

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

BENİGN VE MALİGN MELANOSİTİK LEZYONLARDA
MELANOSİTİK KÖK HÜCRELERİNİN VARLIĞI VE
YOĞUNLUĞUNUN TANISAL VE PROGNOSTİK ÖNEMİ

Dr. Pınar CELEPLİ

PATOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Aylin OKÇU HEPER

ANKARA
2012

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

BENİGN VE MALİGN MELANOSİTİK LEZYONLARDA
MELANOSİTİK KÖK HÜCRELERİNİN VARLIĞI VE
YOĞUNLUĞUNUN TANISAL VE PROGNOSTİK ÖNEMİ

Dr. Pınar CELEPLİ

PATOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Aylin OKÇU HEPER

“Bu tez, Ankara Üniversitesi Rektörlüğü Araştırma Fonu tarafından,
12B3330009 Proje numarası ile desteklenmiştir.”

ANKARA
2012

KABUL VE ONAY

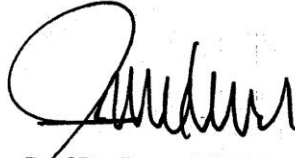
T.C.

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı

Tıpta Uzmanlık eğitimi çerçevesinde yürütülmüş olan “**Benign ve Malign melanositik lezyonlarda melanositik kök hücrelerinin varlığı ve yoğunluğunun tanısal ve prognostik önemi**” başlıklı, Dr.Pınar CELEPLİ’ye ait bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **Tıpta Uzmanlık Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: **07.05.2012**



Prof.Dr. Işın KUZU

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı

Jüri Başkanı



Prof.Dr.Aylin OKÇU HEPER

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı



Prof.Dr.Serpil DİZBAY SAK

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı

Üye

ÖNSÖZ

Tezime yardımlarından ötürü Prof. Dr. Aylin OKÇU HEPER'e uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde katkıları olan tüm değerli hocalarıma, çalıştığım tüm uzman arkadaşlarıma ve asistanlığım boyunca hep yanımda olan arkadaşlarım; Eda AKPINAR, Yasemin YUYUCU KARABULUT, Elçin KADAN, Banu İNCE ALKAN, Seher YÜKSEL Ayşegül ŞAŞMAZ, Hilal NALBANT ve Seda PİLATİN'e,

Patoloji AB.D sekreteri Fatma KARATAŞ ve Patoloji A.B.D görevlisi Dursun DAĞCI'ya,

Ayrıca İhtisas süresi boyunca çalışmamın hazırlık aşamasındaki yardımlarından ötürü, Alahattin ALPTEKİN ve Yusuf ASLAN'a, H&E ve immünohistokimyasal kesitlerin hazırlanmasındaki emekleri için AÜTF Patoloji ve İmmünohistokimya laboratuvarı çalışanlarına,

Tezimin sonuçlarının değerlendirilmesinde değerli katkıları için AÜTF Biyoistatistik Anabilim Dalı çalışanları Can ATEŞ ve Zeynep BIYIKLI'ya,

Tüm eğitim hayatım boyunca her zaman yanımda olan ve aramızdan ayrılan anneme;

Sabrı, yardımları, desteği ve tüm sevgisi için eşime, varlığıyla bana neşe ve dayanma gücü veren kızım NAZ SARA'ya, teşekkür ederim.

Dr. Pınar CELEPLİ

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR	v
RESİMLER DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. MELANOSİTLER	2
2.2. BENİGN PİGMENTE LEZYONLAR	6
2.3. MELANOSİTİK NEVÜSLER	6
2.3.1. Etyoloji ve Patogenez.....	6
2.3.2. Basit Lentigo	9
2.3.3. “Junctional” Nevüsler	9
2.3.4. “Kompound” Nevüsler.....	10
2.3.5. İntradermal Nevüsler.....	10
2.3.7. Displastik Nevüsler	12
2.4. MELANOM	14
2.4.1. Melanositlerde Tümör Gelişimi	15
2.4.2. Melanomda Tanı	19
2.4.3. Lentigo Maligna- Lentigo Malign Melanoma.....	20
2.4.4. Yüzeyel Yayılımlı Melanom.....	20
2.4.5. Nodüler Melanom	23
2.4.6. Akral Lentiginöz Melanom.....	23
2.4.7. Desmoplastik ve Nörotropik Melanom.....	24
2.5. MELANOMADA PROGNOZ	24
2.6. MELANOMADA RAPORLAMA	26
2.7. MELANOMA VE KÖK HÜCRELER	29
2.8. ÇALIŞMADA KULLANILAN İMMÜNHİSTOKİMYASAL BELİRTEÇLER.....	31
2.8.1. CD133	31
2.8.2. CD166	32

2.8.3. Nestin	32
2.8.4. Ki-67	33
3. MATERYAL VE METOD	34
3.1. OLGU SEÇİMİ	34
3.2. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME	35
3.3. İMMÜNHİSTOKİMYASAL İNCELEME	38
3.4. İSTATİSTİK	40
4. BULGULAR	41
4.1. GENEL BULGULAR	41
4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR	44
4.2.1. Benign Lezyonlar	44
4.2.2. Malign Lezyonlar	45
4.2.3. Malign Lezyonlu Olguların Klinik Takip Verileri	46
4.3. İMMÜNHİSTOKİMYASAL BULGULAR	51
4.3.1. Edinsel Nevüslerde İHK Bulguları	51
4.3.2. Konjenital Nevüslerde İHK Bulguları	52
4.3.3. Displastik Nevüslerde İHK Bulguları	53
4.3.4. Benign Lezyonların İHK Bulgularının Karşılaştırılması	53
4.3.5. Primer Melanomlu Olgularda İHK Bulguları	56
4.3.6. Kutanöz Metastaz Olgularında İHK Bulguları	56
4.3.7. Lenf Nodu Metastaz Olgularında İHK Bulguları	57
4.3.8. Malign Lezyonların İHK Bulgularının Karşılaştırılması	58
4.3.9. Benign Lezyonlar İle Malign Lezyonların İhk Bulgularının Karşılaştırılması	61
4.4. HİSTOKİMYASAL VE İMMÜNHİSTOKİMYASAL BULGULARIN PROGNOZ İLE KARŞILAŞTIRILMASI	62
5. TARTIŞMA	78
6. SONUÇLAR	93
7. ÖZET	96
8. SUMMARY	97
9. KAYNAKLAR	98

KISALTMALAR

MDN	: Melanositik Dermal Nevüs
MKN	: Melanositik Kompound Nevüs
NOS	: ‘Not otherwise specified’ (Spesifiye edilemeyen tip)
JN	: Junctional Nevüs
DN	: Displastik Nevüs
SN/KM	: Satellit Nodül/Kutanöz metastaz
LN	: Lenf nodu metastazı
LMM	: Lentigo Malign Melanom
ALM	: Akral Lentiginöz Melanom
YYM	: Yüzeyel Yayılımlı Melanom
KKH	: Kanser Kök Hücresi

TABLolar ve GRAFİKLER DİZİNİ

Tablo 1.	Melanositler, nevüs hücreleri ve melanom hücreleri arasındaki morfolojik farklılıklar.....	4
Tablo 2.	Melanositik tümörlerin DSÖ sınıflaması	5
Tablo 3.	Melanositik nevüslerin histopatolojik özellikleri	11
Tablo 4.	Melanom Risk Faktörleri.....	14
Tablo 5.	Melanomun sınıflandırılması	18
Tablo 6.	Melanomda ABCD kriterleri ve bulgular.....	19
Tablo 7.	Displastik nevüs ve radyal büyüme fazındaki malign melanomlar arasındaki yapısal ve sitolojik özellikler	22
Tablo 8.	Modifiye Breslow tümör kalınlığı değerlendirme indeksi	25
Tablo 9.	Clark invazyon seviyesi sistemi	25
Tablo 10.	Çalışmaya dahil edilen benign ve malign melanositik lezyonlar	34
Tablo 11.	Melanositik dermal ve compound nevüsün histopatolojik değerlendirilmesinde kullanılan morfolojik parametreler	35
Tablo 12.	Melanositik konjenital nevüsün histopatolojik değerlendirilmesinde kullanılan morfolojik parametreler	35
Tablo 13.	Melanositik junctional nevüsün histopatolojik değerlendirilmesinde kullanılan morfolojik parametreler	36
Tablo 14.	Melanositik displastik nevüsün histopatolojik değerlendirilmesinde kullanılan morfolojik parametreler	37
Tablo 15.	Melanomun histopatolojik değerlendirilmesinde kullanılan morfolojik parametreler.....	38
Tablo 16.	Çalışmada Kullanılan Antikorların İsimleri, Dilüsyonları ve Ticari Kaynakları	38
Tablo 17.	Olguların gruplara göre cinsiyetlerinin dağılımı	41
Tablo 19.	Benign melanositik lezyonların tiplere göre dağılımı	42
Tablo 20.	Primer melanom vakalarının tiplere göre dağılımı.....	42
Tablo 25.	Primer malign melanomu bulunan olguların prognoz grupları ile histomorfolojik parametrelerinin karşılaştırılması	48
Tablo 26.	Kutanöz metastazı bulunan olguların prognoz grupları ile histomorfolojik parametrelerinin karşılaştırılması	50

Tablo 27.	Lenf nodu metastazı bulunan olguların prognoz grupları ile histomorfolojik parametrelerinin karşılaştırılması	51
Tablo 28.	Benign melanositik lezyonlarda Ki-67 proliferasyon indeksi	53
Tablo 29.	Malign melanositik lezyonlar arasında Ki-67 proliferasyon indeksi	58
Tablo 26.	Malign melanositik lezyonlar (primer melanom, kutanöz metastaz ve lenf nodu metastaz) arasında CD133 boyanma yüzdesi, şiddeti ve paterni	59
Tablo 27.	Malign melanositik lezyonlar (primer melanom, kutanöz metastaz ve lenf nodu metastaz) arasında CD166 boyanma yüzdesi, şiddeti ve paterni	60
Tablo 28.	Malign melanositik lezyonlar (primer melanom, kutanöz metastaz ve lenf nodu metastaz) arasında Nestin boyanma yüzdesi, şiddeti ve paterni	61
Tablo 29.	Benign melanositik lezyonlar ile Malign melanositik lezyonların ortalama Ki-67 proliferasyon indeksleri.....	62
Tablo 30.	Primer malign melanomlarda Ki-67 ile prognoz arasında ilişki	62
Tablo 31.	Primer Malign melanomlarda CD133 ile prognoz arasında ilişki.....	63
Tablo 32.	Primer melanomlarda nestin ile prognoz arasında ilişki	64
Tablo 33.	Kutanöz metastaz bulunan olgularda CD133 ile prognoz arasında ilişki.....	64
Tablo 34.	Kutanöz metastaz bulunan olgularda CD166 ile prognoz arasında ilişki.....	65
Tablo 35.	Kutanöz metastaz bulunan olgularda Nestin ile prognoz arasında ilişki.....	66
Tablo 36.	Lenf nodu metastazı bulunan olgularda CD133 ile prognoz arasında ilişki.....	67
Tablo 37.	Lenf nodu metastazı bulunan olgularda CD166 ile prognoz arasında ilişki.....	68
Tablo 38.	Lenf nodu metastazı bulunan olgularda nestin ile prognoz arasında ilişki.....	68
Grafik 1.	Benign melanositik lezyonların CD133, CD166 ve Nestin ile boyanma yüzdelерinin karşılaştırılması.....	55
Grafik 2.	Malign melanositik lezyonların CD133, CD166 ve Nestin ile boyanma yüzdelерinin karşılaştırılması.....	57

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1.	(P.1885.06 ve P.562.09) Melanositik dermal nevüs olgularında lipomatöz ve schwanian maturasyon alanları	69
Resim 2.	(P.2172.06 ve P.5635.08) Melanositik kompond ve Junctional nevüs	69
Resim 3.	(P.1535.07) Konjenital nevüs.....	69
Resim 4.	(P.1111.08) Displastik nevüs	70
Resim 5.	(P.1111.08) Displastik nevüs olgusunda rete füzyonu, fibroplazi ve lenfosit infiltrasyonu	70
Resim 6.	(P.2368.08) Displastik nevüs olgusunda vasküler proliferasyon	70
Resim 7.	(P.22260.09 ve P.14698.09) Nodüler melanom olgularında epiteloid hücre.....	71
Resim 8.	(P.9670.09 ve P.3616.09) Yüzeyel yayımlı melanom ve Lentigo malign melanom	71
Resim 9.	(P.271.09 ve P.7688.09) Melanom olgusunda perinöral ve lenfovasküler invazyon	71
Resim 10.	(P.9876.09) İğsi hücreli melanom olgusunda ülserasyon	72
Resim 11.	(P.12303.11 ve P.271.09) Melanom olgusunda hafif- yoğun lenfosit infiltrasyonu	72
Resim 12.	(P.297.06 ve P.2469.06) Lenf nodülünde lenf nodu metastazı ve Satellit nodül/kutanöz metastaz	72
Resim 13.	(P. 11836.08) Melanositik kompond nevüs olgusunda Ki-67 ekspresyonu.....	73
Resim 14.	(P. 8223.11 ve P.6472.07) Malign melanom olgularında Ki-67 ekspresyonu.....	73
Resim 15.	(P. 12064.08) Fetüs glial doku ve deride CD133 ekspresyonu.....	73
Resim 16.	(P.795.11 ve P.2145.06) Melanositik kompond ve dermal nevüs olgusunda orta şiddette sitoplazmik CD133 ekspresyonu	74
Resim 17.	(P.8961.08) Malign melanom olgularında soluk sitoplazmik CD133 ekspresyonu	74

Resim 18.	(P.84.06 ve P.3394.11) Deride ekrin ter bezleri ve sebase bezlerde CD166 ekspresyonu.....	74
Resim 19.	(P.562.09) Melanositik dermal nevüs olgularında orta şiddette sitoplazmik CD166 ekspresyonu	75
Resim 20.	(P.25233.08 ve P.8223.11) Malign melanom olgularında soluk-orta şiddette sitoplazmik CD166 ekspresyonu.....	75
Resim 21.	(P.3532.06 ve P.8764.11) Malign melanom olgularında şiddetli sitoplazmik+membranöz CD166 ekspresyonu	75
Resim 22.	(P.25233.08 ve P.468.10) Deride endotel hücreleri ve periferik sinirlerde nestin ekspresyonu	76
Resim 23.	(P.12064.08 ve P. 13642.06) Melanositik kompond nevüs olgularında orta şiddette-şiddetli sitoplazmik nestin ekspresyonu.....	76
Resim 24.	(P.24690.09) Malign melanom olgularında orta şiddette sitoplazmik nestin ekspresyonu	76
Resim 25.	(P.2433.10) Malign melanom olgularında şiddetli sitoplazmik+membranöz nestin ekspresyonu	77
Resim 26.	(P.8223.11) Malign melanom olgularında şiddetli sitoplazmik+membranöz nestin ekspresyonu	77

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kök hücrelerin tümör gelişimi üzerindeki rolü son yıllarda üzerinde oldukça fazla çalışılan ve merak uyandıran bir konu olmaktadır. Kanser kök hücre hipotezine göre malign tümörler hem kanser kök hücrelerinden, hem de bu kök hücrelerden gelişmiş olan daha diferansiye tümör hücrelerinden oluşmaktadır. Son yıllarda akut myeloid lösemi, meme, pankreas, prostat kanserleri glioblastom, rabdomyosarkom, gastrointestinal stromal tümör, tiroid tümörleri ve dermatofibrosarkom protuberans gibi farklı organ ve sistemlere ait malign tümörlerde kanser kök hücreleri gösterilmiştir. Bu nedenle kanser kök hücrelerinin tanımlanmasının çeşitli malign neoplazilerin sınıflandırılmasında, tanısında ve tedavisinde rolü olabileceği düşünülmektedir. Özellikle kanser kök hücrelerini temel alan hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesi geleceğe yönelik amaçlar arasında bulunmaktadır.

Melanom genellikle konvansiyonel tedavilere dirençli, metastaz kapasitesi yüksek malign melanositik neoplazidir. Özellikle erken evre melanomlarının yaşam sürelerinde uzama bulunmakla birlikte geç ileri evre melanom olgularının prognozu kötüdür. Melanom patogenezinde, dev konjenital nevus, displastik nevus gibi öncü lezyonların olduğu bilinmekle birlikte, melanomların büyük bir kısmı her hangi bir melanositik öncü lezyon olmaksızın gelişmektedir. Melanom ve benign melanositik lezyon ayrımının yapılamadığı, biyolojik davranışı belirlenemeyen ve isimlendirilemeyen melanositik lezyonların varlığı da iyi bilinen bir sorundur.

Bu çalışmada da anabilim dalımızda incelenmiş olan benign ve malign melanositik lezyonların gözden geçirilmesi planlanmıştır. Banal (edinsel), konjenital, displastik nevus; primer ve metastatik melanom olgularında CD133, CD166 ve nestin immünbelirteçleri kullanılarak melanositik kök hücrelerinin varlığı ve yoğunluğunun değerlendirilmesi ve karşılaştırılması, Ki67 proliferasyon indeksi ile ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca klinik bilgisine ulaşılabilen melanomlu olgularda melanositik kök hücre yoğunluğunun hastaların prognozu ile ilişkisinin incelenmesi planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. MELANOSİTLER

Derinin rengi birkaç faktör tarafından belirlenir, en önemlileri, **melanin ve karoten** içeriği, dermisteki kan damarlarının miktarı ve bu damarlar içinde akan kanın rengidir [1].

Melanositler, pigment yapan özelleşmiş hücreler olup nöral tüpün dorsal bölümünden orijin alırlar. Nöral tüpün dorsal bölümünden köken alan bu hücreler farklılaşarak nöron, glia, düz kas, kraniyofasiyal kemik, kıkırdak ve melanosit hücre zincirlerini oluştururlar. Progenitör melanoblastlar mezoderm ve ektoderm arasından dorsolaterale doğru göç ederek son hedefleri olan kıl follikülleri, deri, iç kulak kokleası, koroid, silier cisim ve irise ulaşırlar [2].

Melaninler memelilerdeki pigmentasyondan sorumlu olup; bu durum genetik kontrol altındadır. Melaninlerin insanlardaki birincil görevi, güneş ışığının potansiyel toksik ve karsinojenik etkilerinden korunma sağlamaktır. Melaninler, inflamatuvar yanıtta da katkıda bulunurlar. Isı kaybı ve oksijen radikalleri ile metallerin detoksifikasyonunda da rolleri olduğu düşünülmektedir [2].

Farklı fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip pigmentleri içeren doğal melaninler sınıflandırıldığında, iki tip melanin tanımlanır: **eumelanin** (kahverengisiyah) ve **pheomelanin** (kırmızımsı sarı). Pheomelanin, eumelanine göre daha fotolabildir. Işınlardan, pheomelanin üzerinden etki ile potansiyel toksik hidroksil radikallerinin açığa çıkmasına sebep olarak karsinogeneizde rol oynadığı düşünülmektedir. Bu durumun kızıl saçlı bireylerdeki yüksek melanom insidansına katkısı olabilir [3]. Eumelanin, koyu, kahve-siyah renkte ve suda çözünmezken pheomelanin açık, kırmızı-sarı renkte, sülfür içeren ve suda çözünebilen yapıdadır [4].

Melanositlerin büyük çoğunluğu deride, özellikle de epidermis ve kıl folikülleri içerisinde bulunur. Bir bölümü dermiste, sebace bezler çevresinde veya meme başındaki laktiferöz bezler yakınında bulunabilir. Ayrıca visseral organlar, orbital kavite, leptomeninks ve iç kulak melanositlerin görülebileceği diğer yerlerdir. Derideki melanositler özellikle bazal tabaka olmak üzere interfolliküler epidermisde bulunurlar. Her 5-6 bazal keratinosite karşılık bir melanosit bulunur. Melanositler,

pigmente bir polimer olan ve melanozomlarda depolanan melanin sentezlerler. Bu pigment, içinde bulunduğu melanozom ile birlikte melanositteki dendritik uzantılar aracılığı ile keratinositlere transfer edilir. Keratinositler sürekli deskuamasyon nedeni ile sürekli melanin sentezi ve melanozomların keratinositlere transferi gerekmektedir [3].

Birkaç epidermal keratinosit ile sarılmış tek bir melanosite “*epidermal melanin ünitesi*” denilmektedir. Bu keratinositlerden çıkan ve melanositlerin yaşamlarını, melanogenezisi ve dendritik uzantıları etkileyen sinyallerin çoğu ultraviyole (UV) indüksiyonuna bağlıdır [3].

Milimetrekareye düşen melanosit yoğunluğu 550 ile 1200 arasında değişmektedir ve en yoğun olarak yüz ve genital bölgelerde bulunur. Farklı etnik gruplara ait bireylerdeki melanosit yoğunluğu aynıdır. Yani kutanöz pigmentasyon melanosit sayısına değil, melanosit içindeki melanojenik aktiviteye, matür melanozom oranına ve bunların keratinositlere transfer ve dağılımlarına bağlıdır [3]. Açık tenli bireylerde melanozomların boyutları küçüktür ve keratinositler içinde kümeler halinde bulunurlar. Buna karşılık koyu tenli bireylerde melanozomlar daha büyük ve daha koyu olup keratinositler içinde her yere dağılmışlardır [5].

Melanin sentezi ve epidermise dağılımı sonucu oluşan pigmentasyon sürecinin birkaç basamağı vardır: melanogenezis için gerekli proteinlerin transkripsiyonu, melanozom biyogenezisi, melanojenik proteinlerin melanozomlara girişi, melanozomların melanosit dendritlerinin ucuna taşınması ve melanozomların keratinositlere transferi [3].

Melaninler DOPA'nın indol türevleridir ve melanozomlar içinde bir dizi oksidatif basamaklar sonucunda oluşurlar [6]. Her iki melanin tipinin sentezi tirozin aminoasidinin tirozinaz (tirozin oksidaz, DOPA oksidaz) enzimi ile oksidasyonu ile başlar. Bunun sonucunda L-DOPA oluşur. Tirozinin L-DOPA'ya dönüşümü, melanogenezisteki en önemli basamaktır. Bu basamağın inhibisyonu melanin sentezinin inhibisyonu ile sonuçlanır [3].

Melanin pigmenti, H&E boyanmış kesitlerde her zaman görülemeyebilir. İntrasellüler (melanosit, keratinosit ve makrofajların içerisinde) veya ekstrasellüler olarak bulunabilirler. Melanofajlar içerisinde melanin pigmenti ince granüler, tozsu bir görünüme sahip iken, keratinosit ve makrofajlar içinde kaba granülerdir [2].

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

- 1- Lentiginöz melanositik proliferasyon: Dermoepidermal bileşke boyunca, tek hücre paterninde melanositik proliferasyon (sıklıkla melanositik nevüslerin lentiginöz formlarında).
- 2- Nesting (yuvalanma): Gruplar halinde melanositik proliferasyon (tipik olarak melanositik nevüslerde).
- 3- Pagetoid proliferasyon: Tek hücre paterninde melanositik proliferasyon; diskohaziv ve tüm epidermis boyunca (genellikle melanom ile ilişkili; ayrıca sıklıkla çocuklardaki kazanılmış/konjenital nevüslerde, spitz nevüs, pigmente içsi hücreli nevüs ve akral derideki kazanılmış nevüslerde) [2]

Melanositik proliferasyonlar melanositler, nevüs hücreleri veya melanom hücrelerinin bir veya daha fazlası ile ilişkilidir. Melanositler, nevüs hücreleri ve melanom hücrelerinin temel morfolojik özellikleri **Tablo 1**'de özetlenmiştir [7].

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

	Melanositler	Nevüs hücreleri	Melanom hücreleri
Sitoplazma	Dendritik	Yuvarlak/içsi	Yuvarlak/içsi
Hücre dizilimi	Tek tek	Yuvalar	Büyük yuva ve tabakalar
Nukleus	Küçük ve düzenli	Küçük ve düzenli	Geniş, düzensiz, hiperkromatik
Mitoz	Nadir	Nadir	Genellikle mevcut

Melanositlerin benign tümörleri melanositik nevüs, maligniteleri melanom olarak isimlendirilir [7].

Dünya sağlık örgütü (DSÖ), 2002 yılında melanositik tümörleri **Tablo 2**'de verildiği şekilde sınıflandırmıştır [8].

Tablo 2. Melanositik tümörlerin DSÖ sınıflaması

Malign Melanom
Yüzeyel yayılan melanom
Nodüler melanom
Lentigo maligna
Akral lentiginöz 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

2.2. BENİGN PİGMENTE LEZYONLAR

Benign pigmente lezyonlar, epidermal melanositlerden gelişen çil, solar lentigo, Albright Sendromu'nun melanotik makülleri ve Becker melanozisi ile dermal melanositlerden gelişen Mongol lekesi, Ota nevüs ve "blue"(mavi) nevüsü kapsar [7].

Melanositik nevüs olarak adlandırılan nevüs hücrelerinin benign tümörleri, genel olarak basit lentigo, "junctional (bileşke) nevüs", "compound (bileşik) nevüs" ve intradermal (dermal) nevüs olarak ayrılırlar. Melanositik nevüslerin ayrıca Spitz nevüs, pigmente iğsi hücreli nevüs, konjenital melanositik nevüs ve displastik nevüs gibi özel varyantları da vardır [7].

2.3. MELANOSİTİK NEVÜSLER

Melanositik nevüs, melanositlerden gelişen konjenital veya edinilmiş benign tümörleri tanımlar [9]. Melanositik, nevosellüler ve pigmente eş anlamlı olacak şekilde kullanılır [10].

Melanositik nevüsler, doğumsal olabilecekleri (konjenital melanositik nevüsler) gibi, büyük bölümü adolesan ve çocukluk çağında (edinilmiş melanositik nevüsler) ortaya çıkarlar. Yapılan çalışmalar, çocukluk çağında güneş 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 kızıl saçlı çocuklarda daha yaygındır [11].

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 olabilirler; az veya çok kıl bulundurabilirler [10].

2.3.1. Etyoloji ve Patogenez

Edinsel nevüs, nevik farklılaşma gösteren melanositlerin benign çoğalmasdır. Bu hücreler daha önceden var olan melanositlerden ya da nevomelanosit adı verilen hücrelerden oluşurlar [12]. Nevüslerin kökeni hakkında

farklı görüşler mevcuttur. Mevcut kanıtlara rağmen nevüs gelişimi hakkında bazı kritik noktalar hala açıklığa kavuşmamıştır. Öne sürülen birçok hipotez bulunmaktadır [13]. Bunlar:

Epidermal melanositlerden transformasyon, dermise göç ve depolanma:

Nevomelanositlerin rutin, ultrastrüktürel ve immunohistolojik özellikleri incelendiğinde, dermisteki nevomelanositlerin etrafında bazal membranın gösterilmesi ile dermal melanositlerin epidermis ile yapısal komşuluğu olduğu ileri sürülmüştür. Bu çalışmalar nevomelanositlerin epidermisten bazal membran boyunca aşağı doğru geliştiğini düşündürmektedir. Edinsel melanositik nevüs dermoepidermal bileşkede junctional nevüs olarak belirir, nevüs hücresi proliferer oldukça lezyon genişler ve hücreler dermise girer ve compound nevüs oluşur. Derin dermisteki hücrelerin proliferasyon kabiliyeti azalır [13-15]. Nevüslerin başlangıçta junctional melanositik proliferasyon olarak belirlediği, compound nevüse ilerlediği sonrasında ise intradermal nevüsü oluşturduğu görüşü 19'uncu yüzyıl sonlarında Unna tarafından tanımlanmıştır. Bu süreç için 'descending' nevüs hücreleri adı verilmiştir, bu olay 'Abtopfung' olarak adlandırılmıştır [16, 17].

Çift köken: Bu görüşe göre, epidermisteki ve üst dermisteki nevomelanositler epidermal melanositlerden köken alırken, derin dermisteki nevomelanositler sinir Schwann hücresinden köken almaktadır. Bu hipotezin kanıtı olarak, derin dermisteki nevomelanositlerin Schwann hücre ilişkili antijene karşı monoklonal antikolar ile boyanması ama epidermisteki ve üst dermisteki nevomelanositlerin boyanmaması gösterilmektedir. Ayrıca epidermisteki ve üst dermisteki nevomelanositler epitelooid hücrelere benzer, yuvalar oluşturur, tirozinaz aktivitesi gösterir ama kolinesteraz aktivitesi negatiftir, nöron spesifik enolaz ile zayıf boyanır ve melanin içerir. Derin dermisteki nevomelanositler fibroblast veya Schwann hücresine benzer, tek tek yerleşir, tirozinaz aktivitesi minimaldir, kolinesteraz aktivitesi yoğundur, nöron spesifik enolaz ile boyanır. Bu hipotez nevomelanositlerdeki fenotipik farklılıkların farklı kökenlerinden olduğu görüşünü öne sürmektedir [13, 18]. Bir çalışmada ise perinöral hücrelerin köken olabileceği öne sürülmektedir [18].

Birçok hücre tipini etkileyen hamartamatöz değişim: Üçüncü hipotez için özellikle konjenital nevüslerde deri ekleri ve nörovasküler yapılar yönünde

farklılaşmanın saptanması kanıt olarak gösterilmektedir. Bu bulgular ile nevomelanositik nevüslerin birçok doku elemanını içeren benign hamartom olduğu görüşü öne sürülmüştür. Ackerman konjenital nevusellüler nevüsün kollajen, erektör pili kası, sinir fasikülleri ve adipoz doku gibi derinin yapısını oluşturan diğer elemanları da içeren hamartomatoz bozukluk olduğunu öne sürmüştür. Başka araştırmacılar edinsel nevusellüler nevüslerin neoplastik bir hastalık olduğunu ileri sürmüşlerdir [13, 16, 19].

Melanoblastlardaki bir defektten kaynaklanan benign neoplastik proliferasyon: Nöral yarıktan köken alan melanoblastlar, doğumdan ortalama 40 gün önce dermise göç edip, epidermisin bazal tabakasına yerleşmektedir. Dördüncü hipotez bu melanoblastlardaki bir bozukluk nedeni ile farklılaşmanın düzgün olmayacağı görüşüne dayanmaktadır. Melanosit ‘prekürsör’ hücreler erişkin derisinde saptanmıştır [20]. Teorik olarak bu defektli hücreler aberran olarak proliferere olabilir ve farklılaşarak değişik melanositik neoplazilere yol açabilir. Bu görüş insan edinsel nevüslerinin klonal olduğunun gösterilmesi ile de desteklenmektedir. Robinson ve arkadaşları inceledikleri nevüslerin %81’ini klonal bulmuşlar ve monoklonalitenin neoplazinin bir belirtici olduğundan edinsel melanositik nevüslerin premalign lezyonlar olarak kabul edilebileceğini belirtmişlerdir [13, 18, 21].

Edinilmiş melanositik nevüsler, lezyonun yaşı ilerledikçe, progresif bir maturasyon gösterirler. Başlangıçta, proliferere melanosit yuvalarının dermoepidermal bileşkeye sınırlı olması ile karakterli, “flat” maküler bir lezyon olan “junctional” nevüs, nevüs hücrelerinin dermise inmesi 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 intradermaldır [11].

Dermoepidermal bileşkeden dermise doğru maturasyon gösteren nevüs hücreleri üç farklı sitolojik görünüm sergiler. İntradermal ve üst dermise yerleşen ve kaba melanin pigmenti içeren A tipi hücreler epiteloid 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 [3]. Bu maturasyon sürecinin varlığı tanısal önem taşır, çünkü melanomlarda maturasyon ya çok azdır, düzensizdir ya da hiç görülmez [22].

Melanomu taklit eden lezyonlar olmaları ve melanom için risk teşkil etmeleri sebebi ile nevüsler ile melanomun klinik ve histolojik ayırıcı tanısı kritik öneme sahiptir [7].

Nevüslerin büyük çoğunluğu deride görülse de skuamöz epitel ile örtülü mukozal yüzeylerde de görülebilirler. Ayrıca benign nevüs 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 [10].

2.3.2. Basit Lentigo

Melanositik nevüslerin erken veya gelişmekte olan şekli, “junctional” nevüsün prekürsörü olarak kabul edilirler. Histolojik olarak epidermis bazal tabakasında lentijinöz melanositik proliferasyon ile karakterli olup, nevoid yuvalarının olmaması ile nevüslerden ayrılırlar [10].

2.3.3. “Junctional” Nevüsler

Melanositik proliferasyonun dermoepidermal bileşkede sınırlı kaldığı nevüslerdir. Avuç içi ve ayak tabanında (akral) görülen nevüslerin hemen tamamı “Junctional” nevüslerdir [10].

Bazen nevüs hücre yuvaları, “kompound” nevüse öncülük edercesine, dermise doğru girintiler yapsa da, epidermis ile bağlantısını koparmadığı görülür. Bazen de, epidermiste yuva yapan nevüs hücreleri yanında tek tek nevüs hücreleri, üst dermiste melanofajlar ve mononükleer hücre infiltrasyonu ile lentigoyu anımsatır özelliklere sahip, kısaca basit lentigo ve “junctional” nevüsün özelliklerini taşıyan bu lezyonlar, lentijinöz “junctional” nevüs olarak isimlendirilir [7].

2.3.4. “Compound” Nevüsler

Çoğunlukla çocukluk ve adolesan döneminde görülürler [11]. “Compound” nevüsler, hem “junctional” hem de intradermal nevüsün özelliklerini taşıyan, yani hem epidermal hem de intradermal bileşeni bulunduran nevüslerdir [10]. Üst dermiste sitoplazmasında melanin içeren epitelooid nevüs hücreleri gözlenirken, derin dermisteki hücreler daha az melanin içeren küçük hücrelerdir [11].

