hematolojik, mezenkimal ve nöronal tümörleri taklit eden oldukça geniş bir spektrumda histolojik özellikler sergilemeleri nedeniyle, ayırıcı tanıda immünohistokimyadan faydalanılır (3, 4). Malign melanom tanısında kullanılan immünohistokimyasal belirleyiciler, farklı özgüllük ve duyarlılık düzeylerinde olmaları nedeni ile özellikle benzer klinik ve histopatolojik özellikler sergileyen pigmente deri lezyonlarının ayırıcı tanısında beklenen yararı sağlayamamaktadır.

Halen melanositik lezyonların ayırıcı tanısının söz konusu olduğu durumlarda, immünohistokimyasal panellerde en yaygın kullanım bulan antikor S100 proteini ve HMB45 (gp100)'dir. S100 proteinine karşı geliştirilmiş poliklonal antikorlar, yüksek duyarlılıklarından ötürü, immünohistokimyasal tanıda geleneksel olarak "altın standart" olarak kabul edilmiştir (17). HMB45 ise, özgüllüğünün yüksekliği yolundaki bildirimler (44) nedeniyle tamamlayıcı antikor olarak yaygın kullanım bulmuştur. Son yıllarda, yeni kuşak melanosit diferansiyasyon antijenlerine karşı geliştirilen antikorlar olan

MART-1/Melan-A (M2-7C10 ve A-103 klonlar) ve MiTF (Microphthalmia Transcription Factor) de büyük ilgi uyandırmış ve kullanım alanı bulmuştur.

İlk defa 1965 yılında Moore tarafından tanımlanan S-100 proteini (45), nevüs ve melanom hücreleri için oldukça duyarlı bir belirleyicidir (33); ancak santral ve periferik sinir sisteminde de bol miktarda bulunur (46). Poliklonal S-100 antikoruna, melanositik tümörler için yüksek duyarlılığa sahip olmakla beraber, normal melanositik hücreler ve non-melanositik tümörler ile önemli oranda reaksiyon göstermeleri nedeniyle, düşük özgüllük sorunu taşırlar (47).

Hem nükleer hem de sitoplazmik boyanma gösteren S-100 için, literatürde %97-100 duyarlılığa sahip olduğu bildirilmiştir (4). Benign ve malign melanositik tümör olgu gruplarından oluşan çalışmamızda, S-100'ün melanom için duyarlılığı %93,8, özgüllüğü ise %4,3 olarak bulunmuş olup, S-100 proteininin A ve B subünitelerini tanıyan monoklonal bir antikor kullanılmış olmakla beraber, nevo-melanositer lezyonlar için poliklonal antikorlarla bildirilene yakın yüksek duyarlılık oranının sağlanmış olduğu görülmektedir. Bu da, literatür ile uyumlu olarak, S-100'ün melanosit kökenli tümörleri tanımada oldukça kıymetli bir belirleyici olduğu; ancak malign melanomu benign melanositik tümörlerden ayırmada yetersiz kaldığı sonucunu desteklemektedir.

Bileşik immünohistokimya skorları karşılaştırıldığında ise (Tablo 13), nodüler malign melanom olgularında S-100 ortanca değerinin 4 olması, yüzeysel yayılan malign melanom, displastik nevüs ve intradermal nevüs olgularına göre anlamlı fark yaratmıştır. Aynı ortanca değeri, yüzeysel yayılan malign melanom olgularında da saptanmış olsa da, bu olguların skor dağılım aralığının dar (2-5) olması nedeni ile istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Buna göre, S-100 ile kuvvetli boyanma varlığının özellikle nodüler malign melanom olgularının tanısında anlamlı bir bulgu olabileceği söylenebilir.

Yamasal veya yaygın boyanma açısından değerlendirildiğinde, yamasal S-100 boyanma paterni, nodüler ve yüzeysel yayılan malign melanomlarda beklenen bir bulgudur (22). Çalışmamızda elde ettiğimiz verilere göre benign ve malign olguların karşılaştırılmasında, S-100 ile yamasal boyanmanın (%88,9) en çok malign grupta ve yaygın boyanmanın en çok benign grupta (%66,7) görülmesi, hem istatistiksel olarak anlamlı hem de literatür ile uyumlu bulundu.

HMB45, Gown ve ark. tarafından 1986 yılında bir melanosit diferansiyasyon antijeni olan gp100'e karşı geliştirildiğinde (19), "aktive" melanositlere karşı ileri derecede duyarlı ve özgün bir antikör olduğu ileri sürülmüş ve melanom tanısında birincil olarak kullanılan araçlar arasında yerini almıştır (48, 49). HMB45'in duyarlılık ve özgüllüğünün sanılan kadar yüksek olmadığı yolunda son zamanlarda yapılmış olan bildirimler (50-53) nedeniyle, melanositik tümörlerin tanınmasında anti-S100'ün yanında immün paneli tamamlayıcı bir antikör olarak yaygın kullanımı sorgulanmaya başlamıştır.

