



T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**MELANOMDA PRAME VE p21 EKSPRESYONUNUN TANIYA VE
PROGNOZA ETKİSİ**

Dr. Evin KUŞSEVER

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Arbil AÇIKALIN

ADANA-2025



T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

MELANOMDA PRAME VE p21 EKSPRESYONUNUN
TANIYA VE PROGNOZA ETKİSİ

Dr. Evin KUŞSEVER

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Arbil AÇIKALIN

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonunun TTU-2024-16505 nolu
Projesi ile desteklenmiştir.

ADANA-2025

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez sürecim boyunca her konuda arkamda olduğunu hissettiren, hiçbir zaman desteğini esirgemeyen, değerli bilgilerini ve deneyimlerini güler yüzüyle benimle paylaşan sayın tez danışmanım Prof. Dr. Arbil Açıkalin'a teşekkürlerimi sunarım.

Saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Suzan Zorludemir, Prof. Dr. Gülfiliz Gönüşen, Prof. Dr. Melek Ergin, Prof. Dr. Derya Gümürdülü, Prof. Dr. Aysun Uğuz, Prof. Dr. Şeyda Erdoğan, Doç. Dr. Emine Kılıç Bağır, Doç. Dr. Kıvılcım Eren Ateş ve Dr. Öğr. Üyesi Tuğba Toyran'a değerli bilgilerini ve mesleki tecrübelerini benimle paylaştıkları için teşekkür ederim.

Çalışmamın teknik aşamasında özveriyle görev alan Sinan Özbulat, Kürşat Mutlu, Gülafer Korkut, Tuğba Pekak, Şakir Uçar, Aslı Kale, Fırat Altundağ ve Fatma Dilci'ye teşekkür ederim. Ayrıca yardımlarını esirgemeyen tüm laboratuvar ekibimize, arşiv çalışanlarına ve bölümümüzde görevli tüm bölüm çalışanlarına teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimime başladığımda hem patolojiyi hem de Adana'yı sevmemi sağlayan şu an uzman olmuş Dr. Merve İnceman, Dr. Savalan Karim, Dr. Aslı Aydoğdu Yeşiloğlu, Dr. Özge Yaprak, Dr. Büşra Nur Ateş, Dr. Merve Aksın'a; Bütünün Edi'yi desteklediği gibi (buradaki Edi benim) asistanlık döneminin tüm zorluklarında yanımda olan eşkıdemlim Dr. Hande Yanar'a ve beraber çalıştığımız Dr. Ayşe Daş Çerçi, Dr. Arzu Demir, Dr. Fatma Çalkan Gündüz, Dr. Melis Ladin Yamaç, Dr. Ayşe Büşra Bereketoğlu, Dr. Merve Avluklu Pektaş, Dr. Hayriye Tezcan, Dr. Çağla Özcan, Dr. Ahsen Dağlı'ya teşekkür ederim.

Bu süreçte bir an olsun yanımdan ayrılmayan destek ve sevgisini esirgemeyen hayat arkadaşım Yekta Kuşsever'e, oğullarım Robin ve Arin Kuşsever'e, sonsuz sevgileri ve destekleri ile beni bugünlere getiren ve yetiştiren değerli annem Firyaz, babam Murat Söner'e ve kardeşlerime teşekkürlerimle...

Dr. Evin KUŞSEVER

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
TABLOLAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
RESİMLER DİZİNİ.....	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT.....	ix
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. İnsan Derisi Anatomi ve Embriyolojisi.....	3
2.2. Melanositler ve Melanin Sentezi.....	5
2.3. Melanositik tümörler.....	7
2.3.1. Aralıklı Olarak Güneşe Maruz Kalan Deride Benign Melanositik Tümörler	10
2.3.1.1. Basit Lentigo ve Lentiginöz Melanositik Nevüs.....	10
2.3.1.2. Junctional, Kompound ve Dermal Nevüs.....	10
2.3.1.3. Displastik Nevüs.....	11
2.3.1.4. Nevüs Spilus.....	12
2.3.1.5. Özel Bölge Nevüsleri	12
2.3.1.6. Halo Nevüs	13
2.3.1.7. Meyerson Nevüs	14
2.3.1.8. Rekürren Nevüs	14
2.3.1.9. Wnt Aktive Derin Penetran Nevüs / Pleksiform Melanositom.....	15
2.3.1.10. Pigmente Epiteloid Melanositom	15
2.3.1.11. BAP1 İnaktive Melanositik Tümör	15
2.3.1.12 MITF Yolak Aktive Melanositik Tümör.....	16
2.3.2. Benign Spitz Tümörler.....	16
2.3.2.1. Spitz Nevüs.....	16
2.3.2.2. Pigmente İğsi Hücreli Nevüs (Reed Nevüs).....	17
2.3.2.3 Spitz Melanositom (Atipik Spitz tümörü)	18
2.3.3. Akral Deride Benign Melanositik Tümörler	18
2.3.3.1. Akral Nevüs	18

2.3.4. Mavi Nevüsten Gelişen Benign Melanositik Tümörler	19
2.3.4.1. Mavi Nevüs	19
2.3.4.2. İto Nevüs ve Ota Nevüs.....	19
2.3.4.3. Konjenital Dermal Melanositoz (Mongol Lekesi)	20
2.3.5. Konjenital Nevüsten Gelişen Benign Melanositik Tümörler.....	20
2.3.5.1. Konjenital Melanositik Nevüs	20
2.3.5.2. Konjenital Melanositik Nevüste Proliferatif Nodüller	21
2.3.6. Okuler ve SSS Benign Melanositik Tümörleri	21
2.3.6.1. Konjunktival Nevüs.....	21
2.3.6.2 Uveal Melanositom	21
2.3.6.3 Sınırlı Meningial Melanositom.....	21
2.3.6.4. Diffüz Meningial Melanositoz.....	22
2.4. Malign Melanositik Tümörler	22
2.4.1. Tanım ve İnsidans	22
2.4.2. Etyopatogenez ve Moleküler Sınıflandırma	22
2.4.3. Melanositik Tümörlerin Genetik Yapısı	24
2.4.4. Melanomun Klinik Özellikleri.....	28
2.4.5. Primer Kutanöz Melanom Tanı Kriterleri.....	28
2.4.6. Prognostik Faktörler ve AJCC (American Joint Committee on Cancer)	
Evreleme Sistemi.....	29
2.4.6.1. Prognostik Faktörler	29
2.4.6.2. AJCC (American Joint Committee on Cancer) Evreleme Sistemi	
(8. Edisyon, 2017).....	31
2.5. Kutanöz Melanom Sınıflandırılması.....	34
2.5.1. Güneş Maruziyeti Olan Deride Görülen Melanomlar.....	34
2.5.1.1. Düşük Kümülatif Güneş Hasarlı (KGH) Melanom (Yüzeyel	
Yayılan Melanom Dahil)	34
2.5.1.2. Yüksek KGH Melanom	35
2.5.1.2.1. Lentigo Malign Melanom (LMM).....	35
2.5.1.2.2. Desmoplastik Melanom	35
2.5.2. Güneşten Korunan Bölgelerde Ortaya Çıkan veya UV Radyasyonu ile	
Etiyolojik İlişkileri Olmayan Melanomlar	36
2.5.2.1. Malign Spitz Tümör (Spitz Melanoma)	36
2.5.2.2. Akral Melanom.....	36

2.5.2.3 Mukozal Melanom.....	37
2.5.2.4. Mavi Nevüsten Gelişen Melanom	38
2.5.2.5. Konjenital Nevüste Ortaya Çıkan Melanom	38
2.5.2.6. Uveal Melanom	38
2.5.2.7. Konjunktival Melanom.....	39
2.5.2.8. Nodüler Melanom.....	39
2.5.2.9. Nevoid Melanom	39
2.6. Preme (Preferentially Expressed Antigen in Melanoma).....	39
2.7. p21 Proteinini	43
3. GEREÇ ve YÖNTEM	46
3.1. Olgü Seçimi.....	46
3.2. Etik Kurul.....	46
3.3. Yöntem.....	46
3.3. İmmünohistokimyasal Değerlendirme	47
3.4. İstatistiksel Değerlendirme.....	48
4. BULGULAR.....	49
4.1. İmmünohistokimyasal bulgular.....	52
5.TARTIŞMA.....	68
6.SONUÇLAR.....	77
KAYNAKLAR	80

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Melanomun yolaklara göre sınıflandırılması	24
Tablo 2. Melanom ve öncü lezyonların epidemiyolojik, klinik, patolojik ve genomik özelliklere göre sınıflandırılması	27
Tablo 3. Amerikan Birleşik Kanser Komitesi 8. Baskı Evreleme Sistemi, Primer Tümör (pT)	31
Tablo 4. Amerikan Birleşik Kanser Komitesi 8. Baskı Evreleme Sistemi, N Kategorisi (N)	32
Tablo 5. Amerikan Birleşik Kanser Komitesi 8. Baskı Evreleme Sistemi, M Kategorisi (M)	33
Tablo 6. Amerikan Birleşik Kanser Komitesi 8. Baskı Evreleme Sistemi, Klinik Evre	34
Tablo 7. İHK yöntemi ile çalışılan antikorların marka ve dilüsyonları	47
Tablo 8. Tanımlayıcı ve prognostik değerlerin dağılımı.....	50
Tablo 9. Prognostik parametrelerin ortalama değerleri.....	51
Tablo 10. Uzak metastaz dağılımı.....	52
Tablo 11. PRAME ve p21 arasındaki uyumun incelenmesi	57
Tablo 12. PRAME boyanması ile klinikopatolojik parametreler arasındaki farklılıklar	58
Tablo 13. p21 boyanması ile klinikopatolojik parametreler arasındaki farklılıklar.....	59
Tablo 14. Ortalama sağkalım ile klinikopatolojik veriler arasındaki farklılıklar.....	60
Tablo 15. Genel metastaz varlığı ile PRAME ve p21 ekspresyonu ile ilişkisi	66
Tablo 16. PRAME pozitifliği için tanısal doğruluk ölçütleri.....	67
Tablo 17. p21 için tanısal doğruluk ölçütleri	67

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Derinin embriyolojisi	4
Şekil 2. Epidermisin tabakaları.....	4
Şekil 3. Dermis histolojisi	5
Şekil 4. Melanosit histolojisi	6
Şekil 5. Melanin sentezi.....	7
Şekil 6.(A)PRAME'nin yapısı.Protein Veri Bankası (PDB).	40
Şekil 7. PRAME ile ilişkili bazı genler ve etkileri	41
Şekil 8. PRAME'in görevleri	42
Şekil 9. p21'in etkileri	45
Şekil 10. Hücre siklusunda p21'in rolü	45
Şekil 11. Olgu gruplarının dağılımı	49
Şekil 12. Ortalama sağkalımın ülser ile ilişkisi	63
Şekil 13. Ortalama sağkalımın konak cevabı ile ilişkisi.....	63
Şekil 14. Ortalama sağkalımın breslow kalınlığı ile ilişkisi	64
Şekil 15. Ortalama sağkalımın uzak metastaz ile ilişkisi	64
Şekil 16. Ortalama sağkalımın genel metastaz durumu ile ilişkisi.....	65

RESİMLER DİZİNİ

- Resim 1.** A- İntradermal nevüs olgusu H&E görüntüsü (x100), B- İntradermal nevüs olgusunun PRAME ile negatifliği (İHK, x100), C- Displastik nevüs olgusu H&E görüntüsü (x100), D- Displastik nevüs olgusunun PRAME ile 1 pozitif boyanması (İHK, x100)..... 53
- Resim 2.** A- Melanom olgusu H&E görüntüsü (x100), B- Aynı olgunun PRAME ile 1 pozitif boyanması (İHK, x100), C- Melanom olgusu H&E görüntüsü (x100), D- Aynı olgunun PRAME ile 2 pozitif boyanması (İHK, x100) 53
- Resim 3.** A- Melanom olgusu H&E görüntüsü (x100), B- Aynı olgunun PRAME ile 3 pozitif boyanması (x100), C- Melanom olgusu H&E görüntüsü (x100), D- Aynı olgunun PRAME ile 4 pozitif boyanması (İHK, x100). 54
- Resim 4.** A- İntradermal nevüs olgusu H&E görüntüsü (x100), B- Aynı olguda p21 negatifliği ve internal kontrol olarak sebace bezlerin nükleer pozitif boyanması (İHK, x100), C- İntradermal nevüs olgusu H&E görüntüsü (x100), D- Aynı olguda p21 ile 1 pozitif boyanma (İHK, x100). 55
- Resim 5.** A- Displastik nevüs olgusu H&E görüntüsü (x100), B- Bu olguda p21 negatifliği(İHK, x100), C- Displastik nevüs olgusu H&E görüntüsü (x100) D- Aynı olguda p21 ile 1 pozitif boyanma (İHK, x100). 55
- Resim 6.** A- Displastik nevüs olgusu H&E görüntüsü (x100), B- Aynı olgunun p21 ile 2 pozitif boyanması (İHK, x100), C- Melanom olgusu H&E görüntüsü (x100), D- Aynı olgunun p21 ile 1 pozitif boyanması (İHK, x100). 56
- Resim 7.** A- Melanom olgusu H&E görüntüsü (x100), B- Aynı olgunun p21 ile 2 pozitif boyanması (İHK, x100), C- Melanom olgusu H&E görüntüsü (x100), D- Aynı olgunun p21 ile 3 pozitif boyanması (İHK, x100). 56
- Resim 8.** A- Melanom olgusu H&E görüntüsü (x100), B- Aynı olgunun p21 ile 4 pozitif boyanması (İHK, x100). 57

ÖZET

Melanomda PRAME ve p21 ekspresyonunun tanıya ve prognoza etkisi

Amaç: Melanom, yıllık artan insidansı ile en ölümcül deri kanseridir. Erken dönemde melanom cerrahi ile tedavi edilebilirken, metastatik lezyonlarda beklenen yaşam süresi dramatik şekilde düşmektedir. Bu nedenle bu olguların erken dönemde doğru tanı ve tedavi almaları iyi prognoz için oldukça önemlidir. Bu amaca yönelik son yıllarda çalışmalar göstermektedir ki; malign melanomun gen haritası oldukça heterojen olup, son yıllarda bu genetik bozuklukların tanısal ve terapötik yeri diğer kanserlerde olduğu gibi melanomda da anahtar rol kazanmıştır. Biz de çalışmamızda melanomlarda, displastik ve intradermal nevüslerle karşılaştırmalı olarak p21 ve PRAME ekspresyon düzeylerini belirlemeyi, bu ekspresyonların tanıya olan katkısı ve klinikopatolojik yönden önemini araştırmayı amaçladık.

Materyal-Metod: Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivinde, 2012-2022 yılları arasında melanom tanısı almış toplam 121 olgu, intradermal nevüs tanısı almış 46 olgu ve displastik nevüs tanısı almış 42 olguya ait Hematoksilin- Eozin (HE) kesitler histopatolojik olarak yeniden değerlendirildi. Olguların tamamına immünohistokimyasal olarak PRAME ve p21 uygulandı, sonuçların klinikopatolojik parametreler ve sağ kalım ile ilişkisi istatistiksel olarak araştırıldı.

Bulgular: İntradermal nevüs olgularının (n= 46) hiçbirinde PRAME ekspresyonu saptanmadı. Displastik nevüs olgularının (n= 42) 38'inde (%90,5) PRAME boyanması saptanmadı. İnvaziv melanom olgularının (n= 121) 112'sinde (%92,6) değişen oranlarda PRAME ekspresyonu saptandı. Nevüsler ile invaziv melanom olguları arasındaki PRAME ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (p<0,001). p21, nevüs olgularının 29'unda (%63) negatif, 17'sinde (%37) 1 pozitif saptandı. Displastik nevüs olgularının ise 19'u (%45,2) negatif, 22'si (%52,4) 1 pozitif, bir olgu (%2,4) 2 pozitif p21 boyanması gösterdi. Melanom olgularının yalnızca ikisinde (%1,7) p21 negatif iken, 37 olgu (%30,6) 1 pozitif, 29 olgu (%24) 2 pozitif, 32 olgu (%26,4) 3 pozitif ve 21 olgu (%17,4) 4 pozitif boyanma gösterdi. Klinikopatolojik parametreler ile PRAME ve p21 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı. Genel metastatik grup ile metastaz yapmayan grup karşılaştırıldığında, PRAME boyanması ile anlamlı ilişki görülmezken, p21 ile 3 ve 4 pozitif boyanmanın metastatik grupta daha fazla olması istatistiksel olarak anlamlı idi (p=0,024).

Sonuçlar: Çalışmamızda, PRAME yüksek ekspresyonunun melanom tanısında güvenilir bir yardımcı antikor olduğunu saptadık. p21 pozitifliği, nevüsten displaziye, melanoma progresyonda ve metastazda rol oynamakta olup tanısal güvenilirliğinin PRAME'e oranla daha düşük olduğunu gözlemledik. PRAME ve p21'in prognostik önemleri tartışmalı olup, çalışmamızda %50 üzeri ekspresyon varlığı daha kısa ortalama sağkalım ile ilişki bulunsa da, istatistiksel önemi gösterilemedi. Bu moleküllerin prognoza ve tedaviye etkilerine yönelik daha geniş olgu serileri içeren araştırmalarla desteklenmesinin literatüre katkıda bulunacağını düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Malign melanom, PRAME, p21

ABSTRACT

Effect of PRAME and p21 expression on diagnosis and prognosis in melanoma

Aim: Melanoma is the most lethal skin cancer with an increasing annual incidence. While melanoma can be treated with surgery in the early stages, the life expectancy in metastatic lesions decreases dramatically. Therefore, early diagnosis and treatment of these patients is very important for a good prognosis. Recent studies have shown that the genetic map of malignant melanoma is quite heterogeneous, and in recent years, the diagnostic and therapeutic role of these genetic disorders has gained a key role in melanoma as in other cancers. In our study, we aimed to determine the expressions of p21 and PRAME in melanomas compared to dysplastic and intradermal nevi, and to investigate the contribution of these expressions to diagnosis and their clinicopathological importance.

Materials and methods: Hematoxylin-Eosin sections of 121 melanoma cases, 46 intradermal nevus cases and 42 dysplastic nevus cases diagnosed with between 2012-2022 in the archives of Çukurova University Faculty of Medicine, Department of Pathology were re-evaluated histopathologically. Immunohistochemically, PRAME and p21 were applied to all of these cases, and the statistical relationship between the results and clinicopathological parameters and survival was investigated.

Results: PRAME expression was not detected in any of the intradermal nevus cases (n=46). PRAME staining was not detected in 38 (90.5%) of the dysplastic nevus cases (n=42). PRAME expression was seen in varying degrees in 112 (92.6%) of the invasive melanoma cases (n=121). When PRAME expression levels were compared between nevi and invasive melanoma cases, a statistically significant relationship was found ($p<0.001$). p21 was negative in 29 (63%) and 1 positive in 17 (37%) of the nevus. In dysplastic nevus cases, 19 (45.2%) showed negative, 22 (52.4%) showed 1 positive, and one (2.4%) showed 2 positive p21 expression. Only two (1.7%) of melanoma cases showed negative with p21, 37 (30.6%) showed 1 positive, 29 (24%) showed 2 positive, 32 (26.4%) showed 3 positive and 21 (17.4%) showed 4 positive p21 expression. No statistically significant relationship was found between clinicopathological parameters and PRAME and p21 expression. When the general metastatic group and the non-metastatic group were compared, no significant relationship was found with PRAME staining, whereas p21 3 and 4 positive staining was more common in the metastatic group ($p=0.024$).

Conclusion: In our study, we found that high PRAME expression is a reliable auxiliary antibody in melanoma diagnosis. We observed that p21 positivity plays a role in nevus-to-dysplasia and melanoma progression and also metastasis, and its diagnostic reliability is lower than PRAME. The prognostic significance of PRAME and p21 is controversial. In our study, expression of over 50% was associated with shorter mean survival, but statistical significance could not be demonstrated. We believe that supporting these molecules with studies including larger case series on their effects on prognosis and treatment will contribute to the literature.

Keyword: Malign melanoma, PRAME, p21

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Malign melanom, melanositlerden kaynaklanan agresif bir deri kanseri türüdür. Deri kanserlerin yaklaşık beşte birini oluşturmakta ve 2020 yılında dünya çapında yaklaşık 325.000 melanom vakası, 57.000 melanoma bağlı ölüm tahmin edilmektedir [1]. Morbidite ve mortalitesi yüksek malignitelerden olan melanomun özellikle son 30 yılda insidansı artma eğilimindedir. Tanı vermede histopatolojik değerlendirme altın standart olmakla birlikte, özellikle ara lezyonlarda histopatoloji yetersiz kalabilmektedir. Tanı güçlüğü yaratabilen bu lezyonlarda bazen mevcut immünohistokimyasal ve moleküler yöntemler de yardımcı olmayabilmektedir. Tedavide cerrahi, radyoterapi ve kemoterapiye ek olarak immun kontrol mekanizması, küçük molekül kinaz inhibitörleri gibi güncellenen tedavi rejimlerine rağmen hastaların yaşam kalitesi ve sağ kalım üzerindeki etkisi halen istenen düzeyde değildir. Bu nedenle melanom olgularında gerek tanıya yardımcı, gerekse terapötik yeni moleküllere yönelik literatürde çalışmaların sayısı hızla artmaktadır.

p21, hücre siklusunda G1/S geçişinde doğrudan etkili olan CDK2, CDK3, CDK4 ve CDK6'yı etkili bir şekilde inhibe eden bir proteindir. Ayrıca bilinen diğer CDK(Siklin bağımlı kinaz)'ların da zayıf bir inhibitörüdür. Çeşitli çalışmalarda, p21 protein ekspresyonu ile melanomun progresyonu arasında pozitif bir korelasyon, nevüslerde ise düşük seviye veya kayıp olduğu gösterilmiştir [2-4]. Ayrıca diğer parametrelerle kombinasyon halinde p21 aşırı ekspresyonunun, daha kısa sağkalım ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür [5].

PRAME ise insan testis dokusunda yüksek seviyelerde tespit edilmiş kanser testis antijeni (CTA) ailesinin bir üyesidir. Deri dahil diğer insan dokularında çok az ekspresyon gösterir ya da ekspresyonu izlenmez. Primer ve metastatik melanom, akciğer, baş ve boyun bölgesindeki skuamöz hücreli karsinom, renal hücreli karsinom, meme karsinomu, çeşitli sarkomlar ve lösemiler dahil olmak üzere birçok kanserde PRAME messenger RNA (mRNA) ekspresyonunda artış çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir [6-9]. PRAME mRNA artmış regülasyonunun nevüslerin aksine melanomlarda izlendiği bazı çalışmalarda tespit edilmiştir [10-12]. Bu nedenle PRAME, hem melanomda hem de diğer kanserlerde bir malignite belirteci olarak görev alabileceği düşünülmüştür.

Biz de çalışmamızda melanomlarda displastik ve intradermal nevüslerle karşılaştırmalı olarak p21 ve PRAME ekspresyonlarının tanıya katkılarını ve bu ekspresyonların klinikopatolojik yönden önemini araştırmayı hedefledik.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. İnsan Derisi Anatomi ve Embriyolojisi

Vücut yüzeyini örten deri, 1.5-2 m² yüzey alanı ve vücut ağırlığının %12-15'ini oluşturarak vücudumuzun en büyük organını temsil etmektedir. Epidermis tabakasının sertliği, bezlerin salgıları, dermis tabakasının elastikiyeti ve sıklığı sayesinde her türlü mekanik, termal ve kimyasal etkilere karşı vücudu çevreden ayıran koruyucu bariyerimiz deri histolojik olarak, yukarıdan aşağıya doğru epidermis, dermis ve subkutis (hipodermis) olmak üzere üç tabaka içerir [13].

Epidermis

Embriyolojik olarak üst katmanı oluşturan epidermis, yüzey ektoderminden gelişirken; derinde yer alan dermis ise mezenkimal kökenlidir.

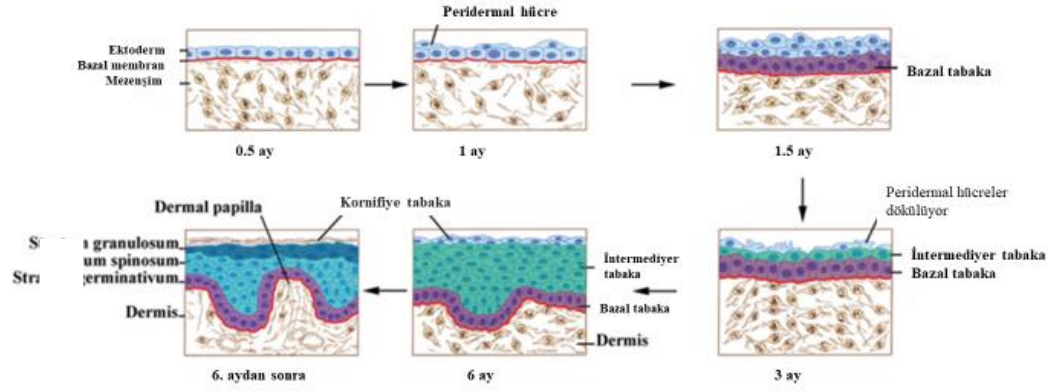
İntrauterin dönemin başlarında embriyo tek katlı bir ektodermal hücre katmanı ile çevrili alttaki mezenşimden bazal membranla ayrılmış durumdadır. 4.-6. haftalarda ektoderm bölünerek basit skuamöz hücrelerden oluşan periderm (epitrichium) tabakasını oluşturur. Periderm, gelişecek epidermis için geçici koruyucu zar görevi görür; embriyo ile amniyotik sıvı arasındaki su, sodyum ve glikoz değişiminde rol oynar. İlerleyen haftalarda periderm ve altındaki bazal tabaka belirginleşir. 8.-11. haftalarda bazal tabakadaki hücrelerin proliferasyonu ile peridermin altında intermediate tabaka oluşur. 12.-16. haftalarda ise periderm apoptoz yoluyla sürekli deskuamasyona uğrayıp amniyon sıvısına dökülürken intermediate tabaka yavaş yavaş kalınlaşıp tabakalı skuamöz epitele dönüşür (Şekil 1). Bu tabakalar bazalden superiora doğru stratum basale, stratum spinosum, stratum granulosum, stratum lucidum, stratum korneum şeklindedir (Şekil 2) [14].

Stratum basale diğer adıyla germinatif tabaka; derinin hücre proliferasyonundan sorumlu, dezmozomları aracılığıyla epidermise sağlamlık, enfeksiyona direnç sağlayan tabakasıdır. Bu tabakanın oluşturduğu girinti ve çıkıntılar deri yüzeyinde parmak izi gibi karakteristik yapıları oluşturmaktadır (tek sıralıdır).

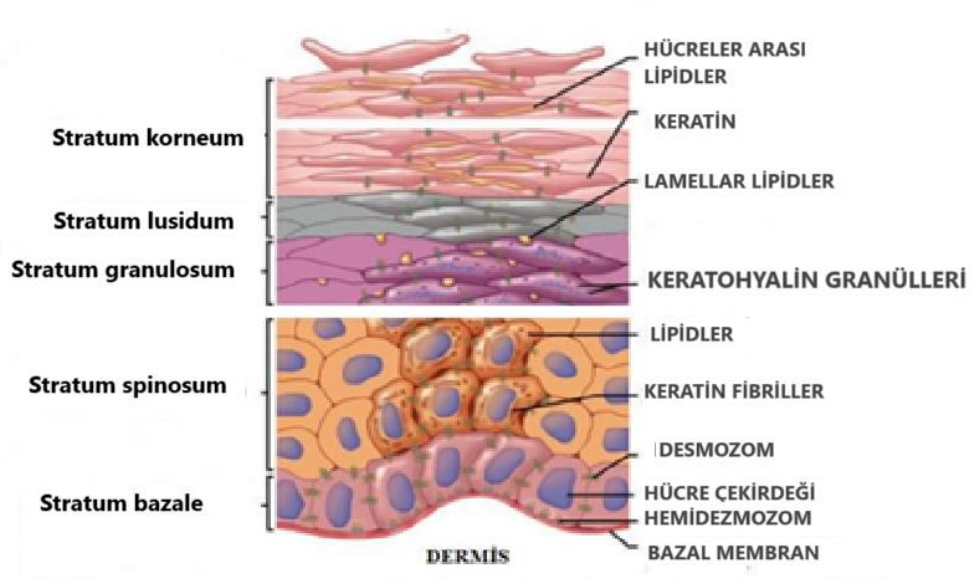
Stratum spinosum; ince tonofibriller içeren büyük polihedral hücreler içermektedir (5-15 sıralıdır).

Stratum granulosum; keratin filamenlerle yakından ilişkili yoğun keratohyalin granüller içermektedir (1-3 sıralıdır).

Stratum korneum; nispeten daha sert ve geçirimsiz bu tabaka düzleşmiş, sıkı şekilde paketlenmiş keratin ile dolu ölü hücrelerden meydana gelmekte, cilt yüzeyinin pullu görünümünü sağlamaktadır (5-10 sıralıdır) [15].



Şekil 1. Derinin embriyolojisi



Şekil 2. Epidermisin tabakaları

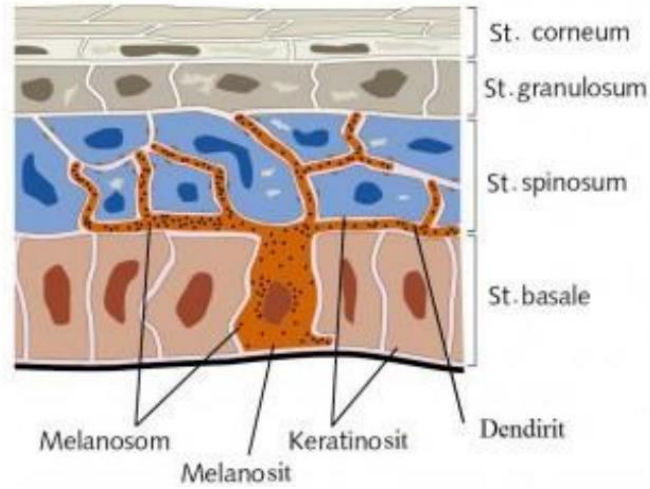
Dermis

Dermis (koryum) mezodermden gelişmiş olup embriyolojik olarak ekstremiteler ve gövdeyi saran dermis, lateral mezoderm tabakasından; sırtı örten dermis paraksiyel mezodermden, baş ve boyunu örten dermis ise nöral krest hücrelerinden köken

almaktadır. İntrauterin üç ve dördüncü aylarda, dermis dermal papilla olarak da adlandırılan düzensiz parmaklı çıkıntılar oluşturulur. Bu papillaların çok büyük bölümünde küçük kapiller yapılar ve sensörinöral uç organlar bulunur. Retiküler dermis ise papiller dermisin altında daha büyük damar yapıları ve kollajen demetleri içeren dermis tabakasıdır. Retiküler dermis, geçişin net olmadığı hipodermis (subkutan doku) tabakasıyla devam eder. Bu tabaka yüksek oranda yağ dokusu içermektedir (Şekil 3) [14].