Dermisin yüzeyinden derine doğru nevüs hücrelerinin boyutlarında küçülme, melanin içeriğinde azalma ve muntazam yuvaların kaybolması maturasyon lehinde bir bulgu olup, melanomda beklenmez. Melanomun neoplastik hücreleri, nevüslerden farklı olarak, kollajen liflerini yıkarak ve onların yerini alarak infiltrasyon gösterirler [7]. Varsa lezyon tabanındaki mononükleer hücre infiltrasyonu, melanomdaki bant tarzı inflamasyondan ziyade dağınık gruplar şeklindedir [10].

Nevüsler, vücuttaki lokalizasyonlarına göre, farklı mikroskopik görünüm sergileyebilirler. Örneğin akral nevüsler ömür boyu “junctional” kalma eğiliminde iken; saçlı deri yerleşimli olanlar genellikle belirgin bir nöral (nöromatöz maturasyon) bileşene sahiptir. Vulvadaki (vulvar/genital) nevüsler ise, daha büyük, düzensiz sınırlı olmaları ve sıklıkla lentijinöz melanositik proliferasyonu eşlik etmesi nedeni ile malign melanom ile karışabilen lezyonlardır [10].

2.3.5. İntradermal Nevüsler

Melanositik nevüslerin en sık ve genellikle erişkinlerde görülen formudur. Nevüs hücreleri dermise sınırlıdır ve “junctional” aktivite göstermezler. Multinükleer nevüs hücrelerine rastlanabilir, ancak bu hücreler Spitz nevüs ve bazı melanomlarda görülen irregüler bazaar şekilli multinükleer hücrelere benzemezler [7].

Bazı nevüsler ise üst dermiste yuvalar oluşturmadan, kollajen lifleri arasında dağılmış sadece iğsi şekilli C tipi hücrelerden oluşur. Nöral (yaygın nöromatöz maturasyon gösteren) nevüs olarak isimlendirilen bu lezyonların nörofibromdan ayrımı rutin tetkikler ile güç olabilir. İmmünohistokimyasal olarak nörofibromlarda bulunan MBP (myelin basic protein) ile ayrılırlar [10].

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 [10].

Sık karşılaşılan melanositik nevüs tiplerinin belli başlı özellikleri **Tablo 3**'te özetlenmiştir [22].

Tablo 3. Melanositik nevüslerin histopatolojik 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 oluşturmayan 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 hemanjiom 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

2.3.6. Spitz Nevüs

Spitz nevüs, ilk kez Sophie Spitz [23] tarafından 1948 yılında erişkin melanomlarından farklı seyir gösteren çocukluk çağı malign melanomu (juvenil

melanom) olarak tanımlanmış, daha sonra Arthur C. Allen [24], juvenil melanomları benign melanositik nevüsler grubuna sokmuştur.

Bu lezyonlar çoğunlukla soliter ve sıklıkla alt ekstremita ve yüzde görülür. lezyonların %95'i 1 cm'den küçük, %75'i de 6 mm ve daha küçüktür [7].

Klinik olarak pembe renkli, nadiren koyu pigmentli görülür, çok nadir ülserasyon bulunabilir [7].

Histopatolojik olarak, küçük simetrik ve iyi sınırlı lezyonlardır. Pigmentasyon az veya yoktur. Minimal epidermis içi yayılım, epidermal hiperplazi, hipergranüloz izlenir. Junctional proliferasyon kesintilidir. Derin dermiste daha küçük ve uniform hücre yuvaları, sıraları saptanır [7].

İğsi ve epiteloid hücrelerin sitoplazmaları geniş, veziküler nukleuslu, belirgin nukleollüdür. %60-80'inde junctional bölgede, dermal papillaların üzerinde bazal tabakada apoptotik hücrelere benzeyen kolloid cisimcikleri ("kamino" cisimcikleri) izlenir. Mitoz yok veya seyrek, atipik mitoz gözlenmez. Derinde maturasyon izlenir, hücreler her yanda uniform ve monoton görünümündedir [7].

2.3.7. Displastik Nevüsler

Displastik nevüsler, klinik ve histolojik olarak banal nevüsler ile yüzeysel yayımlı melanom arasında bir formu oluşturur [7].

Dünya Sağlık Örgütü, displastik nevüsleri, daha çok üst gövde ve ekstremitelerde yerleşen, değişken renk, boyut ve sınırlara sahip, tekli veya çoğul nevüsler olarak tanımlamıştır [8].

Displastik nevüsler sporadik veya familial bir zeminde gelişebilir; malign melanoma progresyon gösterebilirler. Etyolojilerinde UV ışınları rol oynar [8].

Klinik karakteristik özellikleri:

- a) Genellikle 5mm'den büyük boyutlardadır.
- b) Düzensiz 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

Genel olarak bir displastik nevüsün histolojik tanımlanmasındaki yapısal kriterler, 4mm üzerinde boyut, “compound” nevüs komşuluğunda “junctional” bileşen varlığı, uzamış retelerde tek tek veya yuvalanan melanositler, simetri, kohezyon, suprabazal melanositler içerir. Sitolojik kriterler ise, nükleer şekil, hiperkromazi, nukleus çapı, nukleol belirginliği, hücre boyutunu, sitolojik atipi varlığını içermektedir [8].

Histolojik sınıflandırmada 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 [8]:

- Periferinde “junctional” bileşeni bulunan santral dermal nevüs (Dermal bileşenin en az 3 rete periferine uzanan “junctional” bileşen, omuz fenomeni olarak adlandırılır)
- Uzamış epidermal reteler
- Dermoepidermal bileşkede yuvalanan melanositlerin epidermise paralel yerleşerek köprüleşmesi
- Retelerde yuva yapan melanositler
- Papiller dermiste fibroplazi (konsantrik/lameller)

Bu lezyonların tanımlanmasındaki problemlerden biri de, histolojik değişikliklerin non spesifik olmasıdır. Çocuklarda ve baş saçlı deri, kıvrım bölgeleri gibi belli anatomik lokalizasyonlarda yerleşen ancak klinik olarak displastik nevüs özelliklerini taşımayan nevüslerde de benzer histolojiye rastlanabilir [4].

2.4. MELANOM

Dermoepidermal bileşkedeki melanositlerden gelişen malign melanomun etyopatogenezi ile ilişkili genetik ve çevresel faktörler tanımlanmıştır. Melanom gelişimi açısından literatürde ayrıntılı olarak tanımlanmış risk faktörleri vardır [25] (**Tablo-4**).

Tablo 4. Melanom Risk Faktörleri

Ultraviyole ışınları
Bireyin fenotip özellikleri
Geçirilmiş melanom öyküsü
Aile öyküsü
p16, BRAF veya MC1R mutasyonları
Kseroderma pigmentozum
İmmün supresyon (tartışmalı)

UV ışınlarının, özellikle yüksek riskli toplumlarda melanoma neden olan major çevresel faktör olduğu bilinmektedir. Ancak tüm melanomların nedeni güneş ışınları değildir. Epidemiyolojik çalışmalar özellikle çocukluk ve ergenlik döneminde periyodik olarak yoğun güneş ışınlarına maruz kalmanın, sürekli güneş ışınlarına maruz kalmaktan çok daha etkili olduğunu göstermiştir ve buna “*aralıklı maruziyet*” (*intermittant exposure*) hipotezi denilmektedir [25]. Yayımlanmış çalışmaların derlendiği bir çalışmada çocukluk dönemindeki güneş yanıkları ile melanom gelişme riski arasında pozitif bir ilişki olduğu gösterilmiştir [26]. Çocukluk döneminde bir kez olsun bül oluşturan güneş yanıklarının yaşamın daha sonraki dönemlerinde melanom gelişme riskini 2 kattan fazla artırdığı gösterilmiştir [27].

Özellikle psoralen-ultraviyole A ışığı (PUVA), UVB ve solaryumlar gibi bazı yapay ışınlar da melanom gelişimine neden olmaktadır. PUVA sonrası ne kadar uzun zaman geçerse, melanom gelişme riski de o kadar artmaktadır. Bu risk özellikle tedavi amaçlı yüksek doz PUVA almış hastalarda daha yüksektir [28].

Açık tenli, sarı-kızıl saçlı, mavi-yeşil gözlü, çillenme eğilimi olan ve Fitzpatrick sınıflamasına göre Tip I veya Tip II deri tipine sahip kişiler melanom gelişimi açısından artmış bir riske sahiptirler [25].

Melanom gelişme riski, nevüsleri olan hastalarda da artmıştır. Bu ilişki, nevüslerin hem kantitatif (nevüs sayısı) hem de kalitatif (tipik ya da atipik nevüs) özellikleri ile ilişkilidir. Atipik nevüsü (displastik nevüs) olan tüm hastalar ile 100'den fazla nevüsü olan erişkinler ve 50'den fazla nevüsü olan çocuklar melanom gelişimi açısından risk altındadırlar. Yapılan bir çalışmada tek bir atipik nevüs varlığında melanom gelişme riskinin 2 kat arttığı, 10 veya daha fazla atipik nevüs olmasının ise bu riski 12 kat artırdığı saptanmıştır [25]. Nevüsler premalign lezyonlar değildir ama melanom gelişimi açısından artmış bir risk varlığını gösteren genetik belirteçlerdir. Çünkü melanomların çoğu *de novo* olarak gelişmektedirler. Melanomlu 1606 hastanın değerlendirildiği bir çalışmada hastaların sadece %26'sında histolojik olarak melanom-nevüs birlikteliği saptanmıştır [29].

Ailesel melanomu olan hastalar, tüm melanom vakalarının %10-15'ini oluşturmaktadır. Birinci derece akrabaların sadece bir tanesinde melanom olması melanom gelişme riskini 2 kat, üç veya daha fazla aile bireyinde melanom olması ise bu riski 35-70 kat artırmaktadır [30].

Önceden melanom öyküsü olan hastalarda tekrar melanom gelişme riski artmıştır. Hastaların %5-15'inde multiple primer melanom görülebilmektedir. Birden fazla primer melanom görülen hastaların yaklaşık yarısında ikinci tümör ilk tümörün görüldüğü bölgede ve yine yaklaşık yarısında ikinci melanom, ilk melanom tanısından sonraki bir yıl içinde görülmektedir [25].

İmmüsupresyonun da melanom gelişme riskini 2-5 kat artırdığına dair yayınlar mevcuttur. Ancak bu konu hala tartışmalıdır [25].

Aktinik keratoz ya da melanom dışı deri kanseri olan hastalarda melanom gelişme riskinin çok az da olsa arttığı bildirilmiştir [25].

2.4.1. Melanositlerde Tümör Gelişimi

Melanositlerdeki malign transformasyon ve tümör gelişimi, klinik, histopatolojik, immunhistokimyasal, sitogenetik ve in-vitro özelliklerine göre 5 evreye ayrılmaktadır [25]:

- a. Melanositik nevüs
- b. Atipik nevüs
- c. Primer melanom, radyal büyüme fazı
- d. Primer melanom, vertikal büyüme fazı
- e. Metastatik melanom

Melanomda tümör gelişimi konusunda radyal fazdan vertikal faza geçiş kritik basamak olarak kabul edilmektedir. Radyal büyüme fazında melanom hücreleri primer olarak intraepidermal bölgede proliferasyon olmaktadır. Ancak az sayıda hücrenin papiller dermisi invaze etmesi tümöre büyüme avantajı sağlamaktadır. Radyal büyüme fazına ait hücrelerin karakteristik özellikleri bir adezyon molekülü olan *E-kadherin* içermeleridir. *E-kadherin*, keratinositler ile etkileşerek intraepidermal bölgedeki hücrelerin migrasyonuna engel olmaktadır [31]. Bu evredeki melanomların metastaz yapmadıkları kabul edilir. Hızlı büyüme ve malign hücrelerin nodül oluşturması vertikal büyüme fazının işaretidir. Vertikal büyüme fazındaki hücreler *E-kadherin* kaybetmekte, bunun yerine fibroblast, makrofaj ve endotelial hücrelerle etkileşen *N-kadherin* ortaya çıkmaktadır. Endotelial hücrelerle olan etkileşim sonucunda malign hücrelerin vasküler invazyonu kolaylaşmaktadır [25].

Melanom vakalarının yaklaşık %30'unda bir prekürsör nevüs olması, patogeneze UV'nin rol alması, melanom gelişmiş hastaların deri tipi, aile öyküsü ve diğer genetik faktörlerin rol alması gibi bazı klinik gözlemler melanom tümörigenezinde dikkate alınmalıdır.

Melanomdaki çok basamaklı tümör gelişimi açısından yukarıdaki gözlemler dikkate alındığında tümörigenez için en azından iki yol olabileceği düşünülmüştür.

Birinci yolda özellikle de yüzeysel yayımlı melanom (YYM) vakalarının bir kısmına melanositik nevüsün eşlik ettiği görülür. Bu durumlarda tetikleyici olay büyük olasılıkla erken yaşlardaki UV maruziyetidir.

Melanom gelişiminin ikinci yolunu açıklamak için lentigo malign melanom (LMM) örneği kullanılmaktadır. Melanomun bu formu güneş ışınlarına maruz kalmanın kümülatif etkileri ve bu etkiler sonucu melanosit DNA'sında ortaya çıkan hasar sonucu ortaya çıkmaktadır [25].

En sık baş-boyun ve özellikle kadınlarda alt ekstremitelerde görülür. Diğer nadir bölgeler tırnak altı yatağı ile akral bölgelerdir. Açık ten rengine sahip, kızıl saçlı ve güneş yanığına yatkın beyaz bireyler özellikle risk altındadır. Zencilerde görülen az sayıda melanom vakaları sıklıkla akral bölgeler, tırnak yatağı ve müköz membran yerleşimlidir [10].

Melanomların büyük bir bölümü püberteden sonra ortaya çıkar, ancak çocukluk çağında da görülebilir ve histolojisi erişkindekine benzer [10].

Vücutta çok sayıda melanositik nevüsün varlığı, displastik olmasalar dahi, melanom için risk oluşturur. Bir genetik hastalık olan kseroderma pigmentozum da melanom gelişimine predispozandır [10].

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 [7].

Tümörojenik melanom: Dermiste, en büyük intraepidermal kümeden daha büyük en az bir yuvadan oluşan melanom hücresi yığınına ifade eder ki, bu da dermiste ekspansil büyüme potansiyeli olan tümörün varlığına işaretir [7].

Non-tümörojenik melanom: Dermiste melanom hücresi (yani en büyük intraepidermal kümeden daha büyük grup) yoktur [7].

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 [7].

Radyal büyüme fazı: Sadece radyal büyüme fazında olan bir tümör, non tümörojeniktir ve dermal mitoz gözlenmez. Bazen de, radyal büyüme fazı, bir primer melanomun vertikal büyüme fazına komşu bileşen olarak görülür [7].

Bir tümörojenik melanomu ayıran en büyük özelliği, melanom hücrelerinin dermisteki proliferasyon kapasitesidir. Non-tümörojenik melanomda, epidermiste proliferen olan melanom hücreleri dermise invaze olabilir, ancak dermiste proliferen olmazlar. Bu durum, non-tümörojenik melanomların neden metastaz kapasitesinin düşük olduğunu açıklayabilir [7].

Melanoma in situ ve non-tümörojenik invaziv melanomlar, lentigo maligna, yüzeysel yayılan melanom, akral lentiginöz melanom, mukozal lentiginöz melanomlardan oluşur. Bunların üzerinden tümörojenik melanom gelişebilir, ya da in situ veya mikroinvaziv bir bileşen olmadan, de novo tümörojenik melanomlar, nodüler melanomlar gelişebilir. Tümörojenik melanomun diğer önemli tipleri desmoplastik melanom ve nörotropik melanomdur [7].

Radyal ve vertikal büyüme fazındaki melanomun sınıflandırılması Tablo 5’te gösterilmiştir [7].

Tablo 5. Melanomun sınıflandırılması

Radyal büyüme fazı
Non tümörojenik melanoma
İn situ veya mikroinvaziv
Yüzeysel yayılan melanom-YYM (tüm melanomların %67’si)
Lentigo maligna melanom- LMM (%9)
Akral lentiginöz melanom-ALM (%4)
Sınıflandırılmayan radyal büyüme fazı-SRBF (%5)
Vertikal büyüme fazı (VBF)
Tümörojenik melanom
RBF göstermeyen
Nodüler malign melanom (%10)
RBF gösteren- YYM, LMM, ALM, SRBF olabilir. (%90)
Usual VBF (%96)
Desmoplastik (%3), çoğu aynı zamanda nörotropik
Nörotropik
Diğer varyantlar (nevroid/minimal deviasyon, “balloon” hücreli, amelanotik, iğsi hücreli)

2.4.2. Melanomda Tanı

Melanomda erken tanı, prognoz için önemlidir. Melanomun karakteristik görünümüne karşın, melanom tanısını doğrulayacak ya da ekarte edecek tek bir klinik özellik yoktur. Deneyimli dermatologlar bile melanom vakalarının ancak %80-90'ına klinik tanı koyabilmektedir [25].

Melanom düşündürülen klinik bulgular ABCD kriterleri ile özetlenmiştir [32]. **(Tablo-6)**. Buna göre ABCD kriterlerini taşıyan bir lezyonun melanom olma ihtimali yüksektir. Yapılan çalışmalarda ABCD kriterlerinin sensitivitesinin %90-100 olduğu ancak spesifikliğin çok daha düşük olduğu gösterilmiştir [25]. Nodüler melanom, ABCD kuralına uymamaktadır. Çünkü düzgün sınırlı, homojen renkli ve genellikle küçük lezyonlar (6 mm'den küçük) şeklinde ortaya çıkmaktadır.

Tablo 6. Melanomda ABCD kriterleri ve bulgular

ABCD Kriterleri	Bulgular
A = Asymmetry = Asimetri	Asimetrik
B = Border = Sınırlar	Keskin sınırlı olmayan, düzensiz sınırlara sahip
C = Color = Renk	İki veya daha fazla renk içerir, beyaz alanlar vardır
D = Diameter = çap	6 mm'den büyüktür

Bir lezyonun değerlendirilmesinde öykü çok önemlidir. ABCD kriterleri göreceli olarak statiktir, yani lezyondaki değişiklikleri göstermez. Bu nedenle bazı araştırmacılar ABCD kriterlerine “E” harfini (E=evolving, değişim) de eklemektedirler [33]. Bazı araştırmacılar ise “D” harfini lezyonun büyüklüğü yerine lezyondaki değişiklikleri (*difference*) belirlemek için kullanmaktadırlar [33].

Bir lezyondaki renk değişiklikleri ve boyutundaki büyüme, hasta tarafından erken dönemde fark edilen en önemli iki özelliktir [34]. Lezyonun renk, boyut ve şeklindeki değişiklikler yanında inatçı kaşıntı bulgusu da, spesifik olmasa bile erken semptomlardan birisidir. Bunun yanında ülserasyon, kanama ve hassasiyet genellikle ilerlemiş primer lezyonu işaret etmektedir [35].

Tanıda patolojik değerlendirme ve histopatolojik tanı altın standarttır.

2.4.3. Lentigo Maligna- Lentigo Malign Melanoma

Lentigo maligna, yaşlıların güneş gören cildinde, özellikle de yüz bölgesinde görülen bir melanoma in situ formudur [8]. Yavaş genişleyen düzensiz sınırlı pigmente makül şeklinde gelişir. Histolojik olarak, dermoepidermal bileşkede lineer ve yuvalar tarzında proliferasyon gösteren atipik melanositler ile karakterli olup; epidermal atrofi, solar elastoz, papiller dermiste lenfositik infiltrasyon ve fokal fibroplazi eşlik eder [8].

Histopatolojik olarak, erken fazda, lezyon periferinde epidermal hiperpigmentasyon ve atrofi izlenir. Hafif nükleer atipi gösteren melanositlerde minimal artış saptanır. Papiller dermisde melanofajlar izlenir. Geç fazda ise iğsi melanositlerin eşlik ettiği atipik melanositlerde grup oluşumu ve yuvalanmalar izlenir. Deri ekleri boyunca yayılım ve intraepidermal yayılım belirginleşmeye başlar [8].

Atipik melanositlerin dermal invazyonu mevcutsa, lezyon lentigo maligna melanoma adını alır. Lezyonların %30-50'sinde, tedavisiz bırakılmış lezyonların %5'de klinik değişim görülür. İnvaziv faza geçildiğinde lezyon çapı genellikle 4-6 cm'dir [8].

2.4.4. Yüzeyel Yayılımlı Melanom

Melanomların en sık görülen tipidir Güneş gören bölgeler başta olmak üzere vücutta her yerde görülebilir. En sık kadınlarda bacaklarda, erkeklerde gövde gelişir. Radyal büyüme fazı lentigo malignaya göre daha kısadır [8].

Düzensiz sınırlı, yüzeyden hafif kabarık ve plak tarzında palpe edilebilen lezyonlardır. Lezyon üzerinde kahve ve siyah renk yanında beyaz, pembe ve gri alanlar içeren çok renkli bir görünüm sergilerler [8]. Beyaz renkli alanlar spontan regresyona, pembe ve mavi renkli alanlar ise tümör regresyonuna işaret eder [7].

Mikroinvazyon klinik olarak net seçilemeyebilirse de, papül ve daha geç dönemde nodül gelişimi, bazen de eşlik eden ülserasyon tümörojenik vertikal büyümenin bulgusudur [7].

Erken dönemdeki yüzeyel yayılan bir melanom, klinik olarak displastik nevüsten ayırt edilemeyebilir. Doğru tanı için altın standart, histopatolojik değerlendirmedir. Displastik nevüs ve radyal büyüme fazındaki melanomların

ayrımında faydalanabilecek yapısal ve sitolojik özellikler **Tablo 7**'de özetlenmiştir [7].

YYM'lar histopatolojik olarak, epidermiste düzensiz bir kalınlaşma veya incelme görülebilir. Tümör geniş sitoplazmalı, değişen oranda melanin pigmenti içeren uniform hücrelerden oluşur. Atipik melanositlerin epidermis içerisinde pagetoid bir paternde dağıldığı görülür [7].

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 [7].

Tablo 7. Displastik nevüs ve radyal büyüme fazındaki malign melanomlar arasındaki yapısal ve sitolojik özellikler

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

2.4.5. Nodüler Melanom

İkinci en sık görülen melanom alt tipidir. Yüzeyel yayılan melanoma göre daha yaşlı bireylerde; en sık gövde, baş-boyun ve alt bacak kısmında görülür [8].

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. Tümör öncelikle lokal lenf nodlarına, ardından iç organlara yayılım gösterir [8].

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 [8].

Tümör genellikle epiteloid hücreler, arada iğsi hücreler, nevüs benzeri küçük hücreler, dev mononükleer veya multinükleer hücrelerden oluşur. Matürasyon göstermeyen bu neoplastik hücreler, değişen oranda melanin içerir. Amelanotik lezyonlarda melanin görülmez. Komşu stromada mononükleer hücre infiltrasyonu, fibroplazi, telenjektazi ve melanofajlar görülebilir [8].

Nodüler melanom, nevüs zemininde gelişebileceği gibi, daha sık olarak de novo başlar [8].

2.4.6. Akral Lentijinöz Melanom

Akral lentijinöz melanom, melanomların %8-10'u oluşturur, genellikle 6-7. dekadlarda erkek ve kadınlarda eşit oranda, daha çok siyahlarda ve Asyalılarda görülen, karakteristik histopatolojik özelliklere sahip kutanöz melanom formudur. En sık avuç içi, ayak tabanı, tırnak yatağı ile anüs, oral ve nazal kavite mukokutanöz birleşim yerlerinde görülür [8].

Radyal büyüme fazındaki tümör, belirgin akantoz, keratin tabakasında kalınlaşma, retelerde uzama ve lezyon kenarlarında bazal epidermisteki atipik melanositlerin lentijinöz proliferasyonu ile karakterizedir [8]. Lentijinöz tipteki intraepidermal bileşen, lentigo malignaya benzese de; farklı olarak epidermis atrofik değil, hiperplastiktir ve intraepidermal melanositler bol melanin içeren bazaar hücrelerdir. Papiller dermis genişlemiş ve inflamedir [10].

Atipik melanositler, deri ekleri boyunca ilerleyebilirler. Vertikal büyüme fazında ise, desmoplastik reaksiyon gösteren tümör nodülü daha çok iğsi hücrelerden oluşur. Daha kalın tümörlerde “junctional” bileşeni oluşturan hücrelerin yuvalanma yaptığı ve keratin tabakasına ilerlediği görülür [8].

2.4.7. Desmoplastik ve Nörotropik Melanom

Melanomun, nadir görülen, iğsi hücreli tipleridir. Desmoplastik melanom, agresif seyirli olması ve sık karışan bir lezyon olması sebebi ile ayrı bir öneme sahiptir.

Mikroskopik olarak, yoğun desmoplazi gösteren bir stromada iğsi hücreler ile karakterlidir. Tümör hücreleri az sayıda olabilir ve fazla atipi göstermeyebilir. Bu hücreler S100 ile pozitif boyanırken; HMB45, Melan-A ve diğer spesifik melanom belirleyicileri ile boyanmayabilirler. 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 [10].

Nörotropik melanom, bir periferik sinir kılıfı tümörü paterninde gelişim gösteren desmoplastik/iğsi hücreli melanom varyantıdır [10].

2.5. MELANOMADA PROGNOZ

Evreleme, prognozda en önemli belirleyici faktördür. Evrelemede, Modifiye Breslow tümör kalınlığı değerlendirme indeksi, Clark invazyon sistemi, metastatik lenf nodu sayısı, lenf nodlarının tutulum şekli, mikrosatellit lezyonlar, bölgesel ve uzak metastazlar önemli rol oynar [10].

Modifiye Breslow tümör kalınlığı değerlendirme indeksi ve Clark invazyon seviyesi sistemi, Tablo 8 ve 9’da gösterilmiştir [36].

Tablo 8. Modifiye Breslow tümör kalınlığı değerlendirme indeksi

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

Tablo 9. Clark invazyon seviyesi sistemi

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

Melanomda prognoza yönelik bazı histopatolojik ve klinik özelliklere dayanan bir değerlendirme şu parametreleri içermektedir.

1. Tümör derinliği/kalınlığı (Breslow/Clark)
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. Tümörün yerleşimi

Bu modeldeki daha iyi prognoz belirleyicileri, 1.7 mm'den daha küçük tümör kalınlığı, mitozun olmaması ya da az sayıda olması, regresyon olmaması, belirgin bir TİL yanıtı, kadın cinsiyeti ve ekstremitte yerleşimini kapsar [22].

Ayrıca, ülserasyon, vasküler/lenfatik invazyon, satellit nodül/kutanöz metastazlerin varlığı kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur [7].

2.6. MELANOMADA RAPORLAMA

İnvaziv melanoma raporlamasında aşağıdaki histolojik parametreler dikkatli olarak değerlendirilmeli ve bunlara ait veriler bulunmalıdır [37-39].

- Histolojik subtip
- Modifiye Breslow kalınlığı
- Clark invazyon düzeyi
- Ülserasyon varlığı
- Dermal hücrelerde milimetrekarede mitoz sayısı
- Radyal ve vertikal büyüme fazı
- Vasküler veya lenfatik invazyon
- Perinöral invazyon
- Eşlik eden melanositik nevüs
- Mikroskopik satellitoz
- Regresyon bulguları
- Baskın hücre tipi
- Öncü lezyon
- Cerrahi sınırlar

Histolojik subtip: Yüzeyel yayımlı, lentigo maligna, nodüler melanom ve akrallentijnoz melanom olmak üzere histolojik alt tipleri oldukça iyi tanımlanmaktadır [40]. Ancak, histolojik overlap olabilir. Son yıllarda genetik çalışmalarda kronik güneş maruziyeti sonrası gelişen ile aralıklı güneşe maruz kalan akrall/mukozal melanomlar arasında kromozomal değişiklikler olabileceği düşünülmektedir. Bu durumun hedefe yönelik tedavide önemli olabileceği düşünülmektedir [41]. Desmoplastik melanomlarda nörotropizm ve buna bağlı lokal rekürrens eğilimi sıktır. Saf desmoplastik melanomlarda lenf nodu metastazı insidansı çok düşüktür [42].

Modifiye Breslow kalınlığı: 1970 yılında Breslow, melanomda lezyonun vertikal derinliğini ölçmenin metastatik potansiyelini öngörebilme açısından önemli olduğunu vurgulamıştır [43]. Breslow kalınlığı en önemli prognostik faktör olduğunu göstermiştir [44]. Epidermal granüler tabakanın tepesinden en derindeki invaziv

komponente kadar olan tümör alanı ölçülür ve bu teknikle patologlar arası değişkenlik minimumdur [44, 45]. Breslow sınıflamasında 4 (Level I-IV) seviye vardır [43].

Ekrin/apokrin bez ve folliküler yerleşimli in-situ melanom odakları değerlendirilmez. Ülserasyon varlığında ülser alanının en üst seviyesinden, yaygın folliküler tutulumda foliküler yapının santralinden ölçüm yapılmalıdır. 2mm'den küçük lezyonlarda oküler mikrometre kullanılmalıdır, 2mm'den büyük lezyonlarda kesit üzerinden ölçüm yapılabilir. Derin cerrahi sınırdaki tümör mevcut ise kalınlığın daha fazla olabileceği raporda belirtilmelidir [39].

Clark düzeyi: İnvazyon derinliğinin histopatolojik olarak sınıflandırılmasıdır [40].

Level I: Melanoma in-situ

Level II: Yüzeyel papiller dermis infiltrasyonu

Level III: Papiller dermisi dolduran ve genişleten üst retiküler dermise geçen infiltrasyon

Level IV: Retiküler dermisi dolduran invazyon

Level V: Subkutan yağ dokuya infiltrasyon

Ülserasyon varlığı: Sağ kalımı belirleyen bağımsız prognostik bir faktördür [46]. Varlığı ve boyutu bildirilmeli ve travmaya bağlı ülserasyondan ayırt edilmelidir. Reeksizyonlarda cerrahi travma olacağı için klinik bilgiler eşliğinde dikkatli değerlendirilmelidir [47].

Dermal hücrelerde mitoz sayısı: American Joint Committee on Cancer (AJCC) melanom evreleme ve sınıflamasına göre sağkalım için güçlü bir belirteçdir [48]. İnvaziv melanomda değerlendirilmelidir ve standart bir metodu yoktur. En yüksek indekse sahip alan ve komşuluğunda 10 BBA'da mitotik aktivite değerlendirilir. Mikroskoplar arası alan farkından dolayı mitoz sayısının milimetrekare başına mitoz değeri olarak bildirilmesi önerilir [49, 50].

Radyal ve vertikal büyüme fazı: Radyal ve vertikal büyüme fazı tümör progresyonunu ve metastatik potansiyeli öngörmektedir. İn situ melanomların sadece radyal büyüme fazı vardır. Radyal büyüme fazında dermis içine mitoz olmaksızın küçük adalar veya tek tek hücreler şeklinde invazyon olabilir. İnvaziv melanomda radyal ve vertikal büyüme fazı birlikte bulunabilir. Vertikal büyüme fazı

“tümörojenik” de olarak isimlendirilmektedir. Bu büyüme fazında dermal yuvalanmalar bileşkedeki yuvalanmalardan daha geniş veya dermal melanositlerde mitoz bulunmaktadır. Metastatik potansiyel vertikal büyüme fazı ile yakın ilişkili olarak kabul edilmektedir [51].

Vasküler veya lenfatik invazyon: Metastatik yayılımın olması için lenfovasküler invazyon bulunmalıdır. Çok sayıda kaynak lenfovasküler invazyonun nüks, lenf nodu metastazı, uzak metastaz ve hastalıksız sağkalım ile ilişkisini bildirmiştir [52-57]. Ancak diğer yazarlar lenfovasküler invazyonun bağımsız bir faktör olmadığını öngörmektedir [58].

Perinöral invazyon: Perinöral invazyon bildirilmelidir. Desmoplastik veya iğsi hücreli melanomlar gibi bazı melanom tiplerinde perinöral invazyon için yüksek bir eğilim vardır. Bu özellik aynı zamanda akral lentiginöz melanomlarda da nispeten yüksektir [39].

Eşlik eden melanositik nevüs: Reeksizyon materyalinde rezidüel lezyonu değerlendirmede daha önceden benign melanositik lezyon veya melanom varlığı önemlidir [39].

Mikroskopik satellitoz: Ana tümörden dermal kollajen veya subkutan yağ tabakası ile ayrılan $\geq 0,05$ mm çaplı tümör agregatlarıdır [59].

Regresyon bulguları: Dermal fibrozis varlığı, vasküler proliferasyon, inflamatuvar infiltrasyon, destrükte olmuş tümör hücrelerine eşlik eden melanofajlar ve retelerde düzleşme ile karakterli epidermal incelme önemli regresyon bulgularıdır. Regresyon fokal (%50'den az) veya yaygın (%50'den fazla) olarak değerlendirilir [7, 60-62].

Eşlik eden lenfositik infiltrasyon: Tümörü infiltre eden lenfosit varlığı konak immün yanıtının temsilcisidir. İnvaziv dermal komponentin çevresi değerlendirilir. Lenfositlerin yoğunluğuna göre yoğun, hafif, minimal veya hiç lenfosit yok olarak değerlendirilir [39].

Baskın Hücre Tipi: Reeksizyon materyalleri ve lenf nodlarının değerlendirilmesinde, özellikle primer tümörün küçük hücreli veya nevoid özellikte olduğunun bilinmesi küçük lenf nodülü metastazlarını değerlendirmede yardımcı olabilir. İğsi hücreli melanomlarda sentinel lenf nodu değerlendirmede HMB-45, MART-1 negatif olabilir, S100 kullanılmalıdır [39].

Cerrahi sınırlar: Derin ve yan cerrahi sınırlarda in-situ veya invaziv tümör varlığı ve tümör stroması varlığı da not edilmelidir [39].

2.7. MELANOMA VE KÖK HÜCRELER

Kutanöz melanom, dünyada önemli bir sağlık problemidir. A.B.D’de en yaygın 6. kanser türüdür ve geçtiğimiz birkaç dekad içinde görülme sıklığı artmaktadır [63, 64].