HMB45, melanom ve tüm nevüslerdeki intraepidermal melanositler ve melanomun dermal bileşeninde pozitif boyanma gösterirken; normal melanositler ve melanositik nevüslerin dermal nevüs hücrelerinde boyanma gözlenmez (19, 54). Başka bir deyişle, "junctional" nevüslerde yüksek ekspresyon göstermesine rağmen, intradermal nevüs hücrelerinde boyanma görülmez (20). Displastik nevüslerde ise, genellikle HMB45 ekspresyonu mevcuttur. "Junctional" nevomelanositler ve yüzeysel dermisteki displastik melanositik hücrelerde diffüz pozitif sitoplazmik boyanma görülürken, derin dermisteki nevüs hücreleri genellikle reaksiyon göstermez (44). Smoller ve ark. çalışmalarında, displastik nevüs olgularındaki papiller dermis nevüs hücrelerinde ve melanom olgularındaki rezidüel nevüs hücrelerinde, hafif-orta derecede HMB45 ekspresyonu bildirmişlerdir. Öte yandan, aynı lezyonlardaki intraepidermal melanositlerde kuvvetli boyanma saptamışlardır. Sonuç olarak, HMB45 tümüyle benign melanositik tümörlerde görülmezken, displastik nevüs ve melanomdaki rezidüel nevüse ait dermal nevüs hücrelerinde HMB45'in bu düşük miktarlardaki ekspresyonunu, bu lezyonların malignite açısından prekürsör lezyon olmaları ile ilişkilendirmişlerdir (54). Nevüste displazi olarak tanımlanan histolojik kriterlerin, aslında melanositik nevüslerin aktif veya proliferatif fazının göstergesi olduğundan yola çıkan bazı araştırmacılar ise, displastik nevüslerdeki HMB45 boyanmasının artmış melanom riskinin bir göstergesi olmaktan ziyade, proliferatif veya diğer bir deyişle stimüle-aktive melanositlerin belirleyicisi olduğunu öne sürmüşlerdir (55).

HMB45 ile bizim çalışmamızda, intradermal nevüs olgularının %5'inde (sadece 1 olguda) ve orta şiddette boyanma görülürken; beşi "junctional" displastik nevüs olmak üzere, displastik nevüs olgularının %92,6'sında ve malign melanom olgularının %93,7'sinde pozitif boyanma saptandı. Öte yandan, bileşik immünohistokimya

skorlarının karşılaştırmasında, intradermal nevüs olgularının skor ortancasının 0 olması ile anlamlı farka neden olduğu görüldü (Tablo 13). Bu veriler ile melanom için duyarlılığını %93,8, özgüllüğünü %44,7 olarak bulduğumuz HMB45'in, melanositik kökenli bir lezyonu tanımının yanında, benign-malign melanositik lezyon ayrımında da daha faydalı bir belirleyici olduğu sonucuna vardık. Benign olgular içinde sayılan, ancak klinik ve histolojik olarak banal nevüs ile yüzeysel yayılan malign melanom arasında bir ara form olarak kabul edilen displastik nevüs olgularında da malign olgulara yakın, yüksek oranda HMB45 boyanması, bu belirleyicinin tümüyle benign bir karaktere sahip intradermal nevüsler ile displastik nevüslerin ayrımında da faydalı olabileceğini göstermiştir. Sonuçlarımız, literatür ile uyumludur.

Literatürde, HMB45'in malign melanomdaki boyanma paterni ile ilgili farklı görüşler mevcuttur. Olgularımızda aradığımız bir parametre olan lezyon bazaline doğru güçlenen HMB45 boyanması, sadece malign gruba ait 5 olguda rastladığımız bir bulgu olup, benign gruptaki hiçbir olguda görülmemiş olması ile bu paterndeki HMB45 boyanmasının maligniteyi destekler bir bulgu olduğunu düşündürmüştür.

Yakın geçmişte melanosit diferansiyasyon antijenlerine karşı geliştirilen MART-1/Melan-A gibi antikörlerle melanomlarda %80-100 gibi oranlarda immünpozitivite saptanması, bu yeni kuşak antikörlerin ilgi odağı haline gelmesine neden olmuştur (17, 31, 56). Genel kabul gören görüş, Melan-A'nın, malign ve benign melanositik lezyon ayrımında değil, ama melanositik tümörleri non-melanositik lezyonlardan ayırmada faydalı bir belirleyici olduğu yönündedir (34). Literatürdeki çalışmalarda, Busam ve ark. , nörotize nevüsler dışında çeşitli tipten test ettikleri 48 nevüsün tümünde, desmoplastik melanom dışında çeşitli tiplerden 26 primer melanomun tümünde pozitif immün reaktivite bildirmiştir (56). Orchard, çeşitli tiplerden 45 nevüste %100, 26 konvansiyonel melanomda %83,9 deri metastazında %78, 15 lenf gangliyonu metastazında %69 oranında pozitiflik bildirmiştir (17). Hofbauer ve ark. , melanom ve nevüslerden oluşan çalışmalarında, A103 antikoru ile melanom için %88 duyarlılık ve melanositik hücreler için çok yüksek bir özgüllük bildirmiştir (57).