Şekil 3. Dermis histolojisi

Melanositler



Şekil 4. Melanosit histolojisi

Melanin Sentezi

Renkleri sarıdan siyaha kadar değişen ve ırklar arasındaki çeşitli cilt renklerini oluşturan pigmentli bir protein kompleksi olan melanin; deride ve saçta feomelanin (kahverengi-siyah) ya da eumelanin (kırmızımsı-sarı) olarak bulunur. Normal epidermal melanositler her iki melanini de sentez ederler; ancak bu ikisinin miktarı ve dağılımına bağlı olarak deri, saç ve kılların rengi değişkenlik gösterir. Ayrıca güneş ışığı, hormonlar (MSH, ACTH, prostaglandinler, lipotropinler ve seks steroid hormonları) ve genetik özellikler de sentezlenen pigment miktarını etkiler [17].

Derideki melanositler tarafından üretilen endojen bir pigment olan melanin sentezi melanozomlarda gerçekleşir. Gelişimin erken evrelerinde melanozomlar membranla çevrili veziküller halindedir ve golgi-ilişkili endoplazmik retikulumda yerleşmiştir [17].

Melaninin öncü maddesi, diyetle alınabileceği gibi esansiyel bir aminoasit olan fenilalaninden de karaciğerde hidrosilasyonla sentezlenebilen tirozindir. Tirozin, melaninin bütün tipleri için ana maddedir. Tirozinaz, L-tirozinin DOPA'ya dönüşümünü katalize eder. Ayrıca tirozinaz aktivitesi de DOPA yoluyla olur ve melanozomun bir transmembran proteini olan tirozin-bağımlı-protein 1 (TRP1) ile stabilize edilir. Daha sonra yine tirozinaz enzimiyle DOPA, Dopakinona dönüşür. Ortamda sistein çok fazlaysa sistein eklenmesiyle feomelanine dönüşüm gerçekleşir, ancak sistein tükendiğinde dopakrom tautomeraz enzimi ile eumelanin sentezlenir (Şekil 5) [17, 18].

UV exposure/DNA damage

ROS

p53

MDM2

α-MSH

cAMP

PKA

CREB

MITF

DCT

TYR

TYRP1

PCG1 alpha

ERAD

Endosome

SLC16A10

Tyr

Phe

PAH + 6BH₄ + O₂

H₂O₂

ATP7A

SLC45A2/MATP

TYR

TYRP1

DCT

Stage I Melanosome

Stage II Melanosome

Stage III - IV Melanosome

Cystine reductase

xCT SLC7A11

MFSD12

Cys

V-ATPases

TPC2

OCA2

L-Tyrosine

L-DOPA

DOPA-quinone

Eumelanin

Pheomelanin

NHEs

CTNS

ATP7A

Cu²⁺

ROS

Melanositik tümörler melanositlerin proliferasyonundan kaynaklanan ve onkojenik mutasyonlar sonucu ortaya çıkan lezyonların genel ismidir. Malign, benign ve ara kategoriye sahip bu lezyonların benign olanları nevüs, malign olanları melanom olarak adlandırılır. Benign lezyon kategorisi onkojenik mutasyona sahip hücrelerin klonal proliferasyonları ve çoğu vakada melanom öncüsü olduğu için neoplazi olarak kabul edilmektedir [20]. Melanositik tümörler dokuz ana başlık altında toplanıp Dünya Sağlık Örgütü 2018 sınıflaması temel alınarak 2023 sınıflamasına göre aşağıdaki gibi sınıflandırılmaktadır:

Aralıklı olarak güneşe maruz kalan deride görülen melanositik tümörler:

- Düşük KGH Melanomları (Yüzeyel Yayılan Melanom)
- Basit Lentigo ve Lentiginöz Melanositik Nevüs
- Junctional Nevüs
- Compound Nevüs
- Dermal Nevüs
- Displastik Nevüs
- Spilus Nevüs
- Özel Bölge Nevüsleri
- Halo Nevüs
- Meyerson Nevüs
- Rekürren Nevüs
- Birleşik Nevüs
- WNT-Aktive Derin Penetran / Pleksiform Melanositom (Nevüs)
- Pigmente Epiteloid Melanositom
- BAP1- İnaktive Melanositom
- MITF Yolak Aktive Melanositik Tümör

Kronik olarak güneşe maruz kalan deride görülen melanositik tümörler:

- Lentigo Malign Melanom
- Desmoplastik Melanom

Spitz tümörler:

- Malign Spitz Tümör (Spitz Melanoma)
- Atipik Spitz Tümör (Spitz Melanositom)
- Spitz Nevüs

Akral deride görülen melanositik tümörler:

- Akral Melanom
- Akral Nevüs

Genital ve mukozal melanositik tümörler:

- Mukozal Melanomlar (genital, oral, sinonazal)
- Mukozal Lentiginöz Melanom
- Mukozal Nodüler Melanom
- Genital Nevüs

Mavi nevüsten gelişen melanositik tümörler:

- Mavi Nevüsten Gelişen Melanom
- Mavi Nevüs
- Sellüler Mavi Nevüs
- Mongol Lekesi
- Nevüs İto
- Nevüs Ota

Konjenital nevüsten gelişen melanositik tümörler:

- Büyük Konjenital Nevüsten Gelişen Melanom
- Konjenital Melanositik Nevüs
- Konjenital Melanositik Nevüste Proliferatif Nodüller

Oküler ve SSS melanositik tümörler:

- Uveal Melanom ve Melanositom
- Konjunktival Melanom
- Konjunktival İntraepitelyal Melanositik Lezyonlar
- Konjunktival Nevüs
- Diffüz Meningeal Melanositozis ve Melanomatosis
- Sınırlı Meningeal Melanositom ve Melanom

Nodüler, nevoid ve metastatik melanomlar:

- Nodüler Melanom
- Nevoid Melanom
- Metastatik Melanomlar

2.3.1. Aralıklı Olarak Güneşe Maruz Kalan Deride Benign Melanositik Tümörler

2.3.1.1. Basit Lentigo ve Lentijinöz Melanositik Nevüs

Basit lentigo ve lentijinöz melanositik nevüs, klinik olarak 3-15 mm çapında, düzensiz kenarlı, yuvarlak veya oval maküllerden oluşmaktadır. Vücudun herhangi bir yerinde ortaya çıkabilecek bu lezyonlar ağrısız ve kaşıntısız olup güneşe maruz kaldıklarında kararma göstermezler. Lezyonlar çocukluk çağında görülmeye başlar, orta yaş civarında sayıları artabilir ancak genelde ileri yaşta sayıları azalır. Kafkas ırkında sık görülen bu lezyon için açık tenli, kıvrık saçlı, mavi gözlü olmak, güneş maruziyetinde ciltte yanma hassasiyetine sahip olmak (Fitzpatrick tip I cilt) risk faktörleri arasındadır [21].

Basit lentigo, epidermis bazal tabakası boyunca melanositik yuvalar olmaksızın, artmış intraepidermal melanosit içeren, retelerde uzama gösteren hiperpigmente keratinositlerle karakterizedir. Lentijinöz melanositik nevüs ise epidermin bazal tabakasında üç veya daha fazla melanositik yuva içeren lentijinöz bir melanositik proliferasyondur. Lentijinöz birleşik nevüs, intraepidermal bileşenle birlikte papiller dermiste intradermal melanositik yuvalara sahip lezyonları temsil eder. 'Lentijinöz' tabiri, dermoepidermal bileşke boyunca melanositlerin çoğalması anlamına gelir. Bu melanositler nükleer atipi içermezler, nükleusları küçük, oval-yuvarlak, monomorfiktir. Hücreler nadiren nükleer irileşme, pigmente dentritik uzantılar ve sitoplazmaya sahip olabilirler [21, 22].

2.3.1.2. Junctional, Kompound ve Dermal Nevüs

Junctional, kompond ve dermal nevüs, nevoid hücrelerin benign proliferasyonlardır. Klinik olarak lokalize, simetrik, uniform ve tipik olarak 5 mm' den küçük çapa sahip pigment lezyonlardır. Edinilmiş nevüsler genellikle çocukluk çağında ortaya çıkıp ergenlikte maksimum sayıya ulaşır. Daha sonraki yıllarda ise sayıları azalır [23].

Bu lezyonlar nevoid melanositik yuvaların varlığı ile tanımlanır. Nevoid melanositler normal melanositten daha büyük, daha az belirgin dentritlere sahip ve sıklıkla pigment içerirler [24]. Junctional nevüste bu yuvalar dermoepidermal bileşkede tek tek duran melanositlerle karışık bir şekilde bulunur. Kompound nevüste ise ek olarak dermiste de bu yuvalar bulunur. Dermal nevüs ise junctional yani dermoepidermal

komponent içermez ve genelde lezyon derinlerinde pigment azalarak kaybolur [24]. Mitoz beklenmez, ancak çocukluk çağında ve hamilelerde yüzeysel dermiste mitoz karşımıza çıkabilir [25].

Dermisteki nevoid hücreler A, B ve C olmak üzere üç tip hücreden oluşur ve yüzeysel dermisten derinlere doğru bu hücreler matürasyon gösterirler. Tip A nevoid hücreler, genellikle yüzeysel dermiste yuvalar halinde organizasyon gösteren büyük epitelioid hücrelerdir. Lezyonun daha derininde morfolojik olarak küçük, lenfosit benzeri hücreler olan tip B hücreler bulunur. Tip C hücreleri ise lezyonun alt tabakasında görülür ve morfolojik olarak Schwannian farklılaşma gösteren bu hücreler iğsi olup, kıvrımlı nükleusa sahiptirler. Duyusal sinir ve organları taklit eden yapılanmalar oluşturur ve daha az yuvalanma gösterirler. Bu fenotipik farklılaşmanın altındaki mekanizma tam olarak anlaşılmassa da epidermis ve deri eklerinden salınan çeşitli faktörlerin bu maturasyonda rol aldığı bilinmektedir. Matürasyon mekanizmasında WNT yolağı aktivasyonu yer alır. WNT yolağının aktive olması pigmentasyonu ve hücre boyutu artışını indükler. Pigmentasyon ve hücre boyutundaki artış epitelde yüzeysel tabakadan derinlere doğru giderek azalmaktadır [26].

2.3.1.3. Displastik Nevüs

Displastik nevüs, klinik olarak atipik olan, histolojik olarak yapısal bozukluk ve sitolojik atipiye sahip her zaman junctional komponent içeren benign melanositik proliferasyondur. Klinik ve mikroskopik morfolojilerine ek olarak genomik özellikleri açısından da displastik nevüsler, kazanılmış nevüsler ile radyal büyüme fazına sahip melanomlar arasında bir konumdadır. Nadiren melanoma ilerleyebilirler, sayıları 10'dan fazla olduğunda bu olasılık soliter lezyona oranla altı kat fazladır[27]. Bu lezyonlar ergenlik döneminde gelişir. Prevalansı daha büyük yaş gruplarında, belki de kısmen bir kohort etkisiyle ve involüsyon nedeniyle giderek azalır. Diğer melanositik tümörler gibi (melanomlar dahil), displastik nevüs de genetik, çevresel ve fenotipik faktörler, özellikle güneşe hassasiyet ve maruziyetle ilgili faktörler sebebiyle ortaya çıkar. Kronik ultraviyole (UV) radyasyona maruziyet ve bunun sonucunda ortaya çıkan kümülatif güneş hasarının (KGH) nevüs üzerinde etkili olması, klinik ve histolojik atipinin özelliklerini destekleyebilir. Lezyon her yerde görülebileceği gibi en sık yerleşim yeri sırttır, akral yerleşim nadirdir [28]. Klinik olarak şu özelliklerden en az üçünün olması gerekir:

düzensiz sınır, 5 mm'den büyük boyut, renk çeşitliliği, düzensiz çevresel kontur ve eritem [29].

Displastik nevüsün histopatolojik tanı kriterleri ise yapısal ve sitolojik atipi değişikliklerini içerir [30]. "Yapısal atipi" tabiri, tipik bir junctional nevüs paterninden farklı olduğu ve bu lezyonların banal nevüslere göre artmış boyutunu ifade eder. Sıklıkla lentijinöz paternde tek tek dizilmiş hücrelerden oluşan komponent içermekle birlikte, lezyonda genelde yuvalanma paterni baskındır. Yapısal atipi özellikleri arasında omuz bulgusu (dermal komponente kıyasla junctional komponentin yanlara doğru daha geniş uzanması), bitişik retelerdeki yuvaların birleşme eğilimi, melanositlerin suprabazal yayılımı (tipik olarak, melanomdan daha az belirgin ve alt epidermal tabakalara sınırlı), uzamış retelerin çevresinde konsantrik ve lameller fibroplazi, yamasal lenfositik infiltrat yer alır [31]. Sitolojik atipi, değişen derecelerde nükleer kontür düzensizliğine sahip iri nükleuslar, kromatinde kabalaşma, tozsu melanin pigmenti, hiperkromazi ve nükleol belirginliği ile karakterizedir. Sitolojik atipinin derecesi, sıklıkla nükleer boyutun bazal keratinositlerle karşılaştırılmasıyla değerlendirilir. Lezyonda mitozlar beklenmez; ama varsa, melanomu ekarte etmeyi gerektiren çok önemli bir sitolojik bulgudur [30].

2.3.1.4. Nevüs Spilus

Nevus spilus, epidermis ve yüzeysel dermisteki benign nevoid hücrelerden oluşan, değişen sayılarda koyu pigmentli makül ve papül içeren hiperpigmente melanositik bir nevüstür. Vücudun herhangi bir bölgesinde ortaya çıkabilen bu lezyon sıklıkla gövde ve ekstremiteler yerleşimlidir [32]. Boyutları 1 ile 60 cm arasında değişen nevüs spilus, genellikle 3-6 cm çapa sahiptir. Yaklaşık %80'i doğumda veya erken infantil dönemde ortaya çıkar. Doğumda açık renkli cafe-au-lait makulleri olarak ortaya çıkan bu lezyonlar daha sonraki yıllarda koyu hiperpigmente makül ve papüllere dönüşebilirler [33].

2.3.1.5. Özel Bölge Nevüsleri

Özel bölge nevüsleri, belirli anatomik lokalizasyonlarda (meme, aksilla ve diğer fleksural bölgeler, saçlı deri, kulak, göbek, genital deri ve akral deri gibi) yerleşmiş melanositik nevüslerdir. Bu nevüsler benign olmalarına rağmen atipik histopatolojik özellikler içerebilirler. Bu durumda bu nevüsleri melanomdan ayırt etmek zor bir hal alır bu da yanlış tanıya ve/veya gereksiz yere büyük eksizyonlara sebep olur. Bu atipik

özelliklerin gelişiminde embriyolojik, hormonal ve fiziksel etkilerin (ultraviyole radyasyona maruz kalma, travma gibi) bu özel anatomik lokalizasyonlarla ilişkisi henüz çözülmemiştir. Bu nevüslerin farklı klinikopatolojik bir antite olması da halen tartışma konusudur.

Özel bölge nevüsleri, displastik nevüs ve melanomla örtüşen yapısal özelliklere sahiptir. Bunlar asimetri, düzensiz junctional komponent varlığı, sitolojik atipi, pagetoid yayılım, dermal fibroplazi ve lenfositik infiltrasyondur [34]. Atipik histopatolojik özelliklere sahip özel bölge nevüsleri, genellikle 6 mm'den büyük ve düzensiz sınırlara sahiptirler [35]. Özellikle, memede yerleşen nevüslerin diğer bölgelerdeki nevüslere kıyasla daha fazla atipik özellikler sergilediği; yuvalanma düzensizliği, belirgin intraepidermal melanositler, sitolojik atipi ve dermal fibroplazi içerdiği bildirilmektedir [36]. Saçlı deri nevüsleri lentijeröz büyüme, büyük pleomorfik diskoheziv yuvalar, büyük nükleuslu ve geniş soluk sitoplazmalı dağınık melanositler, yüzeysel fibroplazi gibi displastik nevüsle örtüşen yapısal atipi ve/ veya folliküler tutulum gibi yüzeysel konjenital nevüslerle örtüşen özellikler içerebildiği gösterilmiştir [37].

2.3.1.6. Halo Nevüs

Halo nevüs, histopatolojik olarak sıklıkla belirgin bir lenfositik infiltratla ilişkili, periferi depigmente bir nevüstür. Yaygın olarak çocuklarda ve genç erişkinlerde görülmekle birlikte genel popülasyonda insidansının %1 olduğu tahmin edilmektedir [38]. Vitiligoya benzer immun mekanizmaya sahip bu nevüs, vitiligodan daha güçlü immun yanıtı sahiptir [39]. Nevüsün inflamatuvar infiltratında antijen sunan hücreler, CD4+ ve daha baskın CD8+ T hücrelerinin varlığı, periferdeki nevoid hücrelerinin yok edilmesinde sitotoksik mekanizmalara işaret etmektedir. Önce nevüs çevresinde bir halo ortaya çıkar, ardından nevüs giderek soluklaşır ve kaybolur. Halo fenomeni, regrese melanomun aksine fibrozisle ilişkisizdir. Erken halo nevüs, papiller dermiste ve genellikle epidermiste yer alan nevoid hücrelerden oluşan küçük sınırlı bir lezyon olarak ortaya çıkar. Bu lezyonlar simetrik olup lezyon derinine doğru maturasyon gösterir. Halo nevüslerin yaklaşık yarısında hiperkromazi ve hafif derecede nükleer pleomorfizm görülür. Lenfositik infiltrat, nevüs hücrelerini kısmen veya tamamen saklar. Melanin yüklü histiyositler ve mast hücreleri görülebilir. Mitoz beklenmez [40].

2.3.1.7. Meyerson Nevüs

Meyerson nevüs, ekzematöz dermatit ile birlikte görülen histomorfolojik olarak spongiosis ile karakterize benign bir nevustur. Nevüsün eksizyonu ile çevre dokuda eşlik eden iltihabın gerilemesi nedeniyle, bu ekzematöz reaksiyona nevüs içindeki faktörlerin sebep olduğu düşünülmüştür. Genç erişkinlerde ve sıklıkla gövde, proksimal ekstremiteler yerleşimlidir [41]. Eritem ve pullanma simetrik olarak nevüsü çevreler ve merkezi nevüsün sınırlarının ötesine uzanır, bu pullanma halo nevüstekine benzer bir hale oluşturur (Meyerson fenomeni) [42]. Kaşıntılı lezyonlardır. Bazı durumlarda, topikal kortikosteroid tedavisi ile inflamasyon azaltılabilir; ancak iltihabın azalması için eksizyon gereklidir. Histomorfolojik olarak nevüsle birlikte epidermal akantoz, spongioz ve parakeratoz görülür. Yüzeyel perivasküler lenfositik infiltrat CD4 pozitif T lenfosit baskındır. Eozinofil görülebilir. Lenfositik infiltrasyon yoğunluğu; alttaki nevüsü gizleyebilir [42].

2.3.1.8. Rekürren Nevüs

Rekürren nevüs, eksik cerrahi eksizyon, biyopsi veya travmadan sonra tekrarlayan nevüs tipidir. Ağırlıklı olarak 20-30 yaş arası kadınlarda ve en sık sırtta görülür [43]. Nevüs hücrelerinin (eksik çıkarılma nedeniyle) her zaman mevcut olduğuna, ancak muayenede nevüs tekrarlayana kadar klinik olarak belirgin olmadığını ifade edilmektedir. Bu sebeple bazı klinisyenler "kalıcı nevüs" tabirini tercih etmektedir. Rekürren nevüs, klinik olarak skar dokusu içinde pigmentasyon varlığı ile tanınır. Morfolojik görünüm, tek tip simetrik ten rengi maküllerden, asimetrik hiper ve hipopigmente maküllere kadar değişkenlik gösterebilir; bu da klinisyende melanom şüphesi geliştirir. Rekürren nevüs hem klinik hem de histolojik olarak melanoma benzeyebilir. Nevüs klasik trizonal histopatolojik paterne sahiptir. Junctional bir komponent, skar komponenti ve altta yatan benign dermal bir komponent mevcuttur [44]. Retelerde düzleşme ve epidermal atrofi vardır. Junctional komponent, pagetoid veya irregüler dağınık yuvalarla birlikte lentiginöz olabilir. Melanositler epiteloïd morfolojide ve hafif-orta derecede sitolojik atipiyeye sahiptir. Skar dokusunun yüzeyel kısmında atipik hücre görülebilir. Mitoz beklenmez, ancak nadiren görülebilir [43].

2.3.1.9. Wnt Aktive Derin Penetran Nevüs / Pleksiform Melanositom

Derin penetran nevüs, pigmente epiteloid veya iğsi nevoid hücrelerden oluşan edinilmiş melanositik neoplazidir. Sıklıkla baş, boyun, üst gövde ve proksimal ekstremiteler yerleşimli bu lezyon kadınlarda daha sıktır [45]. Klinik olarak simetrik, iyi sınırlı, 5 mm' den küçük, koyu kahverengi veya mavimsi-siyah papüller şeklinde görülür.

Lezyonların %60-85'inde junctional komponent vardır. Derin penetran alt tipte; lezyon kama şeklinde ve derin retiküler dermise veya subkutise ilerler. Lezyon genellikle deri ekleri ve nörovasküler yapılar boyunca uzanır. Pleksiform iğsi hücreli alt tipinde ise; bu proliferasyon, fasiküler-pleksiform (şamdan benzeri) şekilde ve daha yüzeysel olur [46]. Mitoz ≤ 2 mitoz / 1 mm²' dir. İmmunohistokimyasal olarak LEF-1 ve β -Katenin pozitifliği tanıya yardımcıdır [47].

2.3.1.10. Pigmente Epiteloid Melanositom

Pigmente epiteloid melanositom (PEM), bölgesel lenf nodlarıyla sınırlı metastatik potansiyeli olan, yoğun pigmentli epiteloid ve dendritik hücrelerden gelişen melanositik bir neoplazmdır. Genellikle çocuk ve genç erişkinlerde görülen bu lezyon her yaşta ortaya çıkabilir. En sık lokalizasyon ekstremiteler, baş- boyun ve gövdedir. Bu lezyon yavaş büyüyen pigmentli nodül veya papül olarak kendini gösterir. Kombine bir nevüsün komponenti olabilir. İnfiltratif sınırları olan bu lezyona sıklıkla epidermal hiperplazi eşlik eder [48]. PEM, melanofajlarla karışık değişken oranlarda pigmentli uzun sitoplazmik uzantıları olan dendritik hücrelerden ve epiteloid melanositlerden oluşur. Mavi nevüsün aksine, bu lezyondaki dendritik hücreler veziküle ve belirgin nükleoluslu nükleuslara sahiptir. Epiteloid hücreler yuvarlak veya poligonal ve boyutları orta ila büyük arasında değişir. Bazen bu epiteloid hücrelerde belirgin pleomorfizm, multinükleasyon olabilir. Mitoz nadirdir. Büyük PEM'lerde ülserasyon veya tümör nekrozu görülebilir [49]. İmmunohistokimyasal olarak rutin melanositik belirteçlerin ekspresyonu yanında PRKAR1 ekspresyon kaybı %80 oranında görülür ve tanıya yardımcıdır [50].

2.3.1.11. BAP1 İnaktive Melanositik Tümör

BAP1 inaktive melanositik tümör (BİMT), klinik olarak genellikle göze çarpmayan, ten rengi veya kırmızımsı kahverenkte, 4-12 mm büyüklüğünde papüller veya

nodüller şeklinde görülür. Vücudun herhangi bir yerinde çıkabilir, ancak sıklıkla baş boyun, gövde ve üst ekstremiteler gibi güneş gören yerlerde çıkan nadir bir tümördür.

Histomorfolojik olarak geniş bir spektruma sahip olan bu tümör çoğunlukla sitoplazmik sınırı belirgin geniş eozinofilik sitoplazmalı, belirgin nükleollere sahip veziküle nükleuslu büyük epitelooid melanositlerden oluşur [51]. Sıklıkla junctional komponent içermekle birlikte bu lezyon ağırlıklı olarak intradermaldir. BAP1 inaktive melanositler dermiste ve tipik olarak pigmentsizdir. Mitoz beklenmez ve sıklıkla lenfositik infiltrasyon bulunur. Melanoma ilerleyen vakalar nadirdir [52]. İmmunohistokimyasal olarak BAP1 nükleer kaybı görülür, ancak kombine vakalarda nevoid komponentte BAP1 korunur [53].

2.3.1.12 MITF Yolak Aktive Melanositik Tümör

ACTIN::MITF translokasyonu veya *MITF::CREM* translokasyonu içeren şeffaf hücre değişikliği gösteren melanositik neoplazmlardır. Bu tümörler geniş yaş aralığına sahiptir ve kadınlarda daha sık görülür. Gövde ve distal ekstremiteler yerleşimlidirler [54]. Histomorfolojik olarak intraepidermal komponent içermeyen bu tümör dermal yerleşimlidir. İnfiltratif sınırlara sahip geniş şeffaf sitoplazmalı, değişken derecede nükleer atipiyeye sahip hücrelerden oluşur. Dermal kollajen demetleri aralarına uzanıp dama tahtası benzeri görüntü oluştururlar. Mitoz nadirdir, ülserasyon ve nekroz beklenmez [55]. Ayırıcı tanıları arasında PEComa, melanom ve şeffaf hücreli sarkom girer. İmmunohistokimyasal olarak MITF kuvvetli ekspresyonu, melanositik belirteçlerin pozitifliği beklenir [54].

2.3.2. Benign Spitz Tümörler

2.3.2.1. Spitz Nevüs

Spitzoid melanositik tümörler, sitoplazmik sınırları belirgin büyük epitelooid ve/veya iğsi hücrelerden oluşur. Spitz nevüs vücutta herhangi bir lokalizasyonda ortaya çıkabilir, ancak en sık alt ekstremitelerde görülür. Her yaşta görülebilen bu lezyon klinikte 3-6 ay içinde hızlı büyüyen daha sonra büyümesi duran nodüller olarak karşımıza çıkar. Konjenital Spitz nevüs son derece nadirdir. Genellikle kama şeklinde epidermisten retiküler dermise uzanan epitelooid ve/veya iğsi hücre proliferasyonu içerir. Lezyon

simetrik ve iyi sınırlıdır. Spitz nevüsün çok fazla histolojik paterni vardır (örn; anjiyomatöz, desmoplastik, hyalinize, pleksiform / fasiküler, nöroid, pagetoid, pigmente içsi, kombine, tübüler, miksoid gibi) [56]. Junctional komponent genellikle çevredeki epidermisten ayrılma artefaktı gösterir. Dermoepidermal bileşkede Kamino cisimcikleri denen genelde gruplar halinde bulunan, soluk eozinofilik, hiyalin globüller görülebilir. Bu cisimler histokimyasal olarak PAS (periyodik asit-Schiff) ve Trikrom ile pozitifdir. Epidermiste hafif akantozdan psödoepitelyomatöz hiperplaziye varan değişiklikler, yüzeyel dermiste ödem, telenjektazi ve vasküler yapılar çevresinde lenfoid infiltrasyon görülebilir. Mitotik aktivite nadir ve yüzeye sınırlıdır. Atipik mitoz görülmez [57].

2.3.2.2. Pigmente İçsi Hücreli Nevüs (Reed Nevüs)

Reed nevüs olarak da adlandırılabilen pigmente içsi hücreli nevüs (PSCN), Spitz nevüsün farklı bir tipidir. Atipik pigmentli içsi hücreli tümör (APSCT) ise bir veya daha fazla atipik özelliğe sahip bir PSCN' dir. Bu iki benign antite melanom ile sık karıştırıldığı için önem taşımaktadır [58].

PSCN ve APSCT sıklıkla ekstremitelere yerleşim gösterir. Her yaşta ortaya çıkabilecekleri gibi genç erişkinlerde daha sık görülür ve kadın baskınlığı vardır. PSCN düzenli sınırlı, simetrik, ortalama çapı 3 mm olan papüler veya noduler lezyon olarak karşımıza çıkar. Siyah, mavi veya koyu kahverengi görünümde olabilir [59]. APSCT genellikle düzensiz sınırlı, asimetrik, renk değişikliği içeren ve daha büyük lezyonlardır. PSCN, genellikle iyi sınırlı, simetrik, epidermal hiperplazi ve ayrılma artefaktı içeren bir lezyondur. Horizontal ve vertikal yerleşimli yuvalanmalar sıktır. Ayrıca pigmente Kamino cisimcikleri görülebilir. Lezyon papiller dermisi ve deri eklerini içerebilir. Pagetoid yayılım sıktır ancak bu yayılım simetrik ve epiderminin alt yarısına sınırlıdır [60]. APSCT sıklıkla 6 mm' den büyük çapa sahip; düzensiz sınırlı, asimetrik, ülserasyon, epidermal atrofi, epidermal bazal tabaka boyunca belirgin tek sıralı melanositik proliferasyon gibi özelliklerden herhangi biri ile karakterize lezyonlardır. Artmış pagetoid melanositoz, mitotik aktivite, sitolojik atipi, displastik nevüs özellikleri görülebilir [61].