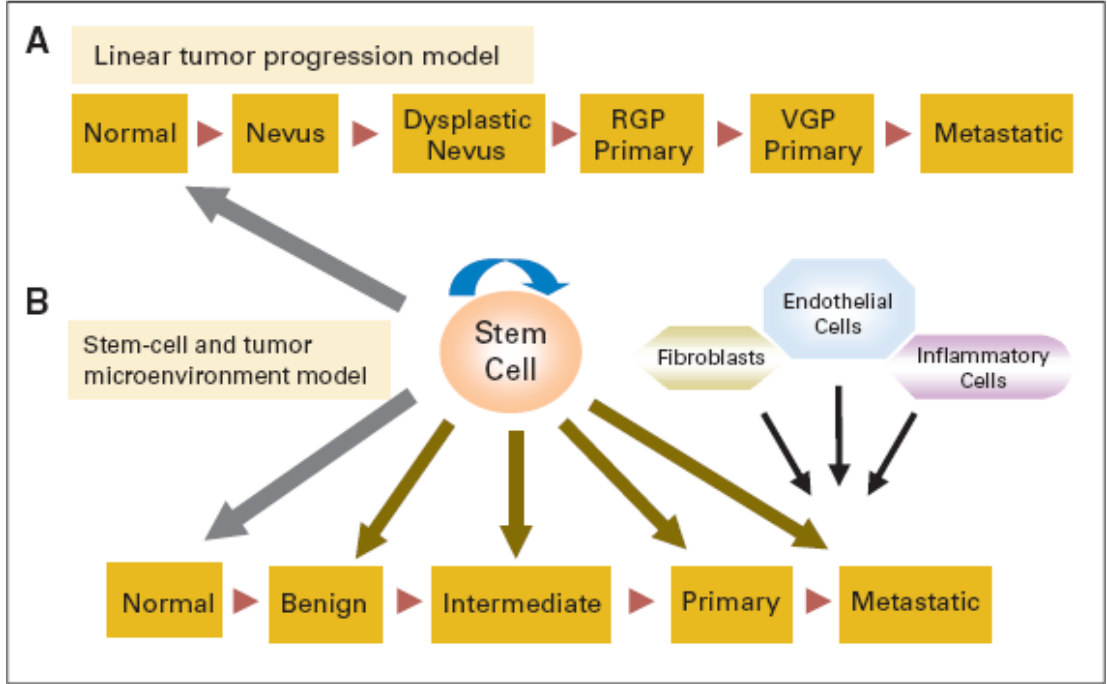
İlerlemiş hastalığı olanlarda 3 ile 11 ay arasında değişen bir sağ kalım süresi raporlanmıştır [65].Gelişmelere rağmen, ileri evreden dolayı halen prognozu kötüdür [66].

Sistemik yüksek doz İnterlökin-2 veya interferon-a gibi immünoterapiler dahil antijen spesifik immünizasyon ve dakarbazin veya temozolomid gibi kemoterapötikler ile hastaların sadece %5-20’de yanıt alınabilmektedir [67]. Mevcut tedaviler, hastaların küçük bir yüzdesinde tümör regresyonunu uyarabilir ve bu durum her zaman uzun süreli sağ kalım ile ilişkili değildir. Melanomun tedaviye direnci ve nüks etmesi tümörün genomik instabilitesi ve genetik heterojenitesi ile ilişkilidir.

Melanom gelişimi, klasik olarak epidermiste matür melanositlerin onkogen ve tümör baskılayıcı genlerin genetik mutasyonu sonrası kademeli bir süreç olarak oluşmaktadır. Ancak klinik olarak melanomların, sadece %26’sı nevüslerle, %50’den azı displastik nevüslerle ilişkilidir [29]. Melanomların büyük çoğunluğu sadece displastik nevüsten kaynaklanmamakta, normal görünümlü deriden de gelişebilmektedir. Böylece, melanositlerin diferansiasyonun görünürdeki hedef olmasına rağmen, melanomların melanositik kök hücre veya progenitör hücrelerden de oluşabileceğini düşündürmektedir [67].

Melanom gelişiminde kök hücreler ile ilgili aşağıda **Şekil 1.** de gösterildiği gibi iki ayrı hipotez bulunmaktadır [68].

1. Lineer progresyon modeli
2. Kök hücre ve tümör mikroçevre modeli



Şekil 1. Lineer tümör progresyon modeli ve kök hücre/mikroçevre modeli [68]

- A. Melanom gelişimi genellikle normal matür melanositlerin mutasyonlar sonucu progresyonu ile başlar, displastik nevüs, radyal büyüme fazı-vertikal büyüme fazı ve metastatik melanoma doğru ilerler.
- B. Melanom kök hücre ve tümör mikroçevre modeli, melanom kök hücreler ara yoluyla ilerleme olmadan doğrudan klinik sonuçlara yol açtığını savunan bir model.[68]

Klinik ve patolojik kanıtlar temelinde, melanosit kök hücrelerinin insan ve fare kıl foliküllerinde melanosit hücreleri alternatif bir kaynak olabileceğini göstermektedir [69, 70].

Yapılan çalışmalarda dermisde melanositlere farklılaşma potansiyeline sahip nöral krest kök hücre varlığı gösterilmiştir. Bu hücreler bazal membran ile bazal keratinositlere göç etmektedir [68].

Melanositler saç folikülü ve epidermisin bazal tabakasında embriyonik gelişim sırasında nöral krestten göç etmiş özelleşmiş hücrelerdir. Bununla birlikte immatür melanositik hücreler normal erişkin insan epidermisinde de tespit edilmiştir [20].

Nishimura ve ark. fare kıl foliküllerinin alt kısmında melanositik erişkin kök hücrelerin varlığını bildirmişlerdir [69]. Melanositik erişkin kök hücreler saç folikül nişinden göç ederek pigmente melanositler içinde bölünür ve farklılaşırlar. Ayrıca erişkin kök hücreler melanosit rezervuarını doldurmakta ve boşalan nişler içine göç

edebilmektedir. Böylece, insanlarda da melanositik erişkin kök hücrelerin varlığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, vitiligo hastalığında erişkin kök hücrelerin bir rezervuar tarafından değiştirilebilir olduğunu göstermektedir [71, 72].

Melanosit erişkin kök hücreleri insanlarda da kritik rol oynayabilir ve melanom gelişiminde daha önemlidir. Deneysel çalışmalar melanom kök hücre fenotipinin varlığını desteklemektedir [73, 74].

Neoplazi gelişiminde kök hücrelerin potansiyel rolü yakın ilgi konusu olmaktadır. Glioblastoma, meme kanseri ve akut myeloid lösemi gibi bir çok malignitelerde kanser kök hücre varlığı araştırılmıştır [14, 75-77].

Kanser kök hücrelerinin tanımlanması, bu kanserlerin tanı ve tedavisinde, sınıflandırılmasında yardımcı olabilir. Son zamanlarda, melanositlerde eksprese olan kök hücre markerleri tanımlanmıştır [78, 79]. Bunlar immünglobulin ailesine ait bir aktive lökosit adezyon molekülü olan CD166, insan prominin-1 olarak da isimlendirilen CD133 ve intermediate bir filaman olan nestin'dir. Melanositik kök hücreleri ile ilgili yapılan ilk çalışmaların büyük bir kısmının melanom hücre serileri ile yapılan hücre kültür çalışmaları olduğu görülmektedir. Son yıllarda ise melanositik lezyonlarda özellikle melanom dokularında kök hücreleri ile ilgili yapılan çalışmaların sonuçları literatürde yer almaya başlamıştır. Bu çalışmalarda nestin'in melanom olgularında ileri evre ile ilişkili olduğu ve böylece kötü prognoz göstergesi olabileceği şüphesi bildirilmiştir [68, 78-84]

Melanositik kök hücrelerin Dct, Tyr, Si, Tyrp1, Kit, Pax3, Mitf, Sox10, Lef1 ve Mki67 gibi moleküler ekspresyon paternleri araştırılmıştır [85]. Bu moleküller arasında Pax3, Sox10 ve Mitf ekspresyonu veya yokluğunun melanositik kök hücreler için kritik rol oynadığı gösterilmiştir [86].

2.8. ÇALIŞMADA KULLANILAN İMMÜNHİSTOKİMYASAL BELİRTEÇLER

2.8.1. CD133

CD133 (insan prominin-1/AC 133), prominin-1 olarak bilinen bir transmembran glikoproteindir. İlk olarak hücre membranlarının protrude oldukları yerde lokalize prominin adı verilen pentaspan membran proteini olarak

tanımlanmıştır. Fizyolojik fonksiyonu henüz bilinmemektedir. Normalde endotel progenitör hücreler dahil olmak üzere, hematopoetik kök hücreler, fetal beyin kök hücreleri, prostat epitelyal hücrelerinde eksprese olur, aynı zamanda beyin, prostat ve pankreas kanserleri dahil olmak üzere çeşitli solid tümörlerde kanser kök hücrelerini saptamak amacıyla kullanılır. Kök hücre biyolojisi bilinmemesine rağmen, hem normal hemde kanser kök hücrelerinde CD133 immün belirteci olarak kullanılmaktadır. CD133 primer melanomlar ve insan melanositlerinde tesbit edilmiştir [68, 80, 87-90].

2.8.2. CD166

Aktive lökosit adezyon molekülü, tip 1 transmembran protein ve immünglobulin ailesindendir. CD166 insan melanom hücre grubunda bulunmaktadır ve mezenkimal kök hücre yüzeyinde ekspresyonu gösterilmiştir [91]. Ayrıca melanomda primer tümör kalınlığı ile CD166 ekspresyonu ilişkili bulunmuştur [92]. Hücre adezyon ve iskelet sistemini birbirine bağlar. Epitel, lenfoid ve myeloid hücreler, fibroblastlar, nöronlar, hepatositler, pankreas adacık hücreleri ve asiner hücreleri gibi çeşitli insan dokularının (pluripotent kök hücre olduğu düşünülen) bu hücrelerin bir alt kümesi olduğu tesbit edilmiştir. Hayvanlarda, nöral gelişim dahil olmak üzere biyolojik gelişim, hematopoezis ve immün bağışıklığın farklı aşamaları ile ilişkisi ve ekspresyonu raporlanmıştır [91].

2.8.3. Nestin

Bir intermediate filament olan nestin, ilk olarak nöroepitelyal kök hücrelerin sitoplazmasında tespit edilmiştir [80, 93-95]. Aynı zamanda embriyogenez sırasında proliferasyon ve migrasyonda ve santral sinir sistemi, karaciğer, pankreas ve gastrointestinal sistem gibi çeşitli dokuların rejenerasyonunda ve kan damarlarında da ekspresyon göstermektedir [79, 96]. Metastatik melanomlarda da ekspresyonu bulunmuştur [79]. Nestin evre I ve II melanoma (American Joint Committee on Cancer Staging System) hastalarında hem tümöral hem de endotelyal hücrelerde pozitif bulunmuştur [78]. Nestinin damar duvarlarında ve melanoma hücrelerinde pozitifliğinin kötü prognozla ilişkili olabileceği bildirilmiştir [84]. Nestin

ekspresyonu santral sinir sisteminin primitif nöroektodermal tümörleri, glioblastoma ve metastatik melanomda saptanmıştır [97, 98].

2.8.4. Ki-67

Ki67 çoğalan hücrelerde görülen bir çekirdek proteindir. Esas olarak G₁, S, M ve G₂ fazında görülür. G₀ fazında ise yoktur. Hücre proliferasyonunun morfolojik özelliklerini iyi bir şekilde gösteren protein olup, mitotik index ve tümör derecelendirmesinde sıklıkla kullanılır [84, 99].

Ki-67, metalloproteinaz 2 ve p53 kombinasyonun melanom hastalarında yüksek risk belirlemede yararlı olabileceği bildirilmiştir [100]. Nevomelanositik lezyonlarda Ki-67 proliferasyon indeksi araştırılmış ve genellikle compound nevüslerde düşük proliferatif indeks ($\leq$ %3), Spitz nevüslerde biraz daha yüksek ($\leq$ %7), konvansiyonel melanomlarda değişken ve yüksek (%2-90) proliferasyon indeksi saptanmıştır [101-107].

3. MATERYAL VE METOD

3.1. OLGU SEÇİMİ

Bu çalışmada 2005-2011 yılları arasında, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda raporlanmış 100 edinsel nevüs (intradermal, junctional, kompond), 6 konjenital, 54 displastik nevüs, 62 melanom, 21 lenf nodu metastazı ve 45 satellit nodül/kutanöz metastaz tanısı alan olgular çalışmaya dahil edilmiştir (**Tablo 10**). Hastane bilgi sisteminden çalışmaya dahil edilen olguların yaş, cinsiyet, tanı ve lokalizasyon bilgileri elde edilmiştir. Klinik bulgular ve histopatolojik parametreler tablo halinde kaydedilmiştir. Deri biyopsilerinin H.E kesitleri ışık mikroskopik olarak **Tablo 11-15**'de tanımlanan histopatolojik inceleme parametreleri ile yeniden değerlendirilmiştir.

Malign olgular klinik takip verilerine göre yaşayan, ölen ve bilinmeyen olmak üzere 3 prognostik gruba ayrılmıştır.

Tablo 10. Çalışmaya dahil edilen benign ve malign melanositik lezyonlar

Benign melanositik lezyonlar	Malign melanositik lezyonlar
Edinsel nevüsler (n:100)	Primer Malign Melanom (n:62)
İntradermal nevüs (n:47)	Yüzeyel Yayılımlı Malign Melanom (n:14)
Junctional nevüs (n:13)	Nodüler Malign Melanom (n:30)
Kompond nevüs (n:40)	Akral Lentijinöz Malign Melanom (n:7)
	Lentigo Malign Melanom (n:3)
	Blue nevüs kökenli Melanom (n:1)
Konjenital nevüs (n:6)	NOS (n:6)
	SN/KM (n:45)
Displastik nevüs (n:54)	LNМ (n:21)

3.2. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME

Histopatolojik parametreler

Benign melanositik nevüsler (kompound, dermal, konjenital); nevüsün şekli, epidermis durumu, dev hücre varlığı, lentijinöz proliferasyon, dermisdeki derinliği ve maturasyon göstermesine göre değerlendirilmiştir. Konjenital nevüslerde ayrıca deri ekleri tutulumu, junctional nevüslerde de sadece epidermis durumu ve lentijinöz proliferasyon değerlendirilmiştir (**Tablo 11,12,13**).

Tablo 11. Melanositik dermal ve kompound nevüsün histopatolojik değerlendirilmesinde kullanılan morfolojik parametreler

Şekil	Flat	Polipoid, geniş tabanlı, papillomatö
Epidermis	Normal	Retelerde uzama, atrofi, keratin kistleri
Maturasyon	Yok	Var Schwanian (%), Lipomatöz(%)
Dev Hücre	Yok	Var
Derinlik	Papiller dermisde	Retiküler dermisde
Lentijinöz proliferasyon	Yok	Var

Tablo 12. Melanositik konjenital nevüsün histopatolojik değerlendirilmesinde kullanılan morfolojik parametreler

Şekil	Flat	Polipoid, geniş tabanlı, papillomatö
Epidermis	Normal	Retelerde uzama, atrofi, keratin kistleri
Maturasyon	Yok	Schwanian
Dev Hücre	Yok	Var
Derinlik	Papiller dermisde	Retiküler dermisde
Lentijinöz proliferasyon	Yok	Var
Deri ekleri tutulumu	Yok	Var

Tablo 13. Melanositik junctional nevüsün histopatolojik değerlendirilmesinde kullanılan morfolojik parametreler

Şekil	Flat	Polipoid
Epidermis	Normal	Retelerde uzama, genişleme, füzyon
Lentijinöz proliferasyon	Yok	Var

Displastik nevüslerde (DN): lezyonun şekli, compound komponenti, asimetri/simetri durumu, yuvalanma durumu, rete füzyonu, lentijinöz proliferasyon, sitolojik atipi, vasküler proliferasyon, lenfosit infiltrasyonu, fibroplazi (lameller/konsantrik) ve dermisdeki derinliği değerlendirilmiştir (**Tablo 14**).

Displastik nevüslerde lentijinöz proliferasyon;

- Hafif: Lezyonun %10>
- Orta: %11-49
- Şiddetli: %50<

Rete füzyonu;

- Hafif: Lezyonun %10>
- Orta: %11-49
- Şiddetli: %50<

Vasküler proliferasyon,

- Hafif: Lezyon tabanında fokal
- Orta: Lezyon tabanında fokalden fazla ancak yaygın değil
- Şiddetli: Lezyon tabanında yaygın belirgin

Lenfosit infiltrasyonu,

- Hafif: Lezyon tabanında küçük gruplar
- Orta: Lezyon tabanında geniş tabakalar halinde
- Şiddetli: Lezyon tabanında ve içinde yaygın

Sitolojik atipi;

- Nukleus şekil düzensizliği, hiperkromazi, nukleol belirginliğine göre hafif, orta ve şiddetli olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 14. Melanositik displastik nevüsün histopatolojik değerlendirilmesinde kullanılan morfolojik parametreler

Şekil	Flat	Papül
Kompound/ Junctional	Kompound	Junctional
Asimetri/ Simetri	Asimetrik	Simetrik
Yuvalanma	Fokal	Yaygın
Rete Füzyonu	Yok	Var Hafif/Orta/Şiddetli
Lentijinöz proliferasyon	Yok	Var Hafif/Orta/ Şiddetli
Sitolojik Atipi	Yok	Var Hafif/Orta/ Şiddetli
Vasküler Proliferasyon	Yok	Var Hafif/Orta/ Şiddetli
Lenfosit İnfiltrasyonu	Yok	Var Hafif/Orta/ Şiddetli
Fibroplazi	Lameller	Konsantrik
Derinlik	Papiller dermis	Retiküler dermis

Melanom olgularında histolojik subtip, ülserasyon varlığı, modifiye Breslow kalınlığı, Clark invazyon derinliği, dermal hücrelerde milimetrekarede mitoz sayısı, büyüme fazı, perinöral invazyon, baskın hücre tipi, mikroskopik satellitoz ve regresyon bulguları değerlendirilmiştir.

Satellit nodül/kutanöz metastaz ve lenf nodu metastazı bulunan olguların, nekroz, mitoz, baskın hücre tipi değerlendirilmiştir (**Tablo 15**).

Tablo 15. Melanomun histopatolojik değ erlendirilmesinde kullanılan morfolojik parametreler

Histolojik subtip
Breslow kalınlığı
Clark düzeyi
Ülserasyon varlığı
Dermal hücrelerde milimetrekarede mitoz sayısı
Radyal ve vertikal büyüme fazı
Vasküler veya lenfatik invazyon
Perinöral invazyon
Baskın hücre tipi
Mikroskopik satellitoz varlığı
Regresyon bulguları

3.3. İMMÜNHİSTOKİMYASAL İNCELEME

Benign ve malign melanositik lezyonlarda kök hücrelerin değ erlendirilmesi amacıyla CD133, CD166, Nestin ve Ki-67 belirteçleri kullanılmıştır. Kullanılan antikorların klon isimleri, dilüsyonları ve ticari kaynakları **Tablo 16**'da belirtilmiştir.

Tablo 16. Çalışmada Kullanılan Antikorların İsimleri, Dilüsyonları ve Ticari Kaynakları

ANTİKOR	KLON	DİLÜSYON ORANI	TİCARİ KAYNAK
CD133 (Prominin-1)	Poliklonal	1:150	ABNOVA
CD166	Poliklonal	1:100	SİGMA
Nestin	Poliklonal	1:200	SİGMA
Ki-67	SP6 (monoklonal)	1:200	CELLMARQUE

Ventana i-View DAB Detection kiti kullanılarak, uygun pozitif kontroller eşliğinde, CD133, CD166, Nestin poliklonal ve Ki-67 monoklonal antikorları

kullanılarak Ventana Benchmark immünohistokimyasal otomatik boyama makinesi ile yapılmıştır.

CD133, CD166 ve Nestin için sitoplazmik ve/veya membranöz; Ki-67 ile nükleer boyanma pozitif kabul edilmiştir.

İnternal ve eksternal pozitif kontroller kullanılmıştır.

CD166 için periferik sinir kesitleri, ekrin ve sebace bez yapıları, lenfositler ve fibroblastlar internal pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

CD133 için endotelial hücreler, lenfositler ve mezenkimal hücreler internal pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

Nestin için ekrin ve sebace bez yapıları, periferik sinir kesitleri, dermal mezenkimal hücreler ve saç folikülleri internal pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

CD133, CD166 ve Nestin antikorları ile immünohistokimyasal değerlendirme internal pozitif kontrol ile karşılaştırılarak yapılmıştır. Pozitif hücre oranına, sitoplazmik/membranöz boyanmasına ve yüzeyel/derin boyanma özelliklerine göre skorlama yapılmıştır.

Pozitif hücre oranı:

1: %50 $\geq$

2: %50 <

Boyanma derecesi (internal kontrole göre):

0: Boyanma yok

1: zayıf

2: orta

3: kuvvetli olarak derecelendirilmiştir.

Ki-67 ile toplam 1000 hücre sayılarak, spesifik nükleer boyanma gösteren hücrelerin yüzdesi şeklinde proliferasyon indeksi hesaplanmıştır.

MDN'lü 37 vakaya, MKN'lü 43 vakaya, junctional nevüsü bulunan 10 olguya, konjenital nevüsü bulunan 5 olguya ve displastik nevüsü bulunan 50 olguya immünohistokimyasal inceleme uygulanmıştır. 1 konjenital nevüs, 3 junctional nevüs, 3 MDN, 4 MKN, 4 displastik nevüs vakanın parafin bloklarına ulaşılamamıştır. İmmünohistokimyasal inceleme uygulanmamıştır.

Primer melanomlu vakaların 57'sine, satellit nodül/kutanöz metastazı bulunan vakaların 42'sine ve melanom metastazlı olguların 16'sına immünohistokimyasal inceleme uygulanmıştır. 5 primer melanom, 3 satellit nodül/kutanöz metastaz, 5 melanom metastazlı vakanın (konsültasyon vakası) parafin bloklarına ulaşılamamıştır. İmmünohistokimyasal inceleme uygulanmamıştır.

3.4. İSTATİSTİK

Örneklemelerin değerlendirilmesinden elde edilen sonuçlar bilgisayar ortamına aktararak sayısallaştırılmıştır. Gerekli hata kontrolleri ve düzeltmeler yapılmıştır. Hasta yaşlarının dağılımını göstermek amacı ile ortalama $\pm$ standart sapma kullanılmıştır. Kategorik değerler (tümör tipi, tümör boya skorları vb) sayı ve yüzde ile gösterilmiştir. Kategorik verilerin kendi aralarında ilişkilerin ortaya konmasında marjinal tablolara, sayı ve yüzdelere başvurulmuştur. Tüm istatistiksel analiz ve hesaplamalar için MS-Excel 2003 ve SPSS for Win. Ver. 15.0 (SPSS INC., Chicago, IL., USA) paket programları kullanılmıştır. İstatistiksel kararlarda $p \leq 0.05$ değeri anlamlı farklılığın göstergesi olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. GENEL BULGULAR

Çalışmayı oluşturan benign melanositik lezyonların 100'ü edinsel nevüs, 6'sı konjenital nevüs, 54'ü displastik nevüs özelliğindedir. Edinsel nevüsün 40'ı dermal, 47'si komponent, 13'ü junctional nevüs özelliğindedir. Çalışmaya alınan 160 benign (edinsel, konjenital, displastik) melanositik lezyonlu hastaların 89'u (%55.6) kadın, 71'i (%44.4) erkek, 128 malign melanositik lezyonlu hastaların 51'i (%40.2) kadın, 78'i (%59.8) erkektir (**Tablo 17**).

Tablo 17. Olguların gruplara göre cinsiyetlerinin dağılımı

	Kadın		Erkek		Toplam	
	<u>N</u>	<u>%</u>	<u>N</u>	<u>%</u>	<u>N</u>	<u>%</u>
Edinsel Nevüs	69	69.0	31	31.0	100	100.0
Konjenital Nevüs	2	33.3	4	66.7	6	100.0
Displastik nevüs	17	31.5	37	68.5	54	100.0
Melanom	18	29.0	44	71.0	57	100.0
KM	25	55.6	20	44.4	45	100.0
LNM	8	38.1	13	61.9	21	100.0
Toplam	140	48.44	149	51.56	289	100.0

Benign melanositik lezyonlu hastalarda ortalama yaş 31.71(1-68), malign melanositik lezyonlu hastalarda ortalama yaş 63.22(16-88) olarak bulunmuştur.

Benign melanositik lezyonların %33.75'ini (54/160) DN, %29.38'ini (47/160) MKN, %25.0'ini (40/160) MDN, %8.12'sini (13/160) JN ve %3.75'ini (6/160) konjenital nevüs oluşturmaktadır (**Tablo 19**).

Tablo 19. Benign melanositik lezyonların tiplere göre dağılımı

Benign Melanosit Tipleri	Sıklık (%)
DN	54 (%33.75)
MKN	47 (%29.38)
MDN	40 (%25.0)
JN	13 (%8.12)
Konjenital Nevüs	6 (%3.75)
Toplam	160 (%100)

Melanom vakaların %48.44'ü (62/128) primer melanom, %35.16'sı (45/128) kutanöz metastaz ve %16.41'i (21/128) lenf nodu metastazıdır. Primer melanom vakaların tiplere göre dağılımı **Tablo 20'**dedir.

Tablo 20. Primer melanom vakalarının tiplere göre dağılımı

MM TİPLERİ	SAYI (%)
Nodüler	30 (%48.4)
Yüzeyel Yayılımlı	14 (%22.6)
Akral Lentijinöz	7 (%11.3)
NOS	6 (%9.7)
Lentigo Malign Melanom	3 (%4.8)
Desmoplastik	1 (%1.6)
Blue nevüs kökenli	1 (%1.6)
Toplam	62(%100)

Primer melanom, kutanöz metastaz ve lenf nodu metastaz olgularının prognostik belirteç (yaşayan, ölen ve bilinmeyen) ve klinik parametrelerinin (cinsiyet, metastaz, nüks) karşılaştırılması sonucu anlamlı bir fark bulunmamıştır (**Tablo 21, Tablo 22, Tablo 23**).

Tablo 21. Primer melanomu bulunan olguların prognoz grupları ve klinik parametrelerinin karşılaştırılması

	Yaşayan	Ölen	Bilinmeyen	p
Cinsiyet				
Kadın	%31.8 (7/22)	%50 (3/6)	%23.5 (8/34)	0.417
Erkek	%68.2 (15/22)	%50 (3/6)	%76.5 (26/34)	
Nüks				
Var	%4.5 (1/22)	%33.3 (2/6)	%5.9 (2/34)	0.080
Yok	%95.5 (21/22)	%66.7 (4/6)	%94.1 (32/34)	
Metastaz				
Var	%36.4 (8/22)	%66.7 (4/6)	%52.9 (18/34)	0.335
Yok	%63.6 (14/22)	%33.3 (2/6)	%47.1 (16/34)	
Tedavi				
Var	%63.6 (14/22)	%66.7 (4/6)	%52.9 (18/34)	0.025
Yok	%36.4 (8/22)	%33.3 (2/6)	%47.1 (16/34)	

Tablo 22. Kutanöz metastaz bulunan olguların prognoz grupları ve klinik parametrelerinin karşılaştırılması

	Yaşayan	Ölen	Bilinmeyen	p
Cinsiyet				
Kadın	%63.6 (14/22)	%44.4 (4/9)	%50.0 (7/14)	0.573
Erkek	%36.4 (8/22)	%55.6 (5/9)	%50.0 (7/14)	
Tedavi				
Var	%90.9 (20/22)	%66.7 (6/9)	%100 (14/14)	0.04
Yok	%9.1 (2/22)	%33.3 (3/9)	%0.0 (0/34)	

Tablo 23. Lenf nodu metastazı bulunan olguların prognoz grupları ve klinik parametrelerinin karşılaştırılması

	Yaşayan	Ölen	Bilinmeyen	p
Tedavi				
Var	%10 (1/10)	%50 (1/2)	%22.2(2/9)	0.273
Yok	%90 (9/10)	%50 (1/2)	%77.8 (7/9)	

4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

4.2.1. Benign Lezyonlar

Benign melanositik lezyonların (edinsel+konjenital) 39’unda (%41.9) histopatolojik olarak dev hücre varlığı, 7’sinde (%17.5) lipomatöz maturasyon, 8’inde (%20) schwanian maturasyon izlenmiştir.

Benign melanositik lezyonlu hastaların 36’sında (%34.0) hafif, 6’sında (%5.7) orta, 15’inde (%14.2) şiddetli lentijinöz proliferasyon bulunmuştur. 49’unda (%46.2) lentijinöz proliferasyon gözlenmemiştir.

Edinsel nevüslerin 36’sı (%38.7) papiller dermisde, 38’i (%40.9) üst retiküler dermisde bulunmaktadır, 19’u (%20.4) retiküler dermisi doldurmaktadır.

MDN’lü olguların %57.5’inde (23/40) epidermis normal görünümde iken, %42.5’inde (17/40) epidermisde atrofi izlenmiştir. Ayrıca %57.5’inde (23/40) histopatolojik olarak polipoid geniş tabanlı görünüm izlenirken, %42.5’inde (17/40) flat görünüm saptanmıştır.

MKN’lü olguların %17.03’ünde (8/47) epidermis normal görünümde, %82.97’sinde (39/47) epidermisde retelerde uzama keratin kistleri, fokal füzyon, akantoz izlenmiştir. Olguların %82.97’si (39/47) flat, %8.51’i (4/47) polipoid geniş tabanlı ve 58.51’i (4/47) papillomatö görünümde saptanmıştır.

JN’lerin %69.23’ü (9/13) akral iken, %30.76’sı (4/13) akral değildir. Olguların %30.76’sında (4/13) hafif, %7.69’unda (1/13) orta şiddette ve %61.53’ünde (8/13) şiddetli lentijinöz proliferasyon saptanmıştır.

Displastik nevüslerin %38.9’nun (21/54) simetrik, %61.1’nin (33/54) asimetrik görünümde olduğu saptanmıştır. Olguların %50’sinde (27/54) fokal,

%40.7'sinde (22/54) yaygın rete füzyonu, %33.3'ünde (18/54) fokal, %65.5'inde (36/54) yaygın lentiginöz proliferasyon izlenmiştir.

Displastik nevüslerin %51.9'unda (28/54) fokal, %48.1'inde (26/54) yaygın yuvalanmalar, %66.7'sinde (36/54) hafif, %14.8'inde (8/54) orta şiddette ve %5.6'sında (3/54) yoğun olmak üzere lenfosit infiltrasyonu izlenmiştir.

Displastik nevüslerin %57.4'ünde (31/54) lameller, %42.6'sında (23/54) konsantrik fibroplazi; %77.8'inde (42/54) hafif, %14.8'inde (8/54) orta şiddette, %7.4'ünde (4/54) şiddetli sitolojik atipi saptanmıştır. Olguların %74.1'inde (40/54) hafif düzeyde, %14.8'inde (8/54) belirgin olmak üzere vasküler proliferasyon, %66.7'sinde (36/54) hafif, %14.8 (8/54)'sinde orta şiddette, %5.6'sında (3/54) yaygın lenfosit infiltrasyonu izlenmiştir.

4.2.2. Malign Lezyonlar

Primer melanomlarda Breslow tümör kalınlığı ortalama 2.67mm (0.2-10mm) olarak bulunmuştur.

Primer melanomlu olguların %17.7'si (11/62) papiller dermisde (Clark Level II), %37.1'i (23/62) üst retiküler dermisde (Clark Level III), %27.4'ü (17/62) retiküler dermisi doldurmuş (Clark Level IV), %17.7'sinde (11/62) subkutan yağ dokuda invazyon (Clark Level V) izlenmiştir.

Primer melanomlu olguların %38.7'sinde (24/62) epidermis yüzeyinde ülserasyon izlenmiştir. Bunların %16.1'inde (10/62) %50'den az, %22.6'sında (14/62) %50'den fazla ülserasyon bulunmaktadır.

Primer melanom vakalarında dermal hücrelerde milimetrekarede mitoz sayısı ortalama 6.44 (0-32) olarak saptanmıştır.

Primer melanomlu olguların %82.3'ü (51/62) vertikal büyüme fazında, %12.9'u (8/62) radyal büyüme fazında iken, %4.8'nin (8/62) büyüme fazına karar verilememiştir.

Primer melanomlu olguların %8.4'ünde (1/62) nekroz, %21.0'inde (13/62) lenfovasküler/ perinöral invazyon, %16.1'inde (10/62) mikrosatellitosis bulunmaktadır.

Primer melanomlu olguların %80.6'sının (50/62) baskın hücre tipi epiteloid, %8.1'inin (5/62) baskın hücre tipi iğsi, %11.3'sinin (7/62) epiteloid+iğsi özellikte olduğu saptanmıştır.

Primer melanomlu olguların %54.8'sinde (34/62) lenfosit infiltrasyonu bulunmamaktadır, %32.3'ünde (20/62) hafif lenfosit infiltrasyonu, %12.9'unda (14/62) yoğun lenfosit infiltrasyonu bulunmaktadır.

Primer melanomlu olguların hiçbirinde regresyon bulgularına rastlanmamıştır.

Kutanöz metastazı bulunan olgularda baskın hücre tipi %88.9'unda (40/45) epiteloid, %11.1'inde (5/45) iğsi özelliktedir. Bu grupta olguların %15.6'sı (7/45) papiller dermisde, %46.7'si (21/45) retiküler dermisi dolduran, %37.8'i (17/45) subkutan yağ dokuya infiltre özellikte saptanmıştır.

Kutanöz metastazı bulunan olguların %17.8'inde (8/45) tümör nodülü içinde nekroz, %22.2'sinde (10/45) lenfovasküler/ perinöral invazyon izlenmiştir.