Çalışmamızda, benign ve malign melanositik lezyonlar karşılaştırıldığında, melanom için MART-1/Melan-A'nın duyarlılığı %87,5, özgüllüğü %8,5 olarak bulundu. Bulgularımız literatür ile uyumlu olacak şekilde, MART-1/Melan-A'nın benign ve malign melanositik lezyonları ayırmada yetersiz kaldığını göstermektedir.

Diğer taraftan, her ne kadar vaka gruplarımızda non-melanositik tümör olguları yer almasa da, MART-1/Melan-A'nın melanositik kökenli bir lezyonu tanımada değerli bir belirleyici olduğu söylenebilir.

MiTf, embriyogenez sırasındaki melanosit gelişimi ve bu melanositlerin postnatal sağkalımı için gerekli bir nükleer transkripsiyon faktörüdür (58, 59). İlk raporlarda %100 özgül olduğu iddia edilmişse de, sonraki çalışmalarda, %88 kadar düşük oranlar rapor edilmiştir (18, 36-38, 40). King ve ark. 1999 ve 2001 yıllarında yayınladıkları iki farklı çalışmada, non-melanositik tümör olgularının hiçbirinde Mitf boyanması saptanmadığını rapor etmişlerdir (18, 36). Araştırmacılar, malign melanom ve non-melanositik tümörlerden oluşan ilk çalışmada, tüm melanom olgularında Mitf ile nükleer boyanma görmüş, non-melanositik tümörlerin hiçbirinde boyanma saptamamıştır (36). Çeşitli benign nevüs ve malign melanositik tümörler ile non-melanositik tümör olgularından oluşan ikinci çalışmada ise, desmoplastik melanomların büyük bölümü hariç benign olgular dahil tüm melanositik tümörlerde Mitf boyanması görülürken, non-melanositik olgularda boyanma görülmemiştir (18). Koch ve ark. , iki nörofibrom ve bir atipik fibroksantom olgusunda fokal Mitf ekspresyonu bildirmişlerdir (60). Miettinen ve arkadaşları, normal histiyositlerde Mitf ekspresyonu gördüklerini bildirmiş; ancak çalıştıkları 200'den fazla non-melanoma olgusunda boyanma görülmediğini rapor etmişlerdir (61). Busam ve ark. ise, dermal iğsi hücreli tümörler, çeşitli adenokarsinomlar, germ hücreli tümörler, lenfoma ve yumuşak doku tümörlerinde Mitf ekspresyonu bildirmişlerdir (62). Ayrıca diğer melanositik belirleyiciler gibi, Mitf de, anjiyomyolipomlarda pozitif boyanma gösterir (4).

Çalışmamızda elde ettiğimiz verilere göre, benign ve malign melanositik lezyonların ayırımında melanom için Mitf'in duyarlılığını %25,0, özgüllüğünü %59,6 olarak saptadık. Ancak çalışmamızda, Mitf ile farklı dilüsyon, farklı antijen geri kazanımı ve farklı inkübasyon süreleri ile yaptığımız kalibrasyon çalışmalarında, yoğun sitoplazmik boyanma bir türlü bertaraf edilemediğinden, optimal şartlarda değerlendirme yapmak mümkün olmamıştır. Elde edilen sonuçlardan, özellikle de duyarlılığın düşük olmasından, bu teknik nedenlerin sorumlu olduğunu düşünmekteyiz. Her ne kadar, literatürde Mitf'in nükleer boyanma gösteren bir belirleyici olması, değerlendirilmesinde bir avantaj olarak ifade edilse de (4, 36); uygulanan prosedür, otomatize bir cihaz tarafından gerçekleştirilen standardize bir protokol olmasına rağmen

tariflenen teknik sorunların aşılmasını MiTF'in ciddi bir dezavantajı olarak görmekteyiz.

Primer veya metastatik melanom olgularının çoğunda yapısal (epidermis ile ilişki, asimetri, bağımsız tümör nodülü oluşumu, vb ...) ve sitolojik (hüresel atipi, çekirdek ve sitoplazma özellikleri, melanin pigmenti içeriği, vb ...) özellikler, doğru tanının çoğu zaman konvansiyonel hematoksil-eozin boyalı kesitlerin ışık mikroskopik incelenmesi ile mümkün olabilmektedir.