2.3.2.3 Spitz Melanositom (Atipik Spitz tümörü)

Spitz melanositom (atipik Spitz tümörü), bir veya daha fazla atipik özelliğe sahip morfolojik ve genetik olarak Spitz nevüs ve melanom arasında yer alan melanositik bir tümördür. Vücudun herhangi bir yerinde ve her yaşta görülebileceği gibi genç erişkinlerde sık görülür. Histomorfolojik olarak lezyon genelde asimetrik ve düzensiz sınırlıdır [62]. Epidermal atrofi ve ülserasyon görülebilir. Lezyondaki melanositler genellikle Spitz nevüstekinden daha iri nükleuslu, nükleer pleomorfizm, yüksek nükleus/sitoplazma oranı, hiperkromazi ve büyük eozinofilik nükleol içerirler [63]. Kamino cisimcikleri daha az sıklıkta görülür. Fokal nekrotik odaklar ve bazaar nükleuslara sahip dev multinükleer melanositler izlenebilir. Mitoz oranı $2-6 / 1\text{mm}^2$ dir ve atipik mitoz görülebilir. Lenf nodu metastazı ve nadiren de uzak metastaz yaptığı bildirilmiştir [64].

2.3.3. Akral Deride Benign Melanositik Tümörler

2.3.3.1. Akral Nevüs

Akral nevüs avuç içleri, ayak tabanı ve tırnaklarda gelişen melanositik nevüstür. Kadınlarda erkeklerden daha sık görülür [65]. Kahverengi- siyah küçük maküler veya papüler lezyonlardır [66]. Akral nevüs yapısal olarak pigmentasyonu yüksek deriye sahip ve çok sayıda melanositik nevüs bulunan kişilerde daha sık rastlanır [65]. Tırnak matriks nevüsü (TMN), tırnak matriksi üzerinde gelişen nevüstür. Akral melanoma kıyasla akral nevüs nispeten daha küçük ve iyi sınırlıdır. Junctional, compound ya da intradermal olabilir; ancak genellikle junctionaldır. Compound olduğunda, dermal nevoid hücreler derinlere ilerledikçe maturasyon gösterir. Lezyon santralinde pagetoid yayılım, retelerde birleşme, fibroplazi sıktır [67]. Sitolojik atipi görülebilir [68]. Nevoid hücreler, tek sıralı ve değişken büyüklükteki yuvalar halinde görülür. Özellikle çocuklarda görülen TMN sıklıkla nükleer atipi, fokal pagetoid yayılım, periungal tutulum içerir [69].

2.3.4. Mavi Nevüsten Gelişen Benign Melanositik Tümörler

2.3.4.1. Mavi Nevüs

Mavi nevüs, melanin pigmenti ve stromal skleroz ile ilişkili dendritik, içsi ve/veya oval hücrelerden gelişen melanositik bir tümördür. Dendritik mavi nevüs (DMN) ve selüler mavi nevüs (SMN) olarak iki alt tipi vardır. Vücudun herhangi bir bölgesinde gelişebilen bu nevüs mukozal, subungual bölgelerde ve lenf nodları gibi deri dışı lokalizasyonlarda da görülebilir [70]. Her yaşta ortaya çıkabilir, ancak sıklıkla 40 yaşın altındaki yetişkinlerde görülür. Karakteristik özelliği; dermal bölgede bol miktarda melanin pigmenti içermesi nedeniyle mavi gri veya mavi siyah bir renkte izlenmesidir. Plak tipi mavi nevüsler birkaç santimetre çapta ve genellikle doğumda izlenen lezyonlardır; erken çocukluk ve ergenlik döneminde bu lezyonlar büyüyebilir. Mavi nevüsün nöral krestin ventromedial gelişim yolundan kaynaklanan farklı bir melanosit tipinden kaynaklandığı düşünülmektedir [71]. Mavi nevüsler sıklıkla hem dentritik hem de selüler mavi nevüs özellikleri bulundurmakla birlikte baskın bileşene göre adlandırılır. DMN sklerotik stromal kollajen ile ilişkili dendritik melanositlerden oluşan düzensiz sınırlı dermal proliferasyondur [72]. Sklerotik stromal kollajen belirgin olduğunda, "sklerozan mavi nevüs" de denebilir. Hücreler içsi, uzun dendritik uzantılara ve değişik oranda melanin pigmentine sahiptir. Arada bir grenz zon sıklıkla izlenir. Atipi ve mitoz görülmez.

SMN intakt bir epidermis altında değişken pigmentli, iyi sınırlı nodüler dermal bir lezyondur. Melanositler hafif pigmentli olup pigmentlerin çoğu melanofajlarda bulunur. SMN birçok patern sergileyebilir, ancak lezyonun deri altı yağ dokusuna doğru vertikal büyümesi hepsinin ortak özelliğidir. En sık görülen paterninde kollajen ve çok sayıda melanofajlarla çevrelenmiş fuziform-oval hücre yuvaları görülür [73]. Hücreler genellikle yuvaların uzun eksenine paralel olup nükleer atipi, pleomorfizm ve atipi göstermez. Miksoid veya kistik değişiklikler görülebilir, fakat nekroz beklenmez. Nadiren perinöral invazyon ve intralenfatik tümör görülebilir ancak bu bulgular maligniteyi telkin etmez. Mitoz nadirdir [74].

2.3.4.2. İto Nevüs ve Ota Nevüs

Minor İto tarafından 1954'te tanımlanan İto nevüs, omuz ve kollarda; 1939'da Masao Ota tarafından tanımlanan Ota nevüs ise yüzde görülen mavimsi yamalar şeklinde

dermal melanositozlardır [75]. Bu lezyonların yaklaşık %50'si doğumda mevcuttur [76]. İto nevüs Ota nevüsünden daha yaygın görülmekle birlikte her ikisi de Asyalılarda sık görülür. Kadınlarda daha sık görülen Ota nevüs, trigeminal sinirin ilk iki dalının dağıldığı yüz bölgesinde gelişir ve bu lezyonların %90'ı çift taraflıdır [77]. Ota nevüsün üçte ikisinde ipsilateral sağırılık, meningeal ve orbital melanositom gibi oküler belirtiler eşlik eder [78]. Histopatolojisinde üst dermise gelişigüzel dağılmış pigmente dendritik melanositler görülür [79].

2.3.4.3. Konjenital Dermal Melanositoz (Mongol Lekesi)

Mongol lekesi, kişinin ırkına göre değişken renklerde mavimsi yamalar halinde görülen dermal bir melanositoz olup sıklıkla sırtın alt kısmına ve kalçaya yerleşir [80]. Asyalılar ve Afrikalılarda sık olan bu lezyondaki mavi renk, ışığın dermal pigmentasyon tarafından dağılması ve cilde yansmasıyla gelişen Tyndall etkisinden kaynaklanmaktadır [81, 82]. Mongol lekesi histopatolojisinde ito ve ota nevüsteki gibi dermiste gelişigüzel dağılmış, epidermise paralel olma eğiliminde pigmente dendritik melanositler vardır. Ancak İto ve Ota nevüsün yerleşim yeri farklıdır [83].

2.3.5. Konjenital Nevüsten Gelişen Benign Melanositik Tümörler

2.3.5.1. Konjenital Melanositik Nevüs

Konjenital melanositik nevüs (KMN), doğumda var olan veya yaşamın ilk yılında vücudun herhangi bir yerinde ortaya çıkan benign melanositik neoplazidir [84]. Erişkinlerde, konjenital melanositik nevuslar boyutlarına göre küçük (<15 mm), orta (15-200 mm) ve dev (>200 mm veya rezeksiyon uygulanamayan) olarak ayrılır. Küçük ve orta konjenital melanositik nevüsler simetrik, oval veya yuvarlak, kahverengiden siyaha, iyi sınırlı maküller veya sıklıkla belirgin terminal kıllara sahip plaklar halinde izlenir. Kafa derisine ve sırta lokalize KMN'lerde; özellikle de satellit nevüslere sahip olanlarda nörokutanöz melanoz yani santral sinir sistemi tutulumu görülebilir [85]. KMNler, retiküler dermisi veya subkutisi tutmaları, kollajen demetleri arasında nevoid hücrelerinin ilerlemesi, deri ekleri ve nörovasküler demetlere yakın (veya içinde) seyretmeleriyle edinsel nevüslerden farklıdır [86]. Genellikle üst dermiste yuvalanmış büyük epitelioid tip A nevoid hücreler, derinlerde küçük lenfosit benzeri B tipi hücrelere ve Schwannian

farklılaşma gösteren iğsi tip C hücreler içerir. İnfanlarda lezyon santralinde intraepidermal komponentte pagetoid yayılım görülebilir. Mitoz ve sitolojik atipi beklenmez [87].

2.3.5.2. Konjenital Melanositik Nevüste Proliferatif Nodüller

Konjenital melanositik nevüsteki proliferatif nodüller, KMN'nin dermal bileşeni içinde yeni gelişen nevüs olarak tanımlanabilir. Nadir görülen bu benign lezyon genellikle doğumda mevcuttur. Bazen bu nodül yüzeyi ülserleşip ya da çok küçük yaştaki olgularda sitolojik atipi veya selülerite içerip melanom tanısı için ciddi şüphe uyandırabilir. Histopatolojik olarak farklı paternlerde olabilecekleri gibi genellikle küçük epitelooid veya iğsi hücrelerden oluşurlar [88].

2.3.6. Okuler ve SSS Benign Melanositik Tümörleri

2.3.6.1. Konjunktival Nevüs

Konjunktival nevüs, genellikle bulber konjunktivada görülen junctional, dermal veya kompaund olabilen nevoid proliferasyondur [89]. Sıklıkla çocukluk ve genç erişkin çağında görülür ve erkek baskındır [90]. Kompaund konjunktival nevüsler sıklıkla çok sayıda epitelyal inklüzyon kistleriyle ilişkilidir [91].

2.3.6.2 Uveal Melanositom

Uveal melanositom, sıklık sırasına göre iris, silier cisim, koroid ve optik sinir başında görülen yoğun siyah renkte izlenen nadir nevoid proliferasyondur [92]. Histomorfolojik olarak bol pigment içeren büyük poligonal hücrelerden oluşan bu tümörde atipi ve mitoz beklenmez, ancak nekroz görülebilir [93].

2.3.6.3 Sınırlı Meningial Melanositom

Sıklıkla servikal ve torakal vertebrayı tutan leptomeningial melanositlerden köken alan nadir bir tümördür. Nörokutenöz melanozisle ilişkili olabilir. Histomorfolojik olarak değişken selüleritede, pigmente iğsi veya oval hücrelerden oluşur. Meningioma benzer

sıkı yuvalar görülebilir. Sitolojik atipi, nekroz ve mitoz görülmez ve tipik olarak beyin parankim invazyonu yapmaz, ancak bu özellikler mevcutsa meningeal melanom tanısını vermek gerekebilir [94, 95].

2.3.6.4. Diffüz Meningial Melanositoz

Diffüz meningeal melanositoz, leptomeningeal melanositik hücrelerin yaygın veya multifokal proliferasyonudur. Nörokütenöz melanozis ile ilişkili olabilir. Lezyon genellikle Virchow-Robin aralıklarına uzanan leptomeninksleri tutar. Histomorfolojik olarak iğsi, yuvarlak, oval ya da küboidal melanositik hücreler görülür. Beyin parankim invazyonu, belirgin sitolojik atipi, mitotik aktivite veya nekroz varlığı meningeal melanomatozisi akla getirmelidir [96, 97].

2.4. Malign Melanositik Tümörler

2.4.1. Tanım ve İnsidans

Malign melanom, melanositlerden köken alan agresif bir tümördür. Deri kanserlerinin yaklaşık %1'ini oluşturan melanom beyaz ırkta daha sık görülür. İnsidansı yaşla birlikte artış gösteren bu tümör 20-45 yaş civarında pik yapar; erkeklerde beşinci, kadınlarda ise altıncı en sık görülen malign tümördür. Sıklık sırasına göre tutulan bölgeler; erkek ve kadında değişkenlik göstermekle birlikte genel olarak gövde (%43,5), ekstremiteler (%33,9), akral bölge (%11,9) ve baş-boyun (%10,7) bölgesidir [98].

2.4.2. Etyopatogenez ve Moleküler Sınıflandırma

Küçük bir kısmı ailesel olan melanomun çoğu sporadiktir. Derinin diğer malign tümörlerinde olduğu gibi; melanom gelişiminde güneş ışınları önemli bir role sahiptir. Yapılan 'yeni nesil dizileme' çalışmaları, tümör genomlarının binlerce edinsel mutasyona sahip olduğunu ve bunların da birçoğunun ultraviyoleye bağlı DNA hasarı imzası taşıdığını kanıtlanmıştır. Güneş ışınları tek predispozan faktör olmamakla birlikte herediter eğilim de bu gelişimde görev alır. Diğer tümörlerde olduğu gibi melanom, protoonkogenlerde aktive edici ve tümör süpresör genlerde ise fonksiyon kaybına yol açan mutasyonlarla birlikte melanositlerin malign transformasyonuna neden olan bir dizi

basamağın olduğu bir sürece sahiptir. Nadir görülen ailesel melanom vakalarının yaklaşık %40'ında 9p21'e lokalize CDKN2A geninde germ-line mutasyonlar tespit edilmiştir. Melanomların büyük bir kısmında NRAS veya BRAF protoonkogeninde sporadik aktive edici mutasyon vardır. Bu mutasyonlar, ekstrasellüler signal regulated protein kinase (ERK) yolağını aktifleyerek hücre proliferasyonunun ve yaşam süresinin artmasına neden olur. Ayrıca PTEN geninde fonksiyon kaybı da melanomda sık izlenen bir mutasyondur [99]. Başta akrall ve mukozal bölgelerde görülen melanomlar olmak üzere bazı melanomlarda bir reseptör tirozin kinaz olan c-KIT aktive edici mutasyonlar mevcuttur. BRAF ve c-KIT mutasyonlarına sahip metastatik tümörlerde bu ikiliye karşı geliştirilen ilaçlarla tedavide dramatik cevaplar elde edilmiştir [100, 101]. Tüm bu genetik altyapının incelenip ortaya çıkarılmasına rağmen; melanom tanısında histopatolojik değerlendirme hâlâ altın standart olarak devam etmekte ve klinik özelliklerle birlikte sınıflandırma için de temel araç olma özelliğini korumaktadır.

1966'da Wallace Clark, melanom prognozunu değerlendirmek için histolojik incelemeye dayalı Clark seviyesi denilen standart bir ölçek düzenlemiştir. 1970 yılında Alexander Breslow ise tümör boyutu, invazyon seviyesi ile tümör kalınlığının en önemli prognostik parametreler olduğunu kanıtlamış ve Breslow kalınlığını tariflemiştir. Bu ikiliye göre melanom epidermiste ve yüzeysel dermiste yama-plak benzeri lezyonların yayılmasıyla başlar; tümör progresyon aşamaları boyunca gelişir. Bu tür lezyonların radyal büyüme fazında (RBF) olduğu ve vertikal büyüme fazı (VBF)'na geçtiklerinde ise dermise yüzeysel invazyon gösterdikleri takdirde prognozlarının iyi olduğu kanıtlanmıştır [102, 103]. Melanom başlangıçta, RBF ve varyantlarının varlığına göre üç ana kategoriye ayrılmış: nodüler melanom (RBF'siz VBF melanomu), yüzeysel yayılan melanom (pagetoid melanom) ve lentigo malign melanom. Bu başlıklar arasındaki ayrımlar daha sonra epidemiyolojik ve genomik gözlemlerle desteklenerek melanom gelişiminde alternatif yolları ortaya çıkarmıştır [104-107]. Ana yollardan biri (güneş hasarına duyarlı popülasyondaki melanomun çoğunu tanımlar), düşük kümülatif güneş hasarı (KGH) ile ilişkilidir, sıklıkla düşük veya orta derecede solar elastoz mevcuttur [108]. Bu yoldan gelişen melanomlar yüzeysel yayılan melanom ve nodüler melanomun bir grubunu içerir. İkinci ana yolak ise yüksek KGH ile ilişkili olup bu yoldan gelişen melanomlar ise lentigo malign melanom ve nodüler melanomun diğer alt grup üyeleridir. Bu grupta belirgin bir solar elastoz görülür. Diğer melanomlar (akrall deri, mukoza) güneş hasarının olmadığı çeşitli yollardan gelişir (Tablo 1). BRAFp.V600 mutasyonları (özellikle p.V600E mutasyonları), düşük derecede KGH (düşük KGH melanomları) olan

deride gelişen melanomlarda en sık bulunan onkojenik değişiklik olarak gözlemlenirken; NF1, NRAS, diğer BRAF (non-pV600E) ve KIT mutasyonları yüksek derecede KGH (yüksek KGH melanomları) olan derideki melanomlarda baskın olarak görülen mutasyonlardır. TERT promotor mutasyonu, genellikle melanom gelişiminin erken bir basamağında gerçekleşir ve primer melanomlardan çok metastatik melanomlarda görülür [109]. CDKN2A (p16 kodlayan) gibi tümör baskılayıcı genler de melanom patogenezinde rol oynar. CDKN2A'daki germline kusurlar çoğunlukla ailesel melanom ile ilişkili olmasına rağmen, sporadik melanomlarda da bu genin somatik mutasyonları çok görülür [110]. Uveal, akral ve mukozal melanomlar diğer melanomlardan daha az mutasyon yüküne sahiptir [71].

Tablo 1. Melanomun yolaklara göre sınıflandırılması

Güneş maruziyeti olan deride görülen melanomlar	Yolak 1: Düşük KGH ile ilişkili melanom/ Yüzeyel yayılan melanom
	Yolak 2: Yüksek KGH ile ilişkili melanom/ Lentigo malign melanom
	Yolak 3: Desmoplastik melanom
Güneşten korunan bölgelerde görülen ve UV radyasyonuna maruz kalma etiyolojisi olmayan melanomlar	Yolak 4: Malign Spitz tümör
	Yolak 5: Akral melanom
	Yolak 6: Mukozal melanom
	Yolak 7: Konjenital nevüsten gelişen melanom
	Yolak 8: Mavi nevüsten gelişen melanom
Değişken güneşe maruz kalma	Yolak 9: Uveal melanom
	Nodüler melanom
	Nevoid melanom

2.4.3. Melanositik Tümörlerin Genetik Yapısı

Melanom da diğer kanser türleri gibi proliferasyonu teşvik eden sinyal yollarının aktivasyonu ve tümör supresör mekanizmalarının baskılanmasına neden olan mutasyonların birikmesiyle ortaya çıkar. Bu genetik değişikliklere neden olan mekanizmalar, melanom tipine bağlı olarak büyük ölçüde farklılık göstermektedir (Tablo 2). Kümülatif güneş hasarı (KGH) ile deride ortaya çıkan melanomlar, ultraviyolenin (UV) neden olduğu mutasyonların ortak bir özelliği olan diprimidin bölgelerinde çoğunlukla sitozin ile timidin (C> T) geçişleri olmak üzere çok sayıda nokta mutasyonu

içerir [108]. Yüksek KGH melanomları çok yüksek bir mutasyon yüküne sahiptir ve genom başına yaklaşık 100.000 somatik mutasyonla (DNA megabazı başına yaklaşık 30 mutasyon) en çok mutasyon yükü içeren kanserler arasındadır. Düşük KGH melanomları yaklaşık 15 mutasyon/Mb'ye sahiptir. Tüysüz deri, tırnak matriksi ve mukozada ortaya çıkan melanomlar ise tipik olarak UV radyasyon etkisi olmaksızın düşük mutasyon yüküne sahiptirler. Bu melanomlar, farklı olarak çok sayıda kopya sayısı değişiklikleri içerirler, bu nedenle mutasyon oranını etkileyen herhangi bir iç ya da dış etkenden yoksun görünmektedirler [71, 111]. Kutanöz melanomlar; MAPK yolağı, RAS ailesi üyeleri, RAS inhibitör düzenleyicileri (örneğin NF1, RASA2 ve SPRED1) ve RAS efektörleri (örneğin BRAF, MEK ve siklinD1) gibi bir dizi anahtar sinyal bozukluğuna neden olan genetik değişiklikler içerir. Nevüste bu değişiklikler tümör baskılayıcı mekanizmalarla kontrol altında tutulurken kutanöz melanomlardaki CDKN2A mutasyonu, CDK4 amplikasyonu ve RB1 kaybı ile bu kontrol aşılır [110]. Replikatif yaşlanma ise TERT promotor mutasyonları ile aşılır [112]. Bu mutasyon telomeraz aktivitesinde artışa, hücrenin replikatif yaşlanmadan kaçışına ve hücre ömrünün uzamasına neden olur. TERT promotor germline mutasyonları ve telomer proteinlerini kodlayan diğer genlerdeki (örneğin, POT1, ACD ve TERF2/P) mutasyonlar daha uzun telomere sebep olur.

Melanomlarda SWI/SNF kromatin remodelleme kompleksi (ARID2, ARID1A ve EZH2 gibi genleri etkileyen) gibi kromatin modifikasyonlarında yer alan yolakların tekrar tekrar mutasyona uğraması ve özellikle uveal melanomda sık görülen bir tümör supresör gen olan BAP1'in inaktivasyonu gibi başka genetik değişiklikler de izlenir [108, 113]. Düşük KGH melanomlarında, MAPK yolunu aktifleyen mutasyonların büyük bir kısmına BRAF p.V600E mutasyonları neden olur. Yüksek KGH melanomlarında ise BRAF p.V600E mutasyonları nadirdir; fakat diğer BRAF mutasyonları, NF1 inaktivasyon mutasyonları, NRAS ve bazen de KIT aktivasyon mutasyonları görülür [114]. Düşük KGH melanomların yüksek KGH melanomların aksine genellikle nevüslerden gelişmesi ve daha genç olgularda sık görülmesi alt tiplendirme için iki ana grup ihtiyacı doğurmuştur [115].

Uveal melanomlarda yaklaşık %90 oranında heterotrimerik G proteininin α -alt birimi kodlayan GNAQ ve GNA11 adlı iki gen etkilenir. Daha az oranda, G proteinine bağlı reseptör CYSLTR2 (G α q aracılığıyla sinyal verir) ve PLCB4 (G α q efektör fosfolipaz C β 4'ü kodlar) mutasyonu görülür [116]. GNAQ veya GNA11 mutasyonları, BAP1, EIF1AX ve SF3B1'deki progresyon mutasyonları; mavi nevustan ortaya çıkan

melanomlarda, primer leptomeningeal melanomlarda ve melanositomlarda da görülür [117, 118]. Uveal melanomdaki genetik değişikliklerin mavi nevusten gelişen melanom ve leptomeningeal melanomlardakine benzerlik göstermesi, bu tümörlerin, biyolojik olarak yakından ilişkili ve gelişimsel olarak farklı bir melanosit türünden kaynaklanıyor olabileceğini düşündürmektedir [71, 117].

Melanom gelişiminde yer alan çoklu patojenik mutasyonlar, genellikle tipik bir sırayla meydana gelmektedir. Benign nevüs genellikle tek bir MAPK yolak mutasyonu içerir; BRAF p.V600E mutasyonu (sıklıkla), NRAS, HRAS, ALK, BRAF, ROS1, NTRK1, NTRK3, MET ve RET kinaz füzyonu (konjenital ve bazı edinilmiş nevüslerde), RASGRF1 ve RASGRF2 (Spitz nevüsde); GNAQ ve GNA 11 mutasyonu (mavi nevüsde) gibi [119-121]. Bu mutasyonlar, nevüs başlangıcı için yeterli gibi durmakta, ancak halen bu nevoid hücrelerin çoğalmasını kısıtlayan çeşitli mekanizmalar mevcuttur. Bu mekanizmaları engelleyecek ek patojenik mutasyonların ortaya çıkması hücrelerin daha fazla klonal proliferasyonuna, başka ek patojenik mutasyonlara ve melanom riskinin artmasına neden olacaktır [122]. Örneğin BRAF p.V600E mutasyonu içeren tipik edinilmiş bir nevüste BAP1 biallel kaybının eklenmesiyle BAP1 inaktive melanositom, PRKAR1 inaktivasyonu ile pigmente epitelooid melanositom gelişir [123, 124]. Bu nedenle nevüsler aslında melanoma dönüşümün ilk basamağını içeren prekürsör lezyonlardır. Ancak nevüslerde ve düşük riskli tümör anlamına gelen ‘melanositom’larda melanoma dönüşme olasılığı düşüktür. Belirsiz öneme sahip yüzeysel atipik melanositik proliferasyon (SAMPUS) ve belirsiz malign potansiyele sahip melanositik tümör (MELTUMP) biyolojik davranışı belirsiz zor ara vakalar için önerilen iki tabirdir [125].

Tablo 2. Melanom ve öncü lezyonların epidemiyolojik, klinik, patolojik ve genomik özelliklere göre sınıflandırılması

	Düşük KGH				Yüksek KGH		UV ve radyasyon ilişkisi olanlar					
Yolak	I				II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Yolağın sonucu	Düşük-KGH melanomlar/YYM				Yüksek-KGH melanomlar/LMM	Dezmoplastik melanom	Spitz tümörler/Spitz melanom	Akral Melanom	Mukoza Melanom	KN zemininde melanom	MN zemininde melanom	Üveal Melanom
Benign neoplaziler	Nevüs				? IMP	? IMP	Spitz nevüs	? Akral nevüs	? Melanozis	Konjenital nevüs	Mavi Nevüs	? Nevüs
Intermediate /düşük-grade displaziler ve melanositom	Düşük gradeli displazi	BIN	DPN ?		? IAMP/ Displazi	? IAMP/ Displazi	Atipik spitz tümörler (Melanositom)	IAMP/ Displazi	Atipik melanozis displazi/ IAMPUS	KN zemininde nodül (melanom)	(Atipik) SMN (melanositom)	?
Intermediate /yüksek grade displaziler ve melanositom	Yüksek KGH melanom/ MIS	BAP1- inaktive melanositom MELTUMP	Derin penetre melanositom MELTUMP	PEM/ MELTUMP	Lentigo maligna (MIS)	MIS	STUMP/MELTUMP	Akral MIS	Mukoza MIS	KN zemininde MIS	Atipik SMN	?
Malign neoplaziler	Düşük KGH melanom/ SSM (VGP)	BIN zemininde melanom (nadir)	DPN zemininde melanom (nadir)	PEM zemininde melanom (nadir)	LMM (VGP)	Dezmoplastik melanom	Malign Spitz tümörler/Spitz melanom (tümörojenik)	Akral Melanom (VGP)	Mukoza Lentijinöz melanom (VGP)	KN zemininde melanom (tümörojenik)	MN zemininde melanom (tümörojenik)	Üveal Melanom
Yaygın mutasyonlar	BRAP p.V600E yada NRAS TERT, CDKN2A TPN3, PTEN	BRAF yada + BAP1	BRAF, MAP2K1 veya NRAS + CTNNB1 yada APC	BRAF+PR KAR1A veya PRKCA	NRAS, BRAF, (non-p.V600E); KIT veya NF1 TERT, CDKN2A; TP53, PTEN; RAC1	NF1 ;ERBB2; MAP2K1; MAB3K; BRAF; EGFR; MET TERT; NFKBIE; NRAS; PIK3A; PTPN11	HRAS; ALK, ROS1, RET, NTRK1, NTRK3, BRAF veya MET CDKN2A	KIT, NRAS, BRAF, HRAS, KRAS; NTRK3, ALK veya NF1 CDKN2A TERT CCND1	KIT, NRAS, KRAS, BRAF AS, veya BRAF NF1 CDKN2A SF3B1 CCND1, CDK4 MDM2	NRAS, BRAF, p.V600E (küçük lezyon) veya BRAF	GNAQ, GNA11 veya CYSLTR2 BAP1, EIF1AX, S F3B1	GNAQ, GNA11, CYSLTR2 veya PLCB4 BAP1, EIF1AX, S F3B1

2.4.4. Melanomun Klinik Özellikleri

Melanomun erken tanı ve tedavisi için klinik olarak şüpheli lezyonların değerlendirilmesinde National Institutes of Health (NIH) tarafından ABCDE kriterleri tavsiye edilmektedir. Bu kriterler şunlardır:

- A (Asymetry): Lezyonun her iki tarafında asimetri olması
- B (Border irregularity): Kenarları düzensiz ve/veya sınırları belirsiz olması
- C (Color mixed): Pigmentasyonun düzensiz dağılması, en az iki farklı renk olması
- D (Diameter): Çapın 6 mm veya daha büyük olması
- E (Enlargement): Lezyondaki büyüme

2.4.5. Primer Kutanöz Melanom Tanı Kriterleri

Melanomların histopatolojik tanı kriterleri;

- Asimetri
- Lezyon sınırının düzensizliği
- Melanositlerin epidermal yuvalarında aşağıdaki özelliklerin bulunması;
 - Birleşme eğilimi ve devamlılık göstermesi
 - Yuvaların farklı boyut ve şekillerde olması
 - Yuva aralıklarının düzensiz ve rastgele olması
- Pagetoid yayılım
- Dermal yuvalarda şekil ve boyut farklılıkları
- Dermal yuvaların birleşme ve devamlılık göstermeleri
- Derin dermiste maturasyon kaybı
- Derinde ≥ 2 mitoz olması
- Hücrelerde nükleer pleomorfizm, nükleol belirginliği
- Hücrelerde tozsu melanin pigmentinin bulunması

2.4.6. Prognostik Faktörler ve AJCC (American Joint Committee on Cancer)

Evreleme Sistemi

2.4.6.1. Prognostik Faktörler

Klinik olarak ileri yaş, erkek cinsiyet ve baş-boyun ve gövde lokalizasyonu kötü prognostik belirteçlerdir.

Histopatolojik prognostik parametreler ise şunlardır:

- Breslow Kalınlığı: Granüler tabakanın en üst kısmından tümör invazyonunun en derin olduğu yere kadar yapılan ölçümdür ve en önemli prognostik parametredir. Ülserasyon varlığında ise ölçüm ülserasyonun olduğu yerden başlar. Mikrosatellitler ve deri eklerindeki hücreler ölçüme eklenmez. Regresyon varsa bu alanının en kalın olduğu yerden ölçüm alınmalıdır.
- Büyüme Fazı: Tedavi ve prognoz açısından oldukça önemli olan radyal ve vertikal büyüme fazı olarak iki büyüme fazı mevcuttur. Radyal büyüme fazında tümör hücreleri epidermise sınırlı; epidermis ve papiller dermiste tümör nodülü geliştirmezler. Vertikal büyüme fazında ise dermiste, epidermisteki en büyük atipik melanosit yuvasından daha büyük yuva mevcuttur.
Clark düzey I: tümör intraepidermaldir.
Clark düzey II: tümör papiller dermiste ancak burayı genişletmez.
Clark düzey III: tümör papiller dermisi doldurup genişletir.
Clark düzey IV: tümör retiküler dermise infiltredir.
Clark düzey V: tümör subkutan yağ dokusuna ilerlemiştir.
- Histolojik Tip: Nodüler ve akral lentiginöz melanomun prognozunun kötü olduğu, yüzeyel yayılan melanomun ise iyi bir prognostik sürece sahip olduğu bilinmektedir.
- Mitoz Oranı
- Ülserasyon
- Tümörü İnfiltrate Eden Lenfositler (TİL): Değerlendirmesinde lenfositlerin yoğunluğuna göre var-belirgin, var-minimal ve hiç lenfosit yok diye üç seçeneğin olduğu bir parametredir. Lenfositlerin belirginliği iyi prognozla ilişkili bulunmuştur [126]. Ayrıca TİL varlığında sentinel lenf nodu metastazı daha az oranda görülmektedir. Bu nedenlerle TİL primer tümör özellikleri içinde raporda belirtilmelidir.