Kutanöz metastazı bulunan hastaların %55.6'sında (25/45) nüks hastalık gelişimi, %42.2'sinde (19/45) metastaz bulunmaktadır. Hastaların %9.7'sinin (9/45) ölmüş olduğu bilgisine ulaşılmıştır. %48.9'u (22/45) halen yaşıyor iken, %31.1'inin (14/45) son durumu hakkında bilgi edinilememiştir. Hastaların %88.9'u (40/45) tedavi (İnterferon, KT, Perfüzyon KT) almış, %11.1'i (5/45) tedavi almamıştır.

Kutanöz metastazı bulunan olguların %86.7'sinde (39/45) lenfosit infiltrasyonu bulunmamaktadır. %6.7'sinde (3/45) hafif lenfosit infiltrasyonu, %6.7'sinde (3/45) yoğun lenfosit infiltrasyonu saptanmıştır.

Lenf nodu metastazı bulunan olguların baskın hücre tipi %85.7'sinin (18/21) epiteloid, %4.8'nin (1/21) iğsi, %9.5'inin (2/21) epiteloid+iğsi özelliktedir. Olguların %52.4'ünde (11/21) nekroz, milimetre karede ortalama 14.06 (1-32) mitoz bulunmaktadır. Hastaların %19 (4/21)'nin tedavi (İnterferon, Kemoterapi) aldığı izlenmiştir.

4.2.3. Malign Lezyonlu Olguların Klinik Takip Verileri

12 kutanöz metastaz lezyonu 4 primer melanom olgusuna aittir. 2 lenf nodu metastaz olgusu 2 primer melanom olgusuna aittir.

Malign lezyonlu hastalar klinik takip verilerine bakıldığında; primer melanomlu hastaların %8.1'inde (5/62) nüks hastalık gelişimi, %48.4'ünde (30/62) metastaz bulunmaktadır. Hastaların %35.5'i (22/62) halen yaşıyor iken, %9.7'sinde (6/62) öldüğü bilgisine ulaşılmış, %54.8'inin (34/62) son durumu hakkında bilgi edinilememiştir. Hastaların %50.1'i (36/62) tedavi almış, %41.9'u (26/62) tedavi almamıştır. Kutanöz metastaz bulunan hastaların %48.9'u (22/45) yaşıyor, %20.0'si (9/45) ölmüş ve %31.1'i (14/45) son durumu hakkında klinik bilgi bulunmamaktadır. Lenf nodu metastazı bulunan hastaların %47.62'si (10/21) yaşıyor, %9.53'ü (2/21) ölmüş ve %42.85'inin (9/21) son durumu hakkında klinik bilgi bulunmamaktadır (**Tablo 21**).

Tablo 24. Melanom olgularının klinik takip verileri

	Yaşayan	Ölen	Bilinmeyen
Melanom	22/62 (%35.5)	2/62 (%9.7)	34/62 (%54.8)
KM	22/45 (%48.9)	9/45 (%20)	14/45 (%31.1)
LNM	10/21 (%47.62)	2/21 (%9.53)	9/21 (%42.85)

Primer melanom olguların %58.1'i (36/62) tedavi (interferon, kemoterapi) görmüş, %41.9'unun (26/62) tedavi almadığı bilgisine ulaşılmıştır.

Kutanöz metastaz olguların %88.88'inin (40/45) tedavi (interferon, kemoterapi) aldığı, %11.12'sinin (5/45) tedavi almadığı bilgisine ulaşılmıştır.

Lenf nodu metastazı bulunan olguların sadece %19.04'ünün (4/21) tedavi (interferon, kemoterapi) aldığı, %80.96'sının (17/21) tedavi almadığı bilgisine ulaşılmıştır.

Primer melanom, kutanöz metastaz ve lenf nodu metastazı bulunan olguların histomorfolojik parametrelerinin (cinsiyet, tümör tipi, baskın hücre tipi, ülserasyon varlığı, nekroz, lenfosit infiltrasyonu, büyüme fazı, Clark-level invazyon derinliği, LVI/PNI) prognoz üzerine etkisi incelendiğinde anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (**Tablo 25, Tablo 26, Tablo 27**).

Tablo 25. Primer malign melanomu bulunan olguların prognoz grupları ile histomorfolojik parametrelerinin karşılaştırılması

	Yaşayan	Ölen	Bilinmeyen	p
Tip				
Nodüler	%50.0 (11/22)	%0.0 (0/6)	%55.9 (19/34)	0.062
ALM	%9.1 (2/22)	%50.0 (3/6)	%5.9 (2/34)	
YYM	%18.2 (4/22)	%50.0 (3/6)	%20.6 (7/34)	
LMM	%4.5 (1/22)	%0.0 (0/6)	%5.9 (2/34)	
Desmoplastik	%4.5 (1/22)	%0.0 (0/6)	%0.0 (0/34)	
NOS	%9.1 (2/22)	%0.0 (0/6)	%11.8 (4/34)	
Blue N.Kök	%4.5 (1/22)	%0.0 (0/6)	%0.0 (0/34)	
BHT				
Epiteloid	%72.7 (16/22)	%100 (6/6)	%82.4 (28/34)	0.755
İğsi	%13.6 (3/22)	%0.0 (0/6)	%5.9 (2/34)	
Epiteloid/İğsi	%13.6 (3/22)	%0.0 (0/6)	%11.8 (4/34)	
Ülserasyon				
%50 ≥	%22.7 (5/22)	%33.3 (2/6)	%8.8 (3/34)	0.256
%50 ≤	%18.2 (4/22)	%0.0 (0/6)	%29.4 (10/34)	
Yok	%59.1 (13/22)	%66.7 (4/6)	%61.8 (21/34)	
Nekroz				
Var	%0.0 (0/22)	%0.0 (0/6)	%2.9 (1/34)	1.000
Yok	%100 (22/22)	%100 (6/6)	%97.1(33/34)	
Mikrosatellitöz				
Var	%13.6 (3/22)	%16.7 (1/6)	%17.6 (6/34)	1.000
Yok	%86.4 (19/22)	%83.3 (5/6)	%82.4 (28/34)	

Tablo 25. Primer melanomu bulunan olguların prognoz grupları ile histomorfolojik parametrelerinin karşılaştırılması (devam)

	Yaşayan	Ölen	Bilinmeyen	p
Lenfosit inflt.				
Yok	%54.5 (12/22)	%33.3 (2/6)	%58.8 (20/34)	0.797
Hafif	%31.8 (7/22)	%50 (3/6)	%29.4 (10/34)	
Yoğun	%13.6 (3/22)	%16.7 (1/6)	%11.8 (4/34)	
LVI/PNI				
LVI +	%72.7 (16/22)	%100 (6/6)	%79.4 (27/34)	0.748
PNI +	%18.2 (4/22)	%0.0 (0/6)	%8.8 (3/34)	
LVI/PNI+	%9.1 (2/22)	%0.0 (0/6)	%11.8 (4/34)	
Clark Level				
CL II	%22.7 (5/22)	%0.0 (0/6)	%17.6 (6/34)	0.740
CL III	%31.8 (7/22)	%66.7 (4/6)	%35.3 (12/34)	
CL IV	%22.7 (5/22)	%16.7 (1/6)	%32.4 (11/34)	
CL V	%22.7 (5/22)	%16.7 (1/6)	%14.7 (5/34)	
Büyüme Fazı				
Vertikal	%77.3 (17/22)	%100 (6/6)	%82.4 (28/34)	0.769
Radyal	%13.6 (3/22)	%0.0 (0/6)	%14.7 (5/34)	
Bilinmiyor	%9.1 (2/22)	%0.0 (0/6)	%2.9 (1/34)	

Tablo 26. Kutanöz metastazı bulunan olguların prognoz grupları ile histomorfolojik parametrelerinin karşılaştırılması

	Yaşayan	Ölen	Bilinmeyen	p
BHT				
Epiteloid	%90.9(20/22)	%66.7 (6/9)	%100 (34/14)	
İğsi	%9.1(2/22)	%33.3 (3/9)	%0.0 (0/14)	0.046
Derinlik				
Papiller D	%0.0 (0/22)	%11.1 (1/9)	%42.9 (6/14)	
Ret. Dermis	%54.5 (12/22)	%55.6 (5/9)	%28.6 (4/14)	0.016
Subkutan Y.D	%45.5 (10/22)	%33.3 (3/9)	%28.6 (4/14)	
LVI/PNI				
LVI +	%9.1 (2/22)	%88.9 (8/9)	%78.6 (11/14)	
PNI +	%13.6 (3/22)	%0.0 (0/9)	%21.4 (3/14)	
LVI/PNI+	%4.5 (1/22)	%0.0 (0/9)	%0.0 (4/14)	0.385
LVI/PNI -	%72.7 (16/22)	%11.1 (1/9)	%0.0 (4/14)	
Nekroz				
Var	%22.7 (5/22)	%0.0 (0/9)	%21.4 (3/14)	
Yok	%77.3(17/22)	%100 (9/9)	%78.6(11/14)	0.403
Lenfosit infilt.				
Yok	%90.9 (20/22)	%77.8 (7/9)	%85.7 (12/14)	
Hafif	%4.5 (1/22)	%22.2 (2/9)	%0.0 (0/14)	0.245
Yoğun	%4.5 (1/22)	%0.0 (0/9)	%14.3 (2/14)	

Tablo 27. Lenf nodu metastazı bulunan olguların prognoz grupları ile histomorfolojik parametrelerinin karşılaştırılması

	Yaşayan	Ölen	Bilinmeyen	p
BHT				
Epiteloid	%90.0(9/10)	%50.0 (1/2)	%88.9 (8/9)	0.271
İğsi	%10.0(1/10)	%0.0 (0/2)	%0.0 (0/9)	
Epiteloid/iğsi	%0.0 (0/10)	%50.0 (1/2)	%11.1 (1/9)	
Nekroz				
Var	%60.0 (6/10)	%0.0 (0/2)	%55.6 (5/14)	0.480
Yok	%40.0(4/10)	%100 (2/2)	%44.46(4/14)	
Lenfosit infilt.				
Yok	%90.9 (20/22)	%77.8 (7/9)	%85.7 (12/14)	0.245
Hafif	%4.5 (1/22)	%22.2 (2/9)	%0.0 (0/14)	
Yoğun	%4.5 (1/22)	%0.0 (0/9)	%14.3 (2/14)	

4.3. İMMÜNHİSTOKİMYASAL BULGULAR

4.3.1. Edinsel Nevüslerde İHK Bulguları

Melanositik dermal nevüslü olguların ortalama Ki-67 proliferasyon indeksi %0.08 olarak saptanmıştır. Olguların %0.22'sinde CD133, %0.51'inde CD166, %2.62'sinde Nestin boyanması saptanmıştır.

Melanositik dermal nevüslü 37 olgunun 3'ünde (%8.1) Ki-67 proliferasyon indeksi %1 olarak bulunmuş olup, 34 olguda boyanma izlenmemiştir. 33 (%89.2) olguda CD133 ile boyanma izlenmezken, 4 (%10.8) olguda %50'nin altında soluk sitoplazmik boyanma izlenmiştir. 25 (%67.6) olguda CD166 ile boyanma izlenmemiş, 12 (%32.4) olguda %50'nin altında soluk sitoplazmik boyanma izlenmiştir. Nestin ile 28 (%75.6) olguda %50'nin altında, 4 (%10.8) olguda %50'nin üzerinde boyanma izlenmiştir. Ayrıca Nestin ile 12 (%32.4) vakada soluk, 8 (%21.6) vakada orta şiddette, 12 (%32.4) vakada şiddetli boyanma saptanmıştır. 13 (%35.1) vakanın sitoplazmik, 2 (%5.4) vakanın membranöz ve 17 (%45.9) vakanın sitoplazmik+membranöz boyandığı izlenmiştir.

Melanositik kompond nevüslü olguların ortalama Ki-67 proliferasyon indeksi %0.16 olarak saptanmıştır. CD133 boyanma saptanmamıştır. Olguların %1'inde CD166 ve %2.62'sinde Nestin boyanması izlenmiştir.

Melanositik kompond nevüslü 43 olgunun 7 (%16.3)'sinde Ki-67 proliferasyon indeksi %1 olarak bulunmuş olup, 36 olgunun 0 (%83.7) olduğu izlenmiştir. CD133 ile 43 olgunun hiçbirinde boyanma izlenmemiştir. CD166 ile %55.8 (24/43) olguda %50'nin altında soluk sitoplazmik boyanma izlenmiştir. Nestin ile 6 (%14.0) olguda boyanma izlenmezken, 28 (%65.2) olguda %50'nin altında, 9 (%21) olguda %50'nin üzerinde boyanma izlenmiştir. Nestin ile boyanan 25 (%58.1) vakada soluk, 5 (%11.6) vakada orta şiddette, 7 (%16.3) vakada şiddetli boyanma saptanmıştır. 21 (%48.8) vakanın sitoplazmik, 16 (%37.2) vakanın sitoplazmik+membranöz boyandığı izlenmiştir.

Junctional nevüslü olguların ortalama Ki-67 proliferasyon indeksi %0.10 olarak saptanmıştır. CD133 ve CD166 hiçbir olguda boyanma saptanmamıştır. Olguların %0.60'ında Nestin boyanması izlenmiştir.

Junctional nevüslü 10 olgunun 1'inde (%10) Ki-67 proliferasyon indeksi %1 olarak bulunmuş olup, 9 olgunun 0 (%90) olduğu izlenmiştir. CD133 ve CD166 ile hiçbir olguda boyanma izlenmemiştir. Nestin ile 1 (%10) olguda %50'nin üzerinde şiddetli membranöz boyanma izlenirken, 9 (%90) olguda boyanma izlenmemiştir.

4.3.2. Konjenital Nevüslerde İHK Bulguları

Konjenital nevüslü toplam 5 olguda ortalama Ki-67 proliferasyon indeksi %0.00 olarak saptanmıştır. Olguların %0.60'ında CD133, %2.20'sinde Nestin boyanması saptanmıştır. CD166 ile boyanma izlenmemiştir.

CD133 ile 1 (%20) olguda %50'nin altında boyanma izlenirken, 4 (%80) olguda hiç boyanma izlenmemiştir. CD166 ile hiçbir olguda boyanma izlenmemiştir. Nestin ile 3 (%60) olguda %50'nin altında, 1 (%20) olguda %50'nin üzerinde boyanma izlenirken, 1 (%20) olguda boyanma izlenmemiştir.

Konjenital nevüslü olgularda CD133 ile boyanan 1 (%20) vakada soluk sitoplazmik boyanma izlenmiştir. Nestin ile boyanan 3 (%60) vakada soluk, 1 (%20) vakada şiddetli boyanma saptanmıştır. 3 (%20) vakanın sitoplazmik, 1 (%20) vakanın sitoplazmik+membranöz boyandığı izlenmiştir.

4.3.3. Displastik Nevüslerde İHK Bulguları

Displastik nevüslü toplam 54 olguda ortalama Ki-67 proliferasyon indeksi %0.48 olarak saptanmıştır. Olguların %0.26'sında CD166, %2.34'ünde Nestin ile boyanma saptanmıştır. Olguların hiçbirisinde CD133 ile boyanma saptanmamıştır.

Displastik nevüslü 50 olgunun 24'de (%48) Ki-67 proliferasyon indeksi %1 olarak bulunmuş olup, 26 olgunun 0 (%52) olduğu izlenmiştir. CD133 ile 50 olgunun hiçbirinde boyanma izlenmemiştir. 45 (%90) olguda CD166 ile boyanma izlenmemiş, 4 (%8) olguda %50'nin altında, 1 (%2) olguda %50'nin üzerinde boyanma izlenmiştir. Nestin ile 28 (%56.0) olguda boyanma izlenmezken, 12 (%12) olguda %50'nin altında, 11 (%32) olguda %50'nin üzerinde boyanma izlenmiştir.

Displastik nevüslü olgularda CD166 ile boyanan 2 (%4) vakada soluk sitoplazmik, 3 (%6) vakada orta şiddette sitoplazmik boyanma izlenmiştir. Nestin ile boyanan 1 (%2) vakada soluk, 6 (%12) vakada orta şiddette, 15 (%30) vakada şiddetli boyanma saptanmıştır. 7 (%14) vakanın sitoplazmik, 3 (%6) vakanın membranöz, 12 (%24) vakanın sitoplazmik+membranöz boyandığı izlenmiştir.

4.3.4. Benign Lezyonların İHK Bulgularının Karşılaştırılması

Benign melanositik lezyonların (edinsel nevüsler, konjenital nevüsler, displastik nevüsler) ortalama Ki-67 proliferasyon indeksleri **Tablo 28**'de bulunmaktadır. Displastik nevüsler ile diğer nevüsler istatistiksel olarak karşılaştırıldığında Ki-67 proliferasyon indeksi açısından anlamlı bir fark bulunmuştur. (P=0.00) Displastik nevüslerde Ki-67 indeksi diğer nevüs gruplarına göre daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Tablo 28. Benign melanositik lezyonlarda Ki-67 proliferasyon indeksi

	n	Ort (%)	Std. D
MDN	37	0.08	0.277
MKN	43	0.16	0.374
JN	10	0.10	0.316
Konj.N	5	0.00	0.000
DN	50	0.48	0.505
Toplam	145	0.24	0.429

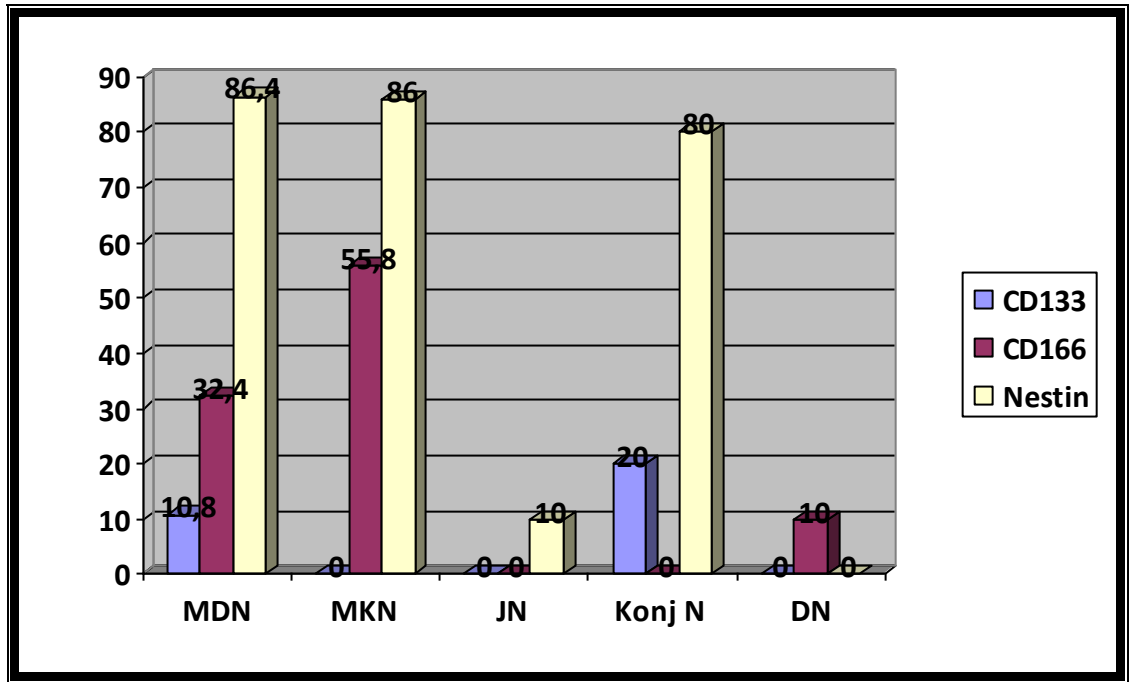
Benign melanositik lezyonların alt grupları CD133 ekspresyonu açısından incelendiğinde **(Grafik 1)** MDN'lerin %10.8'inde, konjenital nevüslerin %20.0'sinde %50'nin altında bir boyanma izlenmiştir. Diğer nevüs tiplerinde boyanma gözlenmemiştir. CD133 boyanma yoğunluğu açısından karşılaştırıldığında MDN'lerin %10.8'inde, konjenital nevüslerin %20.0'sinde soluk boyanma izlenmiştir. CD133 boyanma paterni açısından karşılaştırıldığında MDN'lerin %10.8'inde, konjenital nevüslerin %20'sinde sitoplazmik boyanma izlenmiştir. MDN ve konjenital nevüsler ile diğer nevüs tipleri arasında boyanma yüzdesi ($p=0.025$) açısından anlamlı fark izlenirken, boyanma yoğunluğu ($p=0.08$), boyanma paterni ($p=0.08$) açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. MDN ve konjenital nevüslerde CD133 boyanma olarak daha fazla izlenmiştir.

Benign melanositik lezyonların alt grupları CD166 ekspresyonu açısından incelendiğinde **(Grafik 1)** MDN, MKN ve DN grubunda boyanma izlenmiştir. Diğerlerinde boyanma saptanmamıştır. MDN'lerin %29.7'sinde, MKN'lerin %41.9'unda, DN'lerin %6'sında %50'nin altında, MDN'lerin %2.7'sinde, MKN'lerin %75'inde, DN'lerin %4'ünde %50'nin üzerinde bir boyanma izlenmiştir. Diğer nevüs tiplerinde boyanma gözlenmemiştir. CD166 boyanma yoğunluğu açısından karşılaştırıldığında MDN'lerin %32.4'ünde, MKN'lerin %55.8'inde, DN'lerin %4'ünde soluk, DN'lerin %6'sında orta şiddette, MDN'lerin %2.7'sinde şiddetli boyanma izlenmiştir. CD166 boyanma paterni açısından karşılaştırıldığında MDN'lerin %35.1'inde, MKN'lerin %55.8'inde, DN'lerin %10'unda sitoplazmik boyanma izlenmiştir. Boyanmış gruplar boyanma yoğunluğu ve şiddeti açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. Ancak boyanma paterni açısından değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde sitoplazmik boyanmanın diğer paternlere göre anlamlı düzeyde fazla olduğu saptanmıştır. ($p=0.00$)

Benign melanositik lezyonların alt grupları Nestin ekspresyonu açısından incelendiğinde **(Grafik 1)** MDN'lerin %75.6'sında, MKN'lerin %65.2'sinde, konjenital nevüslerin %60'ında, DN'lerin %12'sinde %50'nin altında; MDN'lerin %10.8'inde, MKN'lerin %21'inde, JN'lerin %10'unda, konjenital nevüslerin %20'sinde, DN'lerin %32'sinde %50'nin üzerinde bir boyanma izlenmiştir. Nestin boyanma yoğunluğu açısından karşılaştırıldığında MDN'lerin %32.4'ünde,

MKN'lerin %58.1'inde, konjenital nevüslerin %60'ında, DN'lerin %2'sinde soluk, MDN'lerin %21.6'sında, MKN'lerin %11.6'sında, DN'lerin %12'sinde orta şiddette, MDN'lerin %32.4'ünde, MKN'lerin %16.3'ünde, JN'lerin %10'unda, konjenital nevüslerin %20'sinde, DN'lerin %30'unda şiddetli boyanma izlenmiştir. Nestin boyanma paterni açısından karşılaştırıldığında MDN'lerin %60'ında, MKN'lerin %48.8'inde, konjenital nevüslerin %60'ında, DN'lerin %10'unda sitoplazmik, MDN'lerin %5.4'ünde, JN'lerin %10'unda, DN'lerin %6'sında membranöz, MDN'lerin %45.9'unda, MKN'lerin %37.2'sinde, konjenital nevüslerin %20'sinde, DN'lerin %28'inde sitoplazmik boyanma izlenmiştir. Bu gruplar nestin ekspresyonu açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

CD133, CD166 ve nestin ile boyanma genellikle dermisdeki nevik yuvalarda izlenmiş olup, junctional bölgede daha az gözlenmiştir.



Grafik 1. Benign melanositik lezyonların CD133, CD166 ve Nestin ile boyanma yüzdelerinin karşılaştırılması

4.3.5. Primer Melanomlu Olgularda İHK Bulguları

Primer melanomlu olguların %36.8'inde (21/57) CD133 ile, %89.5'inde (51/57) CD166 ile, %94.7'sinde (54/57) nestin ile boyanma izlenmiştir. **(Grafik 2)**

CD133 ile primer melanomlu olguların %30.3'ünde (17/57) %50'nin altında; %6.5'inde (4/57) %50'nin üzerinde boyanma, %33.3 (19/57) oranında soluk boyanma, %3.5 (3/57) oranında orta şiddette boyanma, %36.8'inde (21/57) sitoplazmik, %1.8'inde (1/57) sitoplazmik+membranöz boyanma saptanmıştır.

CD166 ile olguların %45.6'sında (26/57) %50'nin altında; %43.9'unda (25/57) %50'nin üzerinde boyanma, %40.4 (23/57) oranında soluk boyanma, %29.8 (17/57) oranında orta şiddette boyanma, %19.3 (11/57) oranında şiddetli boyanma, %43.9 (25/57)'unda sitoplazmik, %7.0 (4/57)'sinde membranöz, %38.6'sında (22/57) sitoplazmik+membranöz boyanma saptanmıştır.

Nestin ile olguların %43.9'unda (25/57) %50'nin altında; %50.9'unda (29/57) %50'nin üzerinde boyanma, %8.8 (5/57) oranında soluk boyanma, %43.9 (25/57) oranında orta şiddette boyanma, %42.1 (24/57) oranında şiddetli boyanma, %61.4'ünde (35/57) sitoplazmik, %33.3'ünde (19/57) sitoplazmik+membranöz boyanma saptanmıştır.

4.3.6. Kutanöz Metastaz Olgularında İHK Bulguları

Kutanöz metastazı bulunan olguların %45.3'ünde (19/42) CD133, %95.3'ünde (40/42) CD166, %95.2'sinde (40/42) nestin ekspresyonu izlenmiştir **(Grafik 2)**.

CD133 ile pozitif boyanmış tüm olgularda %50'nin altında, soluk sitoplazmik boyanma saptanmıştır.

CD166 ile %57.2'sinde (24/42) %50'nin altında; %38.1'inde (16/42) %50'nin üzerinde boyanma, %45.2 (19/42) oranında soluk boyanma, %21.4 (9/42) oranında orta şiddette boyanma, %28.6 (12/42) oranında şiddetli boyanma, %59.5'inde (25/42) sitoplazmik, %7.1'inde (3/42) membranöz, %28.6'sında (12/42) sitoplazmik+membranöz boyanma saptanmıştır.

Nestin ile %26.1'inde (11/42) %50'nin altında; %69.1'inde (29/42) %50'nin üzerinde bir boyanma, %16.7'sinde (7/42) soluk, %11.9'unda (5/42) orta şiddette, %66.7'sinde (28/42) şiddetli boyanma, %31'inde (13/42) sitoplazmik, %2.4'ünde

(1/42) membranöz, %61.9'unda (26/42) sitoplazmik+membranöz boyanma saptanmıştır.

4.3.7. Lenf Nodu Metastaz Olgularında İHK Bulguları

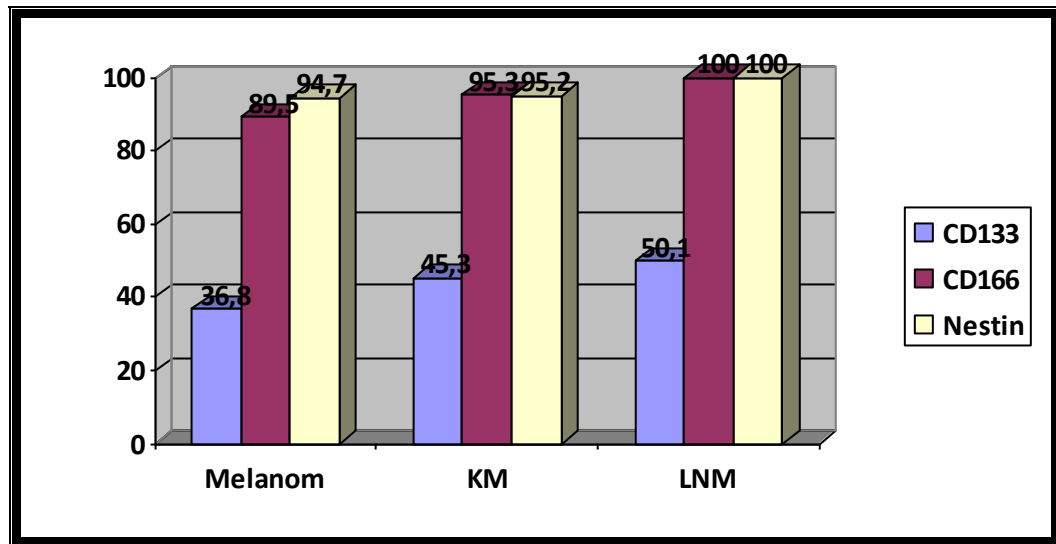
Lenf nodu metastazı bulunan hastaların %50.1'inde (8/16) CD133, %100'ünde (16/16) CD166, %100'ünde (16/16) nestin ekspresyonu izlenmiştir.

(Grafik 2)

CD133 ile pozitif boyanan tüm vakalarda %50'nin altında; %43.8'inde (7/21) soluk sitoplazmik, %6.3'ünde (1/21) orta şiddette sitoplazmik boyanma saptanmıştır.

CD166 ile %62.6'sında (10/16) %50'nin altında, %37.4'ünde (6/16) %50'nin üzerinde boyanma; %50.0 (8/16) oranında soluk boyanma, %18.8 (3/16) oranında orta şiddette boyanma, %31.3 (5/16) oranında şiddetli boyanma, %50'sinde (8/16) sitoplazmik, %12.5'inde (2/16) membranöz, %37.5'inde (6/16) sitoplazmik+membranöz boyanma saptanmıştır.

Nestin ile %31.3'ünde (5/16) %50'nin altında, %68.7'sinde (11/16) %50'nin üzerinde bir boyanma, %31.3'ünde (5/16) soluk, %37.5'inde (6/16) orta şiddette, %31.3'ünde (5/16) şiddetli boyanma, %62.5'inde (10/16) sitoplazmik, %37.5'inde (6/16) sitoplazmik+membranöz boyanma saptanmıştır.



Grafik 2. Malign melanositik lezyonların CD133, CD166 ve Nestin ile boyanma yüzdelерinin karşılaştırılması

4.3.8. Malign Lezyonların İHK Bulgularının Karşılaştırılması

Primer melanom, kutanöz metastaz ve lenf nodu metastazı bulunan olguların Ki-67 proliferasyon indeksi ortalaması sırasıyla %27.95, %29.83, %34.56 olarak bulunmuştur. Primer melanom, kutanöz metastaz ve lenf nodu metastaz lezyonlarının arasında ortalama Ki-67 proliferasyon indeksi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p=0.279$) (**Tablo 29**).

Tablo 29. Malign melanositik lezyonlar arasında Ki-67 proliferasyon indeksi

	n	Ort (%)	Std. D
Melanom	57	27.95	27.707
KM	42	29.83	29.551
LNM	16	34.56	24.717
Toplam	115	29.56	27.864

Primer melanom, kutanöz metastaz ve lenf nodu metastaz lezyonlarının CD133, CD166, Nestin boyanma oranları karşılaştırıldığında bu 3 grup arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (**Grafik 2**).

Primer melanom, kutanöz metastaz ve lenf nodu metastaz grupları ile CD133 ekspresyonu karşılaştırıldığında CD133 boyanma yüzdesi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmiştir. ($p=0.034$) Sadece primer melanom lezyonlarında %50'nin üstünde boyanma izlenmiştir. Ancak boyanma yüzdesi dikkate alınmadığında toplam CD133 pozitif olgular açısından 3 grup arasında anlamlı bir farklılık izlenmemiştir. CD133 boyanma şiddeti ve boyanma paterni açısından gruplar arasında istatistiksel farklılık saptanmamıştır.

Tablo 26. Malign melanositik lezyonlar (primer melanom, kutanöz metastaz ve lenf nodu metastaz) arasında CD133 boyanma yüzdesi, şiddeti ve paterni

	Melanom	KM	LMN	p
CD133 (%)				
Boyanma yok	%63.2 (36/57)	%54.8 (23/42)	%50.0 (8/16)	0.034
%50 ≥	%29.9 (17/57)	%45.3 (19/42)	%50.0 (8/16)	
%50 <	%7.0 (4/57)	%0.0 (0/42)	%0.0 (0/16)	
CD133				
Boyanma yok	%63.2 (36/57)	%54.8 (23/42)	%50.0 (8/16)	0.390
Soluk	%33.3 (19/57)	%45.2 (19/42)	%43.8 (7/16)	
Orta şid	%3.5 (2/57)	%0.0 (0/42)	%6.3 (1/16)	
Şiddetli	%0.0 (0/57)	%0.0 (0/42)	%0.0 (0/16)	
CD133				
Boyanma yok	%61.4 (36/57)	%54.8 (23/42)	%50.0 (8/16)	0.737
Sitoplazmik	%36.8 (20/57)	%45.2 (19/42)	%50.0 (8/16)	
Membranöz	%0.0 (0/57)	%0.0 (0/42)	%0.0 (0/16)	
S/M*	%1.8 (1/57)	%0.0 (0/42)	%0.0 (0/16)	

*S/M: Sitoplazmik+membranöz boyanma paterni

Malign melanositik lezyonlar kendi içlerinde ile CD166 boyanma yüzdesi, boyanma şiddeti ve boyanma paterni açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel farklılık saptanmamıştır (**Tablo 27**). Bu immünbelirteç ile malign lezyonların kendi gruplar arasında genel boyanma yüzdesi açısından da bir farklılık izlenmemiştir (**Grafik 2**).