Çalışmamızda, hematoksil-eozin kesitlerindeki bazı histomorfolojik kriterlerin malign melanom tanısındaki değerini araştırmayı planladık. Bu amaçla tüm olgulara ait hematoksil-eozin kesitler simetri, melanositlerde yuva oluşumu, epidermal yayılım (pagetoid ve lentijinöz), maturasyon, lezyon derininde mitoz, lezyon derininde pigment ve lenfositik infiltrasyon (tümöre infiltre lenfosit ve tümör çevresinde bant tarzında infiltrasyon) varlığı açısından incelendi.

Simetri, daha çok melanositik nevüslerde görülen bir özellik olup; displastik nevüsler, klinik olarak genellikle düzensiz sınırlı ve asimetric lezyonlar oluşturmaları nedeniyle, malign melanomlarla daha çok karışan lezyonlardır (1,6). Yüzeysel yayılan malign melanomda lezyon yüksek oranda asimetric bir görünüme sahipken, nodüler malign melanomlar genellikle iyi sınırlı ve simetric lezyonlardır (2,6). Çalışmamızda, literatür ile de uyumlu olarak, simetri gözlenen benign (%71,1) ve malign (%28,9) olgular arasındaki oransal fark ve simetri bulgusunun intradermal nevüslerde en fazla, yüzeysel yayılan malign melanomlarda en az görülmüş olması, istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Yuvalanma tarzında melanositik proliferasyon, tipik olarak melanositik nevüslerde görülen bir özellik olup; malign melanom olgularında da melanom hücrelerinin büyük yuvalar oluşturduğu görülebilir (1,2). Çalışmamızda, melanositik yuvalanma için, benign (%74,5) ve malign (%25,5) olgular arasında, literatür ile de uyumlu olarak, anlamlı fark saptandı. Benign grupla karşılaştırıldığında, nodüler malign melanomda melanositik yuvalanmanın en az olması istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Epidermal yayılım, pagetoid veya lentijinöz tarzda, özellikle malign melanomlarda gözlenen bir bulgu olup; displastik nevüslerde de, nadiren epidermise pagetoid yayılım görülebilir. Çalışmamızda, epidermal yayılım görülen 26 olgunun tamamının malign gruba ait olduğunu gördük. İntradermal nevüs ve displastik nevüs

olgularında ise, bu bulguya rastlanmadı. Bu grubun %64'ünü oluşturan ve çalışmamıza dahil edilen yüzeysel yayılan malign melanom olgularının tamamında epidermal yayılımın mevcut olması dikkati çekiciydi.

Nevüs hücreleri, lezyonun yaşı ilerledikçe, progresif bir maturasyon gösterirler ve bu maturasyon sürecinin varlığı benign nevüsler ile malign melanomun ayırımında tanısal önem taşır; çünkü melanomlarda maturasyon ya çok azdır ya da hiç görülmez (2, 8, 9). Çalışmamızda, maturasyon gözlenen olguların %51'i intradermal nevüs ve %49'u displastik nevüs olmak üzere tamamı benign idi. Malign olgularda bu bulguya rastlanmadı. Beklendiği üzere, mevcut 5 "junctional" displastik nevüs olgusunda da maturasyon gözlenmedi.

Melanositlerde mitoz varlığı, nadiren benign melanositik lezyonlarda, ama daha çok malign melanomlarda görülen bir bulgudur. Özellikle, atipik mitotik figürlerin varlığı, lezyonun malign olduğu yönünde şüphe uyandırmalıdır (2,3). Ayrıca, lezyon derininde mitoz varlığı, malign melanomlarda beklenen bir bulgu olup; benign melanositik lezyonlarda genellikle bu bulguya rastlanmaz (22). Çalışmamızda, literatür ile de uyumlu olarak, lezyon derininde mitoz görülen 8 olgunun tamamı, malign melanom olgularından oluşmakta idi. Benign gruptaki intradermal nevüs ve displastik nevüs olgularının hiçbirinde bu bulguya rastlanmadı.

Lezyon derininde pigment varlığı, nodüler ve yüzeysel yayılan malign melanomlarda gözlenebilen, benign melanositik lezyonlarda beklenmeyen bir bulgudur (22). Çalışmamızda, intradermal nevüs olgularında bu bulguya rastlanmazken; olguların %29,4'ünü displastik nevüs olması ve %70,6'sının malign gruba ait olması, istatistiksel olarak da anlamlı bulundu.

Tümöre infiltrate lenfosit varlığı, malign melanomlarda iyi prognozla ilişkilendirilen ve tanısal olarak da kullanılan bir bulgudur (2, 9). Çalışmamızda, tamamı malign olmak üzere 12 olguda gözlenen bu bulguya, benign grubu oluşturan intradermal nevüs ve displastik nevüs olgularının hiç birinde rastlanmamıştır.