- Regresyon: Histomorfolojik olarak tümör hücrelerin tamamen kaybı, epidermiste incelme, papiller dermiste düzleşme, dermiste kollajen demetlerinin paralel dizilimi, fibrozis, ektatik damar yapıları ve melanofajların görüldüğü bir durumdur.
- Mikroskopik Satellit: Primer tümörün etrafında uzaklık ve boyuttan bağımsız primer tümörle devamlılık göstermeyen, aralarında fibrozisin, inflamatuvar infiltrasyonun bulunmadığı deri veya subkutan dokudaki mikroskopik tümör yayılımıdır. Kötü prognostik bir belirteçtir [127].
- Lenfovasküler İnvazyon: Şüpheli durumlarda vasküler endotelyal belirteçler (CD31, CD34 ve ERG) ile damarlar, lenfatik belirteç (D2-40) ile lenfatikler İHK yöntemle boyanarak, intravasküler ve intralenfatik tümör hücreleri saptanabilir. Lenfovasküler invazyon kötü prognostik faktörler arasındadır.
- Nörotropizm: Sinir demetlerinin etrafında (perinöral) ya da içine (intranöral) infiltre tümör varlığı demektir. Nörotropizmin tümör periferinde değerlendirilmesi daha doğrudur. Nörotropizm diğer subtiplerde de görülebileceği gibi özellikle desmoplastik melanomda sık görülür. Peri/intranöral tümör invazyonu, lokal nüks riskini arttırdığı bilinmektedir.

2.4.6.2. AJCC (American Joint Committee on Cancer) Evreleme Sistemi (8. Edisyon, 2017)

Primer tümör (pT)

Tablo 3. Amerikan Birleşik Kanser Komitesi 8. Baskı Evreleme Sistemi, Primer Tümör (pT)

T kategori	Tümör boyutu	Ülserasyon durumu
TX: Primer tümör kalınlığı değerlendirilemiyor	Uygulanamıyor	Uygulanamıyor
T0: Primer tümör yok (örn: primeri bilinmeyen veya tam regrese melanom)	Uygulanamıyor	Uygulanamıyor
Tis: Melanoma in situ	Uygulanamıyor	Uygulanamıyor
T1	≤1.0mm	Bilinmiyor veya değerlendirilmemiş
T1a	< 0.8mm	Ülser yok
T1b	0.8-1.0 mm ya da <0.8	Ülser yok Ülser var
T2	1.0-2.0 mm	Bilinmiyor veya değerlendirilmemiş
T2a	1.0 - 2.0 mm	Ülser yok
T2b	1.0 - 2.0 mm	Ülser var
T3	2.0 - 4.0 mm	Bilinmiyor veya değerlendirilmemiş
T3a	2.0 - 4.0 mm	Ülser yok
T3b	2.0 - 4.0 mm	Ülser var
T4	>4.0 mm	Bilinmiyor veya değerlendirilmemiş
T4a	>4.0 mm	Ülser yok
T4b	>4.0 mm	Ülser var

Bölgesel Lenf Nodülü (N)

Tablo 4. Amerikan Birleşik Kanser Komitesi 8. Baskı Evreleme Sistemi, N Kategorisi (N)

N kategori	Tümör tutulumu gösteren lenf nodu sayısı	İn-transit, ve/veya metastaz	satellit, mikrosatellit
Nx	Bölgesel lenf nodülleri değerlendirilmedi (SLN uygulanmadı veya bölgesel lenf nodülleri daha önce farklı nedenle çıkarılmış)	yok	
N0	Bölgesel lenf nodülü metastazı yok	yok	
N1	1 adet metastatik lenf nodülü VEYA lenf nodülü tutulumu olmadan in-transit, satellit ve/veya mikrosatellit metastaz		
N1a	1 adet klinik olarak tespit edilmemiş gizli metastatik nodül	yok	
N1b	1 adet klinik olarak belirlenmiş	yok	
N1c	Bölgesel lenf nodülü metastazı yok	var	
N2	2 - 3 adet metastatik lenf nodülü VEYA 1 adet metastatik lenf nodülü ile in-transit, satellit ve/veya mikrosatellit metastaz varlığı		
N2a	2 veya 3 klinik olarak tespit edilmemiş metastatik nodül	yok	
N2b	2 veya 3, en az biri klinik olarak belirlenmiş	yok	
N2c	1 klinik olarak tespit edilmiş ya da edilmemiş	var	
N3	4 veya daha fazla bölgesel lenf nodülü tutulumu VEYA 2 veya daha fazla tümör tutulumu olan lenf nodülü ile intransit, satellit ve/veya mikrosatellit metastaz VEYA herhangi sayıda konglomere nodüller +/- in-transit, satellit ve/veya mikrosatellit metastaz		
N3a	4 veya fazla klinik olarak tespit edilmemiş	yok	
N3b	4 veya fazla, en az biri klinik olarak belirlenmiş, veya herhangi sayıda konglomere nodüller	yok	
N3c	2 veya fazla klinik olarak gizli veya klinik olarak belirlenmiş ve/veya herhangi sayıda konglomere nodüller	var	

Metastaz (M)

Tablo 5. Amerikan Birleşik Kanser Komitesi 8. Baskı Evreleme Sistemi, M Kategorisi (M)

M Kategorisi	Anatomik bölge	LDH düzeyi
M0	Uzak metastaz yok	Uygulanamıyor
M1	Uzak metastaz var	
M1a	Deri, subkutanöz dokular, kas gibi yumuşak dokularda ve/veya bölgesel olmayan lenf nodüllerinde uzak metastaz	Bilinmiyor
M1a(0)		Yüksek değil
M1a(1)		Yüksek
M1b	Akciğer met. +/- M1a bölge metastazı	Bilinmiyor
M1b(0)		Yüksek değil
M1b(1)		Yüksek
M1c	SSS dışı visseral organlara uzak met +/- M1a veya M1b	Bilinmiyor
M1c(0)		Yüksek değil
M1c(1)		Yüksek
M1d	SSS met +/- M1a, M1b veya M1c	Bilinmiyor
M1d(0)		Yüksek değil
M1d(1)		Yüksek

Klinik Evre

Tablo 6. Amerikan Birleşik Kanser Komitesi 8. Baskı Evreleme Sistemi, Klinik Evre

Klinik Grubu	Evre	T Kategorisi	N Kategorisi	M Kategorisi
0		Tis	N0	M0
IA		T1a	N0	M0
IB		T1b	N0	M0
IB		T2a	N0	M0
IIA		T2b	N0	M0
IIA		T3a	N0	M0
IIB		T3b	N0	M0
IIB		T4a	N0	M0
IIC		T4b	N0	M0
III		Herhangi bir T veya Tis	≥ N1	M0
IV		Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1

2.5. Kutanöz Melanom Sınıflandırılması

2.5.1. Güneş Maruziyeti Olan Deride Görülen Melanomlar

2.5.1.1. Düşük Kümülatif Güneş Hasarlı (KGH) Melanom (Yüzeyel Yayılan Melanom Dahil)

Düşük KGH melanom, erkek ve kadında eşit sıklıkta nispeten daha genç bir yaş grubunda aralıklı güneşe maruz kalan bölgelerde ortaya çıkan melanom tipidir. Açık tenlilerde görülen melanomların üçte ikisini oluşturan bu tümörün görülme sıklığı 55 yaşa kadar artar sonra giderek azalır [128]. Nevüs ve displastik nevüs bu lezyonların öncüsüdür ve olguların yaklaşık %50'sinde nevüs birlikteliği görülmüştür [129]. Bu lezyonlar genellikle radyal büyüme fazında olup vertikal büyüme fazı da içerebilirler. Genetik olarak BRAF p.V600 mutasyonları hakimdir. Histopatolojik olarak pagetoid (yüzeyel yayılan melanom), lentiginöz, nodüler ve nevoid subtipleri mevcuttur. Yüzeyel yayılan melanom (YYM), hafif kabarık ve düzensiz görünümde olup kahverengi, siyah, pembe, mavi, gri ve ten renklerinde görülebilir [130]. Bu alt tipte epidermisin üstlerine doğru tek

tek atipik melanositlerin intraepidermal proliferasyonu (pagetoid yayılım) ve dermoepidermal bileşke boyunca değişken büyüklükte yuvalar mevcuttur. Tümör hücreleri iri nükleuslu, belirgin nükleollü ve eozinofilik-hafif pigmente sitoplazmalıdır. Hafif epidermal hiperplazi, kıl folikülü ve ekrin bez tutulumu görülebilir [131]. Lentijinöz subtipde ise pagetoid yayılım ve intraepidermal yuvaların daha az belirgin olduğu, tümör hücrelerinin epidermis boyunca lentijinöz proliferasyonu ile karakterizedir. Mitoz genellikle izlenmez.

2.5.1.2. Yüksek KGH Melanom

2.5.1.2.1. Lentigo Malign Melanom (LMM)

Bu melanom türü daha yaşlı kişilerde, kronik olarak güneşe maruz kalan baş ve boyun gibi deri bölgelerinde görülür. Erkeklerde özellikle kulak ve saçsız kafa derisi yerleşimlidir [132]. Lezyonlar klinikte yavaş seyirli, içinde gri veya ten rengi regresyon alanları içeren asimetrik, düzensiz sınırlı yama ya da plak olarak karşımıza çıkar [133]. Vertikal büyüme fazında nodül şeklinde lezyonlar; ilerlemiş olgularda ülser ve kanama görülebilir. Yüzeyel yayılan melanom ile kıyaslandığında daha düzensiz sınırlar, epidermiste incelme, retelerde düzleşme ve pagetoid yayılıma göre lentijinöz proliferasyon hakimiyeti mevcuttur. Sıklıkla solar lentigo görülür. Multinükleer dev hücreler görülebilir. Proliferasyonun ilerlemesiyle tümör yuvaları gelişir, deri ekleri ve kıl folikülleri boyunca uzanır [134]. LMM'nin dermal (invaziv) bileşeni kısmen veya tamamen desmoplastik olabilir. Desmoplastik melanomların da yaklaşık %50'sinde LMM mevcuttur [135].

2.5.1.2.2. Desmoplastik Melanom

Desmoplastik melanom; baş boyun bölgesi, erkeklerde LMM gibi kulak ve saçsız kafa derisi gibi kronik güneş maruziyeti olan bölgelerde sık görüldüğü gibi akral, subungual, oral, nazal ve genital bölgede de görülebilir [136]. De novo ortaya çıkabilir. Desmoplastik melanomlar tipik olarak MAPK yolağında BRAF p.V600E, NRAS mutasyonları gibi güçlü aktive edici mutasyonlardan ziyade vakaların yaklaşık yarısı sıklıkla bir kombinasyon halinde NF1 inaktivasyonu, reseptör tirozin kinaz genlerin (örneğin EGFR, MET ve ERBB2) amplifikasyonu ve tümör baskılayıcı gen CBL'nin

inaktivasyonu gibi MAPK yolunu aktive eden farklı mutasyonları içerirler [137]. Yine vakaların yaklaşık yarısında RB1 yolağı ve TP53 mutasyonları mevcuttur. Bu son derece yüksek mutasyon yükü nedeniyle immün kontrol noktası blokaj tedavisi için çok iyi adaydırlar [138].

Histopatolojik olarak tümör hücreleri; sklerotik veya matür kollajen demetleri arasında fibroblastlara benzeyen ve sıklıkla pigmentsiz iğsi melanositlerdir. Stroma çoğu zaman fibromiksoid bir görünüme sahip olup iğsi malign melanositik hücreler fibröz bantlar şeklinde ya da diffüz olarak subkutan yağ dokuya uzanım gösterir. Epidermis sıklıkla ince ve atrofik olup komşu yüzeyel dermiste genellikle şiddetli solar elastoz mevcuttur. Karakteristik olarak, tümörün içinde veya periferinde lenfositler ve bazen de plazma hücreleri görülür. Vakaların yaklaşık %30'unda perinöral invazyon vardır, ancak lenfovasküler invazyon nadirdir [139].

2.5.2. Güneşten Korunan Bölgelerde Ortaya Çıkan veya UV Radyasyonu ile Etiyolojik İlişkileri Olmayan Melanomlar

2.5.2.1. Malign Spitz Tümör (Spitz Melanoma)

Sıklıkla erkeklerde, her yaşta ortaya çıkabilen bu tümör, çocuklarda son derece nadirdir ve 40 yaş üstü bireylerde daha yaygındır. En sık yerleşim yeri ekstremiteler ve gövde olup klinikte çoğunlukla değişen veya büyüyen amelanotik ya da pigmentli bir plak, papül veya nodül şeklinde karşımıza çıkar. Çoğu lezyon 6 mm' den büyüktür (genellikle 10 mm'den daha büyük). Bu tümörde en sık MAP3K8 füzyonu görülmekle birlikte *CDKN2A*, *PTEN* ve *TERT* promoter mutasyonları da sıklıkla görülür [140]. Tanı klinik, histolojik ve moleküler kriterler korele edilerek konur. Tümör hücreleri geniş eozinofilik sitoplazmalı atipik epitelooid ve/veya iğsi olup nükleer atipileri yüksektir. Lezyon Spitz nevüs ile karşılaştırıldığında daha fazla asimetri, epidermal atrofi, ülserasyon, derin genişleyen nodüller veya nekroz alanlarına sahiptir. Sıklıkla derin yerleşimli mitoz veya atipik mitozlar görülür [141].

2.5.2.2. Akral Melanom

Akral melanom; avuç içi, ayak tabanı, tırnak yatağı, el ve ayak parmakların volar yüzleri gibi kılsız akral deride görülür. İnsidansı ırk ve coğrafyaya göre değişmekle

birlikte Asya, Hispanik ve Afrika popülasyonlarında sık görülür. İnsidans yaşla birlikte artar ve diğer melanom alt tipleriyle kıyaslandığında daha yaşlı olgularda karşımıza çıkar. Lezyon genellikle düzensiz sınırlı, pigmente yama şeklinde görülür ancak zamanla ülserasyon ile birlikte daha koyu renkli papül veya nodül halini alabilir. Amelanotik veya hipopigmente lezyonlar klinikte tinea pedis, poroma, siğil gibi yorumlanabilir. Dermoskopide tanıda oldukça karakteristik bir bulgu olan ‘paralel sırt deseni’ görülür. Subungual melanomda lezyondaki pigmentin tırnak yatağından deriye doğru üçgen şeklinde ilerlemesi ‘Hutchinson tırnak işareti’ olarak tanımlanır ve tanı için önemli bir ipucudur [66].

Histopatolojik olarak akral lentiginöz melanom, noduler melanom, desmoplastik melanom ve yüzeysel yayılan melanom subtipinde olabilir. En sık lentiginöz subtip görülür [142]. Radial büyüme fazındaki tümör hücreleri sıklıkla yuvarlak epiteloid görünümde olup belirgin dendritik karakterdedir, vertikal büyüme fazında ise tümör hücreleri dermise invaze olup iğsi özellik kazanır. BRAF mutasyonu yuvarlak epiteloid hücrelerle, NF1 mutasyonları iğsi dentritik hücreler ile ilişkili bulunmuştur [143]. Subungual melanom, tırnak matriksinde hiperkromatik nükleuslu, sitoplazması belirsiz, uzamış dendritlere sahip melanositlerin proliferasyonu ile in situ subungual melanom olarak başlar ve zamanla pagetoid yayılım, mitoz, sitolojik atipi, lenfositik infiltrat ve dermal invazyonun belirgin hale gelmesiyle progrese olur [144].

2.5.2.3 Mukozal Melanom

Mukozal melanom anogenital, oral ve sinonazal mukoza gibi mukozal bölgelerde görülür. Kadın genital bölgede görülen mukozal melanomlar en sık vulva ve vajen mukozasında yerleşir [145]. Genetik olarak UV imzası yerine çok sayıda kopya sayısı değişikliği içerirler [146]. Histopatolojik olarak desmoplastik, noduler ve lentiginöz subtipde olabilen tümör genellikle submukozada büyük pleomorfik nodüllerden oluşur. Tümör hücreleri değişken miktarda melanin içeren diskoheziv epiteloid, daha az sıklıkla iğsi veya oval yuvarlak nükleuslu atipik hücrelerdir. Dev hücre ve intranükleer psödoinklüzyonlar görülebilir. İn situ veya lentiginöz displazi varlığı primer tümör olduğunu destekleyen bir ipucudur [147].

2.5.2.4. Mavi Nevüsten Gelişen Melanom

Önceden var olan bir mavi nevüsten (genellikle sellüler mavi nevüs) gelişen bu nadir melanom tipi geniş bir yaş aralığına sahip (5-73) olup en sık kafa derisi yerleşimlidir [148]. Genetik olarak uveal melanomla örtüşen GNAQ ve GNA11 gen mutasyonlarını içerir [149]. Histopatolojik olarak epidermis genellikle tutulmaz, nadiren ülser görülebilir. Yüksek dereceli atipiyeye ve artmış mitotik aktiviteye sahip büyük iğsi ve epiteloid melanositlerden oluşan yoğun dermal tabakalar görülür. Tümör sıklıkla çevredeki adneksiyal yapıları infiltre eder. Tümörde belirgin hücresel atipi ve sık mitoz görülmesine bile immünohistokimyasal yöntem ile nükleer BAP1 ekspresyon kaybı bu tanıyı destekleyen çok güçlü bir yardımcıdır [150].

2.5.2.5. Konjenital Nevüste Ortaya Çıkan Melanom

Konjenital nevüs için risk faktörleri net bilinmemekle birlikte KGH ile belirgin bir etiyolojik ilişki saptanmamıştır. Prekürsör olarak konjenital nevüslerde meydana gelen proliferasyonlar suçlanabilir. Klinikte ülserle hızlı büyüyen nodül veya plak olarak karşımıza çıkar. Çoğu yaşamın ilk 5 yılında tanı alır [88]. Tanı anında senkron metastatik lenf nodu tutulumu sıktır [151]. NRAS mutasyonu, dev konjenital nevüslerden gelişen melanomlarda sıklıkla görülen mutasyondur. TERT promoter mutasyonları ve daha az sıklıkla BRAF mutasyonları içerirler. Küçük ve orta boyutta konjenital nevüslerin genetik profili farklı olup bunlarda BRAF mutasyon oranı daha yüksektir [87].

2.5.2.6. Uveal Melanom

İris, siliyer cisim, koroid gibi uveal bölgeden kaynaklanır. En sık koroidde görülür. Kafkas ırkında sıktır. Çoğu de novo gelişen bu tümör genetik olarak mavi nevüsten gelişen melanomla benzerlik gösterir. Tümör histopatolojik olarak; iğsi A (naevus benzeri) hücreli, iğsi B hücreli, epiteloid hücreli ve karışık (iğsi B ve epiteloid) hücreli tip olmak üzere dört gruba ayrılır. Epiteloid hücreli tip kötü prognoz, iğsi hücreli tip ise iyi prognoz göstergesi olarak tespit edilmiştir [152]. Koroidal ve siliyer cisim melanomunun diffüz, retinoinvaziv, berrak hücreli ve kaviter gibi birkaç özel histomorfolojik varyantları mevcuttur [153].

2.5.2.7. Konjunktival Melanom

En sık limbus yakınındaki bulbar yüzeye yerleşen bu tümör oküler melanomların %5'ini oluşturur [154]. %60-70 oranında in situ komponent mevcuttur. Oldukça heterojen genetik profile sahip konjunktival melanomların çoğunda BRAF, NRAS, NF1 ve TERT mutasyonları görülür [155]. Klinikte değişken görünümde ve boyutlarda olabilecek bu lezyonun histomorfolojisinde diğer melanomlardaki gibi şiddetli sitolojik ve yapısal atipi içeren melanositik hücre proliferasyonu vardır. Ülser, mitotik aktivite, lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, satellit ve transit nodüller eşlik edebilir [89].

2.5.2.8. Nodüler Melanom

Radyal büyüme fazı olmaksızın vertikal büyüme fazındaki bu melanom tipi vücudun herhangi bir yerinde görülebilmekle birlikte insidansı yaşlı erkeklerde artar [156]. Klinikte genellikle hızlı büyüyen, ülserleşebilen pigmentli veya pigmentsiz nodül şeklindedir. Histopatolojik olarak, dermiste sıklıkla epiteloid morfolojide neoplastik melanositik proliferasyon vardır. Sıklıkla bu dermal komponente komşu pagetoid yayılım gösteren veya küçük yuvalar halinde epidermal komponent mevcuttur. Vertikal büyüme fazı dermiste en büyük intraepidermal yuvadan daha büyük boyutta yuvaların olması anlamına gelir. Sıklıkla egzofitik nodülü çevreleyen epidermiste yaka benzeri (epidermal collarette) görünüm olur [157]. Bazı çalışmalarda bu alt tipin akral melanom ile birlikte diğer alt tiplere göre prognozunun daha kötü olduğu bildirilmektedir.

2.5.2.9. Nevoid Melanom

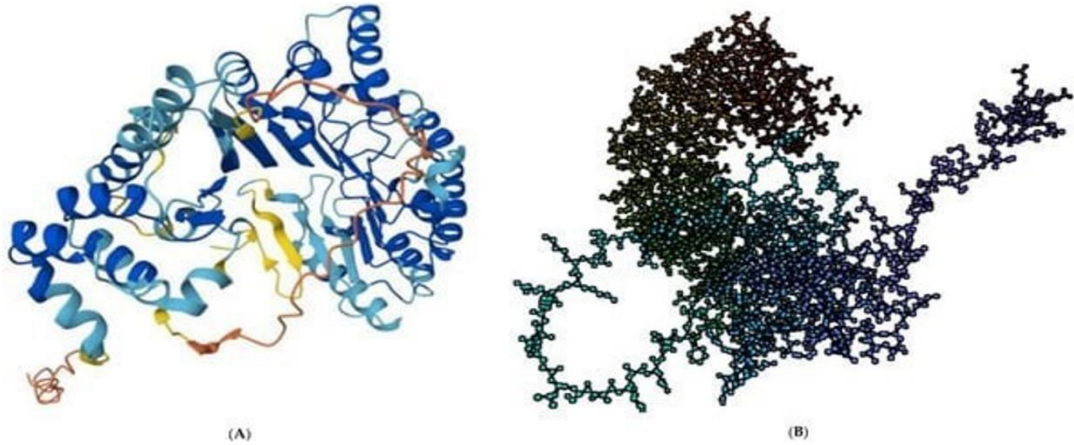
Farklı bir moleküler tipi temsil ettiğine dair henüz bir kanıt bulunamayan bu melanom tipi, intradermal veya compound nevüsün yapısal ve sitolojik özelliklerine benzer özellik içerir. Herhangi bir yaşta ve vücudun herhangi bir yerinde görülebilir [158]. Papillamatoz, nodüler, küçük hücreli, büyük yuvalı nevoid melanom gibi çeşitli histomorfolojik paternleri tarif edilmiştir [159].

2.6. Prame (Preferentially Expressed Antigen in Melanoma)

Tümör antijenleri, tümör spesifik antijenler ve tümör ilişkili antijenler olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Tümör spesifik antijenler tümör hücre yüzeyinden eksprese

edilip T hücreleri tarafından tanınan, T hücre aktivasyona ve proliferasyonuna neden olan antijen grubudur. Bu grup sadece tümör hücrelerinden endojen olarak üretilir (β -katenin, HSP-70, K-RAS gibi). Tümör ilişkili antijenler ise tümörde ve bazı normal dokularda da eksprese edilebilen; kanser testis antijenleri (örn; BAGE, GAGE, MAGE), diferansiasyon antijenleri (örn; CEA, gp100, Melan-A) ve overekspresyon antijenleridir (örn; HER2, hTERT, p53). Yaklaşık 250 genden oluşan kanser testis antijenlerinin sınırlı olarak germ hücrelerinden ve tümör hücrelerinden eksprese edilip tümörögenезin birçok basamağında rol oynadıkları kanıtlanmıştır [160, 161].

PRAME (Preferentially expressed Antigen in Melanoma), 22. kromozomun (22q11.22) ters sarmalında yaklaşık 12 kilobaz uzunluğunda bir gen tarafından kodlanan %21,8 oranında (iso)lösin kalıntısı içeren bir kanser testis antijenidir (Şekil 6). Ayrıca CT130 (kanser testis antijeni 130), MAPE (Melanoma Antigen Preferentially Expressed in Tumours) ve OIP-4 (Opa ile etkileşimli protein 4) olarak da bilinir. PRAME geninin normal dokularda hipermetile olduğu, ancak çoğu malign hücrede hipometile bir şekilde olduğu kanıtlanmıştır. PRAME geni, zarla çevrili bir protein kodlar ve otolog sitotoksik T hücresi aracılı bağışıklık sisteminin uyarılmasına neden olur. İlk olarak 1997 yılında tanımlanan PRAME geni HLA-A sitotoksik T lenfositler tarafından tanınabilen peptitleri kodlar [162]. Diğer kanser testis antijenlerinden farklı olarak; over, endometriyal ve adrenal dokularda da düşük seviyelerde eksprese edildiği kanıtlanan bu genin analizinde; 20'den fazla farklı PRAME ailesi geni ve psödogeni olduğu görülmüştür [163].

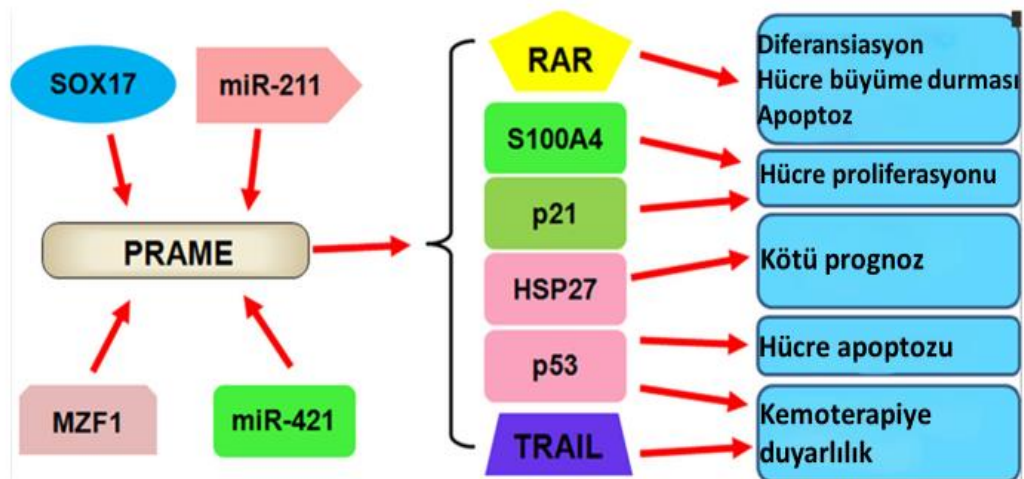


Şekil 6.(A)PRAME'nin yapısı.Protein Veri Bankası (PDB) AlphaFold projesi, tahmini yapısı.(B) www.biorender.com kullanılarak elde edilen PRAME'nin hesaplanan yapısı.

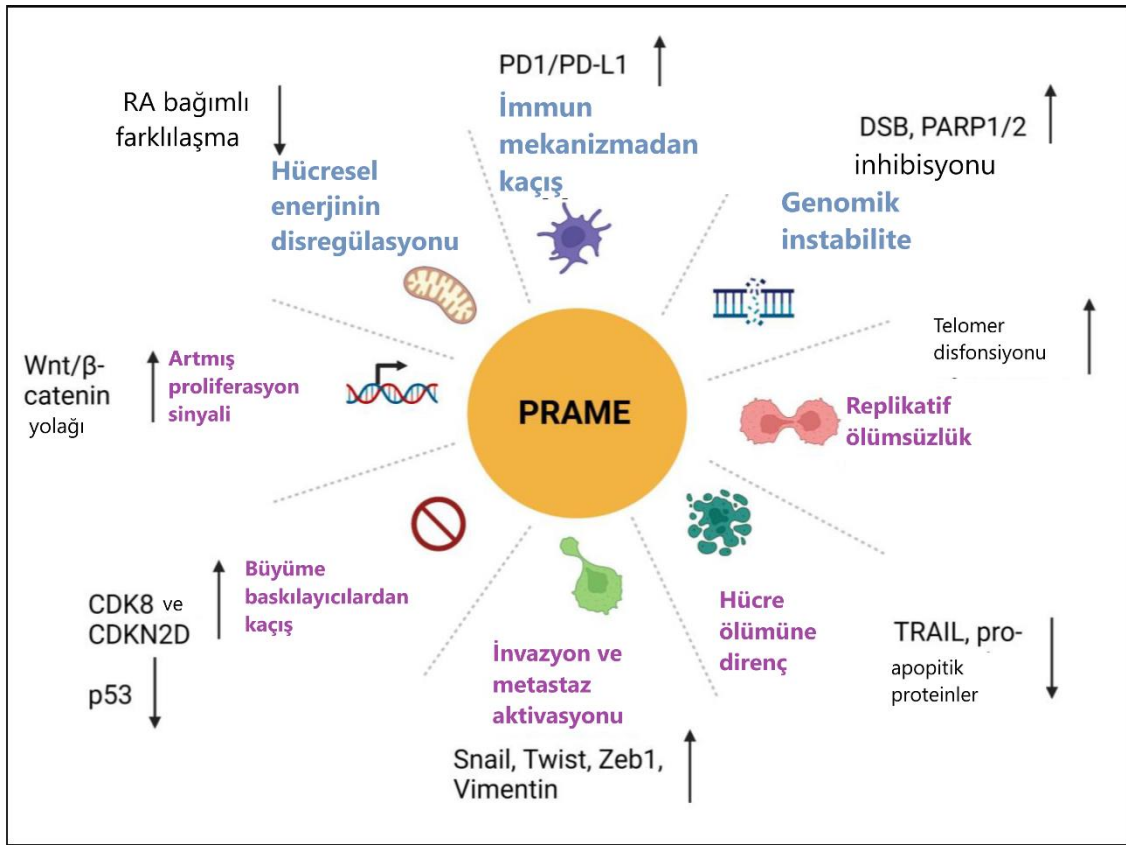
PRAME'in normal ve neoplastik hücrelerdeki fonksiyonları büyük oranda belirsizliğini korumakla birlikte PRAME ile ilişkili bazı genler ve etkileri ortaya

çıkarılmıştır [8, 163] (Şekil 7). Retinoik asit (RA) reseptörü (RAR) ile etkileşimi bunlar arasında en bilinenidir. Retinoidlerin hücre proliferasyonu, hücre farklılaşması ve doku homeostazı üzerinde çeşitli parakrin etkileri mevcuttur. RA/RAR kompleksleri, spesifik promotor bölgelerine bağlanıp bir dizi hedef genin transkripsiyonunu başlatır. PRAME, doğrudan RAR' a bağlanarak, RA varlığında bile RA etkilerini inhibe eder. Bu nedenle PRAME ekspresyonu RA'ya duyarlı hücrelerde, hücre farklılaşmasına, büyüme duraklamasına ve apoptoza direnç sağlayarak tümör gelişiminde görev alır. Ayrıca immün yanıt düzenlenmesinde de yer alan PRAME, patojen ilişkili moleküler paternlerin (PAMP' ler) tanınmasında rol oynayan Toll-like reseptörlerle benzer özelliklere sahiptir. Bakteriyel PAMP' lere ve IFN- γ 'ya yanıt olarak PRAME ekspresyonu olduğu kanıtlanmıştır. Bakteriyel OPA (patojen Neisseria Gonorrhoea'nin dış zar opaklık proteini) proteinlerine bağlanma yeteneği de doğuştan immün yanıtta rolü olduğunu göstermiştir (Şekil 8) [164].