Tablo 27. Malign melanositik lezyonlar (primer melanom, kutanöz metastaz ve lenf nodu metastaz) arasında CD166 boyanma yüzdesi, şiddeti ve paterni

	MM	KM	LN	p
CD166 (%)				
Boyanma yok	%10.5 (6/57)	%4.8 (2/42)	%0.0 (0/16)	0.572
%50 ≥	%45.6 (26/57)	%57.2 (24/42)	%62.7 (10/16)	
%50 <	%43.9 (25/57)	%38.1 (16/42)	%37.5 (6/16)	
CD166				
Boyanma yok	%10.5 (6/57)	%4.8 (2/42)	%0.0 (0/16)	0.639
Soluk	%40.4 (23/57)	%45.2 (19/42)	%50.0 (8/16)	
Orta şid	%29.8 (17/57)	%21.4 (9/42)	%18.8 (3/16)	
Şiddetli	%19.3 (11/57)	%28.6 (12/42)	%31.3 (5/16)	
CD166				
Boyanma yok	%10.5 (6/57)	%4.8 (2/42)	%0.0 (0/16)	0.603
Sitoplazmik	%43.9 (25/57)	%59.5 (25/42)	%50.0 (8/16)	
Membranöz	%7.0 (4/57)	%7.1 (3/42)	%12.5 (2/16)	
S/M*	%38.6 (22/57)	%28.6 (12/42)	%37.5 (6/16)	

*S/M: Sitoplazmik+membranöz boyanma paterni

Malign melanositik lezyonların kendi alt grupları genel Nestin boyanması açısından karşılaştırıldığında her 3 grup arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. **(Grafik 2)**

Nestin ile boyanma şiddeti açısından karşılaştırıldığında orta şiddette ve şiddetli boyanmanın primer melanom lezyonlarında soluk boyanmaya göre belirgin şekilde fazla olduğu saptanmıştır. (p=0.003) Boyanma paterni açısından kutanöz metastaz lezyonlarında membranöz boyanmanın anlamlı düzeyde diğerlerine göre daha az olduğu saptanmıştır (p=0.026) **(Tablo 28).**

Tablo 28. Malign melanositik lezyonlar (primer melanom, kutanöz metastaz ve lenf nodu metastaz) arasında Nestin boyanma yüzdesi, şiddeti ve paterni

	MM	KM	LMN	p
Nestin (%)				
Boyanma yok	%5.3 (3/57)	%4.8 (2/42)	%0.0 (0/16)	0.175
%50 ≥	%43.9 (25/57)	%26.1 (11/42)	%31.3 (5/16)	
%50 <	%50.9 (29/57)	%69.0 (29/42)	%68.8 (11/16)	
Nestin				
Boyanma yok	%5.3 (3/57)	%4.8 (2/42)	%0.0 (0/16)	0.003
Soluk	%8.8(5/57)	%16.7 (7/42)	%31.3 (5/16)	
Orta şid	%43.9 (25/57)	%11.9 (5/42)	%37.5 (6/16)	
Şiddetli	%42.1 (24/57)	%66.7 (28/42)	%31.3 (5/16)	
Nestin				
Boyanma yok	%5.3 (3/57)	%4.8 (2/42)	%0.0 (0/16)	0.026
Sitoplazmik	%61.4 (35/57)	%31.0 (13/42)	%62.5 (10/16)	
Membranöz	%0.0 (0/57)	%2.4 (1/42)	%0.0 (0/16)	
S/M*	%33.3 (19/57)	%61.9 (26/42)	%37.5 (6/16)	

*S/M: Sitoplazmik+membranöz boyanma paterni

4.3.9. Benign Lezyonlar İle Malign Lezyonların İHK Bulgularının Karşılaştırılması

Benign melanositik lezyonlar ile malign melanositik lezyonlar arasında Ki-67 proliferasyon indeksleri açısından karşılaştırıldığında malign lezyon gruplarının ortalama Ki-67 proliferasyon indeksleri benign gruplara göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır (p=0.000) (**Tablo 29**).

Benign melanositik lezyonlar ile malign melanositik lezyonlar CD133, CD166 ve Nestin boyanma açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (p=0.000).

Tablo 29. Benign melanositik lezyonlar ile Malign melanositik lezyonların ortalama Ki-67 proliferasyon indeksleri

	n	Ort (%)	Std. D
Melanom	57	27.95	27.707
KM	42	29.83	29.551
LNM	16	34.56	24.717
MDN	37	0.08	0.277
MKN	43	0.16	0.374
JN	10	0.10	0.316
Konj.N	5	0.00	0.000
DN	50	0.48	0.505
Toplam	260	13.21	23.551

4.4. HİSTOKİMYASAL VE İMMÜNHİSTOKİMYASAL BULGULARIN PROGNOZ İLE KARŞILAŞTIRILMASI

Prognostik gruplar histopatolojik parametreler ve immünhistokimyasal belirteçlerin durumu açısından istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır, ancak klinik takibine ulaşılamayan vaka sayısı tüm malign olgularda %44.5 olduğu için istatistiksel sonuçlar güvenilir bulunmamıştır ve sağlıklı bir şekilde değerlendirilememiştir.

Primer malign melanomların prognostik açıdan Ki-67 proliferasyon indeksleri incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmiştir. ($p=0.026$) Klinik takibi bilinmeyen grubun ortalama Ki-67 proliferasyon indeksi diğerlerine göre daha yüksek bulunmuştur.

Kutanöz metastaz ve lenf nodu metastazı bulunan olguların prognostik açıdan Ki-67 proliferasyon indeksleri incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmemiştir (**Tablo 30**).

Tablo 30. Primer malign melanomlarda Ki-67 ile prognoz arasında ilişki

	n	Ort (%)	Std. D
Yaşayan	20	28.70	19.216
Ölen	6	4.20	2.168
Bilinmeyen	32	31.19	35.521
Toplam	57	27.95	27.707

Primer melanom olgularında prognoz grupları arasında CD133 ve Nestin boyanma yüzdesi, boyanma şiddeti ve boyanma paterni açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır (**Tablo 31,32**).

Kutanöz metastaz lezyonlarında CD133 ile ölen olgugrubunda yaşayan ve bilinmeyen gruplara göre anlamlı düzeyde yüksek boyanma izlenmiştir (**Tablo 33**).

Tablo 31. Primer Malign melanomlarda CD133 ile prognoz arasında ilişki

	Yaşayan	Ölen	Bilinmeyen	p
CD133 (%)				
Boyanma yok	%65.0 (13/20)	%40.0 (2/5)	%62.53 (21/32)	0.481
%50≥	%25.0 (5/20)	%40.0 (2/5)	%34.37 (10/32)	
%50<	%10.0 (2/20)	%20.0 (1/5)	%3.1 (1/32)	
CD133				
Boyanma yok	%65.0 (13/20)	%40.0 (2/5)	%62.53 (21/32)	0.559
Soluk	%35.0 (7/20)	%60.0 (3/5)	%28.1 (9/32)	
Orta Şid.	%0.0 (0/20)	%0.0 (0/5)	%6.3 (2/32)	
Şiddetli	%0.0 (0/20)	%0.0 (0/5)	%0.0 (0/32)	
CD133				
Boyanma yok	%65.0 (13/20)	%40.0 (2/5)	%62.5 (20/32)	0.716
Sitoplazmik	%35.0 (7/20)	%60.0 (3/5)	%34.4 (11/32)	
Membranöz	%0.0 (0/20)	%0.0 (0/5)	%0.0 (0/32)	
S/M*	%0.0 (0/20)	%0.0 (0/5)	%3.1 (1/32)	

*S/M: Sitoplazmik+membranöz boyanma

Tablo 32. Primer melanomlarda nestin ile prognoz arasında ilişki

	Yaşayan	Ölen	Bilinmeyen	p
Nestin (%)				
Boyanma yok	%5.0 (1/20)	%0.0 (0/5)	%6.1 (2/32)	0.538
%50≥	%55.0 (11/20)	%40.0 (2/5)	%37.6 (12/32)	
%50<	%40.0 (8/20)	%60.0 (3/5)	%56.3 (18/32)	
Nestin				
Boyanma yok	%5.0 (1/20)	%0.0 (0/5)	%6.1 (2/32)	0.558
Soluk	%10.0 (2/20)	%20.0 (1/5)	%6.3 (2/32)	
Orta Şid.	%30.0 (6/20)	%40.0 (2/5)	%53.1 (17/32)	
Şiddetli	%55.0 (11/20)	%40.0 (2/5)	%34.4 (11/32)	
Nestin				
Boyanma yok	%5.0 (1/20)	%0.0 (0/5)	%6.1 (2/32)	1.000
Sitoplazmik	%60.0 (12/20)	%60.0 (3/5)	%62.5 (20/32)	
Membranöz	%0.0 (0/20)	%0.0 (0/5)	%0.0 (0/32)	
S/M*	%35.0 (7/20)	%40.0 (2/5)	%31.3 (10/32)	

*S/M: Sitoplazmik+membranöz boyanma

Tablo 33. Kutanöz metastaz bulunan olgularda CD133 ile prognoz arasında ilişki

	Yaşayan	Ölen	Bilinmeyen	p
CD133 (%)				
Boyanma yok	%61.9 (13/21)	%0.0 (0/7)	%71.4 (10/14)	0.014
%50≥	%38.1 (8/21)	%100 (7/7)	%28.6 (4/14)	
%50<	%0.0 (0/21)	%0.0 (0/7)	%0.0 (0/14)	
CD133				
Boyanma yok	%61.9 (13/21)	%0.0 (0/7)	%71.4 (10/14)	0.004
Soluk	%38.1 (8/21)	%100 (7/7)	%28.6 (4/14)	
Orta Şid.	%0.0 (0/21)	%0.0 (0/7)	%0.0 (2/14)	
Şiddetli	%0.0 (0/21)	%0.0 (0/7)	%0.0 (0/14)	
CD133				
Boyanma yok	%61.9 (13/21)	%0.0 (0/7)	%71.4 (10/14)	0.004
Sitoplazmik	%38.1 (8/21)	%100 (7/7)	%28.6 (4/14)	
Membranöz	%0.0 (0/21)	%0.0 (0/7)	%0.0 (2/14)	
S/M*	%0.0 (0/21)	%0.0 (0/7)	%0.0 (0/14)	

*S/M: Sitoplazmik+membranöz boyanma

Kutanöz metastaz lezyonlarında klinik takibi bilinmeyen grupta sitoplazmik CD166 boyanması anlamlı düzeyde fazla izlenmiştir. Aynı grupta ölen olgularda sitoplazmik+membranöz boyanma fazla izlenmiştir (**Tablo 34**).

Tablo 34. Kutanöz metastaz bulunan olgularda CD166 ile prognoz arasında ilişki

	Yaşayan	Ölen	Bilinmeyen	p
CD166				
Boyanma yok	%9.5 (2/21)	%0.0 (0/7)	%0.0 (0/7)	0.387
%50≥	%57.1 (12/21)	%42.9 (3/7)	%64.2 (9/14)	
%50<	%33.3 (7/21)	%57.2 (4/7)	%35.7 (5/14)	
CD166				
Boyanma yok	%9.5 (2/21)	%0.0 (0/7)	%0.0 (0/7)	0.414
Soluk	38.1 (8/21)	%28.6 (2/7)	%64.3 (9/14)	
Orta Şid.	%23.8 (5/21)	%42.9 (3/7)	%7.1 (1/14)	
Şiddetli	%28.6 (6/21)	%28.6 (2/7)	%28.6 (4/14)	
CD166				
Boyanma yok	%9.5 (2/21)	%0.0 (0/7)	%0.0 (0/7)	0.004
Sitoplazmik	%47.6 (10/21)	%28.6 (2/7)	%92.9 (13/14)	
Membranöz	%9.5 (2/21)	%0.0 (0/7)	%7.1 (1/14)	
S/M*	%33.3 (7/21)	%71.4 (5/7)	%0.0 (0/14)	

*S/M: Sitoplazmik+membranöz boyanma

Kutanöz metastaz lezyonlarında Nestin boyanma yüzdesi, şiddeti ve paterni açısından prognoz gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 35).

Tablo 35. Kutanöz metastaz bulunan olgularda Nestin ile prognoz arasında ilişki

	Yaşayan	Ölen	Bilinmeyen	p
Nestin				
Boyanma yok	%9.5 (2/21)	%0.0 (0/7)	%0.0 (0/7)	0.410
%50≥	%33.3 (7/21)	%14.3 (1/7)	%21.4 (3/14)	
%50<	%57.1 (12/21)	%85.7 (6/7)	%78.6 (11/14)	
Nestin				
Boyanma yok	%9.5 (2/21)	%0.0 (0/7)	%0.0 (0/7)	0.922
Soluk	%19.0 (4/21)	%14.3 (1/7)	%14.3 (2/14)	
Orta Şid.	%14.3 (3/21)	%14.3 (1/7)	%7.1 (1/14)	
Şiddetli	%57.1 (12/21)	%71.4 (5/7)	%78.6 (11/14)	
Nestin				
Boyanma yok	%9.5 (2/21)	%0.0 (0/7)	%0.0 (0/7)	0.299
Sitoplazmik	%38.1 (8/21)	%42.9 (3/7)	%14.3 (2/14)	
Membranöz	%4.8 (1/21)	%0.0 (0/7)	%0.0 (0/14)	
S/M*	%47.6 (10/21)	%57.1 (4/7)	%85.7 (12/14)	

*S/M: Sitoplazmik+membranöz boyanma

Lenf nodu metastaz grubunda yaşayan, ölen ve klinik takibi bilinmeyen olgular arasında CD133, CD166, Nestin boyanma yüzdesi, şiddeti ve paterni açısından anlamlı fark izlenmemiştir (**Tablo 36,37,38**).

Tablo 36. Lenf nodu metastazı bulunan olgularda CD133 ile prognoz arasında ilişki

	Yaşayan	Ölen	Bilinmeyen	p
CD133				
Boyanma yok	%62.5 (5/8)	%50(1/2)	%33.3 (2/6)	0.255
%50≥	%37.5 (3/8)	%50(1/2)	%66.7 (4/6)	
%50<	%0.0 (0/8)	%0.0 (0/2)	%0.0 (0/6)	
CD133				
Boyanma yok	%62.5 (5/8)	%50(1/2)	%33.3 (2/6)	0.728
Soluk	%37.5 (3/8)	%50 (1/2)	%50 (3/6)	
Orta Şid.	%0.0 (0/8)	%0.0 (0/2)	%16.7 (1/6)	
Şiddetli	%0.0 (0/8)	%0.0 (0/2)	%0.0 (0/6)	
CD133				
Boyanma yok	%62.5 (5/8)	%50(1/2)	%33.3 (2/6)	0.782
Sitoplazmik	%37.5 (3/8)	%50 (1/2)	%66.7 (4/6)	
Membranöz	%0.0 (0/8)	%0.0 (0/2)	%0.0 (0/6)	
S/M*	%0.0 (0/8)	%0.0 (0/2)	%0.0 (0/6)	

*S/M: Sitoplazmik+membranöz boyanma

Tablo 37. Lenf nodu metastazı bulunan olgularda CD166 ile prognoz arasında ilişki

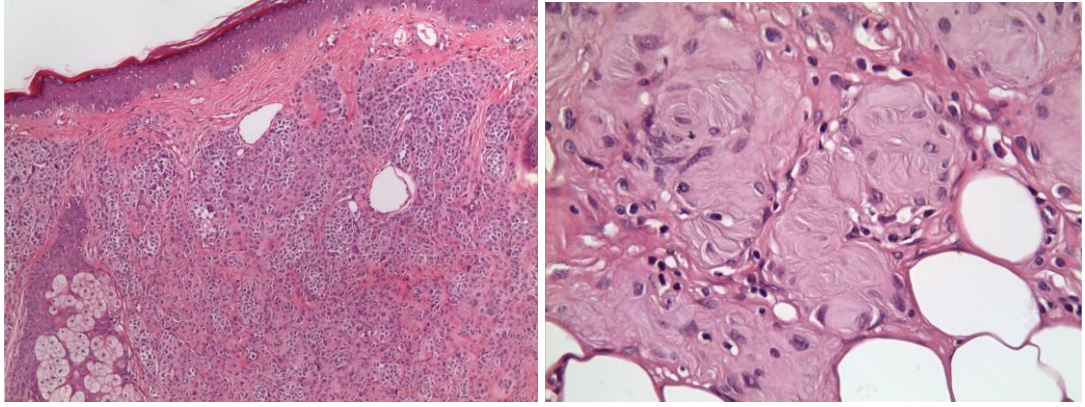
	Yaşayan	Ölen	Bilinmeyen	p
CD133				
Boyanma yok	%0.0 (0/8)	%0.0 (0/2)	%0.0 (0/6)	0.970
%50≥	%62.5 (5/8)	%50(1/2)	%66.7 (4/6)	
%50<	%37.5 (3/8)	%50(1/2)	%33.4 (2/6)	
CD133				
Boyanma yok	%0.0 (0/8)	%0.0 (0/2)	%0.0 (0/6)	0.930
Soluk	%37.5 (3/8)	%50 (1/2)	%66.7 (4/6)	
Orta Şid.	%25.0 (2/8)	%0.0 (0/2)	%16.7 (1/6)	
Şiddetli	%37.5 (3/8)	%50 (1/2)	%16.7 (1/6)	
CD133				
Boyanma yok	%0.0 (0/8)	%0.0 (0/2)	%0.0 (0/6)	0.851
Sitoplazmik	%37.5 (3/8)	%50 (1/2)	%66.7 (4/6)	
Membranöz	%12.5 (1/8)	%0.0 (0/2)	%16.7 (1/6)	
S/M*	%50.0 (4/8)	%50 (1/2)	%16.7 (1/6)	

*S/M: Sitoplazmik+membranöz boyanma

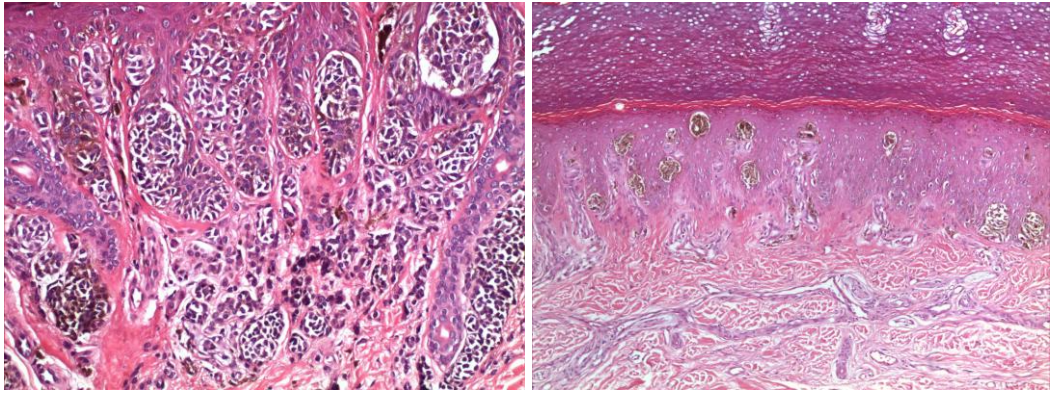
Tablo 38. Lenf nodu metastazı bulunan olgularda nestin ile prognoz arasında ilişki

	Yaşayan	Ölen	Bilinmeyen	p
Nestin				
Boyanma yok	%0.0 (0/8)	%0.0 (0/2)	%0.0 (0/6)	0.710
%50≥	%25 (2/8)	%0.0(0/2)	%50 (3/6)	
%50<	%75 (6/8)	%100(2/2)	%50 (3/6)	
Nestin				
Boyanma yok	%0.0 (0/8)	%0.0 (0/2)	%0.0 (0/6)	0.260
Soluk	%12.5 (1/8)	%0.0 (0/2)	%66.7 (4/6)	
Orta Şid.	%50.0 (4/8)	%50 (1/2)	%16.7 (1/6)	
Şiddetli	%37.5 (3/8)	%50 (1/2)	%16.7 (1/6)	
Nestin				
Boyanma yok	%0.0 (0/8)	%0.0 (0/2)	%0.0 (0/6)	0.170
Sitoplazmik	%37.5 (3/8)	%100 (2/2)	%83.3 (5/6)	
Membranöz	%0.0 (0/8)	%0.0 (0/2)	%0.0 (0/6)	
S/M*	%62.5 (5/8)	%0.0 (0/2)	%16.7 (1/6)	

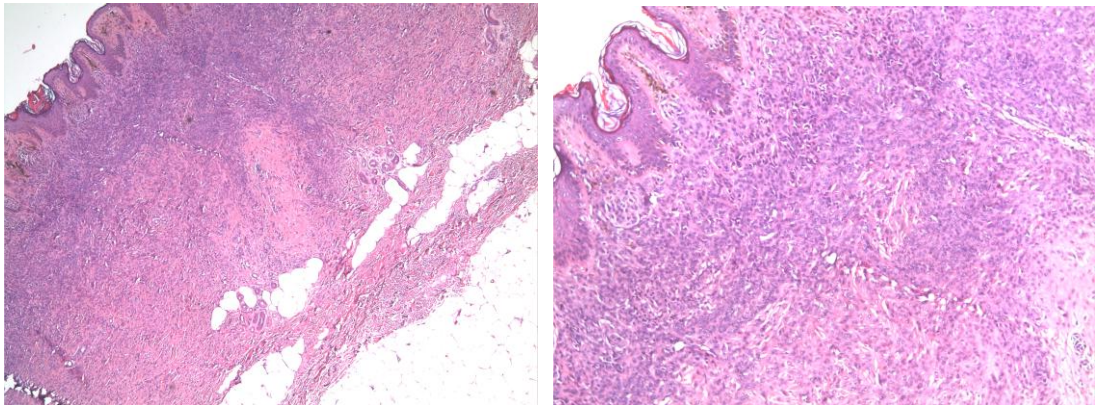
*S/M: Sitoplazmik+membranöz boyanma



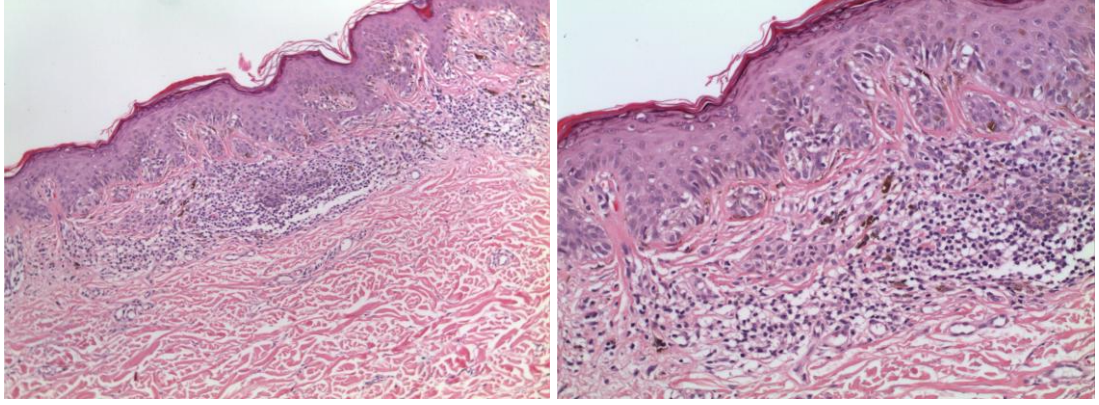
Resim 1. (P.1885.06 ve P.562.09) Melanositik dermal nevüs olgularında lipomatöz ve schwannian maturasyon alanları



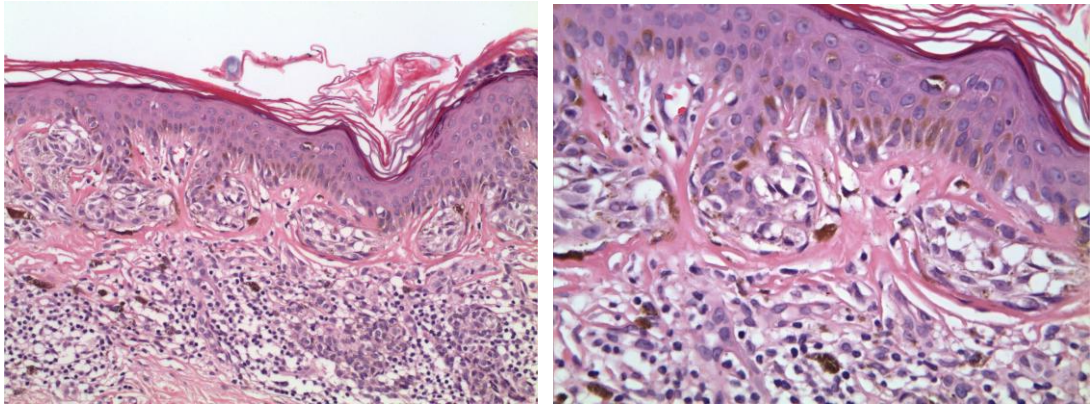
Resim 2. (P.2172.06 ve P.5635.08) Melanositik compound ve Junctional nevüs



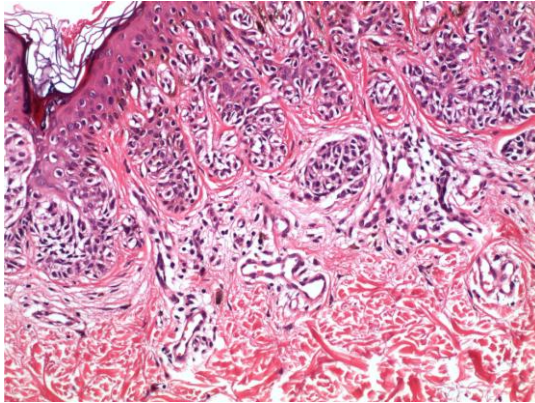
Resim 3. (P.1535.07) Konjenital nevüs



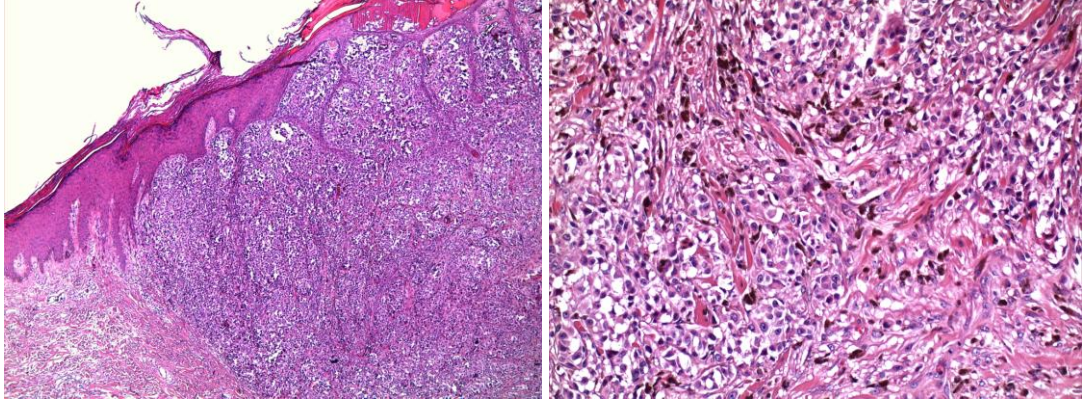
Resim 4. (P.1111.08) Displastik nevüs



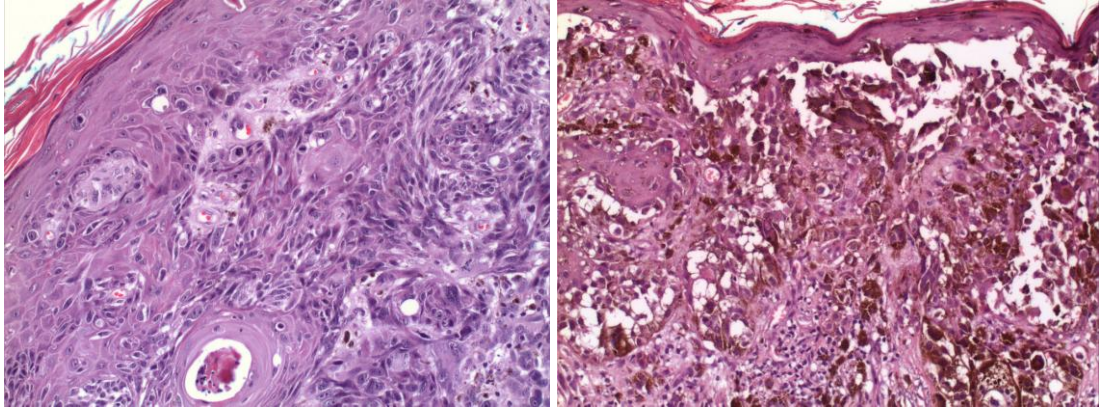
Resim 5. (P.1111.08) Displastik nevüs olgusunda rete füzyonu, fibroplazi ve lenfosit infiltrasyonu



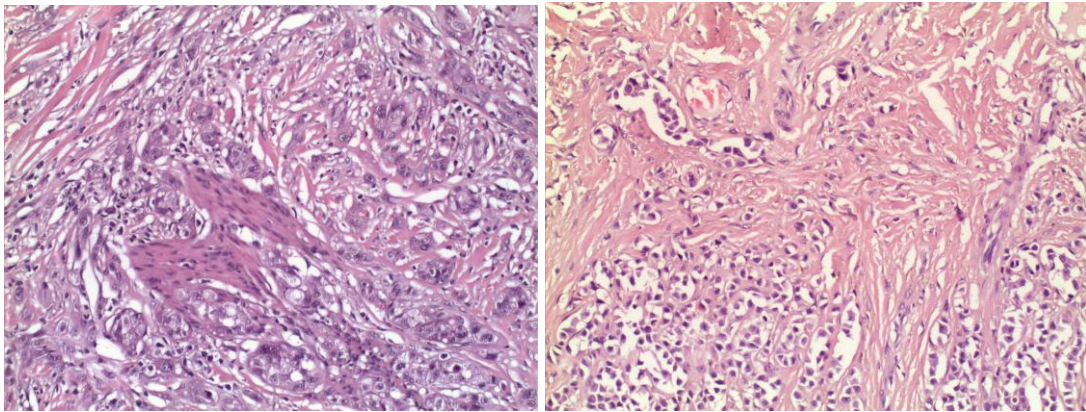
Resim 6. (P.2368.08) Displastik nevüs olgusunda vasküler proliferasyon



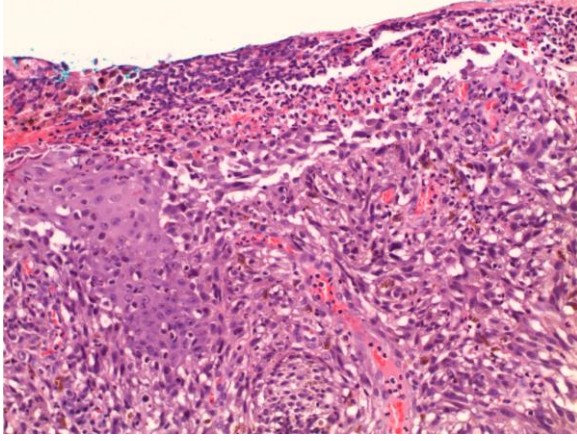
Resim 7. (P.22260.09 ve P.14698.09) Nodüler melanom olgularında epiteloid hücreler



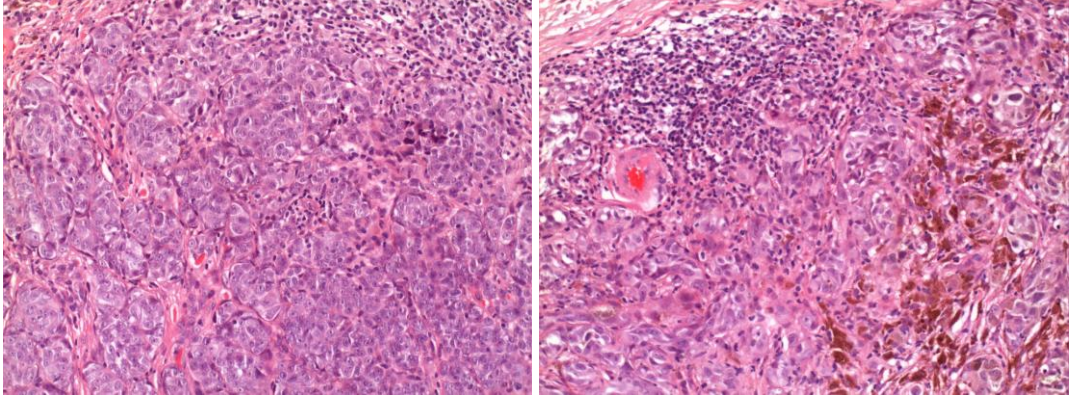
Resim 8. (P.9670.09 ve P.3616.09) Yüzeyel yayımlı melanom ve lentigo malign melanom



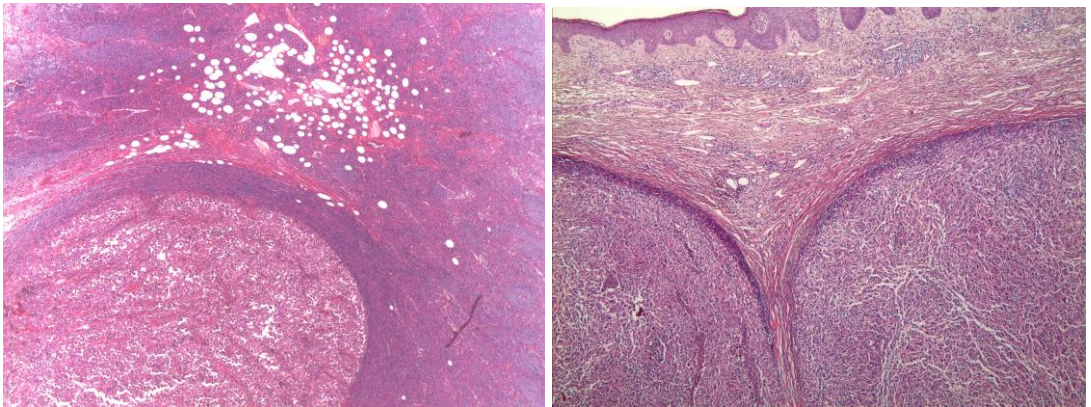
Resim 9. (P.271.09 ve P.7688.09) Melanom olgusunda perinöral ve lenfovasküler invazyon