Melanositik nevüslerde, lezyon tabanındaki mononükleer hücre infiltrasyonu, melanomdaki bant tarzı enflamasyondan ziyade dağınık gruplar şeklindedir (3). Displastik nevüslerde de benzer şekilde, "junctional" aktivitenin hemen altında yer alan dermiste dağınık, saçılmış, hafif-orta derecede bir lenfositik infiltrasyon görülebilir (2). Olgularımızda, tümör çevresinde bant tarzında lenfositik infiltrasyon, %14,3 oranında

displastik nevüs, %85,7 oranında malign melanom olgularında görüldü. İntradermal nevüs olgularında ise bu bulguya rastlanmadı. Bulgular, istatistiksel olarak anlamlı ve literatür ile uyumlu bulundu.

Sonuç olarak, patoloji pratiğinde melanositik lezyonlarda benign/malign ayrımı şimdiye dek tartışılmış ve ileride de tartışılacak bir sorun olmaya devam edecektir. Çalışmamızda, histopatolojik kriterler içerisinde epidermal yayılım, lezyon derininde mitoz, lezyon derininde pigment, tümöre infiltre lenfosit ve tümör çevresinde bant tarzında lenfositik infiltrasyon varlığının malign; simetri, melanositlerde yuvalanma ve maturasyon varlığının ise benign biyolojik davranış ile birlikte olduğu gözlenmiştir. Yine immünohistokimyasal olarak kullanılan belirleyiciler için sadece boyanma/boyanmama cinsinden değil ama boyanma paternlerindeki farklılardan yola çıkılarak yapılacak değerlendirmenin bir parametre olarak kullanılabileceğini gördük. Patolojinin diğer alanlarında olduğu gibi, bu konuda da hem birden fazla histopatolojik bulgu, hem pozitif/negatif cinsi belirleyici boyanmaları, hem de bu belirleyiciler ile ortaya çıkan boyanma paternlerinin yorumlanması, bizi doğru tanıya götürecektir. Yardımcılarımız olacaktır.

6- SONUÇLAR

1. Malign melanom için S-100, HMB45, MART-1/Melan-A ve MiTF'in duyarlılıkları sırası ile %93,8, %93,8, %87,5 ve %25 olarak bulunmuş olup; S-100, HMB45 ve MART-1/Melan-A'nın melanositik tümörleri tanımda duyarlılığı yüksek, kıymetli belirleyiciler olduğu sonucuna varılmıştır.
2. Yüzde 44,7'lik özgüllük oranı ile HMB45'in diğer test edilen belirleyicilere göre benign/malign melanositik tümör ayırımında ön planda yer alabileceği gözlenmiştir.
3. Literatürde MiTF'in nükleer boyanma göstermesi nedeni ile sitoplazmik yapı maskelenmediğinden değerlendirilmesi daha kolay bir belirleyici olduğu iddia edilmektedir. İmmünohistokimyasal çalışmamızda, yaygın sitoplazmik saçılma gösteren boya ile yaşadığımız teknik sorunlar neticesinde, bu belirleyici ile elde ettiğimiz veriler literatür ile uyumsuz bulunmuştur. Otomatize bir cihaz tarafından standardize bir protokol uygulanmasına rağmen, optimal boyanma kalitesinin elde edilememiş olması, mevcut immünohistokimyasal belirleyicinin kalibrasyon çalışmaları ile protokolünün yeniden düzenlenmesi gerektiğini düşündürmüştür.
4. Benign/malign melanositik tümör ayırımında, immünohistokimyasal boyanma paterninin değerlendirilmesinin yol gösterici olabileceği saptanmıştır. Melanositik bir tümörde, S-100 ile yamasal boyanma ve/veya HMB45 ile tümör bazaline doğru gelişen güçlü boyanma varlığı, lezyonun malign olduğu yönünde destekleyici bulgulardır. S-100 ile yaygın pozitif boyanma ise, daha çok benign melanositik tümörlerde görülen bir bulgudur.
5. Melanosit kökenli bir tümöre ait rutin hematoksilen-eozin kesitlerde bazı histopatolojik kriterlerin aranması, benign/malign karakterin ayırımında yol gösterici olabilir. Bunlardan tümörün epidermal yayılım göstermesi, lezyon derininde mitoz, lezyon derininde pigment, tümöre infiltre lenfosit ve tümör çevresinde bant tarzında lenfositik infiltrasyon varlığı malign melanomu destekleyici bulgulardır. Lezyonun simetrik olması, melanositlerde yuvalanma ve maturasyon varlığı ise, benign karakterde bir melanositik tümöre işaret eder.
6. Literatürün de desteklediği biçimde, melanositik lezyonların tanısında immünohistokimya sınırlı bir rol oynamaktadır. Malign melanom veya nevüs tanısını net bir biçimde ortaya koyacak ne tek bir immünohistokimyasal belirleyici ne de bir

panel mevcut değildir. Her zaman olduğu gibi, immünohistokimyasal veriler, klinik ve hematoksilen eozin bulgularının ışığında değerlendirilmelidir.