En az 17 farklı PRAME mRNA ve 14 farklı PRAME varyantı mevcuttur. Yapısı hücredeki fonksiyonuna karar verir. PRAME ailesinin temel görevleri arasında germ hattında bulunan embriyonik kök hücre pluripotensinin korunması, germ hücrelerinin gelişimi, spermatojenik ve oojenik hücrelerin farklılaşması/çoğalması bulunur. Ayrıca granüllü endoplazmik retikulum, sentriyol, Golgi cisimciği gibi sitoplazmik organellerde çok miktarda sentezlenip spermiyogenez sırasında akrozom ve sperm kuyruğunun oluşumunda görev alırlar. PRAME ailesinin genleri, tüm yaşam döngüsü boyunca germ hattında transkripsiyonel olarak aktif kalarak gametogenez için çok kritik öneme sahiptir. PRAME, RA'nın önemli bir inhibitörü rolüne sahip olup RA bağımlı farklılaşmayı, büyüme durmasını ve apoptozu baskılar [165].



Şekil 7. PRAME ile ilişkili bazı genler ve etkileri



Şekil 8. PRAME'in görevleri

PRAME'in meme kanseri, renal hücreli karsinom, küçük hücreli dışı akciğer kanseri (NSCLC), medulloblastom, baş ve boyun kanseri gibi çok sayıda solid malignitelerde eksprese edildiği gösterilmiştir [6]. Ayrıca normal hematopoetik dokularda PRAME'in olmadığı; Hodgkin lenfoma, akut ve kronik lösemilerde yüksek bir PRAME ekspresyonu olduğu kanıtlanmıştır [166]. Son yıllardaki çalışmalarda PRAME yüksek ekspresyon seviyesinin meme kanserinde kötü prognoz ve uzak metastazla ilişkili olduğu ve tedavi için güçlü bir biyobelirteç olduğu ortaya konmuştur [9]. Meme karsinomundaki gibi yüksek PRAME seviyesinin medulloblastomda, hepatosellüler karsinomda, baş boyun skuamöz hücreli karsinomlarında da kötü bir klinikopatolojik bir belirteç olduğu desteklenmiştir [167-169]. Serviks kanserinde bir tümör supresör olarak davrandığı düşünülen PRAME'nin akut miyeloid lösemide iyi bir kemoterapi yanıtı ve olumlu sağkalım ile ilişkili olduğu görülmüştür [170, 171]. Tümör tipine bağlı olarak onkojen ya da tümör supresör olarak davranan PRAME'in immunoterapi için umut verici bir hedef olacağı umuluyor.

Melanom oluşumunda önemli rolü olan PRAME ekspresyonunun miR-211 down regülasyonu ile tetiklendiği ve DNA metilasyonu ile negatif, MZF1 ile pozitif korele olduğu saptanmıştır [172]. Retrospektif çalışmalarda melanomu nevüslerden ayıran umut

vaat edici bir immun belirteç olarak tanımlanan PRAME, son yıllardaki çalışmalarda metastatik melanomların %87' sinde ve primer melanomların %83,2' sinde diffüz kuvvetli boyanma gösterdiği; nevüslerin ise %86,4' ünde ekspresyonun görülmediği ortaya konmuştur. Yüzeyel yayılan, akral, nodüler, lentigo maligna, desmoplastik, nevoid, konjunktival ve uveal melanom gibi çeşitli melanom alt tiplerinde PRAME immünohistokimyasal ekspresyonunun artmış olduğu, nevüslerde ise PRAME ekspresyonunun olmadığı veya fokal olduğu saptanmıştır [10, 173]. Ayrıca bir çalışmada kötü gen ekspresyon profiliyle birlikte PRAME ekspresyonunun prognostik doğruluğunun TNM evrelemesinden daha üstün olduğu gösterilmiştir [7]. Mukozal melanomlarda yüksek PRAME ekspresyonu ile mortalite arasında anlamlı bir ilişki gösterilmiştir [10]. Ek olarak, PRAME'nin eksizyonel biyopsi materyallerinde cerrahi sınırlardaki in situ melanomu reaktif melanositik hiperplaziden ayırt etmek için de kullanılabileceği öngörülmektedir [174].

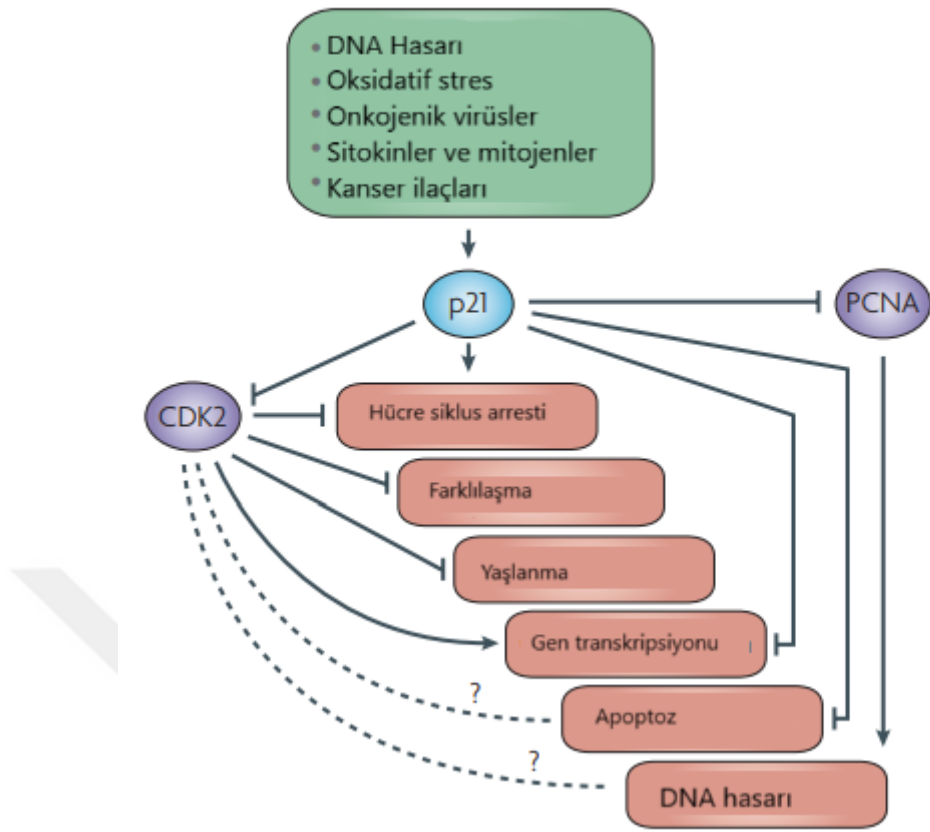
2.7 p21 Proteini

Siklin bağımlı kinazlar (CDK) hücrede sürekli var olan, normalde inaktif halde bulunan hücre döngüsü düzenleyicileridir. CDK'ya spesifik siklinlerle bağlanıp aktif hale gelirler ve ilgili hücre siklus düzenleyici proteine fosfat (P) ekleyerek onu inhibe eder. E2F, bölünen hücrede G1-S geçişini uyaran transkripsiyon faktörü ailesi üyesidir. Retinoblastom (RB) ise G1-S geçişinde görev yapan tümör supresör proteindir. Bölünmeyen bir hücrede E2F, RB proteini ile bağlı olduğundan G1-S geçişi olmaz, ancak bölünecek hücrede CDK 4/6-Siklin D kompleksi, RB proteine fosfat ekleyerek onu inaktifleştirir ve E2F serbest kalarak G1-S geçişini uyarak siklusu ilerletir.

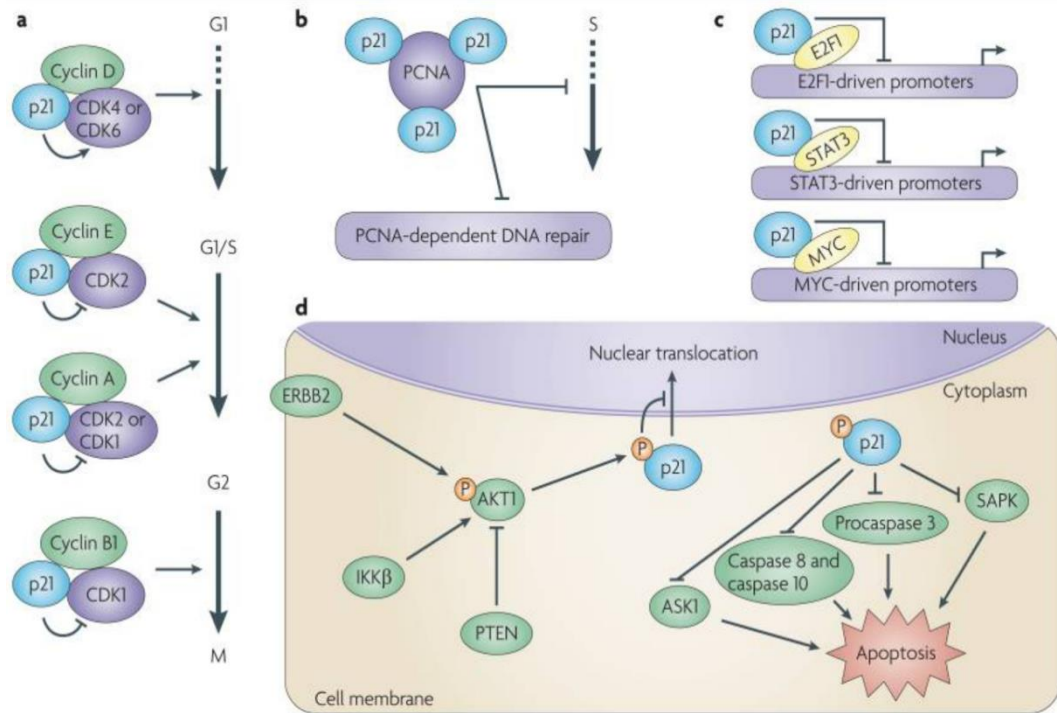
1993 yılında keşfedilen p21, hücre siklusunda görevli sikline bağımlı kinaz inhibitörlerinin ilk tanımlanan üyesi olup, CDKN1A geni tarafından kodlanan 165 amino asitli, hem hücre nükleusunda, hem de sitoplazmada yer alan küçük bir proteindir. Temel düzenleyicisi p53 gibi görünen p21'in BRCA1, TGFB, Dux4, integrin, c-myc, MIZ-1, EVI1, HIC-1, MAPK, Akt gibi pek çok gen (p53 bağımsız antiproliferatif aktivite) ile ilişki içerisinde olduğu kanıtlanmıştır. DNA hasarı, tümörojenik virüsler, oksidatif hasar gibi durumlarda p53, p21 promotöründeki bölgelere bağlanarak p21 transkripsiyonunu etkinleştirir. Daha sonra p21 proteini retinoblastom (RB)'un hiperfosforilasyonunda rol oynayan tüm siklin bağımlı kinaz çiftlerini inhibe eder. Hipofosforilasyonlu RB, E2F transkripsiyon faktörleri ile kompleks oluşturup hedef genlerin promotörlerinde E2F

bağlama bölgelerine bağlanır. Hedef genlerin çoğu hücre döngüsünün ilerlemesine ait genler olduğundan, bu genlerin susturulması hücre döngüsünü baskılayıp durdurur [175] (Şekil 9). p21, hücre döngüsü düzenlemesinin yanı sıra apoptoz, hücre farklılaşması, hücre göçü, transkripsiyon, DNA onarımı, yaşlanma gibi çok sayıda görevi olan anahtar bir proteindir. Hücre siklusunda G1 geçişine hem pozitif hem negatif etkileri vardır. Düşük konsantrasyonlarda pozitif etki gösterirken (siklin D1'i uyarıp CDK4/6'ya bağlanmasını kolaylaştırır ve bu da Rb inaktivasyonu ve siklus ilerlemesiyle sonuçlanır); yüksek konsantrasyonlarda geçiş üzerine inhibitör etki (siklin D1/CDK4 kompleksine bağlanıp kompleksi inhibe edip siklusu durdurarak) gösterir. Proliferatif hücre nükleer antijeni (PCNA)'ne bağlanarak onu inhibe edip DNA sentezini durdurur, DNA tamir mekanizmalarını düzenler [176]. Hücrel stres yanıtının ana düzenleyici olarak bilinen p21 tam mekanizması bilinmese de, p53'e bağımlı ve bağımsız yollarla Bax proapoptik protein upregülasyonu sağlayıp apoptozu teşvik eder. Ancak aynı zamanda E2F1, STAT3 ve MYC'e direkt bağlanıp onları inhibe edip anti-apoptik etki gösterir (Şekil 10). Bu da bazı durumlarda p21'in onkojenik aktivitesini açıklar [177, 178]. ERBB2 (reseptör tirozin kinaz ailesi epidermal büyüme faktörlerinden biri) veya IKK β (inhibitor of nuclear factor- κ B kinase- β) ile aktiflenen AKT1 (protein kinaz B alfa), p21'i fosforilleyerek p21 nükleer translokasyonunu önler.

p21'in meme, prostat, serviks, over kanserleri ile özofageal ve tonsiller skuamöz hücreli karsinomlar da dâhil olmak üzere çeşitli kanserlerde aşırı eksprese edildiği gözlenmiştir [179]. Bazı malignitelerde aşırı ekspresyonunun kötü prognostik gösterge olduğu gösterilmiştir [180]. Literatürde melanositik lezyonlarda eksprese edildiğini gösteren çeşitli çalışmalar mevcuttur [2, 181, 182]. Ayrıca bir çalışmada p21 ekspresyonunun tümör kalınlığı, nüks, yüksek TNM evresi ve tanı anındaki ileri yaş (≥ 55 yaş) ile ters ilişkili olduğu görülmüştür. Bu çalışmada yüksek p21 ekspresyonu iyi prognozla ilişkilendirilmiştir [5]. Başka bir çalışmada CDKN2A/p21 ekspresyonunun yüksek olduğu hücrelerde düşük olanlara kıyasla tedavide kullanılan BRAF ve MDM2 inhibitörlerine karşı duyarlılıklarının daha yüksek olduğu kanıtlanmıştır. Bu durumun gelecekte p21 bazal ve indüksiyon seviyelerine dayalı bireyselleştirilmiş tedavi rejimleri için melanom olgularına yardımcı olabileceği düşünülmektedir [183].



Şekil 9. p21'in etkileri



Şekil 10. Hücre siklusunda p21'in rolü

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Olgu Seçimi

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivinde, 2012- 2022 yılları arasında invaziv melanom tanılı 133 olgu, displastik nevüs tanılı 42 olgu, intradermal nevüs tanılı 46 olgu çalışmaya dahil edilmek üzere planlandı. Tüm vakaların hematoksilin ve eozin (H&E) kesitleri arşivden çıkartılarak, immünohistokimyasal inceleme için uygun bloklar ve kontrol blokları seçildi. Arşivde bloğu bulunamayan (n=8), immunohistokimyasal çalışma için yeterli lezyonu olmayan olgular (n=4) çalışma dışında bırakılarak toplam 121 melanom olgusu çalışmaya dahil edildi. Kontrol grupları ve vakalara ait formalinle fiks parafine gömülü bloklardan hazırlanan kesitler kullanılarak antikorların çalıştığı uygun dilüsyon oranları tespit edildi. Olguların demografik verilerine ÇÜTF Patoloji Anabilim Dalındaki kayıtları incelenerek ve hastahane bilgi yönetim sistemi kullanılarak veriler kaydedildi. Ulaşılan veriler ışığında olguların tanı anındaki yaşları, cinsiyetleri, olgulara ait histopatolojik tanılar, Clark düzeyleri, Breslow derinlikleri, ülserasyon varlığı, ülserasyon çapı, lenfositik yanıt durumu, satellit/ transit nodül varlığı, lenf nodu tutulumu, perinöral invazyon, lenfovasküler invazyon, nüks durumu, uzak metastaz varlığına ait veriler dökümanete edildi. Olguların hayatta veya ex olma durumlarına, ex ise ölüm tarihlerine hastane bilgi sistemi üzerinden ulaşıldı.

3.2. Etik Kurul

TTU-2024-16505 protokol numaralı projemiz, 13 Ekim 2023 tarihli toplantının 85 no'lu kararı ile belirtilen yazı ile Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylandı.

3.3. Yöntem

Çalışmaya dahil edilen 121 adet melanom olgusuna ait H&E boyalı lamalar ışık mikroskopunda yeniden değerlendirilerek nodüller melanom, invaziv melanom, yüzeysel yayılan melanom, akral melanom, lentigo malign melanom histolojik alt tiplerine kategorize edildi. İnvaziv melanom olguları prognostik parametreler yönünden yeniden

değerlendirilerek Breslow derinliği, Clark düzeyleri, ülserasyon varlığı, tümör çapı, satellit-transit nodül varlığı, konak cevabı, lenf nodu tutulumu, metastaz verileri kaydedildi. Çalışmaya dahil edilen benign gruba (42 displastik nevüs ve 46 intradermal nevüs) ve melanom grubuna (n=121) immünohistokimyasal olarak PRAME (EP461, Cell Marque) ve p21(DCS-60.2, Cell Marque) antikorları uygulandı (Tablo 7).

Tablo 7. İHK yöntemi ile çalışılan antikorların marka ve dilüsyonları

Primer AB	Klon	Marka	Dilüsyon miktarı
PRAME	EP461	Cell Marque	RTU
p21	DCS-60.2	Cell Marque	RTU

İmmünohistokimyasal çalışma için melanom (n=121) ve benign gruba (n=88) ait formalin ile fikse parafine gömülü dokularından 5 mikronluk kesitler pozitif şarjlı lamlara alındı. Kesitler 60 derecelik etüvde bir saat bekledikten sonra 15 dakika ksilol ile deparafinize edildi. Derecesi giderek azalan alkollerden geçirilerek dehidrate edilip distile suda yıkandı. BenchMark XT marka otomatik boyama cihazında PRAME ve p21 antikorları üreticinin talimatına uygun prosedürde uygulama yapılarak boyama yapıldı. Otomatik boyama cihazında boyanan preparatlar sıvı bazlı kapama maddesi ile kapatıldı. Antikora eksternal pozitif kontrol olarak; PRAME için testis dokusu, p21 için kolon dokusu eksternal negatif kontrol olarak sırasıyla tonsil ve beyin dokusu kullanıldı. Hazırlanan preparatlar Olympus CX23 model ışık mikroskop ile farklı büyütmelelerde iki patolog tarafından değerlendirildi.

3.3. İmmünohistokimyasal Değerlendirme

İmmünohistokimyasal test olarak uygulanan PRAME ve p21 için nükleer boyanma pozitif kabul edilerek değerlendirme yapıldı. Buna göre her iki antikor için de nükleer boyanma görülmeyen olgular skor 0, %1 ile %25 arasında hücrede nükleer pozitiflik bulunan vakalar skor 1, %26 ile 50 arasında hücrede nükleer pozitiflik bulunan vakalar skor 2, %51 ile 75 arasında hücrede nükleer pozitiflik bulunan vakalar skor 3 ve %76 ve 100 arasında hücrede nükleer pozitiflik bulunan vakalar skor 4 olarak değerlendirildi.

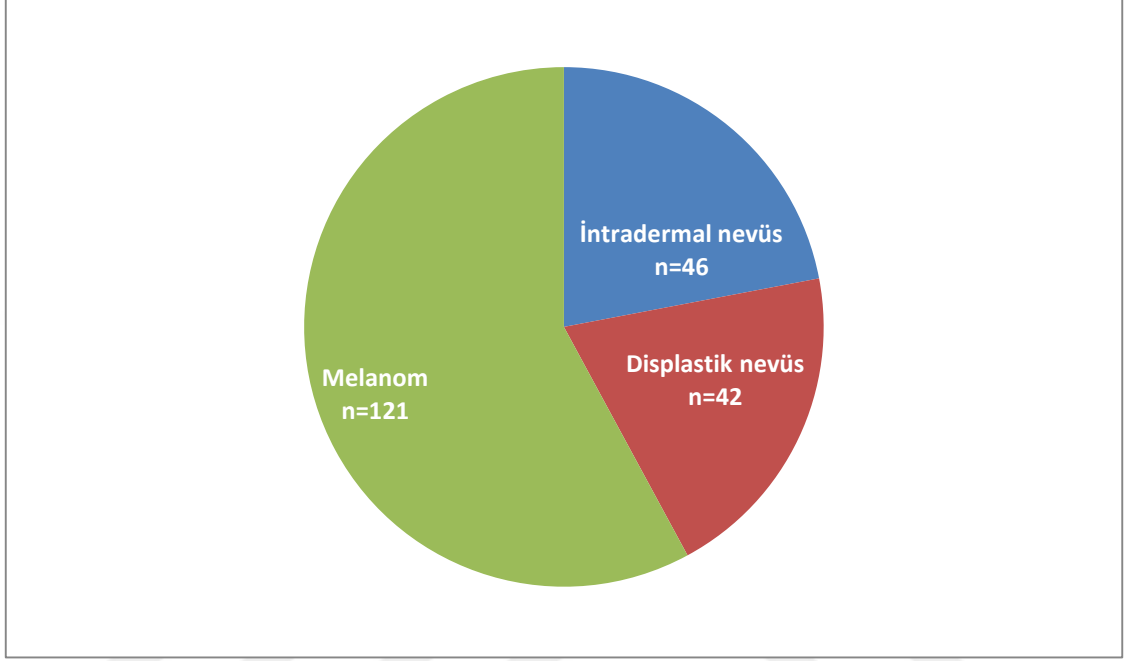
3.4. İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin istatistiksel analizinde Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 25.0 paket programı kullanıldı. Kategorik ölçümler sayı ve yüzde olarak, sürekli ölçümler ortalama ve standart sapma, gerekli yerlerde medyan (ortanca) ve min-maks olarak özetlendi. Çalışmada yer alan parametrelerin normal dağılım gösterip göstermediğini belirlemede Shapiro-Wilk testi kullanıldı. İki'den fazla grup analizlerinde Kruskal Wallis testi, İkili grup analizlerinde ise Mann Whitney U testleri kullanıldı. Kategorik ifadelerin karşılaştırılmalarında ki-kare testine başvuruldu. Sağkalım analizlerinde Kaplan Meier ve log Rank testleri kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel önemlilik düzeyi $p<0.05$ olarak alındı.



4. BULGULAR

Çalışmaya 46 (% 22) intradermal nevüs, 42 (% 20,1) displastik nevüs, 121 (% 57,9) melanom olmak üzere toplam 209 olgu dahil edildi (Şekil 11).



Şekil 11. Olgu gruplarının dağılımı

Melanom olgularının (n=121) 71'i (%58,7) erkek, 50'si (%41,3) kadın idi., Displastik nevüs ve melanom olgularında erkek cinsiyet oranı, intradermal nevüs grubuna göre daha yüksek idi (p: 0,036).

Yaş ortalaması melanom olgularında 61,4, intradermal nevüs olgularında 40,3, displastik nevüs olgularında 36,6 idi. Gruplar arasındaki bu farklılık Post Hoc Bonferroni testi ile incelendiğinde, melanom olgularının yaş ortalamalarının, intradermal nevüs ve displastik nevüs olgularına göre daha yüksek olması istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırasıyla $p<0,001$; $p<0,001$).

Melanom olgularının lokalizasyon dağılımı sıklık sırasına göre 47 (% 38,8) alt ekstremité, 40 (% 33,1) baş-boyun bölgesi, 21 (% 17,4) gövde, 13 (% 10,7) üst ekstremité idi.

Melanom olgularının histopatolojik alt tiplerinin dağılımı sıklık sırasıyla, 61 olgu (% 50,4) invaziv melanom, 39 olgu (% 32,2) nodüler melanom, 13 olgu (%10,7) yüzeysel yayılan melanom, altı olgu (% 5,0) akral melanom, iki olgu (% 1,7) lentigo malign melanom şeklinde idi.

Tablo 8. Tanımlayıcı ve prognostik değerlerin dağılımı

	Sayı (n)	Yüzde (%)
Patolojik tanı		
Yüzeyel yayılan melanom	13	10,7
Lentigo malign melanom	2	1,7
Nodüler melanom	39	32,2
Akral melanom	6	5,0
İnvaziv melanom	61	50,4
Lokalizasyon		
Baş-boyun	40	33,1
Gövde	21	17,4
Üst ekstremité	13	10,7
Alt ekstremité	47	38,8
Clark evre		
1	4	3,3
2	16	13,2
3	26	21,5
4	48	39,7
5	27	22,3
Ülser		
Yok	50	41,3
Var	71	58,7
Konak cevabı		
Yok	15	12,4
Var-belirgin değil	64	52,9
Var-belirgin	42	34,7
Perinöral invazyon varlığı	17	14,0
Regresyon varlığı	8	6,6
Lenfovasküler invazyon varlığı	37	30,6
Lenf nodu tutulumu	41	33,9
Satellit varlığı	20	16,5
Transit varlığı	7	5,8
Status		
Sağ	50	41,3
Ex	71	58,7
Nüks		
Yok	115	95,0
Var	6	5,0

Clark (anatomik) düzey dağılımı, Clark düzey I dört (% 3,3) olgu, Clark düzey II 16 (% 13,2) olgu , Clark düzey III 26 (% 21,5) olgu , Clark düzey IV 48 (% 39,7) olgu , Clark düzey V 27 (% 22,3) olgu idi. Olguların %62'si Clark düzey IV veya V idi. En düşük oranda ise Clark düzey I saptandı.

Olguların Breslow kalınlık ortalaması $6,52 \pm 6,4$ mm (Ortanca: 5mm); Clark düzey ortalaması $3,64 \pm 1,1$ mm (Ortanca: düzey IV); tümör çapı ortalaması $17,6 \pm 14,3$ mm (Ortanca: 12 mm) idi.

Mitoz sayısı ortalaması $6,01 \pm 5,8$ (Ortanca: 4) /1mm² idi.

Olguların ortalama takip süreleri $46,2 \pm 33,9$ (Ortanca: 37) ay olup, melanom olgularının 71'i (%58,7) ex, 50'si (%41,3) hayatta idi.

Tablo 9. Prognostik parametrelerin ortalama değerleri

	Ort±Ss	Med (Min-Maks)
Breslow kalınlığı (mm)	6,52±6,4	5 (0,2-33)
Clark düzeyi	3,64±1,1	4 (1-5)
Ülser çapı (mm)	11,4±13,5	8 (1-77)
Tümör çapı (mm)	17,6±14,3	12 (1-80)
Mitoz (/1 mm²)	6,01±5,8	4 (1-34)
Lenf nodu tutulumu sayısı (n=41)	3,85±5,8	2 (1-35)
Takip süresi (ay)	46,2±33,9	37 (1-148)

Olguların 71'inde (% 58,7) ülser varlığı görülürken; 50 olguda ülser yok idi ve ülser çapı ortalaması $11,4 \pm 13,5$ (ortanca: 8) mm idi.

Konak cevabı (tümör infiltre eden lenfositler) olguların 64 (% 52,9)'ünde 'var-belirgin değil', 42 (% 34,7)'sinde 'var-belirgin', 15 (%22,4)'inde ise 'yok' şeklinde idi.

Perinöral invazyon varlığı olguların 17'sinde (%14), lenfovasküler invazyon 37'sinde (% 30,6), tümör regresyonu ise sekizinde (% 6,6) tespit edildi.

Lenf nodu tutulumu, olguların 41'inde (% 33,9) tespit edilirken; lenf nodu tutulumu olan olgularda tutulan lenf nodu sayısı ortalaması $3,85 \pm 5,8$ idi.

Olguların 20'sinde (%16,5) satellit nodül varlığı, yedisinde (%5,8) transit nodül varlığı saptandı.

Uzak metastaz, 40 olguda (%33,1) tespit edildi. Metastaz odakları sıklık sırasına göre; akciğer (%35), karaciğer (% 15), deri (% 10), santral sinir sistemi (%7,5), vertebra (% 7,5), hiler bölge göğüs duvarı (% 7,5), femur (% 5), parotis (% 5), sakrum (% 2,5), adrenal gland (% 2,5) ve mide (% 2,5) idi (Tablo 10).