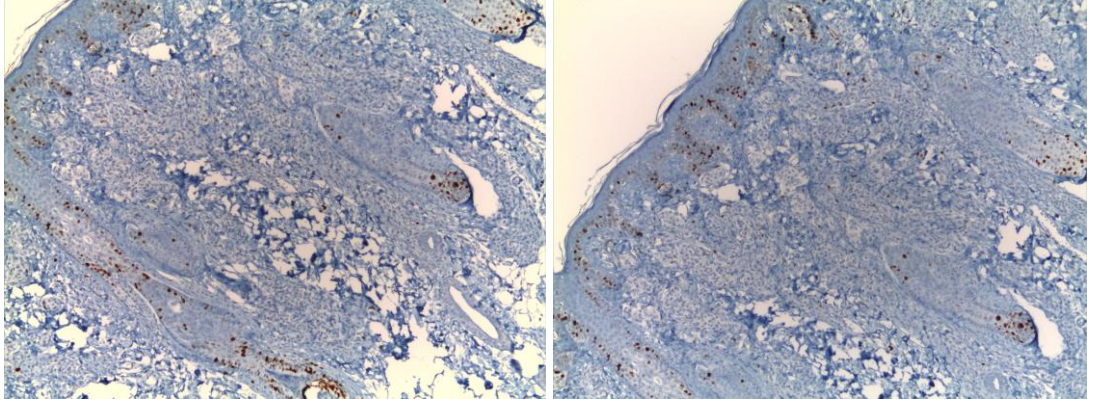
Resim 10. (P.9876.09) İğsi hücreli melanom olgusunda ülserasyon



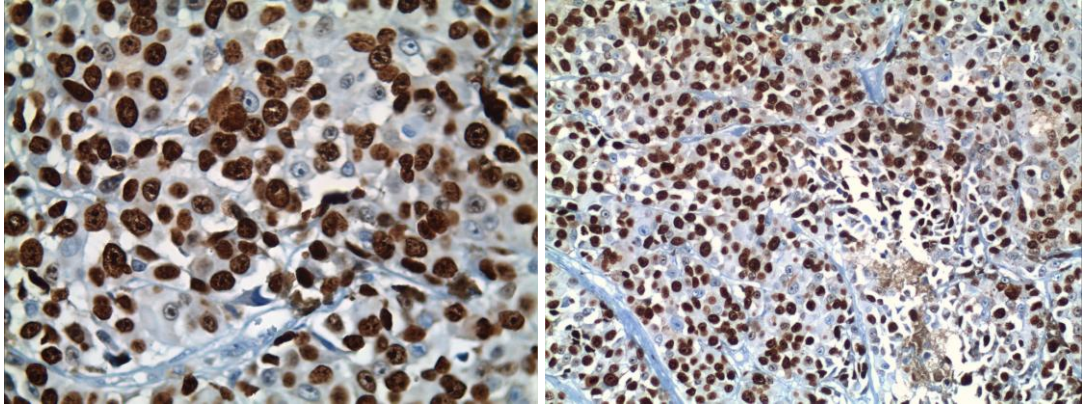
Resim 11. (P.12303.11 ve P.271.09) Melanom olgusunda hafif- yoğun lenfosit infiltrasyonu



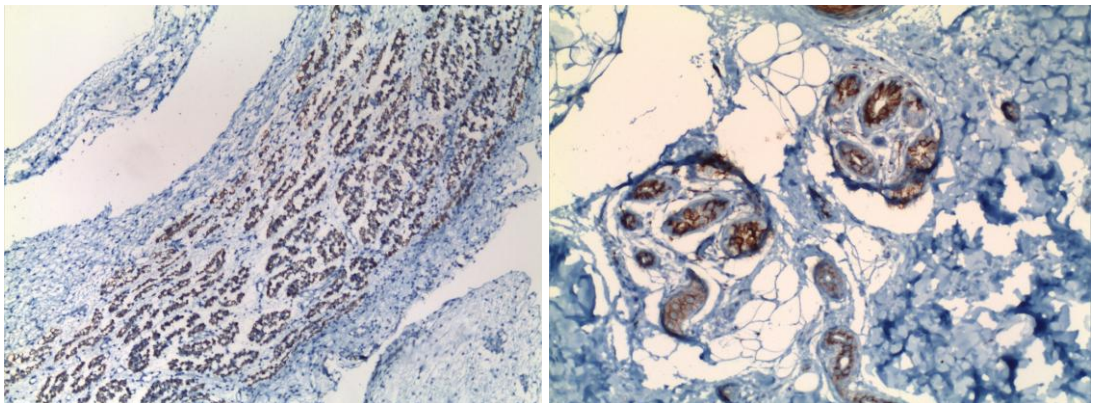
Resim 12. (P.297.06 ve P.2469.06) Lenf nodülünde lenf nodu metastazı ve Satellit nodül/kutanöz metastaz



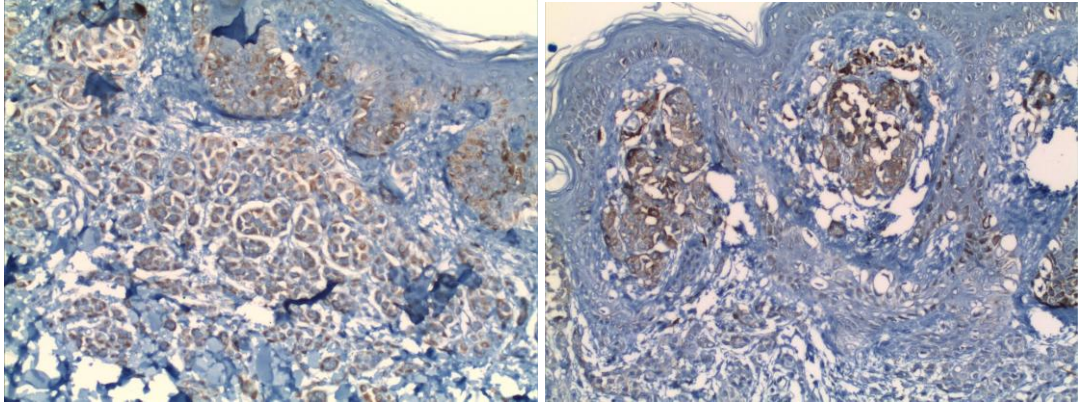
Resim 13. (P. 11836.08) Melanositik kom-pound nevüs olgusunda Ki-67 ekspresyonu



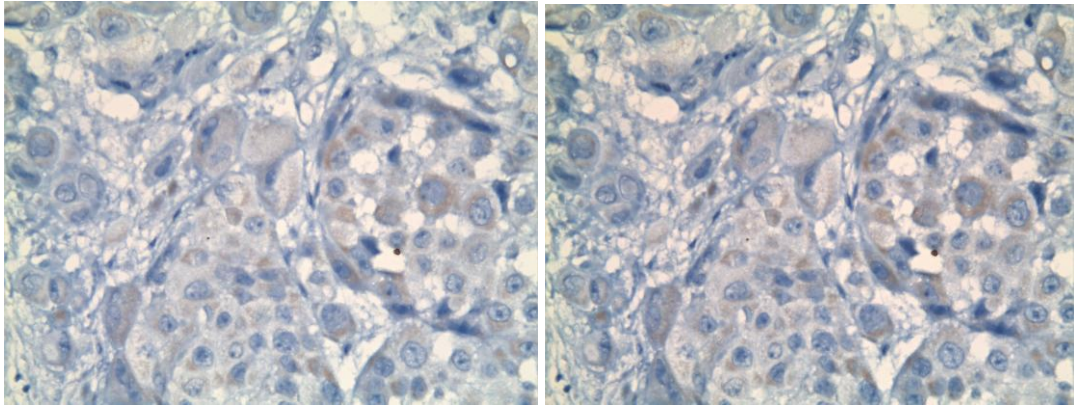
Resim 14. (P. 8223.11 ve P.6472.07) Malign melanom olgularında Ki-67 ekspresyonu



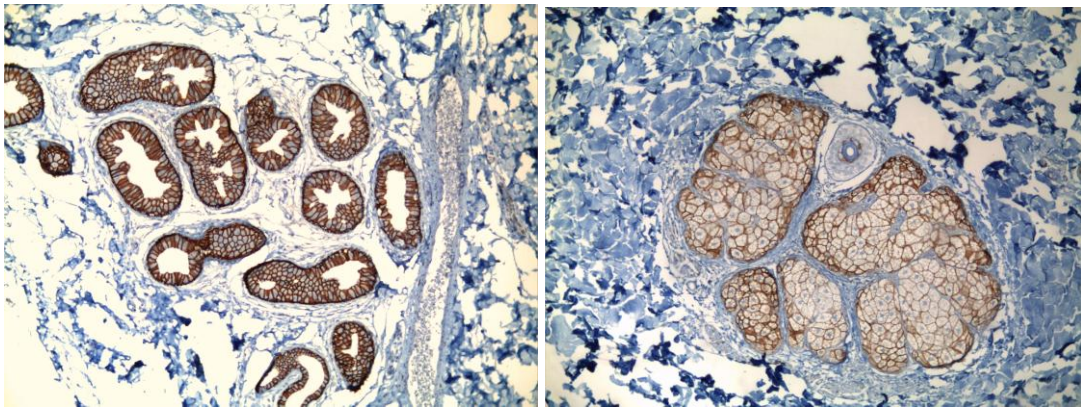
Resim 15. (P. 12064.08) Fetüs glial doku ve deride CD133 ekspresyonu



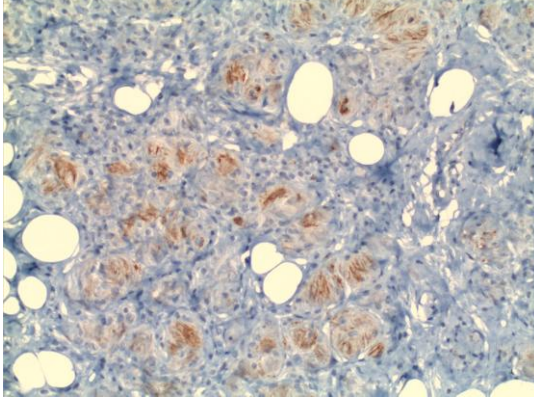
Resim 16. (P.795.11 ve P.2145.06) Melanositik kompond ve dermal nevüs olgusunda orta şiddette sitoplazmik CD133 ekspresyonu



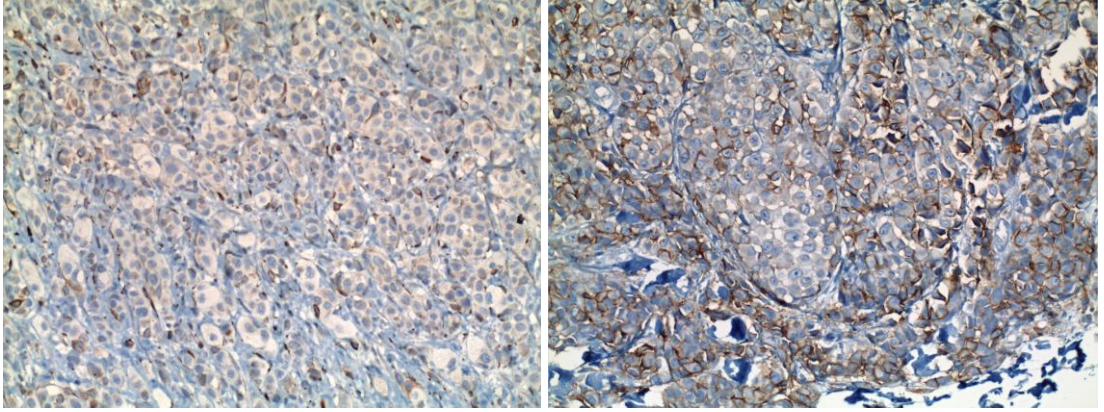
Resim 17. (P.8961.08) Malign melanom olgularında soluk sitoplazmik CD133 ekspresyonu



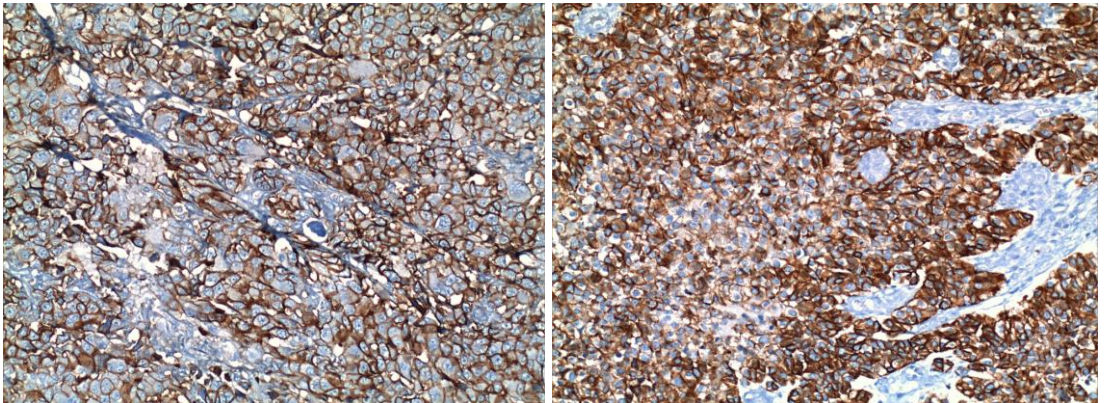
Resim 18. (P.84.06 ve P.3394.11) Deride ektrin ter bezleri ve sebase bezlerde CD166 ekspresyonu



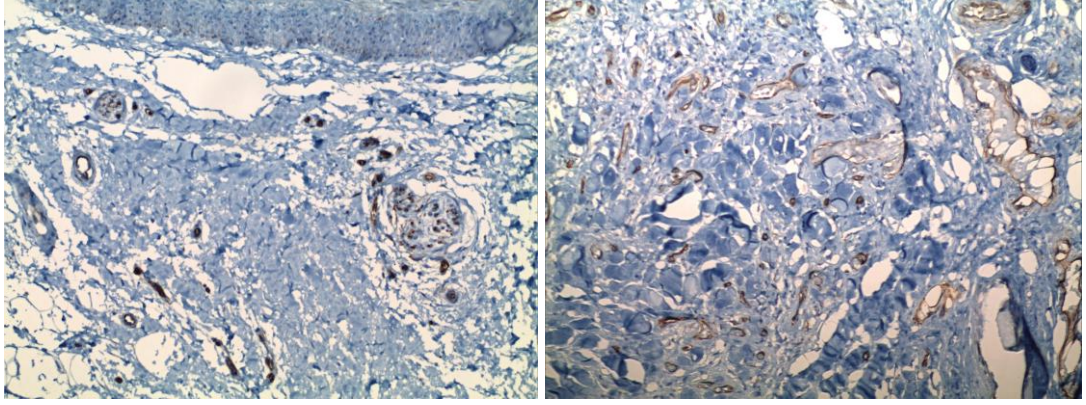
Resim 19. (P.562.09) Melanositik dermal nevüs olgularında orta şiddette sitoplazmik CD166 ekspresyonu



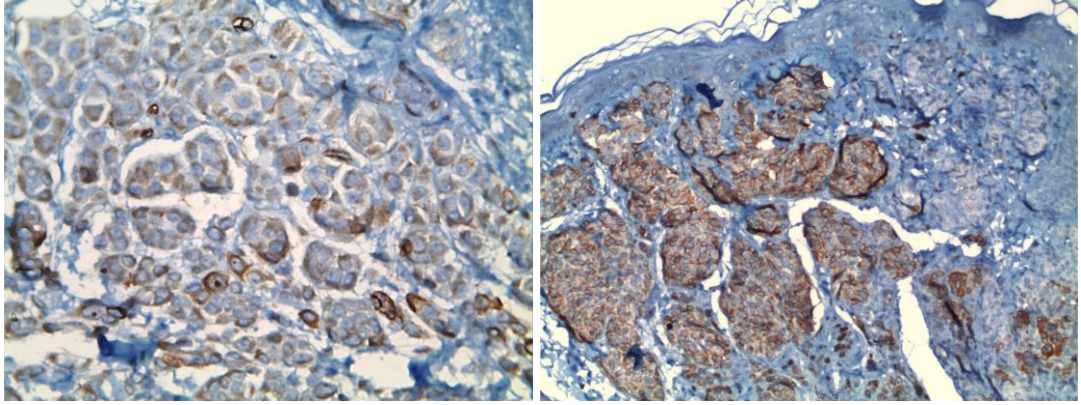
Resim 20. (P.25233.08 ve P.8223.11) Malign melanom olgularında soluk-orta şiddette sitoplazmik CD166 ekspresyonu



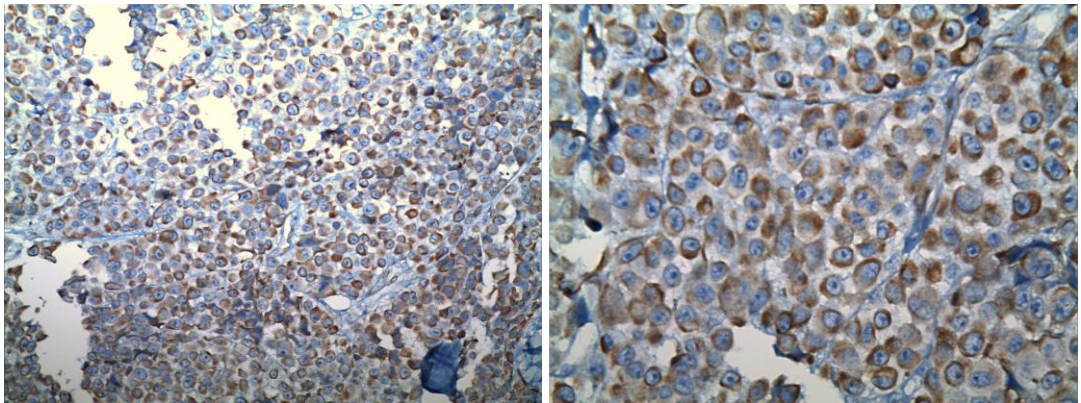
Resim 21. (P.3532.06 ve P.8764.11) Malign melanom olgularında şiddetli sitoplazmik+membranöz CD166 ekspresyonu



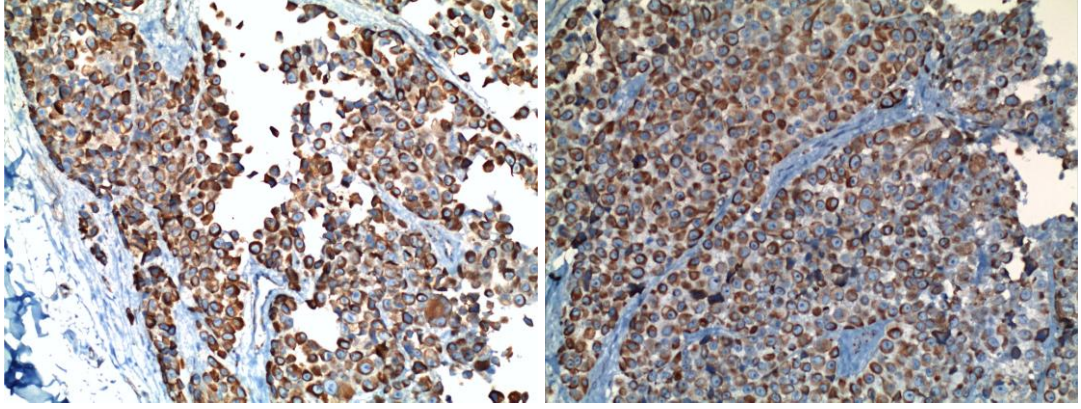
Resim 22. (P.25233.08 ve P.468.10) Deride endotel hücreleri ve periferik sinirlerde nestin ekspresyonu



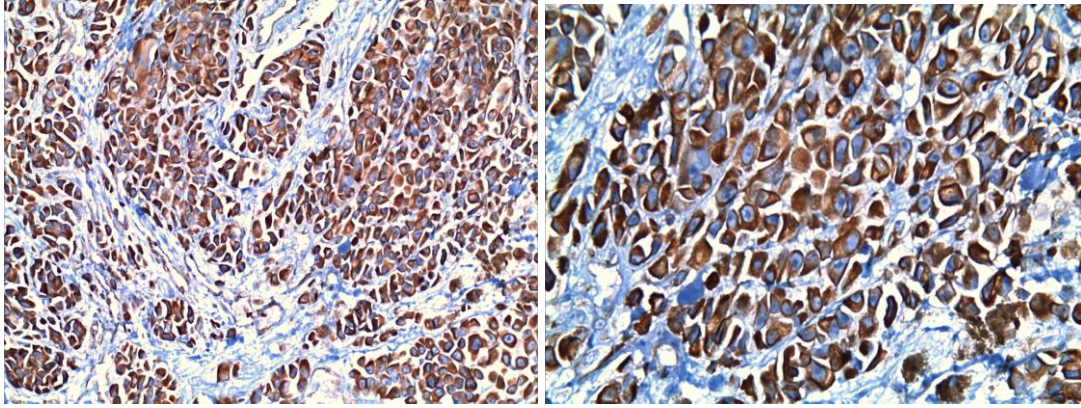
Resim 23. (P.12064.08 ve P. 13642.06) Melanositik compound nevüs olgularında orta şiddette-şiddetli sitoplazmik nestin ekspresyonu



Resim 24. (P.24690.09) Malign melanom olgularında orta şiddette sitoplazmik nestin ekspresyonu



Resim 25. (P.2433.10) Malign melanom olgularında şiddetli sitoplazmik+membranöz nestin ekspresyonu



Resim 26. (P.8223.11) Malign melanom olgularında şiddetli sitoplazmik+membranöz nestin ekspresyonu

5. TARTIŞMA

Son birkaç dekad boyunca, endüstriyel ülkelerde yaşayan beyaz ırktaki melanom insidansında artış görülmüştür [11]. Dünyada görülme sıklığının 1950'den 2000'e, %600 oranında arttığı bildirilmekte, hastaların %15-25'inde metastaz gelişebileceği ve bunların çoğunun öleceği öngörülmektedir [108]. Özellikle erişkin ve yaşlıları etkileyen ve insidansı hayatın 6.dekadında pik yapan melanomun, son yıllarda orta yaşta ve genç erişkinlerde görülme sıklığı da artmıştır [8]. Bizim çalışmamızda benign melanositik lezyonlar daha çok yaşamın 20-30'lu yaşlarında, malign melanositik lezyonlar daha çok 60-70'li yaşlarında görülmüştür saptanmıştır.

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 [3]. Çalışmamızda benign melanositik lezyonlar istatistiksel anlamlı olacak şekilde kadınlarda, malign melanositik lezyonlar erkeklerde daha fazla görülmüştür saptanmıştır.

Melanomlar içinde histolojik subtip olarak en sık yüzeyel yayımlı melanom'un geliştiği bildirilmektedir [8]. Çalışma grubumuzda 62 melanom vakasının 30'u (%48.4) nodüler tip, 14'ü (%22.6) yüzeyel yayımlı, 7'si (%11.3) akral lentiginöz, 3'ü (%4.8) lentigo malign melanom, 1'i (%1.6) desmoplastik tip, 1'i (%1.6) blue nevüs kökenli, 6'sı (%9.7) spesifiye edilemeyen tip (NOS) niteliğindedir. Elde edilen veriler literatür bilgileri ile hafif farklılık göstermektedir. Bizim serimizde nodüler melanom daha sık saptanmıştır. Bunun olası nedeni malign melanositik lezyonlu hasta çalışma grubunun tüm populasyonu yansıtmaması ve nispeten küçük bir grup olmasından kaynaklanabilir.

2009 yılında 30000 üzerinde hasta populasyonunda yeni veri tabanına göre yapılan çalışmada bağımsız olası prognostik faktörlerin analizinde tümörün invazyon derinliği (Clark-level, Breslow kalınlığı), ülserasyon varlığı, mitoz sayısı, regresyon, tümörü infiltre eden lenfositler, lenfovasküler invazyon, mikrosatellitöz ve lenf nodu metastazı gibi faktörlerin prognoz üzerine önemli etkisi olduğu bildirilmiştir [36, 109]. Çalışmamızda melanomlu olgular, histolojik subtip, baskın hücre tipi, epidermiste ülserasyon varlığı, Clark level- Breslow tümör kalınlığı, dermal tümöral

hücrelerde mitoz sayısı, radyal ve vertikal büyüme fazı, vasküler veya lenfatik invazyon, perinöral invazyon, mikroskopik satellitoz'un prognoz üzerine etkisi araştırılmış olmakla birlikte klinik takip verilerine ulaşamayan olgu sayısının tüm olguların yaklaşık %44.5'ini oluşturması ve klinik takip verilerine ulaşılan olgular arasında ölen olgu sayısının yaşayan olgu sayısına göre çok az olması (ölen sayısı/yaşayan sayısı) nedeni ile istatistiksel olarak sağlıklı bir değerlendirme ve yorumlama yapılamamıştır.

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. İğsi hücreli (C tipi) nevüslerde nöral/nörotize veya schwanian maturasyon görülebilir ve periferik sinir kılıfı tümörleri ile ayırıcı tanı yapılmalıdır [7, 11, 22]. Bizim çalışmamızda benign melanositik lezyonlarda maturasyon izlenmiş olup, ayrıca %17.5'inde lipomatöz maturasyon, %20'de schwanian maturasyon saptanmıştır.

Melanositik lezyonlarda simetri, daha çok nevüslerde görülen bir özelliktir ve displastik nevüsler, klinik olarak genellikle düzensiz sınırlı ve asimetrik lezyon oluşturmaları nedeniyle, malign melanomlarla karışabilirler [3, 8]. Yüzeyel yayımlı melanomda lezyon yüksek oranda asimetrik bir görünüme sahipken, nodüler melanomlar genellikle iyi sınırlı ve simetrik lezyonlardır [7, 8]. Çalışmamızda displastik nevüslerin %61.1'inin asimetrik görünümde olduğu saptanmıştır.

Yuvalanma tarzı melanositik proliferasyon, tipik olarak melanositik nevüslerde görülen bir özelliktir ve malign melanom olgularında da melanom hücrelerinin büyük yuvalar oluşturduğu görülebilir [3, 7]. Bizim çalışmamızda displastik nevüslerin %51.9'unda fokal, %48.1'inde yaygın şekilde yuvalanma izlenmiştir.

Displastik nevüslerde papiller dermisde fibroplazi (konsantrik, lameller), lenfositik infiltrasyon, vasküler proliferasyon varlığı konak immün yanıtın sonucudur [3]. Bizim çalışmamızda da displastik nevüslerin %57.4'ünde lameller, %42.6'sında konsantrik fibroplazi saptanmıştır. Olguların %88.9'unda daha çok hafif düzeyde olmak üzere vasküler proliferasyon izlenmiştir. Edinsel nevüsler ve konjenital nevüslerde fibroplazi vasküler proliferasyon izlenmemiştir. Tümöre infiltre lenfosit

varlığı, melanomlarda iyi prognozla ilişkilendirilen ve tanısal olarak da kullanılan bir bulgudur [7, 22]. Displastik nevüslerde de benzer şekilde “junctional” aktivitenin hemen altında yer alan dermiste dağınık, saçılmış, hafif-orta derecede bir lenfosit infiltrasyonu görülebilir [7]. Crowson ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada melanom olgularında lenfositlerin yoğun infiltrasyon göstermesi sonucu sağkalımın daha iyi olduğunu bildirmişlerdir [38]. Çalışmamızda primer melanom olgularının %45.2’sinde, displastik nevüslerin %87.1’inde genellikle daha hafif şiddette olmak üzere lenfosit infiltrasyonu saptanmıştır. Edinsel nevüsler ile konjenital nevüslerde iltihabi hücre infiltrasyonu izlenmemiştir.

Regresyon varlığı melanom olgularında mutlaka araştırılması gereken bir parametredir, ancak prognostik önemi halen tartışmalıdır. Çoğu çalışmada önemsiz iken, bazı çalışmalarda regresyonlu ince melanomlarda metastaz oranının yüksek olduğu bildirilmiştir [60-62]. Bizim serimizde hiçbir melanom vakasında regresyon bulunmamıştır. Çalışmadaki melanom olgularının sınırlı, küçük bir grup olması, popülasyondaki tüm melanom olgularını yansıtmaması bu durumun nedeni olabilir.

Lenfovasküler invazyonu H-E kesitlerde değerlendirilmesi zor olabilen bir parametredir. Bazı çalışmalarda lenfovasküler invazyon ile metastaz arasında çelişkili sonuçlar bulunmuştur [110, 111]. Sahni ve arkadaşları bir lenfatik belirteç olan LVYE-1 immünohistokimyasal boyama ile lenfatik yayılımın ortaya konulabileceğini, metastazı öngörmede güvenilir olmadığını ve 2/3’den fazla hastada metastazı belirlemede başarısız olduğunu bildirmişlerdir. [110]. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada anti-D2.40 (podoplanin), 1mm’den daha kalın melanomlarda vasküler invazyonun, sentinel lenf nodu tutulumu ve sağkalım ile korele olduğunu, rutin uygulamada kullanılmasının yararlı olacağını bildirmişlerdir [112]. Bizim çalışmamızda melanom vakalarının %11.3’ünde lenfovasküler, %9.7’sinde perinöral invazyon izlenmiştir. LVİ bulunan olguların %42.85’inde daha sonra kutanöz veya LN metastazı gelişmiştir. LVİ negatif olgular içinde %43.63’ünde LN ve/veya kutanöz metastaz izlenmiştir. H-E kesitlerde primer melanom odağında LVİ saptanmamış olmakla birlikte daha sonra metastaz gelişen olguların varlığı H-E kesitte gözden kaçabilecek lenfovasküler invazyonun bulunması olasılığını düşündürmektedir.

Melanom olgularında mikrosatellitoza ait literatürde sınırlı sayıda çalışma vardır, bağımsız risk faktörü olarak değerlendirilebilir. Harrist ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 1,5 mm üstü kalınlıkta tümör ve mikrosatellit varlığının lenf nodu metastaz oranı ve lokal nüks oranının fazla olduğunu göstermiştir [113]. Bizim çalışmamızda mikrosatellitöz olguların %11.2'sinde saptanmıştır.

Melanom'da epidermiste ülserasyon varlığı, modifiye Breslow tümör kalınlığı ve Clark invazyon seviyesi önemli bağımsız prognostik faktörler olarak bildirilmektedir. Clark level II-IV arası gözlemciler arasında değişkenlik fazladır. Polipoid ve verrüköz tümörlerde Breslow kalınlığı ve Clark level III paralel olmayabilir. Bazı çalışmalarda Clark level'in prognostik değerinin olmadığı, klinik seyri Breslow tümör kalınlığının belirlediği ileri sürülmektedir. [36, 109]. Çalışma grubumuzda klinik takip verilerine ulaşamayan hasta grubunun yüksek olması nedeni ile bu parametrelerin prognostik öneminin araştırılması sağlıklı sonuç vermemiştir.

Ki-67 immünreaktivitesi melanositik lezyonların benign veya malign davranışı ile ilişkilidir ve melanom, nevüs ayrımında yardımcı olabilir [103]. Ki-67, G0 fazı hariç hücre siklusunun tüm dönemlerinde ekprese edilir [84]. Fogt ve arkadaşlarının 14 banal nevüs, 7 displastik nevüs, 12 radyal büyüme fazındaki melanom ve 8 vertikal büyüme fazındaki melanom olgularında, Ki-67 indeksini araştıran çalışmasında, nevüslerde <%1, displastik nevüslerde ortalama %1.6, radyal büyüme fazındaki melanomlarda ortalama %23.3, vertikal büyüme fazındaki melanomlarda ortalama %20.1 olarak belirlenmiştir [114]. Nevüs ve displastik nevüsler arasında anlamlı bir fark izlenmezken, melanomlar ile nevüs/displastik nevüslerden daha yüksek oranda anlamlı bir fark bulunmaktadır [114]. Nasr ve arkadaşlarının yaptığı bir diğer çalışmada 18 malign melanom, 20 displastik nevüs, 8 spitz nevüs ve 20 kompond nevüs olgularında Ki-67 indeksini araştırmışlar [115]. Bu çalışmaya göre benign melanositik lezyonlarda Ki-67 indeksi %5'den (%0-4) az ve dermoepidermal bileşkeye yakın, melanomlarda Ki-67 indeksi %27 (%5-50) ve tüm dermis boyunca heterojen bir boyanma saptanmıştır [115]. Nasr ve arkadaşları bu oranlarla benign ve malign melanositik lezyonların ayrımında Ki-67'nin güvenilir bir belirleyici olduğunu öne sürmüşlerdir. Bizim çalışmamızda benign melanositik lezyonlarda Ki-67 indeksi %1'in altında, malign melanositik lezyonlarda %28-35

olarak bulunmuştur. Çalışma grubumuzda benign melanositik lezyonlar ile malign melanositik lezyonlar arasında malign grupta daha yüksek olmak üzere, primer malign melanom grubu ile displastik nevüs grubu arasında melanomlarda daha yüksek olmak üzere istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. ($p=0.00$) Malign melanositik lezyonların kendi arasında anlamlı bir fark izlenmezken, benign melanositik lezyonların kendi arasında displastik nevüslerde yüksek olmak üzere anlamlı bir fark izlenmiştir. Bizim çalışmamızda saptadığımız, displastik nevüslerde Ki-67 proliferasyon indeksinin yüksekliği bu lezyonların melanom prekürsörü olma özelliğini destekleyen bir bulgu olarak yorumlanabilir.