7- KAYNAKLAR

1. Barnhill LR, Pathology of Melanocytic Nevi and Malignant Melanoma (2nd ed) Springer, USA 2004, pp. 1-10.
2. Elder DE, Elenitsas R, Johnson LB, Murphy GF. Lever's Histopathology of Skin (9th.ed) Lippincott-Williams&Wilkins, Philadelphia 2005, pp. 715–803.
3. Rosai J. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology (8th. ed) Mosby, USA 2004, pp. 154–76.
4. Ohsie SJ, Sarantopoulos GP, Cochran AJ, Binder SW. Immunohistochemical characteristics of melanoma. J Cutan Pathol 2008; 35: 433–444.
5. SS Banerjee, M Harris. Morphological and immunophenotypic variations in malignant melanoma. Histopathology 2000; 36: 387-402
6. LeBoit PE, Burg G, Weedon David, Sarasin A. World Health Organization of Tumours; Skin Tumours Lyon, France 2006, pp. 49-120.
7. Kumar V, Abbas KA, Fausto N, Mitchell RN. Robbins Basic Pathology (8th. ed) Saunders Elsevier, USA 2007, pp. 853-857.
8. Weedon D. Skin Pathology (2nd. ed), Churchill Livingstone, London 2002, pp 803-858.
9. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. Robbins And Cotran Pathologic Basis Of Disease (8th ed) Saunders Elsevier, China 2010, Chapter 25, pp. 1165-1204.
10. Balch M, Soog S, Gershenwald JR. et al. Prognostic Factors Analysis of 17.600 Melanoma Patients; Validation of the American Joint Committee on Cancer Melanoma Staging System. J Clin Oncol 2001; 19: 3622–34.
11. Cho KH, Hashimoto K, Taniguchi Y, Pietruk T, Zarbo RJ, An T. Immunohistochemical study of melanocytic nevus and malignant melanoma with monoclonal antibodies against S-100 subunits. Cancer 1990; 66: 765-7.
12. Isobe T, Okuyama T. The amino-acid sequence of S-100 protein (PAP I-b protein) and its relation to the calcium-binding proteins. Eur J Biochem 1978; 89(2): 379-88.
13. Isobe T, Okuyama T. The amino-acid sequence of the alpha subunit in bovine brain S-100a protein. Eur J Biochem 1981; 116(1): 79-86.
14. Isobe T, Ishioka H, Okuyama T. Structural relation of two S-100 proteins in bovine brain: Subunit composition of S-100a protein. Etrr J Biochem 1981; 115: 469-474.

15. Isobe T, Ishioka N, Masuda T, Takahashi Y, Ganno S, Okuyama T. A rapid separation of S-100 subunits by high performance liquid chromatography: The subunit composition of S- 100 proteins. *Biochem Int* 1983; 6: 419-426.
16. Busam KJ. The use and application of special techniques in assessing melanocytic tumours. *Pathology* 2004; 36(5): 462-9.
17. Orchard GE. Comparison of immunohistochemical labeling of melanocyte differentiation antibodies melan-A, tyrosinase and HMB45 with NKIC3 and S100 protein in the evaluation of benign naevi and malignant melanoma. *Histochems J* 2000; 32: 475-481.
18. King R, Googe PB, Weilbaeher KN, Mihm, Jr. MC, Fisher DE. Microphthalmia Transcription Factor Expression in Cutaneous Benign, Malignant Melanocytic, and Nonmelanocytic Tumors. *The American Journal of Surgical Pathology* 2001; 25(1): 51–57.
19. Gown AM, Vogel AM, Hoak D, Gough F, McNutt MA. Monoclonal antibodies specific for melanocytic tumors distinguish subpopulations of melanocytes. *Am J Pathol* 1986; 123(2): 195-203.
20. Yaziji H, Gown AM. Immunohistochemical markers of melanocytic tumors. *Int J Surg Pathol* 2003; 11(1): 11-5.
21. Prieto VG, Shea CR. Use of immunohistochemistry in melanocytic lesions. *J Cutan Pathol* 2008; 35(2): 1–10.
22. Dirk M Elston, Tammie Ferringer. *Requisites in Dermatology*. Saunders Elsevier, London 2009, pp 105-135.
23. Sujatha SEF, Johnson S, Bate J. Immunohistochemical analysis of cutaneous malignant melanoma: comparison of S-100 protein, HMB-45 monoclonal antibody and NKI/C3 monoclonal antibody. *Pathology* 1994; 26: 16.
24. Bishop PW, Menasce LP, Yates AJ, Win NA, Banerjee SS. An immunophenotypic survey of malignant melanomas. *Histopathology* 1993; 23: 159.
25. Ordonez NG, Xiaolong J, Hickey RC. Comparison of HMB-45 monoclonal antibody and S-100 protein in the immunohistochemical diagnosis of melanoma. *Am J Clin Pathol* 1988; 90: 385.