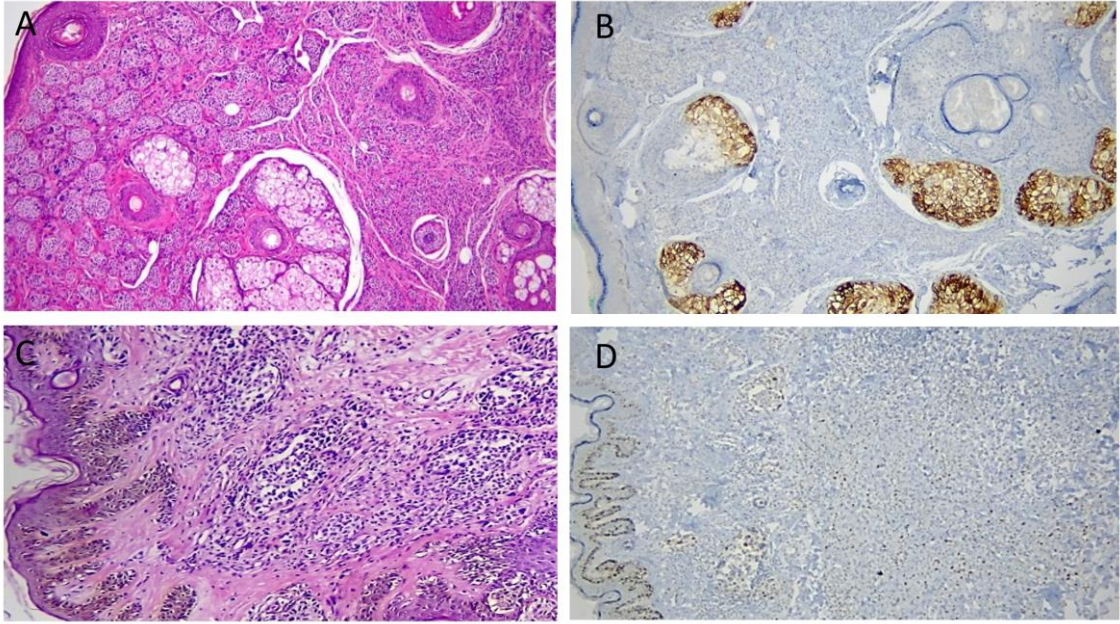
Tablo 10. . Uzak metastaz dağılımı

	Sayı (n)	Yüzde (%)
Uzak metastaz		
Yok	81	66,9
Var	40	33,1
Metastaz yeri (n=40)		
Akciğer	14	35,0
Karaciğer	6	15,0
Deri	4	10,0
Beyin	2	5,0
Serebellum	1	2,5
Vertebra	3	7,5
Sakrum	1	2,5
Femur	2	5,0
Hiler bölge göğüs duvarı	3	7,5
Parotis	2	5,0
Adrenal gland	1	2,5
Mide	1	2,5

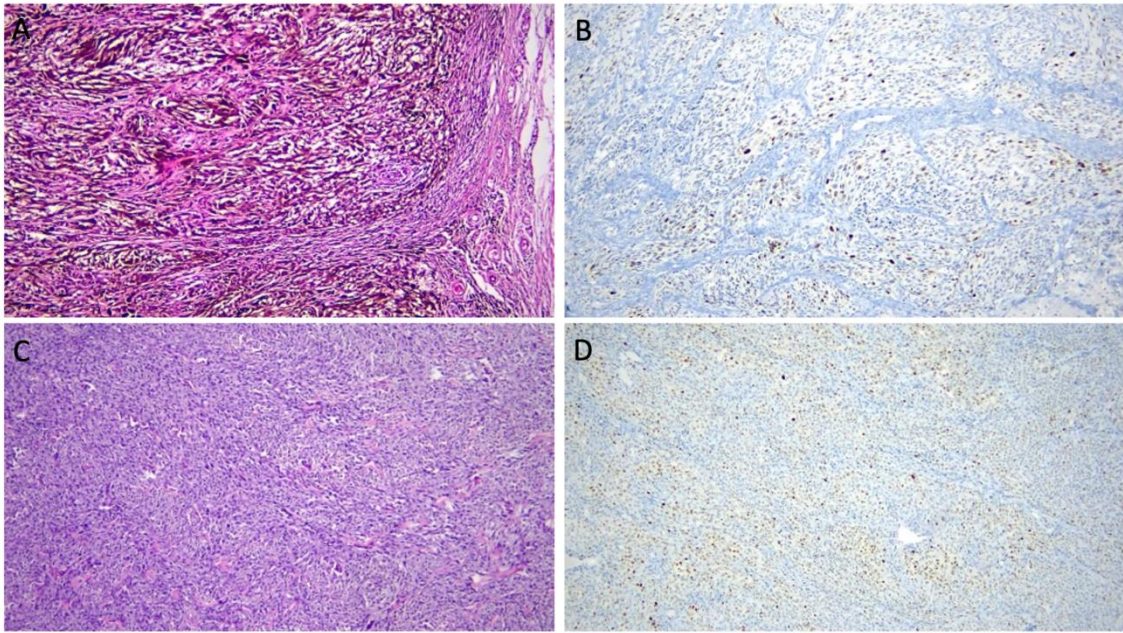
4.1. İmmünohistokimyasal bulgular

İntradermal nevüs olgularının tamamında (%100) PRAME boyanması negatif idi. Displastik nevüs olgularının % 90,5'inde (38/42) PRAME negatif olup, %7,1'inde (3/42) 1 pozitif boyanma, %2,4'ünde (1/42) 3 pozitif boyanma saptandı. Çalışmaya dahil edilen 121 melanom olgusunun sadece dokuzu (%7,4) PRAME negatif iken, 11 olgu (%9,1) 1 pozitif, 12 olgu (%9,9) 2 pozitif, 15 olgu (%12,4) 3 pozitif, 74 olgu ise (%61,2) 4 pozitif idi. Melanom olgularının %73,6'sı 3 veya 4 pozitif PRAME boyanması gösterdi.

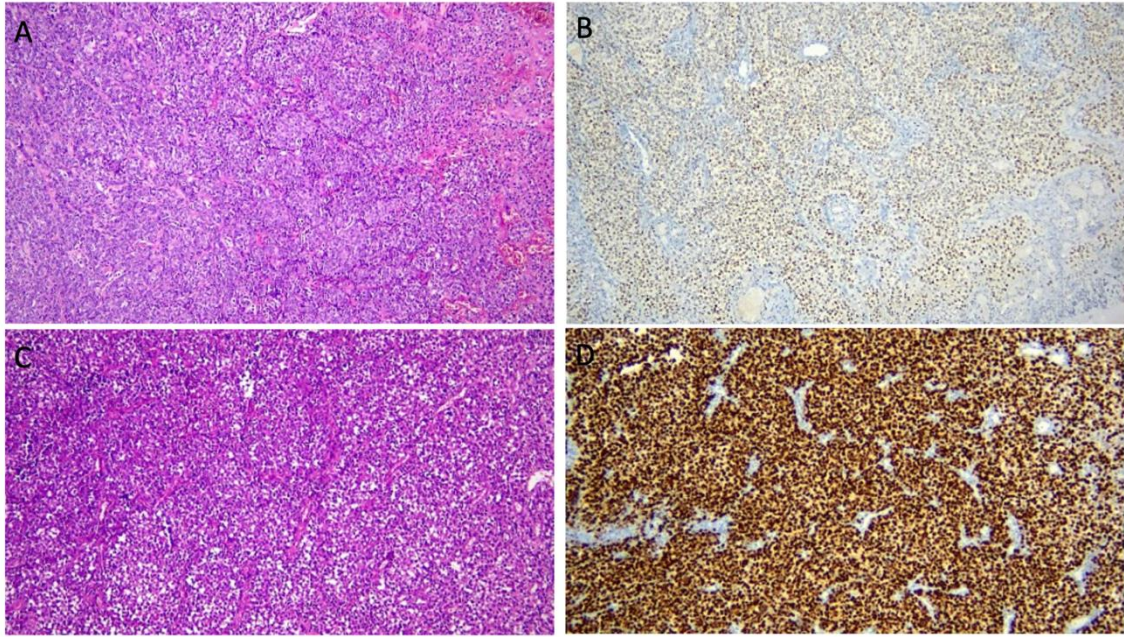
Melanom olgularında PRAME boyanmasının 2, 3 ve 4 pozitif olma oranları, tüm nevüs olgularına göre daha yüksek olduğu tespit edildi (sırasıyla $p=0,010$; $p=0,009$; $p<0,001$). İntradermal nevüs ve displastik nevüs olgularında PRAME negatifliğinin melanom olgularına göre yüksek olması, istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0,001$).



Resim 1. A- İntradermal nevüs olgusu H&E görüntüsü (x100), B- İntradermal nevüs olgusunun PRAME ile negatifliği (İHK, x100), C- Displastik nevüs olgusu H&E görüntüsü (x100), D- Displastik nevüs olgusunun PRAME ile 1 pozitif boyanması (İHK, x100)



Resim 2. A- Melanom olgusu H&E görüntüsü (x100), B- Aynı olgunun PRAME ile 1 pozitif boyanması (İHK, x100), C- Melanom olgusu H&E görüntüsü (x100), D- Aynı olgunun PRAME ile 2 pozitif boyanması (İHK, x100)

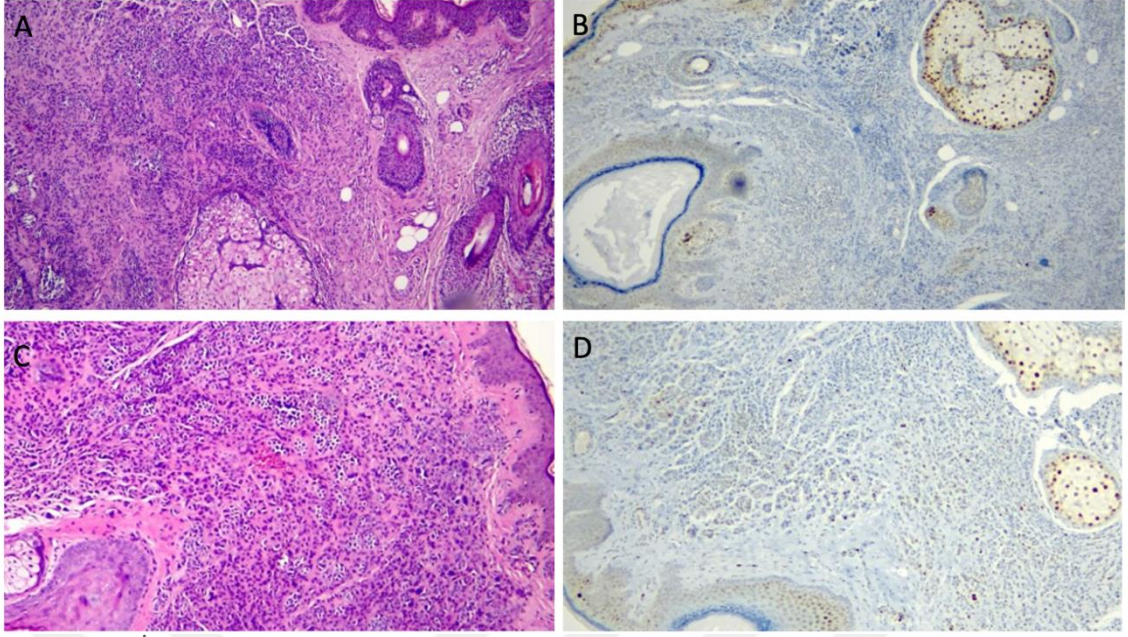


Resim 3. A- Melanom olgusu H&E görüntüsü (x100), B- Aynı olgunun PRAME ile 3 pozitif boyanması (x100), C- Melanom olgusu H&E görüntüsü (x100), D- Aynı olgunun PRAME ile 4 pozitif boyanması (IHK, x100).

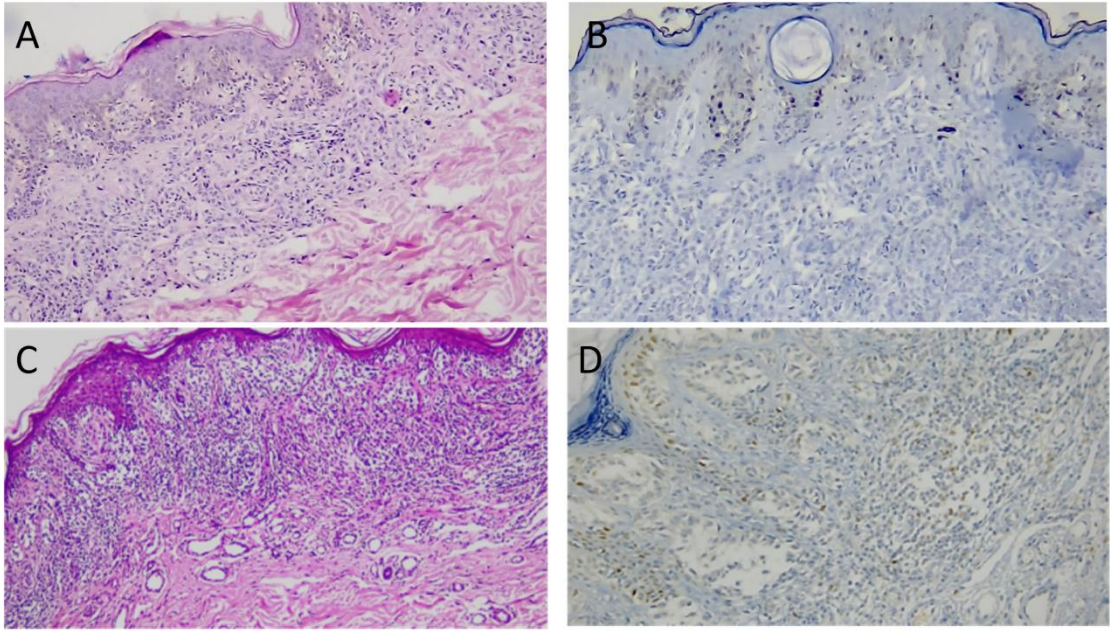
İntradermal nevüs olgularının 29'u (%63) p21 negatif olup, 17'si (%37) p21 ile 1 pozitif boyanma gösterdi. İntradermal nevüs olgularının hiçbiri 2 ve daha fazla pozitif boyanma göstermedi. Displastik nevüs olgularının, 19'u (%45,2) p21 negatif iken, 22'si (%52,4) p21 ile 1 pozitif ve biri (%2,4) p21 ile 2 pozitif boyanma gösterdi. Displastik nevüs olgularının hiçbiri p21 ile 3 veya 4 pozitif boyanma göstermedi.

Melanom olgularının sadece ikisi (%1,7) p21 ile negatif iken, 37 olgu (%30,6) 1 pozitif, 29 olgu (%24) 2 pozitif, 32 olgu (%26,4) 3 pozitif ve 21 olgu (%17,4) da 4 pozitif boyanma gösterdi.

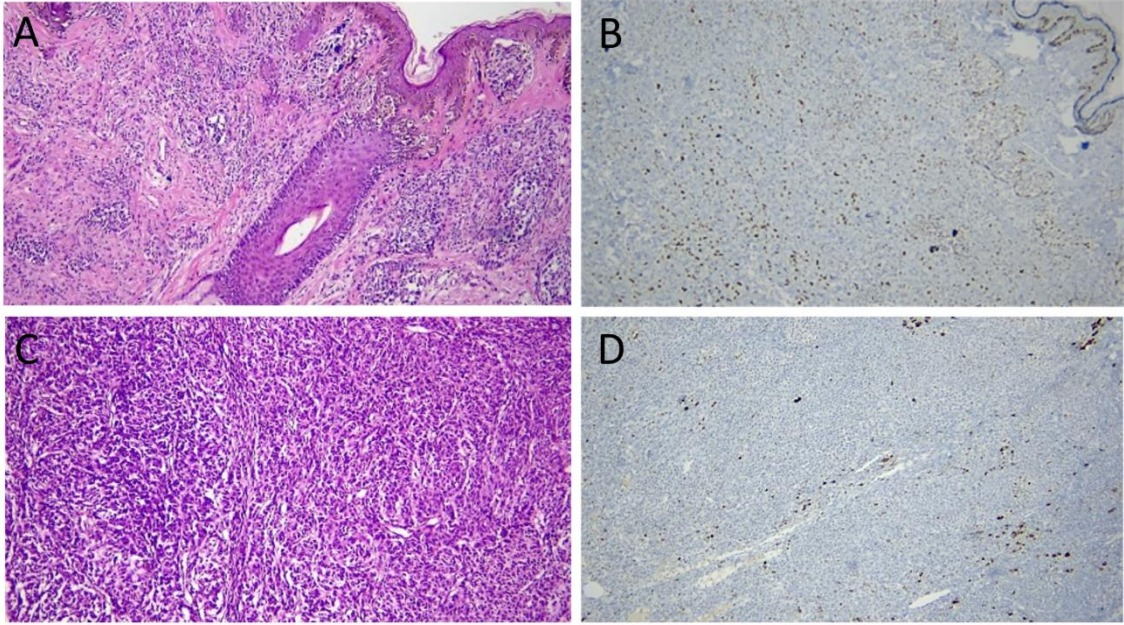
Melanom olgularında p21 negatifliği nevüslerden istatistiksel olarak anlamlı oranda daha düşük idi ($p<0,001$). Bununla birlikte, p21' in 2, 3 ve 4 pozitif boyanması melanomlarda nevüslere göre daha yüksek oranda idi ve bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı idi (sırasıyla $p<0,001$; $p<0,001$; $p<0,001$). Displastik nevüs olgularındaki p21'in 1 pozitif boyanmasının (%52,4) intradermal nevüs (%37,1) ve melanom (%30,6) olgularından daha yüksek olması istatistiksel olarak anlamlı idi ($p:0,040$).



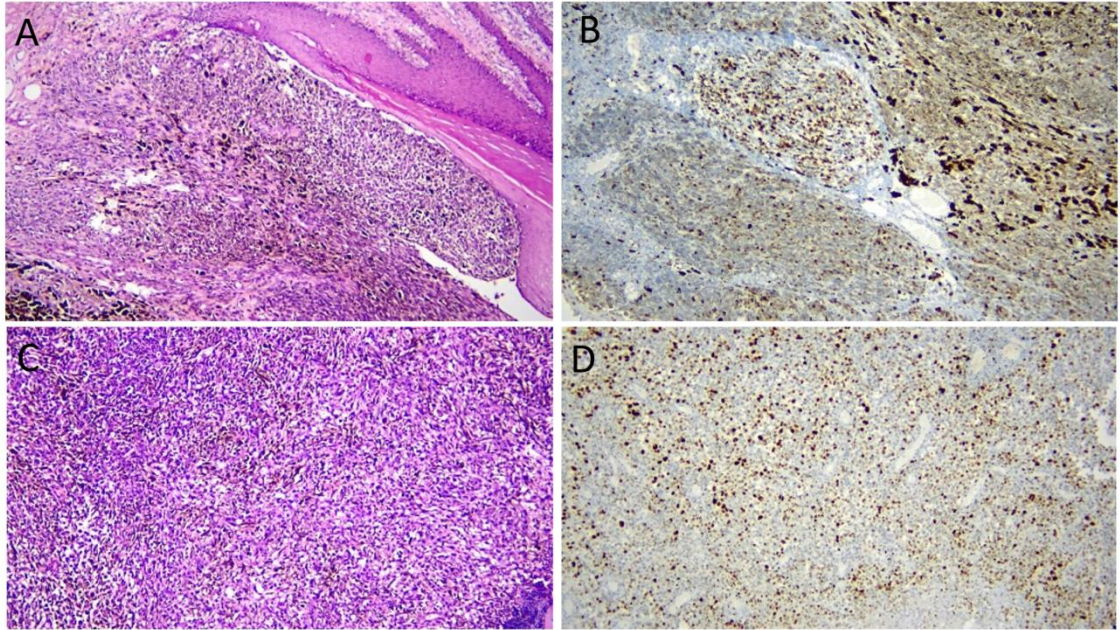
Resim 4. A- İntradermal nevüs olgusu H&E görüntüsü (x100), B- Aynı olguda p21 negatifliği ve internal kontrol olarak sebace bezlerin nükleer pozitif boyanması (İHK, x100), C- İntradermal nevüs olgusu H&E görüntüsü (x100), D- Aynı olguda p21 ile 1 pozitif boyanma (İHK, x100).



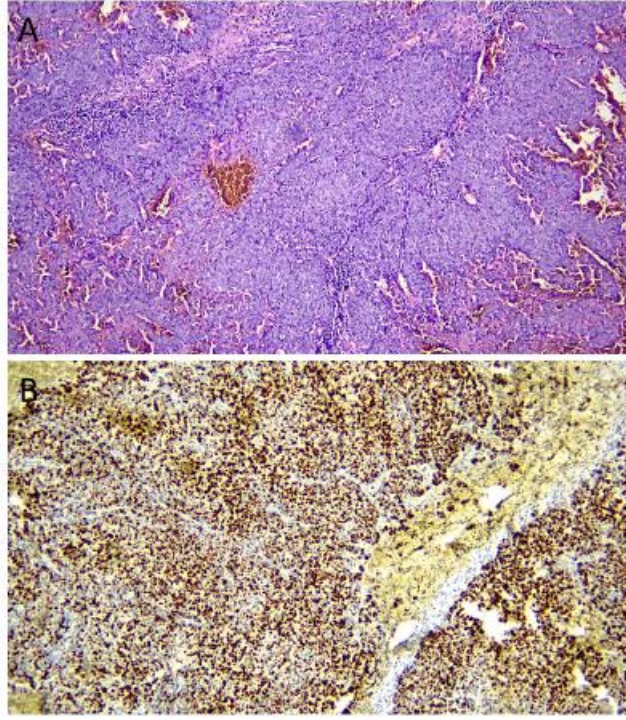
Resim 5. A- Displastik nevüs olgusu H&E görüntüsü (x100), B- Bu olguda p21 negatifliği (İHK, x100), C- Displastik nevüs olgusu H&E görüntüsü (x100) D- Aynı olguda p21 ile 1 pozitif boyanma (İHK, x100).



Resim 6. A- Displastik nevüs olgusu H&E görüntüsü (x100), B- Aynı olgunun p21 ile 2 pozitif boyanması (İHK, x100), C- Melanom olgusu H&E görüntüsü (x100), D- Aynı olgunun p21 ile 1 pozitif boyanması (İHK, x100).



Resim 7. A- Melanom olgusu H&E görüntüsü (x100), B- Aynı olgunun p21 ile 2 pozitif boyanması (İHK, x100), C- Melanom olgusu H&E görüntüsü (x100), D- Aynı olgunun p21 ile 3 pozitif boyanması (İHK, x100).



Resim 8. A- Melanom olgusu H&E görüntüsü (x100), B- Aynı olgunun p21 ile 4 pozitif boyanması (İHK, x100).

Melanom vakalarında PRAME değerleri ile p21 değerleri arasında ($\kappa=0,289$) zayıf düzeyde bir uyum olduğu tespit edildi ($p<0,001$) (Tablo 11).

Tablo 11. . PRAME ve p21 arasındaki uyumun incelenmesi

	PRAME	
Tüm vakalarda	Kendall Uyumluluk	p
p21	0,634	<0,001**
Melanom vakalarında	PRAME	
	Kendall Uyumluluk	p
p21	0,289	0,001**

* $p<0,05$, ** $p<0,01$, Kendall uyumluluk

Tablo 12. PRAME boyanması ile klinikopatolojik parametreler arasındaki farklılıklar

	PRAME			p†
	negatif	1+ ve 2+	3+ ve 4+	
	n(%)	n(%)	n(%)	
Clark evre				
1	-	2 (8,7)	2 (2,2)	0,232
2	3 (33,3)	2 (8,7)	11 (12,4)	
3	3 (33,3)	3 (13,0)	20 (22,5)	
4	2 (22,2)	8 (34,8)	38 (42,7)	
5	1 (11,1)	8 (34,8)	18 (20,2)	
Ülser				
Yok	5 (55,6)	9 (39,1)	36 (40,4)	0,662
Var-belirgin	4 (44,4)	14 (60,9)	53 (59,6)	
Konak cevabı				
Yok	1 (11,1)	6 (26,1)	8 (9,0)	0,200
Var-belirgin değil	6 (66,7)	9 (39,1)	49 (55,1)	
Var-belirgin	2 (22,2)	8 (34,8)	32 (36,0)	
Perinöral invazyon				
Yok	9 (100)	18 (78,3)	77 (86,5)	0,270
Var	-	5 (21,7)	12 (13,5)	
Regresyon				
Yok	9 (100)	21 (91,3)	83 (93,3)	0,670
Var	-	2 (8,7)	6 (6,7)	
Lenfovasküler invazyon				
Yok	6 (66,7)	18 (78,3)	60 (67,4)	0,592
Var	3 (33,3)	5 (21,7)	29 (32,6)	
Lenf nodu tutulumu				
Yok	6 (66,7)	17 (73,9)	57 (64)	0,672
Var	3 (33,3)	6 (26,1)	32 (36)	
Satellit				
Yok	6 (66,7)	20 (87)	75 (84,3)	0,352
Var	3 (33,3)	3 (13)	14 (15,7)	
Transit				
Yok	7 (77,8)	22 (95,7)	85 (95,5)	0,090
Var	2 (22,2)	1 (4,3)	4 (4,5)	
Uzak metastaz				
Yok	6 (66,7)	18 (78,3)	57 (64)	0,434
Var	3 (33,3)	5 (21,7)	32 (36)	
	Ort±Ss (Med)	Ort±Ss (Med)	Ort±Ss (Med)	pλ
Breslow kalınlık (mm)	3,92±3,2 (4)	8,14±8,8 (6)	6,37±5,9 (5)	0,496
Tümör çapı (mm)	18,9±15,6 (15)	23,6±16,8 (20)	15,9±13,2 (11)	0,091

*p<0,05, **p<0,01, λ: Kruskal wallis, †: Ki-kare

Klinikopatolojik veriler ile PRAME boyanmasının istatistiksel değerlendirmesi için melanom olgularının boyanma şiddetine göre yeniden gruplandırma yapıldı. PRAME boyanması ‘negatif’ olanlar, ‘1 pozitif ve 2 pozitif’ olanlar, ‘3 pozitif ve 4 pozitif’ olanlar olmak üzere üç gruba ayrıldı. Clark evresi, Breslow kalınlığı, tümör çapı, ülser varlığı,

konak cevabı, perinöral invazyon, lenfovasküler invazyon, regresyon, satellit varlığı, transit varlığı, lenf nodu tutulumu ve uzak metastaz ile PRAME boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı($p>0,05$) (Tablo 16).

Tümör çapı ortalaması ve Breslow kalınlığı en yüksek PRAME 1 ve 2 pozitif boyanan olgularda (sırasıyla $23,6\pm16,8$ ve $8,14\pm8,8$) gözlenirken bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (sırasıyla $p:0,09$ ve $p:0,49$).

Tablo 13. p21 boyanması ile klinikopatolojik parametreler arasındaki farklılıklar

	p21		p†
	1+ ve 2 +	3+ ve 4+	
	n(%)	n(%)	
Lokalizasyon			
Baş-boyun	22 (33,3)	18 (34)	0,904
Gövde	12 (18,2)	8 (15,1)	
Üst ekstremité	8 (12,1)	5 (9,4)	
Alt ekstremité	24 (36,4)	22 (41,5)	
Ülser			
Yok	31 (47)	18 (34)	0,213
Var	35 (53)	35 (66)	
Konak cevabı			
Yok	7 (10,6)	7 (13,2)	0,883
Var-belirgin değil	36 (54,5)	27 (50,9)	
Var-belirgin	23 (34,8)	19 (35,8)	
Perinöral invazyon			
Yok	56 (84,8)	47 (88,7)	0,735
Var	10 (15,2)	6 (11,3)	
Regresyon			
Yok	64 (97)	47 (88,7)	0,137
Var	2 (3)	6 (11,3)	
Lenfovasküler invazyon			
Yok	47 (71,2)	37 (69,8)	0,868
Var	19 (28,8)	16 (30,2)	
Lenf nodu tutulumu			
Yok	47 (71,2)	32 (60,4)	0,294
Var	19 (28,8)	21 (39,6)	
Satellit			
Yok	54 (81,8)	47 (88,7)	0,435
Var	12 (18,2)	6 (11,3)	
Transit			
Yok	61 (92,4)	52 (98,1)	0,224
Var	5 (7,6)	1 (1,9)	
Uzak metastaz			
Yok	48 (72,7)	33 (62,3)	0,308
Var	18 (27,3)	20 (37,7)	
	Ort±Ss (Med)	Ort±Ss (Med)	pλ
Breslow kalınlık (mm)	5,98±6,2 (4)	6,78±5,7 (6)	0,121
Tümör çapı (mm)	18,6±14,1 (13)	15,9±13,8 (11)	0,205

* $p<0,05$, ** $p<0,01$, λ: Kruskal wallis, †: Ki-kare

Melanom olgularında klinikopatolojik parametreler ile p21 boyanması arasındaki ilişki değerlendirildiğinde, p21 negatif olan iki melanom olgusu sayı çok az olduğundan istatistiksel analizin dışında bırakıldı. İstatistiksel değerlendirme için ‘1 pozitif ve 2 pozitif’ olanlar ve ‘3 pozitif ve 4 pozitif’ olanlar olmak üzere iki gruba ayrıldı. Lokalizasyon, Breslow kalınlığı, tümör çapı, ülser varlığı, konak cevabı, perinöral invazyon, lenfovasküler invazyon, regresyon, satellit varlığı, transit varlığı, lenf nodu tutulumu ve uzak metastaz ile p21 boyanması arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p>0,05$) (Tablo 13).

Breslow kalınlığı, p21’in 3 ve 4 pozitif olduğu olgularda, 1 ve 2 pozitif boyananlara kıyasla biraz daha yüksek olmakla birlikte, bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p:0,12$).