Kök hücreler, kendi kendilerini yenileyebilen ve belirli organa veya dokuya özel karakteristikleri olan, olgun hücreye farklılaşabilen hücreler olarak tanımlanmaktadır. Kök hücreleri; embriyonik kök hücreleri, germinal kök hücreleri ve somatik kök hücreleri olmak üzere üç ana gruba ayrılır [116].

1. Embriyonik kök hücreler (EKH): Blastosistin iç hücre tabakasını oluşturur. EKH omnipotenttir, yani yetişkin organizmadaki herhangi bir hücre tipini oluşturma kabiliyeti vardır. Günümüzdeki EKH araştırmaları, daha çok doku transplantasyonu ve tamirinde kullanılmak üzere doku ve organ oluşumuna odaklanmıştır.

2. Germinal kök hücreleri (GKH): Embriyonun germinal tabakasından oluşmaktadır. Germinal kök hücreler farklılaşarak belli organları oluştururlar.

3. Somatik veya yetişkin dokuya özgü kök hücreler: EKH gibi totipotent değildirler, fakat kendilerini yenileme kapasiteleri vardır ve belli organ veya dokudaki tüm hücrelere farklılaşabilirler. Somatik kök hücreler (SKH) birçok farklı organda belirlenmiştir; kemik iliği, nöral doku, deri, meme, prostat, akciğer, karaciğer, over ve benzeri. Bu kök hücreler hayat boyunca dokunun sınırları içinde dokunun yenilenmesini ve devamını sağlarlar. Bu hücreler normal dokunun hemostazını, tamirini, yaralanmadan sonra iyileşmesin sorumludurlar. Saç, kan, deri, sperm ve gastrointestinal epitel hücreleri gibi yaşam süresi kısa olan ve hızla yenilenme gereksinimi olan hücreler SKH havuzlarında yenilenirler [116].

Kök hücre biyolojisinde en önemli konu; kendi kendini yenileme ve farklılaşmayı düzenleyen mekanizmalarını anlama çabalarıdır. Farklı organlardaki kök hücrelerin gelişim potansiyelinin değişik olmasına karşın, bütün kök hücreler

kendi kendini yenileme ve farklılaşma arasındaki dengeyi korumakla yükümlüdür. Kansere ilgili birçok sinyal ileti sistemi kök hücrelerin kendi kendini yenileme ve farklılaşmasını da düzenlemektedir. Wnt, Hedgehog, Shh ve Notch sinyal ileti yollarının kök hücrelerinin kendi kendini yenileme özelliğinin düzenlenmesindeki rollerinin anlaşılması, tümör oluşumunun anlaşılmasına yeni ışık açmıştır. Normal ve transforme olmuş kök hücrelerin kendi kendilerini yenileme mekanizmaları benzer sinyal ileti sistemleri ile, fakat farklı şekilde düzenlenmektedir. Wnt sinyal ileti sistemi, reseptörlerinin bağlanması ile aktif hale gelir, β -catenin'in yıkılımı kompleksinden ayrılmasını sağlar ve nükleusa geçer ve burada Cyclin D1 ve C-MYC gibi genlerin transkripsiyonunu düzenleyerek kök hücrelerin kendi kendini yenilemesini ve farklılaşmasını sağlar. Transgenik farelerde yapılan in vivo çalışmalar, epidermal kök hücrelerde Wnt sinyal ileti sisteminin aktif hale gelmesiyle epitel hücre kökenli kanserlerin oluşumuna öncülük ettiğini göstermektedir [117]. Wnt sinyal ileti sistemi, kök hücrelerin kendi kendilerini yenilemesi mekanizmasına sadece farklı epitel hücrelerinde değil, aynı zamanda hematopoetik kök hücrelerde de katılır. Normalde kök hücrelerinin kendi kendilerini yenilemesini düzenleyen sinyal ileti sistemlerinde oluşabilecek bozuklukların tümör oluşumuna öncülük edebildiği düşünülmektedir [117].

Kanser kök hücre teorisine göre, bunlar kanser hücrelerinin kendi kendilerini yenileme ve farklılaşma özelliği olan alt gruplarıdır. Yalnız bu iki özelliğe sahip hücreler “Kanser Kök Hücresi” (KKH) olarak adlandırılır. Kanser kök hücresi “kanseri başlatan hücre” olarak da adlandırılmaktadır [118]. Son zamanlarda hematolojik maligniteler [76], meme [75], beyin [119, 120], dalak [121], baş ve boyun [122], kolon [123], deri [124], ve over [125] kanserlerinde KKH'leri saptanmıştır.

Kanserin “gelişimsel paradigmasında” tümördeki hücrelerin hiyerarşisi vurgulanır. Buradaki hiyerarşiden hücresel heterojenite kastedilmektedir, tümörü çevreleyen invaziv endotelial, hematopoetik hücre veya diğer kanser olmayan hücreler anlamında kullanılmamakta, heterojenite daha çok tek tümördeki kanser hücrelerinin farklılığını ifade etmektedir. Örnek olarak immün yetersiz farelerde yapılan fonksiyonel çalışmalar tümörde, yalnızca belli grup hücrelerin tümör büyümesini sağladığını, fakat diğer hücrelerin sağlamadığı gösterilmiştir. Bu da kanser kök

hücrelerinin iki ana görevi olduğunu göstermektedir: kendi kendini yenileme ve farklılaşma [126]. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda gerek kalıtsal ve gerekse sporadik meme kanserlerinin normal meme kök ve/veya öncü hücrelerinin kendi kendini yenileme mekanizmasının, yani sinyal ileti sisteminin düzenlenmesindeki değişiklikten kaynaklandığı gösterilmiştir. Oluşan tümörler farklı kanser kök hücre popülasyonlarından kaynaklanabilir. Heterojenite nedeni olarak, farklılaşmış kanser hücrelerinin ya farklı kök hücreleri veya farklı mutasyon profillerinin varlığı düşünülmektedir. Bu farklılıklar, hücrelerin moleküler profilleri ile belirlenebilir. Bu da kanserin önlenmesi ve uygun tedavi stratejisinin geliştirilmesi için doğru hedefin seçilmesini kolaylaştırabilir [127]. Bu nedenle son çalışmalarda çeşitli tümörlerde kanser kök hücrelerinin varlığı araştırılmaktadır.

Son zamanlarda kanser kök hücre hipotezi ile kanserin, tümör dokusunda oluşan kök veya öncü hücrelerden oluştuğu öne sürülmektedir. Kanser kök hücreleri veya kanseri başlatan hücreler olarak da adlandırılan bu hücrelerin, kanserin başlaması, ilerlemesi ve klasik tedavi şekillerine direnç göstermesinden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Multipotent, dokuya özgü, yetişkin kök hücrelerinde ve/veya öncü hücrelerinde ortaya çıkan genetik ve/veya epigenetik değişikliklerin, “kanser kök hücreleri” veya “kanseri başlatan hücreler” olarak da bilinen kanser öncü hücrelerinde tümör oluşumunu başlattığı birçok araştırmacı tarafından gösterilmiştir [128]. Kanser gelişimi esnasında lösemik veya tümörijenik kanser öncü hücrelerinde genetik veya epigenetik değişikliklerin birikimi, tümör hücrelerinin fenotipik değişiklik göstermeleri, diğer organlara metastaz yapması için invaziv özellik kazanmaları gerektiğini göstermektedir. Tümör gelişimindeki kanser kök hücre modeli, hasta tümör dokusundan izole edilen diferansiasyonu düşük lösemik veya tümörijenik kanser kök hücrelerinin in vivo ve in vitro olarak farklılaşmış kanser hücre kitlesi oluşturduğu ve bunların lösemi veya tümör oluşumundan sorumlu olduğunun gösterilmesi ile desteklenmiştir [128].

Melanom gelişiminde klasik hipoteze göre, CDKN2A, PTEN, TP53, RAS ve MYC gibi onkogen ve tümör süpressör genlerde bir dizi genetik değişiklikler olduktan sonra melanositler farklılaşmakta ve melanom diferansiye matür hücrelerden savunmuştur [12]. Ancak, artan kanıtlar göstermektedir ki; kanser hücreleri kök hücrelerin farklılaşması ile meydana gelebilir. Bunlar sürekli çoğalarak

ve multipl hücre soylarına farklılaşarak kendi kendini yenileyebilirler. Akut myeloid lösemi, meme kanseri ve glioblastoma gibi bir çok farklı malignitelerde de kanser kök hücrelerinin varlığı belirlenmiştir [14, 75-77]

Deneyisel çalışmalarda multipotent kök hücreleri içeren fare kıl folikülü kökünün, derinin tüm epitelyal hücrelerini üretmek için potansiyel bir yer olduğu saptanmıştır [129]. Melanositik kök hücreler fare kıl folikülü kökünde tesbit edilmiştir [69]. İnsanda, kıl siklusu ile ilgili deneyler ile ve vitiligo'daki deneyler, kıl follikülünün insan derisindeki melanositlerin kök hücre rezervuarı olduğunu göstermiştir. Bu melanositik kök hücrelerin edinsel nevüs ve melanom patogeneğinde rol oynadığı düşünülmektedir [69, 71].

Dokuya özgü hücre yüzey belirteçleri kullanılarak kanser tipine özgü kanser kök hücrelerini belirlemek mümkündür [128, 130]. Son yıllarda yapılan çalışmalarda melanositlerde bulunan 3 kök hücre belirteci bildirilmiştir. Bunlar immünglobulin ailesine ait bir aktive lökosit adezyon molekülü olan CD166, insan prominin-1 olarak da isimlendirilen CD133 ve intermediate bir filaman olan nestin'dir [78].

CD133, fetal beyin, endotelial progenitör ve hematopoetik kök hücrelerin yüzeyinde normalde eksprese olur. Endotel ve astrositlerin in vivo ve in vitro olarak nöronlara farklılaşma yeteneğine sahip dermal kökenli hücrelerin bir alt kümesini saptamak için kullanılmıştır [89, 90]. CD133, lenfoblastik lösemi yanında akut ve kronik myeloid lösemide de eksprese olmaktadır [131]. Benign ve malign melanositik lezyonlarda kök hücre belirteçlerinin ekspresyonunu araştıran çalışmalardan birinde 71 banal nevüs olgusunun %17'sinde, 71 melanom olgusunun %39'unda, 84 metastatik melanom olgusunun %46'sında CD133 pozitifliği saptanmıştır. CD133 ile pozitif boyanan nevüslerin çoğu fokal orta şiddette boyanma (hücrelerin %5-15) göstermiş ve nevüslerde diffüz güçlü boyanma izlenmemiştir. Primer melanom ve metastatik melanomlarda pozitif boyanan vakalar arasında zayıf-orta-güçlü boyanma arasında değişen bir spektrumda diffüz boyanma saptanmış. Fokal boyanma, primer melanom ve metastatik melanomlarda seyrek olarak saptanmıştır [78]. Çalışmamızda 145 benign lezyon (edinsel nevüs, konjenital nevüs ve displastik nevüs) olgusunun %3.5'inde, 62 primer melanom olgusunun %36.8'inde, 58 metastatik melanom (lenf nodu metastazı ve kutanöz metastaz) olgusunun %46.5'inde CD133 pozitifliği saptanmıştır. CD133 ile pozitif boyanan

nevüslerin çoğu %50'nin altında soluk sitoplazmik boyanma olarak saptanmıştır. Nevüslerde %50'nin üzerinde güçlü boyanma izlenmemiştir. Primer melanom ve metastatik melanomlarda pozitif boyanan vakalar arasında zayıf-orta-kuvvetli/sitoplazmik-membranöz boyanma arasında değişen bir spektrumda boyanma saptanmıştır. Bizim çalışmamızda benign lezyonlarda (edinsel, konjenital, displastik nevüsler) CD133 ekspresyonu biraz daha düşük olmakla birlikte primer melanom lezyonları ile metastatik melanom lezyonlarında benzer CD133 ekspresyon oranları saptanmıştır.

Kolorektal kanserlerde yapılan çalışmalarda CD133 mRNA düzeyinin ve immünohistokimyasal ekspresyonunun yüksek olması kötü prognozla ilişkili bağımsız bir prognostik belirteç olarak bildirilmiş, daha fazla tümörojenik ve/veya metastatik kapasite ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür [132-138]. Literatürde CD133 ekspresyonunun melanom olgularında prognostik önemine ait bir veri bulunamamıştır. Bizim çalışmamızda malign melanositik lezyonlarda CD133 ekspresyonunun prognostik önemi araştırılmıştır ancak klinik takip verilerine ulaşamayan hasta sayısı yüksek olması nedeni ile istatistiksel olarak değerlendirmeye ve yorumlamaya uygun veriler elde edilememiştir.

CD166, immünglobulin süper ailesine ait tip I transmembran glikoproteindir. Hücre adezyon ve iskelet sistemini birbirine bağlar. CD166 ile epitel, lenfoid ve myeloid hücreler, fibroblastlar, nöronlar, hepatositler, pankreas adacık hücreleri ve asiner hücreleri gibi çeşitli insan dokularında (pluripotent kök hücre olduğu düşünülen), pozitif boyanan bir alt hücre grubu olduğu tesbit edilmiştir. Hayvan deneylerinde, nöral gelişim dahil olmak üzere biyolojik gelişim, hematopoezis ve immün bağışıklığın farklı aşamaları ile ilişkisi ve ekspresyonu raporlanmıştır [91]. Yapılan çalışmalarda, metastatik melanomlar ve Breslow kalınlığı ≥ 1.5 mm olan melanomlarda CD166 ekspresyonunun artmış olduğu gösterilmiştir, nevüslerde ve ince melanomlarda daha az ekspresyon gözlenmiştir. Bu nedenle otörler CD166'nın melanom progresyonu ve melanom hücre invazyonunda önemli rol oynadığını ileri sürmüşlerdir [78, 92]. Bizim çalışmamızda da edinsel nevüslerde CD166 ekspresyonu malign gruba göre daha düşük oranda izlenmiştir. Klein ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 71 edinsel nevüs olgusunun %15'inde, 71 melanom olgusunun %53'ünde, 84 metastatik melanom olgusunun %69'unda CD166

pozitifliği saptanmıştır. CD166 pozitif boyanan nevüslerin büyük çoğunluğu diffüz zayıf boyanma veya fokal boyanma (hücrelerin %5-15) göstermiştir. Genellikle boyanma papiller dermisin üstünde nevik yuvalarda veya junctional komponentte gözlenmiştir. Nevüslerde diffüz güçlü boyanma izlenmemiş, buna karşılık primer melanom ve metastatik melanomlarda pozitif boyanan vakalar arasında zayıf-orta-güçlü boyanma arasında değişen bir spektrumda diffüz boyanma saptanmış. Fokal boyanma ($\leq$ %15), primer melanom ve metastatik melanomlarda seyrek olmuş [78]. Çalışmamızda 145 benign lezyon (edinsel nevüs, konjenital nevüs ve displastik nevüs) olgusunun %28.5'inde, 62 primer melanom olgusunun %89.5'inde 58 metastatik melanom (lenf nodu metastazı ve kutanöz metastaz) olgusunun %96.5'inde CD166 pozitifliği saptanmıştır. CD166 pozitif boyanan nevüslerin büyük çoğunluğu %50'nin altında, soluk ve sitoplazmik boyanma göstermiştir. Genellikle boyanma papiller dermiste nevik yuvalarda izlenmiştir. Nevüslerde %50'nin üzerinde güçlü boyanma izlenmemiştir, buna karşılık primer melanom ve metastatik melanomlarda pozitif boyanan vakalar arasında zayıf-orta-kuvvetli/sitoplazmik-membranöz boyanma arasında değişen bir spektrumda boyanma saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da benign lezyonlarda en az, metastatik melanomlarda en çok olmak üzere literatür ile benzer bulgular elde edilmiştir. Farklı olarak çalışmamızda boyanma oranları daha yüksek olarak saptanmıştır.

Tachezy ve arkadaşlarının yaptığı 299 primer özafagus karsinomu, 147 lenf nodu metastazı ve 46 uzak metastaz serisinden oluşan çalışmada CD166'nın hem serum düzeyleri hem de immünohistokimyasal düzeyleri araştırılmıştır [139]. CD166 ekspresyonunun tümör derecesi dışında histopatolojik parametreler ile ilişkisi bulunmamıştır. Ancak prognostik olarak CD166 pozitif hastaların nüks ve genel sağkalımlarının kötü olduğu bildirilmiştir [139]. Bazı yazarlar CD166'nın artmış membranöz ekspresyonunun (oral skuamöz kanserlerde) kötü prognoz ile ilişkili olduğunu bildirirken, diğer yazarlar ise CD166'nın artmış sitoplazmik ekspresyonunun (özafagus skuamöz hücreli kanser ve over kanserleri) kötü prognozla ilişkili olduğunu bildirmişlerdir [92, 140, 141]. Bizim çalışmamızda malign melanositik lezyonlarda CD166 ekspresyonunun prognostik önemi araştırılmıştır ancak klinik takip verilerine ulaşamayan hasta sayısı yüksek olması

nedeni ile istatistiksel olarak değerlendirmeye ve yorumlamaya uygun veriler elde edilememiştir.

Nestin, bir intermediate filament olup, proliferen n6ral progenit6r h6crelerde eksprese edilir. İlk olarak n6roepitelyal k6k h6crelerin sitoplazmasında tesbit edilmiştir. Aynı zamanda embriyogenez sırasında proliferasyon ve migrasyonda ve santral sinir sistemi, karaciğer, pankreas ve gastrointestinal sistem gibi 7eşitli dokuların rejenerasyonunda eksprese edildiği saptanmıştır [95]. Nestin ekspresyonu santral sinir sisteminin primitif n6roektodermal t6m6rleri, glioblastoma ve deriye ait metastatik melanomda saptanmıştır. Bu t6m6rlerde ekspresyon ile y6ksek proliferasyon ve migrasyon aktivitesinin ilişkisi izlenmiştir [97, 98, 142]. Evre III ve IV melanom olgularında nestinin hem t6m6r h6crelerinde hem de damarlarda ekspresyon g6sterdiği raporlanmıştır [143]. T6m6r etrafındaki damarlarda, yeni oluşmuş kapillerlerin duvarında nestin pozitifliği bildirilmektedir [144]. T6m6r h6crelerinde ve damar duvarlarında nestin pozitifliği, nestinin melanom hastalarında sağkalım i7in 6nemli bir erken belirte7 olduğu d6ř6n6lm6řt6r [145]. Bakos ve arkadaşlarının yaptığı 7alışmada primer melanomların %56'sında (32/57), melanom metastaz olgularının %57'sinde (12/21), melanositik nev6slerin %27'sinde (6/26) nestin ekspresyonu izlenmiştir [83]. Primer melanom olgularında, 7oğunlukla, her bir t6m6r i7inde %50'den daha az pozitif h6crede değişen bir boyanma yoğunluğu saptanmış, t6m6r periferinde yaygın olarak ve neredeyse sadece sitoplazmik boyanma izlenmiştir. Melanositik nev6sler ve metastazlı vakaların b6y6k 7oğunluğunda zayıf dağınık boyanma izlenmiştir [83]. Klein ve arkadaşlarının yaptığı 7alışmada 71 edinsel nev6s olgusunun %55'inde, 71 melanom olgusunun %63'6nde, 84 metastatik melanom olgusunun %69'unda nestin pozitifliği saptanmıştır. Nestin ile nev6slerde sıklıkla fokal ve zayıf diff6z boyanma izlenmiş, diff6z g67l6 boyanma izlenmemiştir. Primer melanom ve metastatik melanomlarda pozitif boyanan vakalar arasında zayıf-orta-g67cl6 boyanma arasında değişen bir spektrumda diff6z boyanma saptanmıştır. Fokal boyanma, primer melanom ve metastatik melanomlarda seyrek olmuştur [78]. Bizim 7alışmamızda 145 benign lezyon (edinsel nev6s, konjenital nev6s ve displastik nev6s) olgusunun %69.2'sinde, 62 primer melanom olgusunun, %94.7'sinde, 58 metastatik melanom (lenf nodu metastazı ve satellit nod6l/kutan6z metastaz) olgusunun %96.5'inde nestin pozitifliği

saptanmıştır. Nestin ile nevüslerde, primer melanom ve metastatik melanom (kutanöz, lenf nodu) olgularında pozitif boyanan olgular arasında zayıf-orta-kuvvetli/sitoplazmik-membranöz boyanma arasında değişen bir spektrumda boyanma saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da nestin ekspresyonu açısından benign lezyonlarda en az, metastatik melanomlarda en çok olmak üzere literatür ile benzer bulgular elde edilmiştir. Farklı olarak çalışmamızda boyanma oranları daha yüksek olarak saptanmıştır.

Qin ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 123 overin seröz karsinomu olgularında immünohistokimyasal olarak CD133, nestin, EGFR (epidermal growth faktör reseptörü) ve VEGF (vasküler endotelial growth faktör) belirteçleri araştırılmıştır. Olguların %35'inde CD133, %32.5'inde nestin pozitifliği saptanmıştır. Sisplatin bazlı kemoterapi direnci olan ve sağkalımı kısa hastalarda nestin ekspresyonunun artmış olduğunu saptanmış ve ayrıca pozitif nestin ekspresyonunun EGFR ve VEGF ekspresyon artışı ile korelasyon gösterdiği, tümör içindeki damarlarda yüksek oranda bulunduğu bildirilmiştir. Nestinin yüksek düzeyde ekspresyonunun, seröz over kanserinde tümör agresifliğini ve kötü prognozu gösterebileceği ileri sürülmüştür [146]. Brychtova'nın yaptığı bir çalışmada nodüler melanomlarda nestin ekspresyonunun, invazyon derinliği ve agresif histopatolojik subtip ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [144]. Bu konuda yapılan çalışmalarda nestin ile klinik özellikler arasında ilişki görülmezken, ülsere lezyonlarda artan nestin ekspresyonunun agresifliğini ve kötü prognozu gösterebileceği ileri sürülmüştür.[83]. Bizim çalışmamızda malign melanositik lezyonlarda CD166 ekspresyonunun prognostik önemi araştırılmıştır ancak klinik takip verilerine ulaşılabilen hasta sayısı yüksek olması nedeni ile istatistiksel olarak değerlendirmeye ve yorumlamaya uygun veriler elde edilememiştir.

CD133, CD166 ve nestin kök hücre belirteçleri ile ilgili çalışmalar, melanom gelişiminde kök hücre teorisini desteklemektedir [78]. Bu belirteçlerin Brychtova ve arkadaşlarının gözlemlerinde benzer şekilde melanositik nevüslerin aksine, primer ve metastatik melanomlarda değişen oranlarda ekspresyonu saptanmıştır [144]. Klein ve arkadaşlarının hipotezine göre melanomlarda ilave mutasyonlar malign kök hücrelerin değişimine yol açmakta, nevüslerde ise kendi kendini sınırlama sonucunda ekspresyon farklılıkları bulunmaktadır [78]. Melanomlarda benign melanositik

lezyonlara oranla kök hücre belirteçlerinin artış gösterdiği tesbit edilmiştir [78]. Bizim çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak melanomlarda, benign melanositik lezyonlara oranla CD133, CD166, nestin artış gösterdiği izlenmiştir.

Benign lezyonlarda CD133, CD166 ve nestin ile istatistiksel düzeye ulaşmamakla birlikte dermal nevik yuvalarda daha belirgin boyanma saptanmıştır. Bu nedenle compound nevüs ve konjenital nevüslerde, diğer nevüslere göre daha fazla boyanma saptanmıştır. İngilizce literatürde benign melanositik lezyonlarda benzer bir bulgu saptanamamıştır.

Kanser tedavisinde son yıllarda önemli ilerlemeler kaydedilmektedir. Daha etkili tedavi ve prognostik yöntemlerin geliştirilmesi klinikte daha erken tedavi olanağı sağlamaktadır [128]. Günümüzde klinik olarak tanısı konmuş farklı kanser tiplerinde; lösemi, deri, baş ve boyun, beyin, akciğer, böbrek, safra kesesi, prostat, meme, over, dalak ve mide-bağırsak sistemi tümörleri en sık kullanılan tedavi yöntemleri, tümör dokusunun cerrahi olarak çıkarılması, hormonal tedavi, radyasyon tedavisi, radyasyon ve ilaç tedavisinin birlikte veya ayrı ayrı kullanılmasıdır. Bu klasik tedaviler, tedavinin başlangıç aşamasında etkilidir, fakat kanserin invaziv veya metastatik olarak ilerlemesi durumunda genellikle tedaviye dirençlidir, relaps gözlenmekte ve ölümle sonuçlanmaktadır [128]. Kanserın tekrarlaması kanser hücrelerindeki genetik ve epigenetik değişikliklerin birikimi ile ilişkilidir. Bu genetik ve epigenetik değişiklikler kontrolsüz hücre çoğalması ve invazyonunda olduğu kadar klinik tedaviye direnç gelişiminden sorumludurlar. Kanser hücrelerinde sayısız büyüme faktörünün, “adenosine 5'-triphosphate (ATP)-binding cassette (ABC) multidrug efflux transporters”, antiapoptotik faktörlerin (MYC, Bcl2, NF-kB and survivin) aktivasyonun değişmesi veya aşırı sentezlenmesi kadar tümör baskılayıcı genlerin (TP53, PTEN) aktivasyonun azalması veya sentezinin azalması ilaca dirençlilik ve hastalığın relapsı ile ilgili olabilir [128].

Tüm farklı kanser kök hücrelerinin limitsiz çoğalma potansiyeli ve diğer organlara metastaz yeteneği vardır. Bu nedenle, kanseri tedavi için kanser kök hücrelerini belirlemek ve hedefleyerek öldürmek hedefe yönelik tedavi araştırmalarında üzerinde durulan bir alandır. Kanser kök hücreleri izole edilip tanımlanabildiği için daha etkili olabilecek, teşhiste kullanılabilecek yeni hücre

yüzey belirteçleri ve tedavi hedeflerinin de bulunabileceği düşünülmektedir. Eğer tümör büyümesi ve metastazı küçük orandaki kanser hücreleri tarafından sağlanıyorsa, bu şu andaki tedavilerin neden başarısız olduğunu da açıklamaktadır. Şu andaki kullanılan tedaviler gerek birincil ve gerekse metastaz yapmış tümörün küçülmesini sağlar ve bu etki genelde geçicidir, hastanın yaşam süresinde önemli bir artış sağlamaz. Bunu iki şekilde açıklamak mümkündür; birincisi, kanser hücrelerinde tedaviye karşı direnç gelişmesi; ikincisi ise, güncel kullanılan tedavilerin kanser kök hücrelerini etkili bir şekilde öldürmemesi olabilir. Bugün var olan tedavi şekilleri tümör hücre topluluğunu öldürecek şekilde geliştirilmiştir ve tümörün boyutunu küçültmektedirler. Birçok kanser hücresinin sınırlı çoğalma yeteneği olduğu için, tümör dokusunun küçülmesi bu hücrelerin öldürüldüğünü göstermektedir. Değişik dokulardaki normal kök hücreler, aynı dokudaki olgun hücre tiplerine göre ilaca daha dirençlidirler. Bunun sebebi bilinmemektedir, ancak anti-apoptotik proteinlerin veya ilaca dirençlilik geni gibi ABC taşıyıcılarının yüksek düzeyde sentezlenmesi ile ilgili olabilir [117]. Aynı durum kanser kök hücreleri için de geçerli ise kanser kök hücrelerinin ilaca tümör hücrelerinden daha dirençli olmaları beklenir. Son zamanlarda farklı tip kanserlerden elde edilen kanser kök hücrelerinin günümüzde kullanılan ilaçlara dirençlilik gösterdikleri bildirilmektedir. Bu da kanserle mücadele etmek için kanser kök hücrelerini öldürecek daha etkili tedavilerin geliştirilmesi gerektiğini düşündürmektedir.

Bizim çalışmamızda, CD133, CD166 ve nestin kök hücre belirteçleri benign melanositik lezyonlara göre malign melanositik lezyonlarda belirgin şekilde literatür ile uyumlu olarak daha fazla saptanmıştır. Malign melanositik lezyonlar grubunda bulunan metastatik lezyonlarda primer melanom lezyonlarına göre daha yüksek oranlarda boyanma saptanmıştır. Bu olguların çoğu tedavi gören olgulardır ve tedavi görmelerine rağmen bu kök hücrelerinin bulunması mevcut tedavilerin kök hücreleri etkilemediğine dair bir ipucu olabilir.

Sonuç olarak benign ve malign melanositik lezyonlarda immünohistokimyasal belirteçler olan CD133, CD166 ve nestin kullanılarak melanositik kök hücrelerinin araştırıldığı bu çalışmada literatür ile uyumlu şekilde malign lezyonlarda daha fazla melanositik kök hücrenin bulunduğu saptanmıştır. Bu belirteçler ile kök hücre

içermeyen malign lezyonların bulunması melanom karsinogenezinde kök hücre teorisinin tek geçerli teori olamayacağını, başka mekanizmalarında söz konusu olabileceğini destekler niteliktedir. Metastatik lezyonlu olguların çoğunluğunun tedavi almış olgular olması, kök hücre temelli hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesinin melanom hastalarının yararına olabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmada kullanılmış olan kök hücre belirteçleri ile boyanma oranının prognostik değeri ve önemi araştırılmış olmakla birlikte, klinik takip verilerine ulaşamayan hasta sayısının tüm hasta sayısının yaklaşık yarısına yakın olması nedeni ile sağlıklı veriler elde edilememiştir. Bu konudaki gelecekte yapılması planlanan çalışmalarda eksik olan klinik takip verilerine ulaşarak melanositik kök hücre varlığının malign lezyonlardaki prognostik öneminin araştırılması hedeflenmektedir.

6. SONUÇLAR

- 1- Çalışmada değerlendirilen toplam 288 lezyon 100 edinsel nevüs (dermal, kompond, junctional), 6 konjenital nevüs, 54 displastik nevüs, 62 primer malign melanom, 45 satellit nodül/kutanöz metastaz ve 21 lenf nodu metastazından oluşmaktadır. Çalışmamızda benign lezyonların %25.5'i MDN, %29.7'si MKN, %6.9'u JN, %34.5'i DN ve %3.4'ü Konjenital nevüs özelliğindedir. Malign lezyonların %48.44'ü primer malign melanom, %35.16'sı satellit nodül/kutanöz metastaz ve %16.41'i lenf nodu metastazıdır.
- 2- 160 benign melanositik lezyonun 89'u (%55.6) kadın ve 71'i (%44.4) erkektir. 128 malign melanositik lezyonun 51'i (%40.2) kadın ve 78'i (%59.8) erkektir.
- 3- Benign melanositik lezyonlu hastalarda ortalama yaş 31.71, malign melanositik lezyonlu hastalarda ortalama yaş 63.22 olarak bulunmuştur. Benign melanositik lezyonu bulunan en küçük hasta yaşı 1, en büyük hasta yaşı 68, malign melanositik lezyonu bulunan en küçük hasta yaşı 16, en büyük hasta yaşı 88'dir.
- 4- Benign melanositik lezyonların %41.9'unda histopatolojik olarak dev hücre varlığı, %17.5'inde lipomatöz maturasyon, %20'sinde schwanian maturasyon izlenmiştir.
- 5- Benign melanositik lezyonlu hastaların %34.0'ünde hafif, %5.7'sinde orta, %14.2'sinde şiddetli lentijinöz proliferasyon bulunmuştur. %46.2'sinde lentijinöz proliferasyon gözlenmemiştir.
- 6- Edinsel nevüslerin %38.7'si papiller dermiste, %40.9'u üst retiküler dermiste, %20.4'ü retiküler dermisi doldurmaktadır.
- 7- Primer melanom vakaları arasında %48.4'ü nodüler, %11.3'ü akral lentijinöz, %22.6'sı yüzeysel yayılan, %4.8'i LMM, %1.6'sı desmoplastik, %9.7'si ve %1.6'sı blue nevüs kökenli malign melanom grupları oluşturmaktadır.
- 8- Primer melanomlu olguların %80.6'sı baskın hücre tipi epiteloid, %8.1'inin baskın hücre tipi iğsi, %11.3'nün epiteloid+iğsi özellikte olduğu saptanmıştır.
- 9- Primer melanomlu olguların %38.7'sinde epidermis yüzeyinde ülserasyon izlenmiştir. Bunların %16.1'inde %50'den az; %22.6'sında %50'den fazla ülserasyon bulunmaktadır.

- 10- Primer melanomlu olguların %54.8'inde lenfosit infiltrasyonu bulunmamaktadır, %32.3'ünde hafif lenfosit infiltrasyonu, %12.9'unda yoğun lenfosit infiltrasyonu bulunmaktadır.
- 11- Primer melanomlu olguların %17.7'si papiller dermisde (Clark Level II), %37.1'i üst retiküler dermisde (Clark Level III), %27.4'ü retiküler dermisi doldurmuş (Clark Level IV), %17.7'si subkutan yağ dokuda (Clark Level V) tümör bulunmaktadır.
- 12- Primer melanomlu olgularda Breslow tümör kalınlığı ortalama 2.67mm(0.2-10mm) olarak bulunmuştur. Mitoz sayısı ortalama milimetrekarede 6.44 (0-32) olarak saptanmıştır.
- 13- Primer melanomlu olguların %8.4'ünde nekroz, %21.0'inde lenfovasküler/perinöral invazyon, %16.1'inde mikrosatellitöz bulunmaktadır. Olguların %82.3'ü vertikal büyüme fazında, %12.9'u radyal büyüme fazında iken, %4.8'inin büyüme fazı bilinmemektedir.
- 14- Primer melanomlu hastaların %8.1'inde nüks hastalık gelişimi, %48.4'ünde metastaz bulunmaktadır. Hastaların %9.7'sinin öldüğü, %35.5'inin halen yaşadığı biliniyor iken, %54.8'inin son durumu hakkında bilgi bulunmamaktadır. Hastaların %50.1'i tedavi almış, %41.9'u tedavi almamıştır.
- 15- Satellit nodül/kutanöz metastazı bulunan olguların baskın hücre tipi %88.9'nun epiteloid, %11.1'nin iğsi özelliktedir, %15.6'sı papiller dermisde, %46.7'si retiküler dermisi doldurmuş, %37.8'si subkutan yağ dokuya infiltridir.
- 16- Satellit nodül/kutanöz metastazı bulunan olguların %17.8'inde nekroz, %22.2'sinde lenfovasküler/perinöral invazyon, %4.4'ünde mikrosatellitöz bulunmaktadır.
- 17- Satellit nodül/kutanöz metastazı bulunan hastaların %55.6'sında nüks hastalık gelişimi, %42.2'sinde metastaz bulunmaktadır. Hastaların %9.7'sinin öldüğü, %48.9'unun halen yaşadığı biliniyor iken, %31.1'inin son durumu hakkında bilgi bulunmamaktadır. Hastaların %88.9'u tedavi almış, %11.1'i tedavi almamıştır.
- 18- Satellit nodül/kutanöz metastazı bulunan olguların %86.7'sinde lenfosit infiltrasyonu bulunmamaktadır. %6.7'sinde hafif lenfosit infiltrasyonu, %6.7'sinde yoğun lenfosit infiltrasyonu bulunmaktadır.