26. Kaufmann O, Koch S, Burghardt J, Audring H, Dietel M. Tyrosinase, Melan-A, and KBA62 as markers for the immunohistochemical identification of metastatic amelanotic melanomas on paraffin sections. *Mod Pathol* 1998; 11: 740.
27. Trefzer U, Rietz N, Chen Y, et al. SM5-1: a new monoclonal antibody which is highly sensitive and specific for melanocytic lesions. *Arch Dermatol Res* 2000; 292: 583.
28. Wick MR, Swanson PE, Rocamora A. Recognition of malignant melanoma by monoclonal antibody HMB-45. An immunohistochemical study of 200 paraffin-embedded cutaneous tumors. *J Cutan Pathol* 1988; 15: 201.
29. Orosz Z, Melan-A/Mart-1 expression in various melanocytic lesions and in non-melanocytic soft tissue tumours. *Histopathology* 1999; 34: 517–525.
30. Busam K, Jungbluth A. The New Melanoma Markers: MART-1 and Melan-A. *The American Journal of Surgical Pathology*, 23(5), p 610.
31. Jungbluth AA, Busam KJ, Gerald WL, Stockert ED, Coplan K, Iversen K, MacGregor D, Old LJ, Chen YT. A103: An Anti-Melan-A Monoclonal Antibody for the Detection of Malignant Melanoma in Paraffin-Embedded Tissues. *The American Journal of Surgical Pathology* Issue: Volume 22(5), May 1998, pp 595-602.
32. Jungbluth AA, Iversen K, Coplan K, Kolb D, Stockert E, Chen YT, Old LJ, Busam K. T311—an anti-tyrosinase monoclonal antibody for the detection of melanocytic lesions in paraffin embedded tissues. *Pathol Res Pract* 2000; 196(4): 235-242.
33. Blessing K, Sanders DSA, Grant JJH. Comparison of immunohistochemical staining of the novel antibody melan-A with S100 protein and HMB-45 in malignant melanoma and melanoma variants. *Histopathology* 1998; 32: 139-146.
34. Sztramska A, Dymerska D, Chwirot BW. Skin layer-specific Melan-A expression during progression of human cutaneous melanoma: implications for diagnostic applications of the marker. *Melanoma Res* 2008; 18: 259–267.
35. Crotty K, McCarthy S, Mihm M. The histological diagnosis and classification of melanoma. In: Thompson JF, Morton DL, Kroon BBR, editors. *Textbook of melanoma*. London, New York: Martin Dunitz, Taylor & Francis Group; 2004. pp. 115–128.
36. King R, Weilbaeher KN, McGill G, Cooley E, Mihm M, Fisher DE. Microphthalmia Transcription Factor: A Sensitive and Specific Melanocyte Marker for Melanoma Diagnosis. *American Journal of Pathology* 1999; Vol. 155, No. 3.

37. Miettinen M, Fernandez M, Franssila K, Gatalica Z, Lasota J, Sarlomo-Rikala M. Microphthalmia transcription factor in the immunohistochemical diagnosis of metastatic melanoma: comparison with four other melanoma markers. *Am J Surg Pathol* 2001; 25: 205.
38. Granter SR, Weilbaecher KN, Quigley C, Fisher DE. Role for microphthalmia transcription factor in the diagnosis of metastatic malignant melanoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2002; 10: 47.
39. Busam KJ, Kucukgol D, Sato E, Frosina D, Teruya-Feldstein J, Jungbluth AA. Immunohistochemical analysis of novel monoclonal antibody PNL2 and comparison with other melanocyte differentiation markers. *Am J Surg Pathol* 2005; 29: 400.
40. Busam KJ, Iversen K, Coplan KC, Jungbluth AA. Analysis of microphthalmia transcription factor expression in normal tissues and tumors, and comparison of its expression with S-100 protein, gp100, and tyrosinase in desmoplastic malignant melanoma. *Am J Surg Pathol* 2001; 25: 197.
41. Aksakoğlu G. Sağlıkta araştırma ve çözümlenme, Dokuz Eylül Üniv. Yayınları, İzmir, 2006.
42. Akgül A. Tıbbi araştırmalarda istatistiksel analiz teknikleri SPSS uygulamaları, Emek ofset, Ankara, 2005.
43. Berwick M. Why are people still dying from melanoma? *Arch Dermatol* 1999 Dec; 135(12): 1534-6.
44. Bacchi CE, Bonetti F, Pea M, Martignoni G, Gown AM. HMB-45: A Review. *Applied Immunohistochemistry Issue: Volume 4(2), Summer 1996*, pp 73-85.
45. Moore BW. A soluble protein characteristic of the nervous system. *Biochem Biophys Res Commun* 1965; 19(6): 739-44.
46. Nakajima T, Watanabe S, Sato Y, Kameya T, Shimosato Y, Ishihara K. Immunohistochemical demonstration of S100 protein in malignant melanoma and pigmented nevus, and its diagnostic application. *Cancer* 1982; 50: 912-8.
47. Orchard G, Wilson Jones E. Immunocytochemistry in the diagnosis of malignant melanoma. *Br J Biomed Sci* 1994; 51(1): 44-56.
48. Carrel S, Rimoldi D. Melanoma-associated antigens. *Eur J Cancer* 1993; 29A(13): 1903-7.