Tablo 14. Ortalama sağkalım ile klinikopatolojik veriler arasındaki farklılıklar

	n	Ort	SE	%95 Güven Aralığı		p
				En düşük	En yüksek	
Cinsiyet						
Kadın	50	79,6	9,2	61,6	97,6	0,053
Erkek	71	58,3	6,6	45,4	71,2	
Patolojik tanı						
Yüzeyel yayılan melanom	13	77,9	5,8	66,5	89,2	0,227
Lentigo malign melanom	2	34,5	1,8	31,0	37,9	
Nodüler melanom	39	60,1	8,4	43,5	76,6	
Akral melanom	6	34,8	6,5	22,2	47,5	
İnvaziv melanom	61	66,3	7,8	50,9	81,6	
Lokalizasyon						
Baş-boyun	40	61,5	9,3	43,3	79,8	0,390
Gövde	21	67,1	8,4	50,6	83,6	
Üst ekstremité	13	65,7	17,6	31,3	100,2	
Alt ekstremité	47	63,2	7,9	47,7	78,7	
Clark evresi						
1	4	74,3	12,8	49,2	99,3	0,002**
2	16	98,9	13,4	72,7	125,2	
3	26	67,0	11,5	44,5	89,6	
4	48	65,2	8,2	49,1	81,4	
5	27	41,8	9,8	22,5	60,9	
Breslow kalınlığı						
<1 mm	9	74,3	7,7	59,3	89,4	<0,001**
1-2 mm	29	99,6	11,5	77,0	122,1	
2-4 mm	18	88,5	13,3	62,5	114,6	
>4 mm	65	43,8	5,1	33,8	53,8	

Mitoz sayısı/ mm ²						
1	20	124,2	10,6	103,3	145,1	<0,001**
2-5	59	67,9	7,3	53,5	82,3	
>5	42	36,2	4,5	27,4	45,1	
Ülser						
Yok	50	90,4	8,7	73,3	107,4	<0,001**
Var	71	49,8	6,3	37,5	62,1	
Konak cevabı						
Yok	15	41,7	11,7	18,8	64,5	0,001**
Var-belirgin değil	64	57,8	6,6	44,8	70,7	
Var-belirgin	42	98,8	12,4	74,5	123,1	
Perinöral invazyon						
Yok	104	72,9	6,1	60,8	84,9	0,004**
Var	17	31,3	5,8	19,9	42,7	
Regresyon						
Yok	113	70,3	5,9	58,7	81,8	0,059
Var	8	36,9	10,8	15,6	58,1	
Lenfovasküler invazyon						
Yok	84	79,7	6,9	66,2	93,3	<0,001**
Var	37	39,1	7,1	25,3	53,0	
Lenf nodu tutulumu						
Yok	80	83,9	7,1	70,0	97,8	<0,001**
Var	41	33,6	4,5	24,7	42,5	
Satellit						
Yok	101	75,1	6,2	62,9	87,3	<0,001**
Var	20	26,2	4,1	18,1	34,3	
Transit						
Yok	114	70,5	5,9	58,9	82,2	0,062
Var	7	37,9	11,2	15,8	59,9	
Uzak metastaz						
Yok	81	88,3	7,5	73,7	102,9	<0,001**
Var	40	34,7	3,7	27,4	41,9	

*p<0,05, **p<0,01, Kaplan meier-log rank

Klinikopatolojik parametreler ile sağkalım arasındaki ilişki değerlendirildiğinde; Breslow kalınlığı “1 mm’den küçük”, “1-2 mm arası”, “2-4 mm” ve “4 mm üzeri” şeklinde dört gruba ayrılarak yapılan istatistiksel analizde, kalınlık arttıkça ortalama sağkalımın azaldığı görüldü. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi (p<0,001).

Clark düzeyi ile ortalama sağkalım arasındaki ilişki de istatistiksel olarak anlamlı olup, Clark düzey I ve II olan olguların ortalama sağkalımı (sırasıyla 74,3 ve 98,9 ay), Clark evre III, IV ve V olan olgulara kıyasla (sırasıyla 67 ay, 65,2 ay ve 41,8 ay) daha yüksek idi (p:0,002).

Mitotik aktiviteyi mitoz sayısı/mm² değeri “0-1 arası”, “2-5 arası” ve “5’in üstü” diye gruplandırıldığında mitoz sayısı ile ortalama sağkalım süresi arasında ters ilişki

saptandı ($p:0,001$). Mitoz sayısı/ mm^2 1 ve altı olan olguların ortalama sağkalımı (124,2 ay), mitoz sayısı 1'den yüksek olgulara göre (sırasıyla 67,9 ve 36,2 ay) daha yüksek idi.

Ülser içeren olguların ortalama sağkalım süreleri (49,8 ay) ülser içermeyenlere oranla (90,4 ay) daha düşük idi ($p<0,001$).

Konak cevabı olmayan olguların ortalama sağkalım sürelerinin (41,7 ay), konak cevabı belirginleştikçe anlamlı olarak uzadığı (sırasıyla 57,8 ve 98,8 ay) saptandı ($p:0,001$).

Perinöral invazyon olan olgularda ortalama sağkalım süreleri daha düşük idi ($p:0,004$).

Lenfovasküler invazyon varlığı olan olgularda ortalama sağkalım süreleri düşük idi ($p<0,001$).

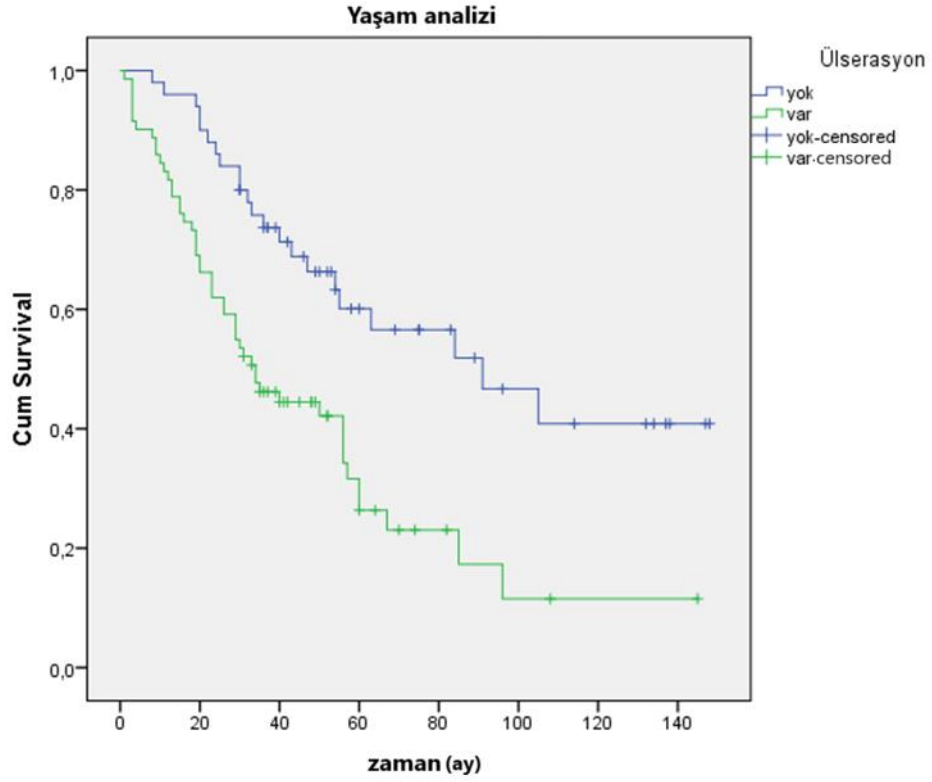
Lenf nodu tutulumu olan olgularda ortalama sağkalım süresi düşük idi ($p<0,001$).

Satellit varlığı tespit edilen olguların ortalama sağkalım süreleri daha düşük idi ($p<0,001$).

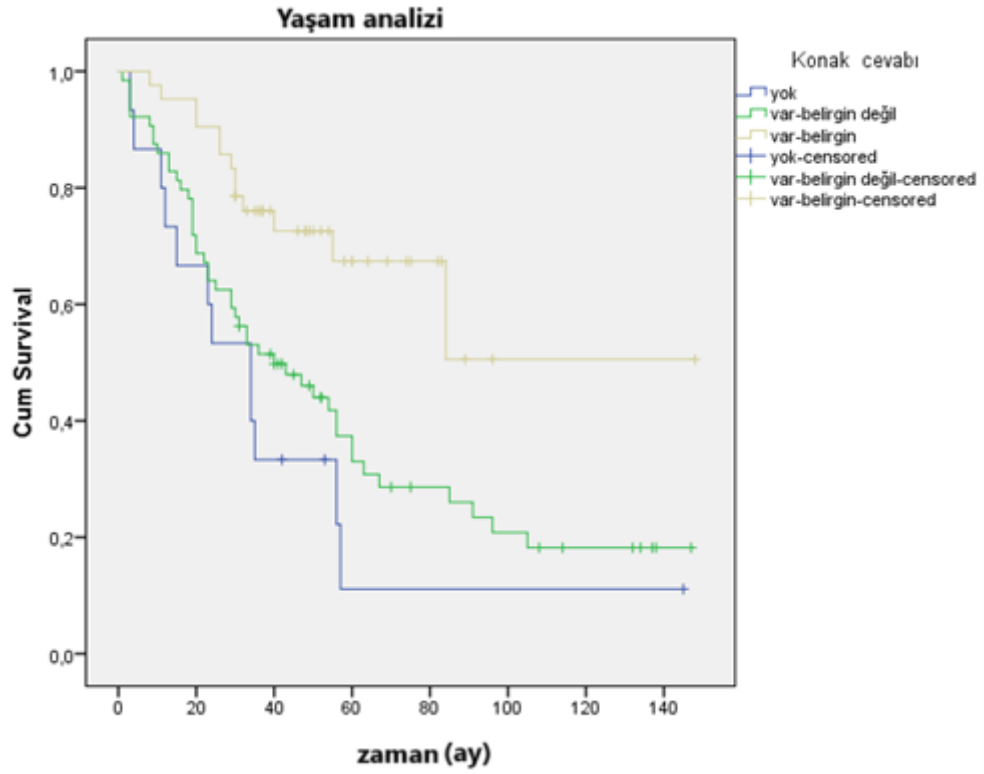
Uzak metastazı olan olgularda ortalama sağkalım süreleri (34,7 ay) metastatik olmayanlara (88,3 ay) göre anlamlı olarak düşük saptandı ($p<0,001$).

Erkek cinsiyet, regresyon ve transit varlığı olan olgularda beklenen sağkalım süresi daha düşük olmakla birlikte, bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı değildi (sırasıyla $p:0,053$, $p:0,059$, $p:0,062$).

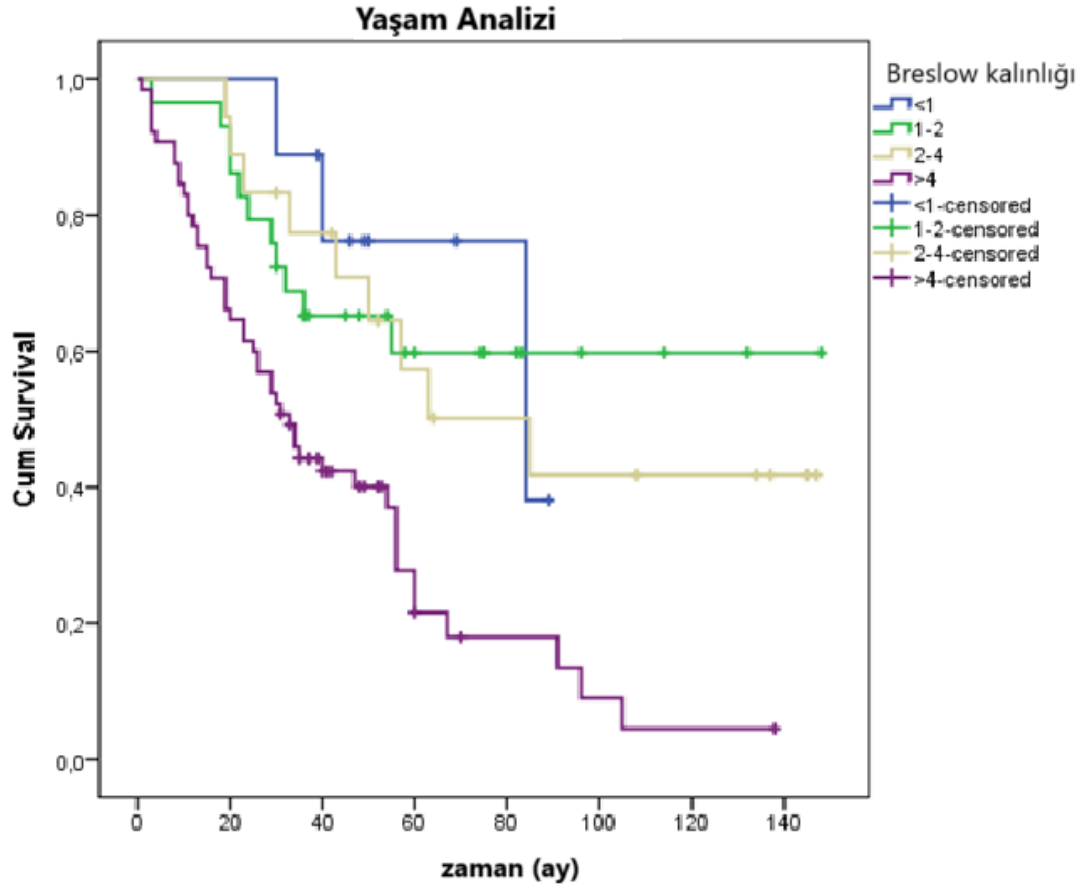
Diğer klinikopatolojik veriler değerlendirildiğinde histopatolojik alt tip ve lokalizasyon ile ortalama sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0,05$) (Tablo 18).



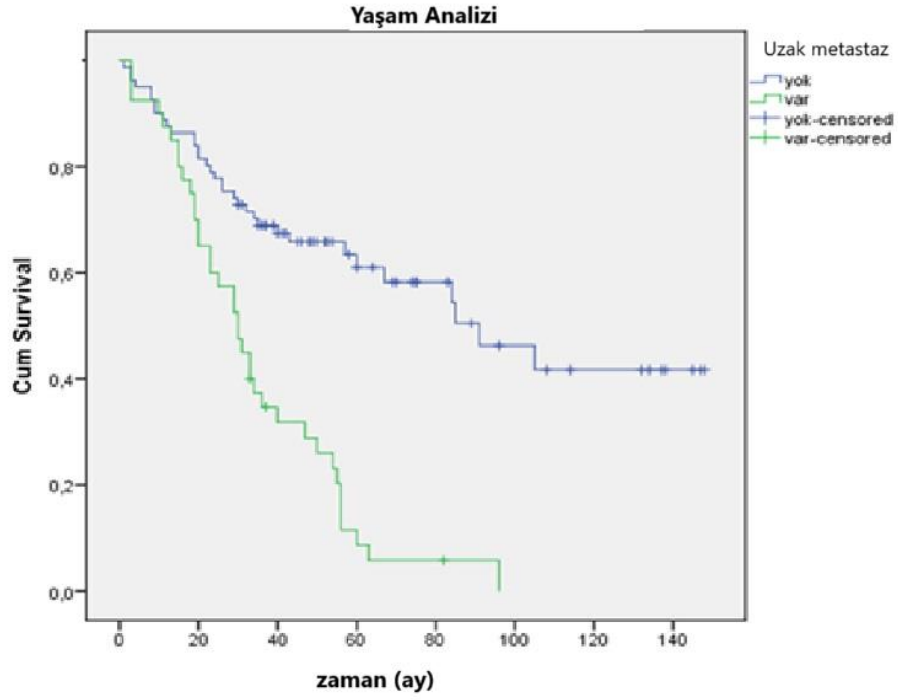
Şekil 12. Ortalama sağkalımın ülser ile ilişkisi



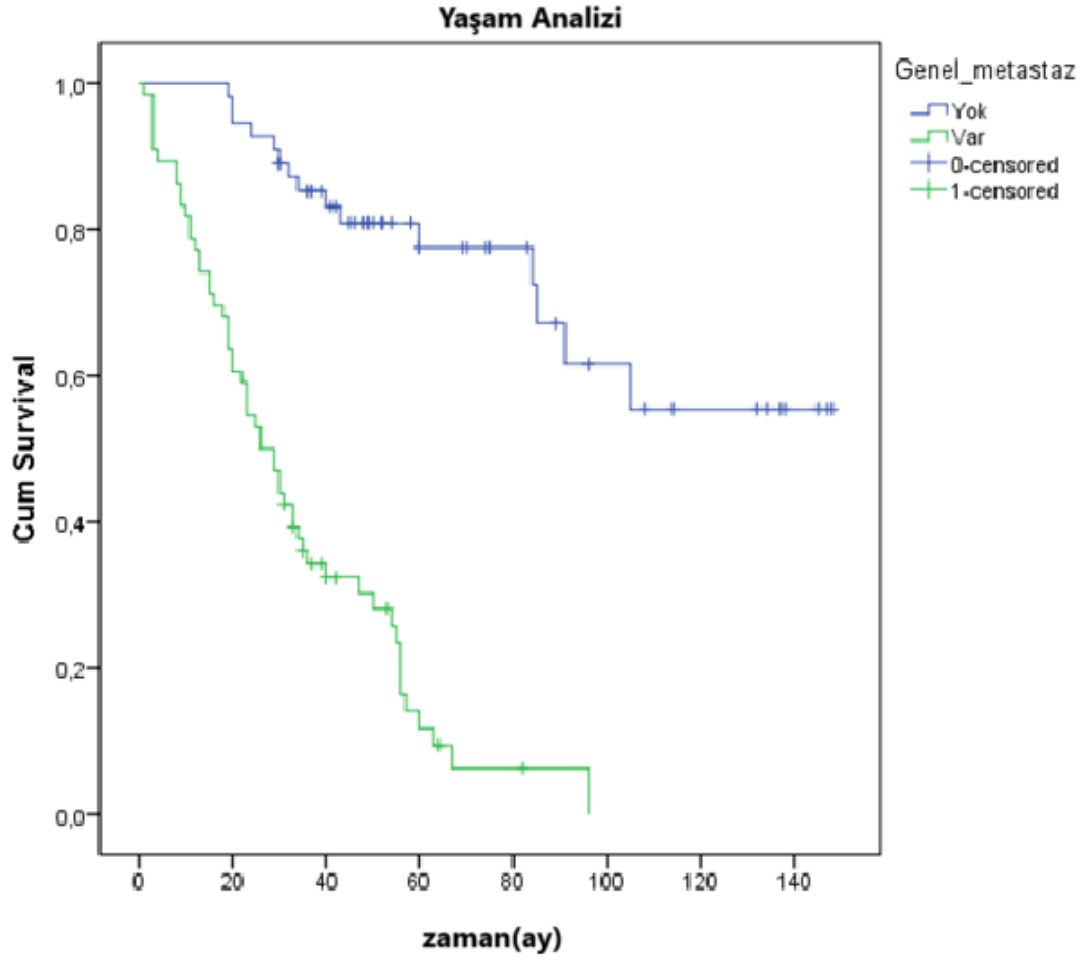
Şekil 13. Ortalama sağkalımın konak cevabı ile ilişkisi



Şekil 14. Ortalama sağkalımın breslow kalınlığı ile ilişkisi



Şekil 15. Ortalama sağkalımın uzak metastaz ile ilişkisi



Şekil 16. Ortalama sağkalımın genel metastaz durumu ile ilişkisi

PRAME ve p21 boyanma dereceleri ile ortalama sağkalım ilişkileri incelendiğinde, hem PRAME hem de p21 ile %50 üzerinde boyanma (3 ve 4 pozitif) görülen melanom olgularında ortalama sağkalım sürelerinin daha kısa olduğu saptansa da, bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo 19).

Tablo 19. Ortalama sağkalım ile PRAME ve p21 boyanması arasındaki farklılıklar

	n	Ort	SE	%95 Güven Aralığı		p
				En düşük	En yüksek	
PRAME						
0	9	70,8	12,9	45,5	95,9	0,521
1+ ve 2+	23	74,3	12,9	48,8	99,7	
3+ ve 4+	89	63,0	6,4	50,4	75,6	
p21						
0	2	21,5	1,5	18,6	24,4	0,065
1+ ve 2+	66	76,8	8,1	60,9	92,7	
3+ ve 4+	53	57,8	6,9	44,3	71,2	

Melanom olgularının 66'sı (%54) metastatik (kutanöz, nodal ve uzak metastaz dahil) ve 55'i (%46) metastatik olmayan olgular idi. Bu iki grup karşılaştırıldığında ortalama genel sağkalım metastatik grupta oldukça düşük idi (33 ay, $p<0.001$) (Şekil 16).

Tablo 15. . Genel metastaz varlığı ile PRAME ve p21 ekspresyonu ile ilişkisi

	Genel Metastaz		p
	Yok (n=55)	Var (n=66)	
PRAME			
0	5 (9,1)	4 (6,1)	0,359
1+2	13 (23,6)	10 (15,2)	
3+4	37 (67,3)	52 (78,8)	
p21			
0	-	2 (3)	0,024*
1+2	37 (67,3)	29 (43,9)	
3+4	18 (32,7)	35 (53)	

* $p<0,05$, Ki-kare

Metastatik ve metastatik olmayan bu iki grupta, PRAME boyanmaları benzerdi ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$) (Tablo 15).

Yine bu iki grupta p21 boyanması değerlendirildiğinde, p21 ile 1 veya 2 pozitif boyanma oranı metastatik olmayan grupta daha fazla iken (37/55), p21 ile 3 veya 4 pozitif boyanma oranı metastatik grupta (35/66) daha fazla idi. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p:0,024$) (Tablo 15).

Tablo 16. . PRAME pozitifliği için tanısal doğruluk ölçütleri

	PRAME	%95 CI
AUC*	57,89	50,89-64,67
Sensitivite	92,56	86,35-96,54
Spesifite	95,45	88,77-98,75
PPD**	96,55	91,48-98,65
NPD***	90,32	83,25-94,6

*AUC:Eğri Altında Kalan Alan, **PPD:Pozitif Prediktif Değer, ***NPD:Negatif Prediktif Değer

PRAME için 1 ve üzeri boyanma pozitif kabul edildiğinde; tanısal performans gücü % 57,89, AUC ile % 92,56 sensitivitede, % 95,45 spesifitede olduğu tespit edildi (Tablo 16). Yine PRAME için 3 ve 4 pozitif boyanma pozitif kabul edildiğinde, tanısal performans gücü aynı saptanırken (% 57,89 AUC) sensitivite % 73,55, spesifite % 98,86 tespit edildi.

Tablo 17. p21 için tanısal doğruluk ölçütleri

	p21	%95 CI
AUC	57,89	50,89-64,67
Sensitivite	98,35	94,16-99,8
Spesifite	54,55	43,58-65,2
PPV	78,84	70,27-78,92
NPV	96,0	85,7-98,97

p21 için 1 ve üzeri pozitif değer kabul edildiğinde tanısal performans gücü % 57,89 AUC, % 98,35 sensitivite, % 54,55 spesifite olduğu tespit edildi. p21 için 2 ve üzeri pozitif boyanmalar pozitif değer olarak kabul edildiğinde % 57,89 AUC, % 67,77 sensitivite, % 98,86 spesifite olduğu tespit edildi (Tablo 17). Elde edilen bulgulara göre PRAME'in tanısal performans gücü p21'e göre daha anlamlı bulundu.

5.TARTIŞMA

Malign melanom, deri kanserlerin yaklaşık beşte birini oluşturmakta ve 2020 yılında dünya çapında yaklaşık 325.000 melanom vakası, 57.000 melanoma bağlı ölüm tahmin edilmektedir [1]. Morbidite ve mortalitesi yüksek malignitelere olan melanomun özellikle son 30 yılda insidansı artma eğilimindedir. Tanı vermede histopatolojik değerlendirme altın standart olmakla birlikte, özellikle ara lezyonlarda histopatoloji yetersiz kalabilmektedir. Tanı güçlüğü yaratabilen bu lezyonlarda bazen mevcut immünohistokimyasal ve moleküler yöntemler de yardımcı olmayabilmektedir. Tedavide cerrahi, radyoterapi ve kemoterapiye ek olarak immun kontrol mekanizması, küçük molekül kinaz inhibitörleri gibi güncellenen tedavi rejimlerine rağmen hastaların yaşam kalitesi ve sağ kalım üzerindeki etkisi halen istenen düzeyde değildir. Bu nedenle melanom olgularında gerek tanıya yardımcı, gerekse terapötik yeni moleküllere yönelik literatürde çalışmaların sayısı hızla artmaktadır. Biz de çalışmamızda PRAME ve p21'in hem tanıya hem de prognoza etkisini araştırmayı amaçladık.

Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak melanom olgularımızın yaş ortalaması yüksek ve erkek çoğunlukta idi; en sık alt ekstremitte yerleşimli (%38,8) idi. Yine literatürdeki bazı çalışmalar ile uyumlu olarak olgularımızın çoğu Clark evre 4 ve 5 (ileri evre) idi [180].

Melanom olgularındaki ortalama Breslow kalınlığı ($6,52 \pm 6,4$ mm), literatüre kıyasla hafif yüksek idi. Bu bulgunun olgularımızın hastalığın ileri evrede (VBF'ye sahip) tanı alması ile ilişkili olabileceğini düşündük.

Literatürde en sık histolojik alt tip yüzeysel yayılan melanom iken, ülkemizde yapılan çalışmalarda bizim çalışmamızda olduğu gibi nodüler alt tip daha sık bildirilmiştir [184]. Yüzeysel yayılan melanom alt tipi çalışmamızda ikinci sıklıkta idi.

Olguların %33,1' inde uzak metastaz saptandı ve en sık metastaz odağı literatür ile uyumlu olarak bizde de akciğer (n=14, %35) idi [184].

Sağkalım süreleri ve patolojik alt tip ilişkisi değerlendirildiğinde bizdeki ortalama sağkalım süreleri literatürle uyumlu olarak en yüksek yüzeysel yayılan melanom alt tipinde saptandı (ort: 77,9 ay) [185].

Literatürle uyumlu olarak; Breslow kalınlığı, Clark düzeyi, mitoz sayısı, lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, ülser varlığı, satellit varlığı, lenf nodu tutulumu kötü prognoz ile ilişkili saptandı [182-184, 186]. Sağkalımın regresyon varlığı

ve transit varlığı ile anlamlı ilişkisi gözlenmezken; literatürle uyumlu olarak konak cevabı varlığı anlamlı idi ve iyi prognostik parametre olarak değerlendirildi [183]. Metastatik (satellit, transit, nodal ve uzak metastaz) olgularda beklenildiği üzere daha düşük sağkalım görüldü.

Bir kanser testis antijeni olan PRAME' in meme kanseri, medulloblastom, baş-boyun kanserleri, seröz over kanseri gibi birçok malign tümörde overekspresyonunun iyi ya da kötü bir prognostik belirteç olabileceği ve tedaviye etkinliği değiştirebileceğine yönelik çeşitli çalışmalar mevcuttur. Son yıllarda melanom olgularında da tanısal ve prognostik önemine yönelik çalışmalar hızla artmaktadır.

Lezcano ve arkadaşlarının 145 olgulu çalışmasında 55 banal nevus olgularının %91'inde PRAME negatif bildirilirken, bizim çalışma bu oran %100 idi. Aynı çalışmada displastik nevüslerde %83,4'ü PRAME negatif iken, bizde bu oran % 90,5 idi [165]. Ek olarak çalışmamızda displastik nevüsler incelenirken PRAME negatif olan bazı olgularda özellikle junctional komponentte tek tük PRAME ile nükleer pozitif boyanmalar dikkat çekti. Bu bulguyu displaziye progresyonun göstergesi olabileceği şeklinde yorumladık.

Lezcano ve arkadaşlarının 2018'deki 155 primer melanom, 100 metastatik melanom ve 145 melanositik nevüsü dahil ettikleri çalışmada, melanom olgularındaki PRAME genel pozitiflik oranı %83,2 iken, bizde bu oran %96,7 idi. Aynı çalışmada melanom olgularında 4 (+) boyanma vurgulanmış olup, bu oran %90,4 iken, bizde %61,2 idi [165]. Boyanma şiddetindeki farklılıkların PRAME antikor klonundaki farklılık ile ilgili olabileceğini düşündük.

See ve arkadaşları, PRAME uyguladıkları 44 nodal nevüs ve 54 metastatik melanom olgulu çalışmalarında; PRAME boyanmasını tümör hücrelerinin boyanma yüzdesine göre bizim çalışmamızdaki skora ile aynı şekilde %0-25, %25-50, %50-75, %75-100 olarak 4 grupta değerlendirmiştir. Nevüs olgularının %98'i (n:44) %0-25 pozitif, nodal metastatik melanom olgularının %87'si (n:47) %75-100 pozitif boyanma göstermiştir. 4(+) boyanan olgusu sayısı bu çalışmada da bizden yüksek saptanmıştır (Bizde %61,2). Tümör hücrelerinin %50' sinden fazla PRAME boyanması pozitif test olarak alındığında, PRAME'in nodal metastatik melanomu nodal nevüslerden ayırmadaki duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla %94 ve %100 olarak bulunmuş ve p16'ya göre üstün olduğu gösterilmiştir (p<0.001) [186].

Gradecki ve arkadaşları 155 metastatik melanom olgusuyla yaptıkları çalışmada PRAME boyanma değerlendirmesini bizim çalışmamıza benzer skora yöntemi ile değerlendirmiş; diffüz pozitiflik (4+) %41,3 (bizde %61,2), 3+ %29,7 (bizde %12,4), 2

(+) %11,6 (bizde % 9,9) ve 1 (+) %14,8 (bizde % 9,1) saptamışlardır. Bu çalışmada yalnızca dört olgu PRAME negatif olup (%2,6) bu olguların dördü de lenf nodu metastazı olan olgulardır. Lenf nodu metastazı olan olguların diğer organ metastazı olanlara göre boyanma şiddetleri anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur (p: 0.003)[187].

Lopez ve arkadaşları histomorfolojik olarak melanomu taklit edebilen, beş adet BAP-1 inaktive tümör, yedi adet derin penetran nevüs ve 12 adet kombine konvansiyonel ve derin penetran nevüs (KDPN) olmak üzere toplam 24 olgu dahil ettikleri çalışmada, melanomu pozitif, intradermal nevüsü negatif kontrol olarak PRAME boyanmasını bu ara vakalar için değerlendirmiştir. Üç patoloğ tarafından değerlendirilen bu 24 olgunun hiçbirinde 4 (+) boyanma saptanmazken; bir KDPN olgusu (3 pozitif) hariç tüm olgular 0 ile 2 pozitif arasında değerlendirilmiştir. Bu çalışmada da PRAME'in arada kalan melanositik lezyonları melanomdan ayırmada yararlı olacağına dikkat çekilmiştir [188].