- 19- Lenf nodu metastazı bulunan olguların baskın hücre tipi %85.7'sinin epiteloid, %4.8'nin iğsi, %9.5'i epiteloid+iğsi özelliktedir.
- 20- Lenf nodu metastazı bulunan olguların %52.4'ünde nekroz, milimetrekarede ortalama 14.06(1-32) mitoz bulunmaktadır.
- 21- Lenf nodu metastazı bulunan hastaların %19'nun tedavi aldığı bilinmektedir.
- 22- 140 benign lezyon olgusunun %3.5'inde CD133, %28.5'inde CD166, %69.2'sinde nestin pozitifliği, 62 primer melanom olgusunun %36.8'inde CD133, %89.5'inde CD166, %94.7'sinde nestin pozitifliği, 58 lenf nodu metastaz/kutanöz metastaz olgusunun %46.5'inde CD133, %96.5'inde CD166, %96.5'inde nestin pozitifliği saptanmıştır.
- 23- Benign melanositik lezyonlar ile malign melanositik lezyonlar arasında Ki-67 proliferasyon indeksleri açısından malign lezyonlarda daha yüksek olmak üzere anlamlı bir fark izlenmiştir. (p=0.00)
- 24- Melanomlarda, benign melanositik lezyonlara oranla CD133, CD166 ve nestin gibi kök hücre belirteçleri ile boyanan hücre sayısının daha fazla olduğu izlenmiştir. (p=0.00)
- 25- Prognoz açısından olgular yaşayan ve ölen olmak üzere 2'ye ayrılmıştır. Ancak, klinik takip verilerine %44.5 hastada ulaşılammıştır. Bu nedenle malign lezyonlarda histopatolojik kriterler (baskın hücre tipi, nekroz, mitoz, ülserasyon varlığı, LVI/PNI, büyüme fazı, mikrosatellitotoz, Clark-level, Breslow kalınlığı) ve Ki-67 proliferasyon indeksi, CD133, CD166, Nestin kök hücre belirteç boyanma oranları prognostik gruplarda karşılaştırılmasına rağmen, ölen hasta sayısının grup içinde çok az olması, klinik takibi bilinmeyen hastanın çok olması nedeni ile sağlıklı ve güvenilir veriler, sonuçlar elde edilememiştir.

7. ÖZET

Benign ve malign melanositik lezyonlarda melanositik kök hücrelerinin varlığı ve yoğunluğunun tanısal ve prognostik önemi

AMAÇ: Kök hücrelerin tümör gelişimi üzerindeki rolü son yıllarda üzerinde oldukça fazla çalışılan ve merak uyandıran bir konu olmaktadır. Son yapılan çalışmalarda melanositlerde CD133, CD166 ve nestin olmak üzere 3 kök hücre belirleyicisi bildirilmiştir. Bu çalışmada edinsel nevüs, displastik nevüs ve konjenital nevüs, primer ve metastatik melanom olgularında CD133, CD166 ve nestin belirleyicileri kullanılarak melanositik kök hücrelerinin varlığı ve yoğunluğu değerlendirilip karşılaştırılmış ve ayrıca Ki-67 proliferasyon indeksi araştırılmıştır.

MATERYAL-METOD: 2005-2011 yılları arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Anabilim Dalı'nda tanı almış 100 banal nevüs (dermal, kompond, junctional nevüs), 6 konjenital nevüs, 54 displastik nevüs, 62 malign melanom, 45 satellit nodül/kutanöz metastaz ve 21 malign melanom metastaz tanısı alan olgular çalışmaya dahil edilmiştir. Hastane bilgi sisteminden çalışmaya dahil edilen olguların yaş, cinsiyet, tanı, lokalizasyon ve klinik takip verileri elde edilmiştir. Deri biyopsilerinin H.E kesitleri belirlenen morfolojik kriterler eşliğinde ışık mikroskopik olarak yeniden değerlendirilmiş ve biyopsi örneklerine immünohistokimyasal olarak CD133, CD166, Nestin ve Ki-67 antikoru uygulanmıştır.

SONUÇLAR: Primer melanoma olgularında CD133, CD166 ve Nestin pozitiflik oranları sırası ile %36, %89.5, %94.7 olarak belirlenmiştir. Metastatik melanom/satellit nodül/kutanöz metastazda pozitiflik oranları aynı sıra ile %46.5, %96.5, %96.5. Benign melanositik lezyonlarda ise %3.5, %28.5 ve %69.2 olarak tesbit edilmiştir. Benign ve malign melanositik lezyonlar arasında Ki-67 proliferasyon indeksleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. (p=0.00) CD133, CD166 ve nestin kök hücre belirteçleri, melanom gelişiminde kök hücre teorisini desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Melanositik kök hücre, nevüs, melanom, CD133, CD166, Nestin, Ki-67

8. SUMMARY

The presence and intensity of melanocytic stem cells in benign and malign melanocytic lesions: diagnostic and prognostic implications

PURPOSE: The potential role of stem cells in neoplasia is a subject of recent interest. CD133, CD166 and Nestin are three markers of melanocytic stem cells, which have been described recently. In this study, we aimed to study the expression of these markers and possible differences among acquired nevi, congenital nevi, dysplastic nevi, primary melanoma lesions and metastatic melanoma nodules.

MATERIALS AND METHODS: Total of 100 acquired melanocytic nevi (intradermal, compound, junctional nevi), 6 congenital nevi, 54 dysplastic nevi, 62 invasive melanomas, 45 cutaneous satellite metastatic nodules and 21 lymph node metastatic melanomas cases diagnosed in Ankara University, Faculty of Medicine, Department of Pathology, between 2005-2011 have been included in the study. The data about cases age, sex, diagnosis, localization, clinical follow-up were taken from hospital information system. The cases H.E sections were re-examined retrospectively. Paraffin-embedded tissue sections were studied by immunohistochemistry using polyclonal antibodies CD166, CD133, nestin and monoclonal Ki-67

RESULTS AND CONCLUSION: CD133, CD166, Nestin were positive in 36.8%, 89.5%, 94.7% primary melanomas, respectively. In melanoma metastatic nodules, positive staining with the above mentioned markers were observed in 46.5%, 96.5% and 96.5% respectively. In the benign melanocytic lesions, the percentage of positive cases were 3.5% for CD133, 28.5% for CD166 and 69.2% for Nestin. Ki-67 proliferation index was statistically significant difference between benign and malignant melanocytic lesions. ($p=0.00$) Our results supported the theory that stem cells could play a role in melanoma development.

Key Words: Melanocytic stem cell, nevi, melanoma, CD133, CD166, nestin, Ki-67

9. KAYNAKLAR

1. Luiz Carlos Junqueira, J.C., Robert O Kelley. Basic Histology, 12th Edition: Text and Atlas. 2010.
2. Park H-Y, P.M., Lee J, Yaar M., *Biology of Melanocytes .Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine;*. 7 ed, ed. I. Wolf and G.L. K, Katz SI, Gilchneist BA, Paller AS, Leffell DJ, editors. 2008;591-608
3. Barnhill LR, *Pathology of Melanocytic Nevi and Malignant Melanoma* 2ed. 2004, USA Springer.
4. Ito, S. and K. Wakamatsu, *Quantitative analysis of eumelanin and pheomelanin in humans, mice, and other animals: a comparative review.* Pigment Cell Res, 2003. **16**(5): p. 523-31.
5. Minwalla, L., et al., *Keratinocytes play a role in regulating distribution patterns of recipient melanosomes in vitro.* J Invest Dermatol, 2001. **117**(2): p. 341-7.
6. Sarangarajan, R. and S.P. Apte, *The polymerization of melanin: a poorly understood phenomenon with egregious biological implications.* Melanoma Res, 2006. **16**(1): p. 3-10.
7. Elder DE, E.R., Johnson LB, Murphy GF, Lever's Histopathology of Skin (9th.ed) Lippincott-Williams&Wilkins, Philadelphia 2005.
8. Leboit PE, B.G., Weedon David, Sarasin A. World Health Organization of Tumors; Skin Tumors Lyon, France 2006.
9. Kumar V, A.K., Fausto N, Mitchell RN. Robbins Basic Pathology (8th.ed) Saunders Elsevier, USA 2007.
10. Rosai J. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology (8th.ed) Mosby, U., pp.154-76.
11. Weedon D. Skin Pathology (2nd.ed), C.L., London 2002, pp.803-858.
12. Rodolfo, M., M. Daniotti, and V. Vallacchi, *Genetic progression of metastatic melanoma.* Cancer Lett, 2004. **214**(2): p. 133-47.
13. Fitzpatrick TB, F.I.B.H.a.N.o.M.I.G.J., Rhodes A, Sober A, eds. Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine. 6th ed. New York: McGraw-Hill, Medical Pub. Division, 2003 (vol 1):881-905.
14. Singh, S.K., et al., *Identification of a cancer stem cell in human brain tumors.* Cancer Res, 2003. **63**(18): p. 5821-8.
15. Singh, S.K., et al., *Total arterial revascularization on beating heart: experience in 803 cases.* Asian Cardiovasc Thorac Ann, 2003. **11**(2): p. 107-12.
16. Singh, S.K., et al., *Nitro and amino substitution in the D-ring of 5-(2-dimethylaminoethyl)- 2,3-methylenedioxy-5H-dibenzo[c,h][1,6]naphthyridin-6-ones: effect on topoisomerase-I targeting activity and cytotoxicity.* J Med Chem, 2003. **46**(11): p. 2254-7.
17. Singh, S.K., et al., *Cerebral salt wasting syndrome in a patient with a pituitary adenoma.* Neurol India, 2003. **51**(1): p. 110-1.
18. Singh, S.K., T.K. Dalai, and S. Krishnaswami, *²³⁸U series isotopes and ²³²Th in carbonates and black shales from the Lesser Himalaya:*

- implications to dissolved uranium abundances in Ganga-Indus source waters.* J Environ Radioact, 2003. **67**(1): p. 69-90.
19. Singh, S.K., *Anatomic and physiologic discrepancies in perioperative hearing impairment.* Anesthesiology, 2003. **99**(3): p. 757-8; author reply 758.
 20. Grichnik, J.M., et al., *KIT expression reveals a population of precursor melanocytes in human skin.* J Invest Dermatol, 1996. **106**(5): p. 967-71.
 21. Singh, S.K., H.V. Nagesh, and M. Lock, *A novel use of a 'DHS-type' plastic vertical isolation drape in spinal surgery.* Ann R Coll Surg Engl, 2003. **85**(2): p. 130.
 22. Kumar V, A.A., Fausto N, Aster JC. Robbins And Cotran Pathologic Basis of Disease (8th.ed) Saunders Elsevier, China 2010, Chapter 25.
 23. Spitz, S., *Melanomas of childhood.* Am J Pathol, 1948. **24**(3): p. 591-609.
 24. Allen, A.C., *A reorientation on the histogenesis and clinical significance of cutaneous nevi and melanomas.* Cancer, 1949. **2**(1): p. 28-56.
 25. Paek SC, S.A., Tsao H, Mihm MC Jr, Johnson TM. Cutaneous Melanoma. and G.L. In: Wolf K, Katz SI, Gilchrest BA, Paller AS, Leffell DJ, editors. Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine. 7th ed. New York: Mc Graw-Hill, 2008: 1134-57.
 26. Elwood, J.M. and J. Jopson, *Melanoma and sun exposure: an overview of published studies.* Int J Cancer, 1997. **73**(2): p. 198-203.
 27. Oliveria, S.A., et al., *Sun exposure and risk of melanoma.* Arch Dis Child, 2006. **91**(2): p. 131-8.
 28. Stern, R.S., *The risk of melanoma in association with long-term exposure to PUVA.* J Am Acad Dermatol, 2001. **44**(5): p. 755-61.
 29. Bevona, C., et al., *Cutaneous melanomas associated with nevi.* Arch Dermatol, 2003. **139**(12): p. 1620-4; discussion 1624.
 30. Niendorf, K.B. and H. Tsao, *Cutaneous melanoma: family screening and genetic testing.* Dermatol Ther, 2006. **19**(1): p. 1-8.
 31. Miller, A.J. and M.C. Mihm, Jr., *Melanoma.* N Engl J Med, 2006. **355**(1): p. 51-65.
 32. Gürer MA, A.E.K.m.T.Y., Gürer MA, Serdaroğlu S, Oğuz O, Aksungur VL, editörler. Dermatoloji. 3. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2008; 1791-1823.
 33. Abbasi, N.R., et al., *Early diagnosis of cutaneous melanoma: revisiting the ABCD criteria.* JAMA, 2004. **292**(22): p. 2771-6.
 34. Liu, W., et al., *What features do patients notice that help to distinguish between benign pigmented lesions and melanomas?: the ABCD(E) rule versus the seven-point checklist.* Melanoma Res, 2005. **15**(6): p. 549-54.
 35. Schwartz, J.L., et al., *Thin primary cutaneous melanomas: associated detection patterns, lesion characteristics, and patient characteristics.* Cancer, 2002. **95**(7): p. 1562-8.
 36. Balch, C.M., 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**(16): p. 3622-34.
 37. Thompson, J.F., R.A. Scolyer, and R.F. Kefford, *Cutaneous melanoma.* Lancet, 2005. **365**(9460): p. 687-701.

38. Crowson, A.N., C.M. Magro, and M.C. Mihm, *Prognosticators of melanoma, the melanoma report, and the sentinel lymph node*. Mod Pathol, 2006. **19 Suppl 2**: p. S71-87.
39. Ivan, D. and V.G. Prieto, *An update on reporting histopathologic prognostic factors in melanoma*. Arch Pathol Lab Med, 2011. **135**(7): p. 825-9.
40. Clark, W.H., Jr., et al., *The histogenesis and biologic behavior of primary human malignant melanomas of the skin*. Cancer Res, 1969. **29**(3): p. 705-27.
41. Curtin, J.A., et al., *Distinct sets of genetic alterations in melanoma*. N Engl J Med, 2005. **353**(20): p. 2135-47.
42. Pawlik, T.M., et al., *Assessment of the role of sentinel lymph node biopsy for primary cutaneous desmoplastic melanoma*. Cancer, 2006. **106**(4): p. 900-6.
43. Weedon D. Skin Pathology (2nd.ed), C.L., London 2002, pp803-858.
44. Jennings, L.C., et al., *Effect of rapid influenza testing on the clinical management of paediatric influenza*. Influenza Other Respi Viruses, 2009. **3**(3): p. 91-8.
45. Jennings, L.K., *Role of platelets in atherothrombosis*. Am J Cardiol, 2009. **103**(3 Suppl): p. 4A-10A.
46. Balch, C.M., et al., *The prognostic significance of ulceration of cutaneous melanoma*. Cancer, 1980. **45**(12): p. 3012-7.
47. Scolyer, R.A., et al., *Interobserver reproducibility of histopathologic prognostic variables in primary cutaneous melanomas*. Am J Surg Pathol, 2003. **27**(12): p. 1571-6.
48. Jennings, L., et al., *Churg-Strauss syndrome secondary to antileucotriene therapy in a patient not receiving oral corticosteroids*. Clin Exp Dermatol, 2009. **34**(7): p. e430-1.
49. Eldh, J., B. Boeryd, and L.E. Peterson, *Prognostic factors in cutaneous malignant melanoma in stage I. A clinical, morphological and multivariate analysis*. Scand J Plast Reconstr Surg, 1978. **12**(3): p. 243-55.
50. Schmoeckel, C. and O. Braun-Falco, *Prognostic index in malignant melanoma*. Arch Dermatol, 1978. **114**(6): p. 871-3.
51. Lefevre, M., et al., *Relevance of vertical growth pattern in thin level II cutaneous superficial spreading melanomas*. Am J Surg Pathol, 2003. **27**(6): p. 717-24.
52. Dadras, S.S., et al., *Tumor lymphangiogenesis: a novel prognostic indicator for cutaneous melanoma metastasis and survival*. Am J Pathol, 2003. **162**(6): p. 1951-60.
53. Kashani-Sabet, M., et al., *Vascular involvement in the prognosis of primary cutaneous melanoma*. Arch Dermatol, 2001. **137**(9): p. 1169-73.
54. Massi, D., et al., *Thick cutaneous malignant melanoma: a reappraisal of prognostic factors*. Melanoma Res, 2000. **10**(2): p. 153-64.
55. Nagore, E., et al., *Prognostic factors in localized invasive cutaneous melanoma: high value of mitotic rate, vascular invasion and microscopic satellitosis*. Melanoma Res, 2005. **15**(3): p. 169-77.
56. Nguyen, C.L., et al., *Melanoma thickness and histology predict sentinel lymph node status*. Am J Surg, 2001. **181**(1): p. 8-11.
57. Niezabitowski, A., et al., *Prognostic evaluation of cutaneous malignant melanoma: a clinicopathologic and immunohistochemical study*. J Surg Oncol, 1999. **70**(3): p. 150-60.

58. Clark, W.H., Jr., et al., *Model predicting survival in stage I melanoma based on tumor progression*. J Natl Cancer Inst, 1989. **81**(24): p. 1893-904.
59. Day, C.L., Jr., et al., *Malignant melanoma. Prognostic significance of "microscopic satellites" in the reticular dermis and subcutaneous fat*. Ann Surg, 1981. **194**(1): p. 108-12.
60. Ronan, S.G., et al., *Thin malignant melanomas with regression and metastases*. Arch Dermatol, 1987. **123**(10): p. 1326-30.
61. Kaur, C., et al., *The correlation of regression in primary melanoma with sentinel lymph node status*. J Clin Pathol, 2008. **61**(3): p. 297-300.
62. Fontaine, D., et al., *Partial regression of primary cutaneous melanoma: is there an association with sub-clinical sentinel lymph node metastasis?* Am J Dermatopathol, 2003. **25**(5): p. 371-6.
63. Jemal, A., et al., *Cancer statistics, 2005*. CA Cancer J Clin, 2005. **55**(1): p. 10-30.
64. Beddingfield, F.C., 3rd, *The melanoma epidemic: res ipsa loquitur*. Oncologist, 2003. **8**(5): p. 459-65.
65. Rietschel, P., et al., *Phase II study of extended-dose temozolomide in patients with melanoma*. J Clin Oncol, 2008. **26**(14): p. 2299-304.
66. Rigel, D.S., R.J. Friedman, and A.W. Kopf, *The incidence of malignant melanoma in the United States: issues as we approach the 21st century*. J Am Acad Dermatol, 1996. **34**(5 Pt 1): p. 839-47.
67. Kim CF, J.E., Woolfenden AE, et al: Identification of bronchioalveolar stem cells in normal lung and lung cancer. Cell 121:823-835, 2005.
68. Zabierowski, S.E. and M. Herlyn, *Melanoma stem cells: the dark seed of melanoma*. J Clin Oncol, 2008. **26**(17): p. 2890-4.
69. Nishimura, E.K., et al., *Dominant role of the niche in melanocyte stem-cell fate determination*. Nature, 2002. **416**(6883): p. 854-60.
70. Yu, H., et al., *Isolation of a novel population of multipotent adult stem cells from human hair follicles*. Am J Pathol, 2006. **168**(6): p. 1879-88.
71. Yu, H.S., *Melanocyte destruction and repigmentation in vitiligo: a model for nerve cell damage and regrowth*. J Biomed Sci, 2002. **9**(6 Pt 2): p. 564-73.
72. Nishimura, E.K., S.R. Granter, and D.E. Fisher, *Mechanisms of hair graying: incomplete melanocyte stem cell maintenance in the niche*. Science, 2005. **307**(5710): p. 720-4.
73. Grichnik, J.M., *Genomic instability and tumor stem cells*. J Invest Dermatol, 2006. **126**(6): p. 1214-6.
74. Grichnik, J.M., et al., *Melanoma, a tumor based on a mutant stem cell?* J Invest Dermatol, 2006. **126**(1): p. 142-53.
75. Al-Hajj, M., et al., *Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003. **100**(7): p. 3983-8.
76. Bonnet, D. and J.E. Dick, *Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell*. Nat Med, 1997. **3**(7): p. 730-7.
77. Lapidot, T., et al., *A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice*. Nature, 1994. **367**(6464): p. 645-8.
78. Klein, W.M., et al., *Increased expression of stem cell markers in malignant melanoma*. Mod Pathol, 2007. **20**(1): p. 102-7.

79. Mihic-Probst, D., et al., *Consistent expression of the stem cell renewal factor BMI-1 in primary and metastatic melanoma*. Int J Cancer, 2007. **121**(8): p. 1764-70.
80. Sabatino, M., et al., *Stem cells in melanoma development*. Cancer Lett, 2009. **279**(2): p. 119-25.
81. Rappa, G., O. Fodstad, and A. Lorico, *The stem cell-associated antigen CD133 (Prominin-1) is a molecular therapeutic target for metastatic melanoma*. Stem Cells, 2008. **26**(12): p. 3008-17.
82. Laga, A.C., et al., *SOX2 and nestin expression in human melanoma: an immunohistochemical and experimental study*. Exp Dermatol, 2011. **20**(4): p. 339-45.
83. Bakos, R.M., et al., *Nestin and SOX9 and SOX10 transcription factors are coexpressed in melanoma*. Exp Dermatol, 2010. **19**(8): p. e89-94.
84. Gerdes, J., et al., *Immunobiochemical and molecular biologic characterization of the cell proliferation-associated nuclear antigen that is defined by monoclonal antibody Ki-67*. Am J Pathol, 1991. **138**(4): p. 867-73.
85. Ergen, E.K., et al., *Nosocomial diarrhea and Clostridium Difficile associated diarrhea in a Turkish University Hospital*. Med Mal Infect, 2009. **39**(6): p. 382-7.
86. Karbancioglu-Guler, F. and D. Heperkan, *Natural occurrence of fumonisin B1 in dried figs as an unexpected hazard*. Food Chem Toxicol, 2009. **47**(2): p. 289-92.
87. Monzani, E., et al., *Melanoma contains CD133 and ABCG2 positive cells with enhanced tumorigenic potential*. Eur J Cancer, 2007. **43**(5): p. 935-46.
88. Frank, N.Y., et al., *ABCB5-mediated doxorubicin transport and chemoresistance in human malignant melanoma*. Cancer Res, 2005. **65**(10): p. 4320-33.
89. Belicchi, M., et al., *Human skin-derived stem cells migrate throughout forebrain and differentiate into astrocytes after injection into adult mouse brain*. J Neurosci Res, 2004. **77**(4): p. 475-86.
90. Shmelkov, S.V., et al., *AC133/CD133/Prominin-1*. Int J Biochem Cell Biol, 2005. **37**(4): p. 715-9.
91. Swart, G.W., et al., *Activated leukocyte cell adhesion molecule (ALCAM/CD166): signaling at the divide of melanoma cell clustering and cell migration?* Cancer Metastasis Rev, 2005. **24**(2): p. 223-36.
92. van Kempen, L.C., et al., *Activated leukocyte cell adhesion molecule/CD166, a marker of tumor progression in primary malignant melanoma of the skin*. Am J Pathol, 2000. **156**(3): p. 769-74.
93. Dahlstrand, J., et al., *Characterization of the human nestin gene reveals a close evolutionary relationship to neurofilaments*. J Cell Sci, 1992. **103** (Pt 2): p. 589-97.
94. Lendahl, U., L.B. Zimmerman, and R.D. McKay, *CNS stem cells express a new class of intermediate filament protein*. Cell, 1990. **60**(4): p. 585-95.
95. Wiese, C., et al., *Nestin expression--a property of multi-lineage progenitor cells?* Cell Mol Life Sci, 2004. **61**(19-20): p. 2510-22.
96. Mokry, J., et al., *Nestin expression by newly formed human blood vessels*. Stem Cells Dev, 2004. **13**(6): p. 658-64.

97. Florenes, V.A., et al., *Expression of the neuroectodermal intermediate filament nestin in human melanomas*. Cancer Res, 1994. **54**(2): p. 354-6.
98. Tohyama, T., et al., *Nestin expression in embryonic human neuroepithelium and in human neuroepithelial tumor cells*. Lab Invest, 1992. **66**(3): p. 303-13.
99. Chorny, J.A., et al., *Ki-67 and p53 expression in minimal deviation melanomas as compared with other nevocytic lesions*. Mod Pathol, 2003. **16**(6): p. 525-9.
100. Vaisanen, A., et al., *A prognostic index in skin melanoma through the combination of matrix metalloproteinase-2, Ki67, and p53*. Hum Pathol, 2011. **42**(8): p. 1103-11.
101. Hofmann-Wellenhof, R., et al., *Proliferative activity in Spitz's naevi compared with other melanocytic skin lesions*. Melanoma Res, 1993. **3**(5): p. 313-7.
102. Rudolph, P., et al., *Proliferation marker Ki-S5 as a diagnostic tool in melanocytic lesions*. J Am Acad Dermatol, 1997. **37**(2 Pt 1): p. 169-78.
103. Li, L.X., et al., *A zonal comparison of MIB1-Ki67 immunoreactivity in benign and malignant melanocytic lesions*. Am J Dermatopathol, 2000. **22**(6): p. 489-95.
104. Smolle, J., H.P. Soyer, and H. Kerl, *Proliferative activity of cutaneous melanocytic tumors defined by Ki-67 monoclonal antibody. A quantitative immunohistochemical study*. Am J Dermatopathol, 1989. **11**(4): p. 301-7.
105. McNutt, N.S., et al., *Nevoid malignant melanoma: morphologic patterns and immunohistochemical reactivity*. J Cutan Pathol, 1995. **22**(6): p. 502-17.
106. Kanter-Lewensohn, L., et al., *Immunohistochemical markers for distinguishing Spitz nevi from malignant melanomas*. Mod Pathol, 1997. **10**(9): p. 917-20.
107. Kaleem, Z., et al., *Concurrent Ki-67 and p53 immunolabeling in cutaneous melanocytic neoplasms: an adjunct for recognition of the vertical growth phase in malignant melanomas?* Mod Pathol, 2000. **13**(3): p. 217-22.
108. Jennings, L. and G.M. Murphy, *Predicting outcome in melanoma: where are we now?* Br J Dermatol, 2009. **161**(3): p. 496-503.
109. Balch, C.M., et al., *Final version of the American Joint Committee on Cancer staging system for cutaneous melanoma*. J Clin Oncol, 2001. **19**(16): p. 3635-48.
110. Sahni, D., et al., *The use of LYVE-1 antibody for detecting lymphatic involvement in patients with malignant melanoma of known sentinel node status*. J Clin Pathol, 2005. **58**(7): p. 715-21.
111. Shields, J.D., et al., *Lymphatic density and metastatic spread in human malignant melanoma*. Br J Cancer, 2004. **90**(3): p. 693-700.
112. Petersson, F., et al., *Immunohistochemical detection of lymphovascular invasion with D2-40 in melanoma correlates with sentinel lymph node status, metastasis and survival*. J Cutan Pathol, 2009. **36**(11): p. 1157-63.
113. Harrit, T.J., et al., *"Microscopic satellites" are more highly associated with regional lymph node metastases than is primary melanoma thickness*. Cancer, 1984. **53**(10): p. 2183-7.
114. Fogt, F., A.O. Vortmeyer, and S.R. Tahan, *Nucleolar organizer regions (AgNOR) and Ki-67 immunoreactivity in cutaneous melanocytic lesions*. Am J Dermatopathol, 1995. **17**(1): p. 12-7.

115. Nasr, M.R. and O. El-Zammar, *Comparison of pHH3, Ki-67, and survivin immunoreactivity in benign and malignant melanocytic lesions*. Am J Dermatopathol, 2008. **30**(2): p. 117-22.
116. Kakarala, M. and M.S. Wicha, *Cancer stem cells: implications for cancer treatment and prevention*. Cancer J, 2007. **13**(5): p. 271-5.
117. Reya, T., et al., *Stem cells, cancer, and cancer stem cells*. Nature, 2001. **414**(6859): p. 105-11.
118. Cho, R.W. and M.F. Clarke, *Recent advances in cancer stem cells*. Curr Opin Genet Dev, 2008. **18**(1): p. 48-53.
119. Singh, S.K., et al., *Identification of human brain tumour initiating cells*. Nature, 2004. **432**(7015): p. 396-401.
120. Singh, S.K., et al., *Cancer stem cells in nervous system tumors*. Oncogene, 2004. **23**(43): p. 7267-73.
121. Li, C., et al., *Identification of pancreatic cancer stem cells*. Cancer Res, 2007. **67**(3): p. 1030-7.
122. Prince, M.E., et al., *Identification of a subpopulation of cells with cancer stem cell properties in head and neck squamous cell carcinoma*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007. **104**(3): p. 973-8.
123. Ricci-Vitiani, L., et al., *Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells*. Nature, 2007. **445**(7123): p. 111-5.
124. Schatton, T., et al., *Identification of cells initiating human melanomas*. Nature, 2008. **451**(7176): p. 345-9.
125. Szotek, P.P., et al., *Ovarian cancer side population defines cells with stem cell-like characteristics and Mullerian Inhibiting Substance responsiveness*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006. **103**(30): p. 11154-9.
126. Al-Hajj, M. and M.F. Clarke, *Self-renewal and solid tumor stem cells*. Oncogene, 2004. **23**(43): p. 7274-82.
127. Wicha, M.S., *Cancer stem cell heterogeneity in hereditary breast cancer*. Breast Cancer Res, 2008. **10**(2): p. 105.
128. Mimeault, M., et al., *Recent advances in cancer stem/progenitor cell research: therapeutic implications for overcoming resistance to the most aggressive cancers*. J Cell Mol Med, 2007. **11**(5): p. 981-1011.
129. Oshima, H., et al., *Morphogenesis and renewal of hair follicles from adult multipotent stem cells*. Cell, 2001. **104**(2): p. 233-45.
130. Ailles, L.E. and I.L. Weissman, *Cancer stem cells in solid tumors*. Curr Opin Biotechnol, 2007. **18**(5): p. 460-6.
131. Bhatia, M., *AC133 expression in human stem cells*. Leukemia, 2001. **15**(11): p. 1685-8.
132. Artells, R., et al., *Tumour CD133 mRNA expression and clinical outcome in surgically resected colorectal cancer patients*. Eur J Cancer, 2010. **46**(3): p. 642-9.
133. Huh, J.W., et al., *CD133 mRNA expression and microsatellite instability in colorectal carcinoma*. J Surg Oncol, 2010. **102**(7): p. 765-70.
134. Ong, C.W., et al., *CD133 expression predicts for non-response to chemotherapy in colorectal cancer*. Mod Pathol, 2010. **23**(3): p. 450-7.
135. Saigusa, S., et al., *Correlation of CD133, OCT4, and SOX2 in rectal cancer and their association with distant recurrence after chemoradiotherapy*. Ann Surg Oncol, 2009. **16**(12): p. 3488-98.

136. Saigusa, S., et al., *Immunohistochemical features of CD133 expression: association with resistance to chemoradiotherapy in rectal cancer*. *Oncol Rep*, 2010. **24**(2): p. 345-50.
137. Horst, D., et al., *The cancer stem cell marker CD133 has high prognostic impact but unknown functional relevance for the metastasis of human colon cancer*. *J Pathol*, 2009. **219**(4): p. 427-34.
138. Kojima, M., et al., *CD133 expression in rectal cancer after preoperative chemoradiotherapy*. *Cancer Sci*, 2010. **101**(4): p. 906-12.
139. Tachezy, M., et al., *ALCAM (CD166) expression and serum levels are markers for poor survival of esophageal cancer patients*. *Int J Cancer*, 2011.
140. Mezzanzanica, D., et al., *Subcellular localization of activated leukocyte cell adhesion molecule is a molecular predictor of survival in ovarian carcinoma patients*. *Clin Cancer Res*, 2008. **14**(6): p. 1726-33.
141. Verma, A., et al., *MEMD/ALCAM: a potential marker for tumor invasion and nodal metastasis in esophageal squamous cell carcinoma*. *Oncology*, 2005. **68**(4-6): p. 462-70.
142. Dahlstrand, J., V.P. Collins, and U. Lendahl, *Expression of the class VI intermediate filament nestin in human central nervous system tumors*. *Cancer Res*, 1992. **52**(19): p. 5334-41.
143. Linette, G.P., et al., *Biomarkers in melanoma: stage III and IV disease*. *Expert Rev Mol Diagn*, 2005. **5**(1): p. 65-74.
144. Brychtova, S., et al., *Nestin expression in cutaneous melanomas and melanocytic nevi*. *J Cutan Pathol*, 2007. **34**(5): p. 370-5.
145. Piras, F., et al., *The stem cell marker nestin predicts poor prognosis in human melanoma*. *Oncol Rep*, 2010. **23**(1): p. 17-24.
146. Qin, Q., et al., *Expression of putative stem marker nestin and CD133 in advanced serous ovarian cancer*. *Neoplasma*, 2012. **59**(3): p. 310-6.