49. Ruiter DJ, Bröcker EB. Immunohistochemistry in the evaluation of melanocytic tumors. *Semin Diagn Pathol* 1993; 10(1): 76-91.
50. Wick MR, Swanson PE, Rocamara A. Recognition of malignant melanoma by monoclonal antibody HMB 45. *J Cut Pathol* 1988; 15: 201-207.
51. Wick MR, Swanson PE, Ritter JH, Fitzgibbon JF. The immunohistology of cutaneous neoplasia: a practical perspective. *J Cutan Pathol* 1993 Dec; 20(6): 481-97.
52. Bonetti F, Pea M, Martignoni G, Mombello A, Colombari R, Zamboni G, Scarpa A, Piubello Q, Bacchi CE, Gown AM. False-positive immunostaining of normal epithelia and carcinomas with ascites fluid preparations of antimelanoma monoclonal antibody HMB45. *Am J Clin Pathol* 1991 Apr; 95(4): 454-9.
53. Kanitakis J, Hermier C, Chouvet B, Thivolet J. Reactivity of HMB-45 monoclonal antibody with sweat-gland tumours of the skin. *Acta Derm Venereol* 1991; 71(5): 426-8.
54. Smoller BR, McNutt NS, Hsu A. HMB-45 staining of dysplastic nevi. Support for a spectrum of progression toward melanoma. *Am J Surg Pathol* 1989 Aug; 13(8): 680-4.
55. Ahmed I, Piepkorn M, Goldgar DE, Cannon-Albright LA, Meyer LJ, Skolnick MH, Zone JJ. HMB-45 staining of dysplastic melanocytic nevi in melanoma risk groups. *J Cutan Pathol* 1991; 18(4): 257-60.
56. Busam K, Chen YT, Old LJ, Stockert E, Iversen K, Coplan K, Rosai J, Barnhill R, Jungbluth AA. Expression of Melan-A (MART1) in Benign Melanocytic Nevi and Primary Cutaneous Malignant Melanoma. *The American Journal of Surgical Pathology* Issue: Volume 22(8), August 1998, pp 976-982.
57. Hofbauer GFL, Kamarashev J, Geertsen R, Boni R, Dummer R. Melan A/MART-1 immunoreactivity in formalin-fixed paraffin-embedded primary and metastatic melanoma: frequency and distribution. *Melanoma Research* 1998; 8(4): 337-343.
58. Dorvault CC, Weilbaecher KN, Yee H, Fisher DE, Chiriboga LA, Xu Y, Chhieng DC. Microphthalmia Transcription Factor: A Sensitive and Specific Marker for Malignant Melanoma in Cytologic Specimens. *Cancer* 2001 Oct 25; 93(5): 337-43.
59. Chang KL, Folpe AL. Diagnostic Utility of Microphthalmia Transcription Factor in Malignant Melanoma and Other Tumors. *Advances in Anatomic Pathology* Vol. 8, No. 5, pp. 273-275.

60. Koch MB, Shih IM, Weiss SW, et al. Microphthalmia transcription factor and melanoma cell adhesion molecule expression distinguish desmoplastic/spindle cell melanoma from morphologic mimics. *Am J Surg Pathol* 2001; 25: 58–64.
61. Miettinen M, Fernandez M, Franssila K, et al. Microphthalmia transcription factor in the immunohistochemical diagnosis of metastatic melanoma: comparison with four other melanoma markers. *Am J Surg Pathol* 2001; 25: 205–11.
62. Busam KJ, Iversen K, Coplan KC, et al. Analysis of microphthalmia transcription factor expression in normal tissues and tumors, and comparison of its expression with S-100 protein, gp100, and tyrosinase in desmoplastic malignant melanoma. *Am J Surg Pathol* 2001; 25: 197–204.