Bir başka çalışmada tanısal olarak sıkıntılı 110 melanom vakasında PRAME immunohistokimya sonuçlarını floresan in situ hibridizasyon ve/veya tek nükleotid polimorfizm dizisi sonuçlarıyla analiz edip karşılaştırmışlar; PRAME ihk boyanmasını tümör hücrelerin >%75'inde (4+) boyanma "melanom lehine veya pozitif"; 0 ila 3 pozitif arasındaki boyanma skorları "melanomu desteklemeyen veya negatif" olarak değerlendirilmiştir. Vakaların 102/110'unda (%92,7) PRAME ihk ve son tanısal yorum arasında uyum bulunmuş. Melanom tanısı alan 28 vakadan 21'i 4 pozitif PRAME boyanması göstererek duyarlılık %75, iyi huylu olarak yorumlanan 82 tümörden 81'i diffüz olmayan boyanma göstererek özgüllük %98,8 olarak belirlenmiş. Bizim çalışmamızda melanomu malign grup, displastik ve intradermal nevüs grubunu da benign grup diye ikiye ayırdığımızda duyarlılık % 97, özgüllük % 95 olarak belirlendi. Bu değerlendirmedeki farklılığın da bu çalışmadan farklı olarak pozitif değer olarak tüm PRAME pozitif boyanmaları kabul ettiğimizden kaynaklı olduğunu düşünüyoruz. Boyanma olarak 3 ve 4 pozitif boyanmalar 'pozitif' 0,1 ve 2 pozitif boyanmalar 'negatif' kabul edildiğinde ise sonuçlar bu çalışmaya benzer bir şekilde (duyarlılık % 74, özgüllük 98,8) olarak belirlendi. Aynı çalışmada, olguların %90'ında PRAME ihk ile sitogenetik test sonuçları arasında ve %92,7' sinde PRAME ihk ile kesin tanı arasında uyum saptanmıştır. Bu bulgu, daha düşük maliyet ve daha hızlı sonuç alma gibi avantajları nedeniyle PRAME'in primer kutanöz melanositik lezyonlar ayırıcı tanısında yardımcı test olarak kullanılmasını yararlı bulduklarını, ancak yanlış negatif veya yanlış pozitif sonuç olasılığı olduğu için de ihk ve sitogenetiğin birbiri yerine kullanılamayacağını bildirmişlerdir [11].

Lohman ve arkadaşları, nevüsle ilişkili 23 in situ melanom ve 13 invaziv melanom (n:36) olguluk bir seride PRAME boyanmaları bizdeki gibi skorlama ile; 0 'negatif', 1+ 2+ 3+ boyanmalar 'orta', 4+ boyanma 'pozitif' olarak değerlendirmişlerdir. Nevüslerin %81'i ve melanomların %17'si PRAME negatif saptanırken, aynı sırayla %19' unda ve %17'sinde orta düzeyde PRAME boyaması görülmüştür. Bizim çalışmamızla benzer olarak, melanomların %67'si PRAME pozitif (4+) boyanma gösterirken, nevüslerin hiçbirinde pozitif (4+) boyanma görülmemiştir. Bu çalışmada farklı olarak yan yana bulunan benign ve malign komponentlerde yüksek oranda PRAME boyanma farklılığı vurgulanmıştır. Buna dayanarak PRAME boyanmasının bu iki populasyonu %100 ayırt ettiği bildirilmiştir. PRAME pozitifliği için eşik değer 4 pozitif boyama kabul edildiğinde %67 duyarlılık ve %100 özgüllük bulunmuşken, bizim çalışmamızdaki gibi eşik değeri $\geq 3+$ boyama olarak kabul edildiğinde, bizim sonuçlarımıza benzer şekilde duyarlılık %75 ve özgüllük %97 olarak bulunmuştur [12].

Cazzato ve arkadaşları tarafından 275 melanositik olgunun (136 benign, 12 malignite potansiyeli belirsiz ve 127 malign) dahil edildiği çalışmada PRAME ekspresyonu; benign lezyonlarda (%91,9 oranında) tamamen negatif, melanom olgularında (%81,8 oranında) 3 ve 4 pozitif boyanma görülmüş, malignite potansiyeli belirsiz grupta ise heterojen ve lezyon boyunca düzensiz dağılmış boyanma tespit edilmiştir [189].

Hu ve arkadaşlarının 75 akral lentiginöz melanom (ALM) ve 34 akral nevüs (AN) olgusunu incelediği çalışmada PRAME'in ALM'lerin %89,3'ünde boyanma gösterdiği ve AN'lerin %94,1'inde tamamen negatif olduğunu saptamışlardır. Bizdeki gibi 3 ve 4 şiddetindeki boyanmalar pozitif olarak kabul edildiğinde, PRAME'in ALM' yi AN' lerden ayırmadaki duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla %69,3 ve %100 bulunmuştur. Bu çalışmada epidermisteki tümör hücrelerinin PRAME ekspresyon oranının dermistekilerden biraz daha yüksek olduğu, epitelooid hücrelerin de iğsi hücrelere göre daha fazla boyanma gösterdiği belirtilmiştir. Ek olarak, bu çalışmada da değerlendirilen cinsiyet, yaş, lezyon lokalizasyonu, Breslow kalınlığı, ülser, Clark düzeyi ve konak cevabı ile PRAME ekspresyonu arasında bizimki ile benzer şekilde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Ancak, tanı anında lenf nodu tutulumu olan ALM'lerin %82,6' sının, olmayanların ise %57,6'sının PRAME eksprese ettiğini anlamlı saptamışlardır [190]. Bizim çalışmamızda ise metastatik ve metastatik olmayan grupların PRAME boyanma şiddeti karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı [190].

Lo Bello ve arkadaşları tarafından Breslow kalınlığı 1 mm'den büyük 137 melanom olgusunun dahil edildiği çalışmada, PRAME boyanması bizdeki gibi skorlanmış, melanom olgularındaki boyanma oranları çalışmamız ile benzer bulunmuştur. Aynı şekilde, PRAME boyanma şiddetiyle Breslow kalınlığı, histolojik alt tipler, progresyonsuz sağkalım veya genel sağkalım arasında istatistiksel anlamlı ilişki tespit edilmemiştir [191].

Toyama ve arkadaşlarının PRAME'in prognoza etkisini araştırdıkları 29 mukozal melanom olgulu çalışmasında, PRAME ekspresyonunu h-indeksi ile skorlamış olup, tanı aldıktan 2 yıl sonra hayatta kalanların ortalama PRAME boyama skorunu, ex olgulara kıyasla anlamlı olarak daha düşük bulmuşlardır ($p : 0,012$). Cox orantılı tehlike modelini kullanarak, PRAME skorunda 100 puanlık bir artışın ölüm tehlikesinde %170'lik bir artışla ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir [174]. Bizim çalışmamızda da PRAME boyanma derecesi yüksek olan hastalarda beklenen yaşam süresi daha düşük saptanmakla birlikte, bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Hücre siklusunda genel olarak inhibitör etkiye sahip p21'in düşük konsantrasyonlarda hücre siklus geçişini kolaylaştırdığı, yani proliferasyon üzerinde pozitif bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. p21'in çeşitli kanserlerde kemoterapi, radyasyon ve hedefli tedaviye karşı kanser duyarlılığı üzerinde etkin olabileceğini bildiren çalışmalar mevcuttur [192, 193]. Testiküler tümörlerin sisplatin direncinin araştırıldığı bir çalışmada yüksek p21 konsantrasyonunun bu dirençle ilişkisi gösterilmiş. Rezektable mide tümörlerindeki sitoplazmik p21 konsantrasyonunu araştıran bir başka çalışmada ise prognozla ters ilişki saptanmış [194]. Melanomlarda p21 immünohistokimyasal değerlendirmesi ile çeşitli çalışmalarda melanomdaki düşük p21 konsantrasyonunun tedaviye direnci temsil ettiği ve p21 seviyelerinin yükseltilerek daha etkin tedavi sunulabileceği kanıtlanmıştır [195].

Stefanaki ve arkadaşları, 61 nevüs ve 16 melanom olgusunda p21 ekspresyonlarını immünohistokimyasal yöntemle araştırdıkları çalışmada melanom olgularının %50'sinde %5-10 oranında, %37'si %15-30 oranında, %13'ü % 5'in altında heterojen pozitif boyanma tespit etmişlerdir. Bu çalışmada bizim çalışmamızdaki gibi melanom olgularının tamamına yakınında boyanma olmakla birlikte, bizden farklı olarak yüksek skorda boyanma saptanmamıştır. Nevüslerin boyanma sonuçları bizimkilerle benzer olup, büyük çoğunluğunda negatif boyanma saptanmış, yalnızca %13'ünde ve %2-5 oranında boyanma bildirilmiştir [196]. Melanomdaki skorlamaya yansıyan farklılığın uygulanan antikor klonlarındaki değişkenlikten kaynaklanıyor olabileceğini düşündük.

Trotter ve arkadaşlarının yaptığı çalışmayla kıyaslandığında hem intradermal hem de displastik nevüs olgularımızda daha yüksek boyanma oranı görmekle birlikte, bu çalışmaya benzer şekilde displastik nevüslerdeki boyanma oranımız intradermal nevüslerdekinden anlamlı olarak daha yüksek idi. Aynı zamanda, bizdekine benzer olarak melanomda benign lezyonlara kıyasla anlamlı olarak yüksek bir boyanma gözlenmiştir [197].

Wiedemayer ve arkadaşları akral yerleşimli 21 Spitz nevüs, 10 akral lentiginöz melanom ve dermal komponente sahip 10 akral kombine nevüsle yaptıkları çalışmada; hücrelerde %0 boyanma 'negatif', %1-%25 oranda boyanma 'düşük ekspresyon', %26-%75 boyanma 'orta ekspresyon' ve %76'dan fazlasında boyanma ise 'yüksek ekspresyon' olarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmada bizim çalışmamızla benzer şekilde nevüslerde tamamen negatif saptanırken, melanom olgularının çoğunluğunda ancak "düşük ekspresyon" bildirilmiştir. Bu çalışmada ek olarak Spitz nevüslerde tamamına yakınında ve yüksek ekspresyon saptanması dikkat çekici bulunmuştur. Çalışmaya göre yüksek p21 ekspresyonlu fenotip Spitz nevüs için, negatif p21 boyanması akral nevüs için ve düşük p21 ekspresyonu ise melanom vakaları için anlamlı kabul edilmiştir [198]. Bizim çalışmamızda da negatif p21 boyanması intradermal nevüs vakaları için anlamlı; orta ve yüksek ekspresyon ise melanom vakalarında anlamlı bulundu.

Kapur ve arkadaşları 28 Spitz nevüs, 10 atipik Spitz nevüs , 19 bileşik nevüs ve 18 invaziv melanom olgusunu dahil ettikleri çalışmada, p21 boyanma oranlarında tipik ve atipik Spitz nevüsler arasında anlamlı bir fark bulmamış (sırasıyla %46,5 ve %49,25) ancak boyanma şiddetinin atipik olanlarda daha fazla olduğu vurgulanmıştır. p21 nükleer pozitifliği %29 üstü kabul edildiğinde, p21'in Spitzoid tümörü tahmin etmede %82 duyarlılık ve %81 özgüllük saptanmıştır [199]. Benzer olarak, Garrido-Ruiz ve arkadaşları doku mikrodizilerini kullanarak 28 tipik Spitz nevüs ve 62 non-Spitzoid vertikal büyüme fazına sahip melanom olgusuyla yaptıkları çalışmada p21 boyanmasını bu ikisinin ayırımında istatistiksel olarak anlamlı bulmuşlardır ($p<0.001$) [200].

Bir başka çalışmada p21, insan melanom dokularında normal deri dokusuna kıyasla ve kanser evresine bağlı bir şekilde eş zamanlı ve ilerleyici bir şekilde ekspresyon gösterdiği bulunmuş [201].

Alonso ve arkadaşları ise doku mikrodizileri (TMA'lar) kullanarak, 88 hastadan alınan 10 nevüs, 94 primer melanom, 71 metastaz (34 deri metastazı ve 37 nodal metastaz) örneği olmak üzere toplam 175 örneği dahil ettikleri çalışmada immunohistokimyasal olarak %10'dan fazla p21 boyanmasını pozitif kabul etmişler. Bu

çalışmada nevüslerin hiçbirinde (0/10) p21 ile boyanma görülmezken, melanom olgularının %46'sında pozitif boyanma gözlenmiştir. Aynı olguya ait hem metastaz hem primer odakların sonuçları (n: 30) karşılaştırıldığında anlamlı farklılık saptanmamıştır. Ayrıca çalışmada p21 pozitif ekspresyonu ile daha kısa ortalama sağkalım süresi arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur [181]. Bizim çalışmamızda da p21 %50 ve üzeri pozitiflik gösteren olgularda ortalama sağ kalım daha kısa olsa da istatistiksel anlam saptanmamıştır. Bu farklılığın skorlama yöntemindeki farklılıktan kaynaklı olabileceğini düşünüyoruz.

Poyraz ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada yüksek p21 ekspresyonunun artan Breslow kalınlığı ile anlamlı bir korelasyon gösterdiği bildirilmiştir. Bizim sonuçlarımız da benzer olsa da istatistiksel olarak anlamlı değildi [202].

Baldi ve arkadaşları 63 melanom ve 36 nevüs olgusunu dahil ettikleri çalışmada çalışmamızın aksine Breslow kalınlığı ile p21 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki bulmuşlardır ($p < 0.001$). Benzer olarak p21' in displastik nevüsü banal nevüsten ayırmada anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($p: 0.47$) [203].

Çalışmamızda, p21'in %50 üzerinde pozitifliği metastatik olgularda non-metastatik olanlara kıyasla daha yüksek oranda idi ve bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı saptandı. Ancak literatürde p21'in metastazdaki rolü ve prognostik önemine yönelik çalışma sonuçları tartışılmalıdır. Bir çalışmada, bizim çalışmamızın aksine primer ve metastatik melanomlar kıyaslandığında metastatiklerde daha düşük p21 boyanması gözlenmiş ve p21 ekspresyonunun down regülasyonun invazivlik ve metastatik bir fenotipin gelişimi ile ilgili olduğu düşünülmüştür [195].

Farklı bir çalışmada, 172 melanom olgusunda metastatik olanlarda (%57 olgu) primerlere (%69 olgu) kıyasla daha düşük düzeyde p21 ekspresyonu görülmüştür. Ayrıca bizim çalışmamızdakine benzer olarak, p21 ekspresyonu ve sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır [204]. Baldi ve arkadaşları ise p21 ekspresyonu ile metastaz arasında anlamlı bir korelasyon bulmadıklarını bildirmişlerdir [203].

Literatürdeki bu uyumsuzluğun nedeninin p21 uygulanmasındaki yöntem değişiklikleri (IHK, PCR, FISH v.b.), skorlama yöntemlerindeki farklılıklar ve klon farklılıkları ile ilgili olabileceğini düşünmekteyiz.

Karjalainen ve arkadaşları, 369 klinik evre I kutanöz malign melanom olgusunu değerlendirdiği çalışmada, melanomlarda bizdekinden daha düşük oranda (%84) en az %1 p21 eksprese ettiğini bildirmişlerdir. Bizde bu oran %98 idi. Aynı çalışmada tümör

kalınlığı (p: 0.016), tekrarlayan hastalık (p:0.039), yüksek TNM evresi (p:0.027) ve tanı anındaki ileri yaş (≥ 55 yıl) (p: 0.0041) ile p21 ekspresyonu ile ters orantılı bulunmuştur. Bizim çalışmamızın aksine p21 pozitif ($>20\%$ üzeri boyanma) olguların, negatiflere kıyasla daha uzun 5 yıllık hastalıksız sağ kalımları saptamışlar, ancak bu fark bizdeki gibi istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır (p:0.076) [5].

p21'in tedavideki rolüne yönelik yapılan sınırlı sayıda çalışmalarda, p21 ekspresyonunun melanom hastalarının BRAF inhibitörleri ve MDM2 inhibitörlerine karşı tedavi yanıtı için prognostik bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğine dair bildirimler mevcuttur. Yüksek p21 ekspresyonuna sahip tümör hücrelerinde, düşük ekspresyona sahip tümör hücrelerine göre hem BRAF hem de MDM2 inhibitörlerine karşı daha iyi bir cevap elde edildiği bildirilmiştir [183]. Bir başka çalışmada tetrasiklin grubu bir antibiyotik olan tigesiklinin p21 ekspresyonunu azalttığı ve melanom hücrelerinin çoğalmasını baskıladığı gösterilmiştir [205]. Ayrıca melanomda özellikle retinoik asit tedavisine dirençli olgularda tümör hücrelerinde PRAME ekspresyonunu azaltıp p21 ekspresyonunu arttırmaya yönelik çalışmalar da mevcuttur [206].

p21 ekspresyonunun yeni bulunan bazı onkogenik etkiye sahip gen bölgeleriyle ters orantılı olduğunu ve bunun ilerdeki melanom dahil çeşitli kanser tedavi rejimleri için güçlü bir yol gösterici olduğunu destekleyen çalışmalar artarak devam etmektedir [207].

Çalışmamızda p21 ve PRAME arasındaki ilişki değerlendirildiğinde istatistiksel olarak zayıf düzeyde uyum (kappa: 0,204) saptadık. Literatürde bu ilişkiye yönelik melanomda yapılan bir çalışmaya rastlamadık. Akut myeloid lösemi (AML) olguları içeren bir çalışmada PRAME pozitif olan grupta negatiflere kıyasla p21'in RT-PCR yöntemiyle hem in vitro hem de in vivo ortamda ekspresyonunun azaldığı gözlemlenmiştir. Bu durumda PRAME'in p21'i baskıladığı ve iyi bir prognostik belirteç olduğu sonucuna varılmıştır [208]. Benzer şekilde multiple myelom olgularında, PRAME'in p21 ile etkileşime girerek ubiquitinasyon yoluyla p21'in parçalanmasını arttırdığını ve böylece tümör hücrelerinin hücre döngüsünün ilerlemesini desteklediği bulunmuştur. Bu ve benzeri çalışmalar yeni hedef tedaviler için umut verici olarak öngörülmektedir [209].

Sonuç olarak PRAME yüksek ekspresyonu melanom tanısında güvenilir bir yardımcı antikordur. p21 pozitifliği nevüsten displaziye ve melanoma progresyonda ve metastazda rol oynamakta olup tanısal güvenilirliği PRAME'e oranla daha düşüktür. PRAME ve p21'in prognostik önemleri tartışmalı olup çalışmamızdaki vaka sayısı kısıtlılığı nedeniyle anlamlı bulgu elde edilememiştir. Bu moleküllerin prognoza ve

tedaviye etkilerine yönelik umut verici çalışmalar giderek artmaktadır. Daha geniş olgu serileri içeren araştırmalarla desteklenmesi literatüre katkıda bulunacaktır.



6.SONUÇLAR

1. Çalışmamıza 46 (%22) intradermal nevüs, 42 (%20,1) displastik nevüs ve 121 (%57,9) melanom olgusu dahil edilmiştir.
2. Melanom olgularının 13'ü (% 10,7) yüzeysel yayılan melanom, ikisi (% 1,7) lentigo malign melanom, 39'u (% 32,2) nodüler melanom, altısı (% 5,0) akrall melanom, 61'i (% 50,4) invaziv melanom tanısı almıştır.
3. Melanom olgularının 71'i (%58,7) erkek, 50'si (%41,3) kadındır.
4. Ortalama yaş 63 (21-86)'tür.
5. Melanom olgularının lokalizasyonları sıklık sırasına göre 47'si (% 38,8) alt ekstremitte, 40'ı (% 33,1) baş-boyun, 21'i (% 17,4) gövde, 13'ü (% 10,7) üst ekstremitte yerleşimlidir.
6. Çalışmaya dahil edilen melanom olgularının dördü (% 3,3) Clark düzey 1, 16'sı (% 13,2) Clark düzey 2, 26'sı (% 21,5) Clark düzey 3, 48'i (% 39,7) Clark düzey 4, 27'si (% 22,3) Clark düzey 5' dir.
7. Olguların 71'inde (% 58,7) ülser mevcuttur; ortalama ülser çapı $11,4 \pm 13,5$ (Med: 8) mm olarak tespit edilmiştir.
8. Breslow kalınlığı ortalama 6,5 mm (0,2 mm- 33,0 mm)'dir.
9. Tümör çapı ortalama 17.6 mm (1,0 mm- 80,0 mm)'dir.
10. Konak cevabı olguların 64'ünde (% 52,9) 'var-belirgin değil', 42'sinde (% 34,7) 'var-belirgin', 15'inde (%12,4) ise 'yok' şeklinde raporlanmıştır.
11. Olguların 37'sinde (%30,6) lenfovasküler invazyon, 17'sinde (%14) perinöral invazyon, 20'sinde (%16,5) satellit nodül varlığı, yedisinde (% 5,8) transit nodül varlığı, sekizinde (%6,6) regresyon mevcuttur.
12. Olgularda ortalama mitoz sayısı mm^2 'de 6 (1- 34)'dır.
13. Olguların 41'inde (%33,9) lenf nodu tutulumu mevcuttur ve lenf nodu tutulumu olanlarda ortalama değer 2 (1-35)'dir.
14. Olguların 40'ında (%33,1) uzak metastaz mevcuttur ve en sık metastaz yaptığı uzak organ 14 (%35) olgu ile akciğerdir.
15. Olguların 50'si (%41,3) hayatta, 71'i (%58,7) eksitustur.
16. Ortalama takip süresi 46,2 ay (1- 148 ay)'dır.
17. Çalışmaya dahil edilen 46 nevüs olgusunun hiçbirinde (%0) PRAME immunreaktivitesi görülmemiştir. Displastik nevüs olgularının üçünde (%7,1)

- 1 pozitif, birinde (%2,4) 3 pozitif PRAME boyanması gözlenmiştir. Displastik nevüs olgularının hiçbirinde 4 pozitif boyanma görülmemiştir.
18. Melanom olgularının dokuzu (%7,4) PRAME negatif iken; 112 olgu değişik şiddetlerde PRAME immunreaktivitesi göstermiştir. Olguların 89'unda (%73,6) 3 ve 4 pozitif PRAME boyanması mevcuttur. Melanom olgularının yarısından çoğu (%61,2) 4 pozitif boyanma göstermiştir.
19. PRAME için "1 pozitif ve üstü" eşik değeri olarak kabul edildiğinde, tanısal sensitivite 92,56; spesifite ise 95,45 olarak saptanmıştır.
20. PRAME boyanması ile yaş, cinsiyet, tümör çapı, Breslow kalınlığı, Clark düzeyi, konak lenfosit yanıtı, ülserasyon, regresyon, mitoz sayısı, lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, satellit nodül, transit nodül, uzak metastaz arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.
21. PRAME boyanması şiddetli (3+ ve 4+) olgularda sağkalım oranı, zayıf boyanma gösteren olgulara kıyasla daha az olmasına rağmen, bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı değildir.
22. Çalışmaya dahil edilen 46 nevüs olgusunun 29'unda (%63) p21 negatif, 17'sinde (%37) 1 pozitif tespit edilmiştir. Displastik nevüs olgularının ise 19'u (%45,2) negatif, 22'si (%52,4) 1 pozitif, biri (%2,4) 2 pozitif saptanmıştır. Displastik nevüs olgularında p21 ile 3 veya 4 pozitif boyanma görülmemiştir.
23. Melanom olgularının yalnızca ikisi (%1,7) p21 negatif iken, 37 olgu (%30,6) 1 pozitif, 29 olgu (%24) 2 pozitif, 32 olgu (%26,4) 3 pozitif ve 21 olgu (%17,4) 4 pozitif boyanma göstermiştir.
24. p21 için 1 pozitif ve üstü eşik değeri kabul edildiğinde, tanısal sensitivite 98,35; spesifite ise 54,55 olarak hesaplanmıştır.
25. p21 ile yaş, cinsiyet, tümör çapı, Clark düzeyi, Breslow kalınlığı, konak lenfosit yanıtı, satellit nodül, transit nodül, ülserasyon, regresyon, lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, uzak metastaz arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.
26. Satellit varlığı, transit varlığı, lenf nodu tutulumu ve uzak metastaz yapan olgular bir gruba toplandığında; metastatik olmayan grupta p21'in 1 ve 2 pozitif boyanması, metastatik gruba göre daha fazla idi (p: 0,024). Metastatik grupta ise p21 ile 3 ve 4 pozitif boyanma oranı daha fazla idi.

27. p21 ile şiddetli boyanma gösteren olgularda, zayıf boyanma gösterenlere göre daha kısa ortalama sağkalım saptanmış, bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır.
28. Histopatolojik parametrelerin sağkalımla ilişkisi karşılaştırıldığında; cinsiyet, histopatolojik subtip ve regresyon varlığı ile sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.
29. Ortalama sağkalımı azaltan parametreler; ileri Clark düzeyi, artan Breslow kalınlığı, ülserasyon, satellit ve transit nodül varlığı, lenfovasküler ve perinöral invazyon, konak cevabının olmaması, mitoz sayısının 1'in üstünde olması, lenf nodu tutulumu ve uzak metastaz varlığı olarak belirlenmiştir.



KAYNAKLAR

1. Arnold, M., et al., *Global burden of cutaneous melanoma in 2020 and projections to 2040*. JAMA dermatology, 2022. **158**(5): p. 495-503.
2. de Andrade, B.A.B., et al., *Immunohistochemical expression of p16, p21, p27 and cyclin D1 in oral nevi and melanoma*. Head and neck pathology, 2012. **6**: p. 297-304.
3. McNeal, A.S., et al., *CDKN2B loss promotes progression from benign melanocytic nevus to melanoma*. Cancer discovery, 2015. **5**(10): p. 1072-1085.
4. Ross, A.L., M.I. Sanchez, and J.M. Grichnik, *Nevus senescence*. International Scholarly Research Notices, 2011. **2011**(1): p. 642157.
5. Karjalainen, J.M., et al., *p21WAF1/CIP1 expression in stage I cutaneous malignant melanoma: its relationship with p53, cell proliferation and survival*. British Journal of Cancer, 1999. **79**(5): p. 895-902.
6. Thongprasert, S., et al., *The prevalence of expression of MAGE-A3 and PRAME tumor antigens in East and South East Asian non-small cell lung cancer patients*. Lung Cancer, 2016. **101**: p. 137-144.
7. Field, M.G., et al., *PRAME as an independent biomarker for metastasis in uveal melanoma*. Clinical cancer research, 2016. **22**(5): p. 1234-1242.
8. Xu, Y., et al., *The role of the cancer testis antigen PRAME in tumorigenesis and immunotherapy in human cancer*. Cell proliferation, 2020. **53**(3): p. e12770.
9. Doolan, P., et al., *Prevalence and prognostic and predictive relevance of PRAME in breast cancer*. Breast cancer research and treatment, 2008. **109**: p. 359-365.
10. Lezcano, C., et al., *PRAME expression in melanocytic tumors*. The American journal of surgical pathology, 2018. **42**(11): p. 1456-1465.
11. Lezcano, C., A.A. Jungbluth, and K.J. Busam, *Comparison of Immunohistochemistry for PRAME With Cytogenetic Test Results in the Evaluation of Challenging Melanocytic Tumors*. The American Journal of Surgical Pathology, 2020. **44**(7): p. 893-900.
12. Lohman, M.E., et al., *The utility of PRAME staining in identifying malignant transformation of melanocytic nevi*. Journal of Cutaneous Pathology, 2021. **48**(7): p. 856-862.
13. Wong, R., et al., *The dynamic anatomy and patterning of skin*. Exp Dermatol, 2016. **25**(2): p. 92-8.
14. Som, P., J. Laitman, and K. Mak, *Embryology and anatomy of the skin, its appendages, and physiologic changes in the head and neck*. Neurographics, 2017. **7**(5): p. 390-415.
15. Menon, G.K., G.W. Cleary, and M.E. Lane, *The structure and function of the stratum corneum*. International journal of pharmaceutics, 2012. **435**(1): p. 3-9.
16. BAYRAM, H. and M. BAYRAM, *DERİ EMBRİYOLOJİSİ. SAĞLIK & BİLİM 2023: GENEL EMBRİYOLOJİ-II*, 2023: p. 23.
17. Cao, W., et al., *Unraveling the structure and function of melanin through synthesis*. Journal of the American Chemical Society, 2021. **143**(7): p. 2622-2637.
18. Del Bino, S., et al., *5, 6-Dihydroxyindole eumelanin content in human skin with varying degrees of constitutive pigmentation*. Pigment Cell & Melanoma Research, 2022. **35**(6): p. 622-626.

19. Boo, Y.C., *Up-or downregulation of melanin synthesis using amino acids, peptides, and their analogs*. Biomedicines, 2020. **8**(9): p. 322.
20. Elder, D.E., et al., *WHO classification of skin tumours*. (No Title), 2018.
21. Katoulis, A.C., D. Sgouros, and N.G. Stavrianeas, *Nevi (Benign Melanocytic)*, in *European Handbook of Dermatological Treatments*. 2023, Springer. p. 679-701.
22. Schaffer, J.V., et al., *Speckled lentiginous nevus: within the spectrum of congenital melanocytic nevi*. Archives of dermatology, 2001. **137**(2): p. 172-178.
23. Frischhut, N., et al., *The spectrum of melanocytic nevi and their clinical implications*. JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft, 2022. **20**(4): p. 483-504.
24. Shain, A.H. and B.C. Bastian, *From melanocytes to melanomas*. Nat Rev Cancer, 2016. **16**(6): p. 345-58.
25. Mesbah Ardakani, N., et al., *Mitotically Active Nevus and Nevoid Melanoma: A Clinicopathological and Molecular Study*. Am J Dermatopathol, 2021. **43**(3): p. 182-190.
26. Yeh, I., et al., *Combined activation of MAP kinase pathway and β -catenin signaling cause deep penetrating nevi*. Nat Commun, 2017. **8**(1): p. 644.
27. Wiedemeyer, K., W. Hartschuh, and T. Brenn, *Dysplastic Nevi: Morphology and Molecular and the Controversies In-between*. Surg Pathol Clin, 2021. **14**(2): p. 341-357.
28. Chiarugi, A., et al., *Melanoma density and relationship with the distribution of melanocytic naevi in an Italian population: a GIPMe study--the Italian multidisciplinary group on melanoma*. Melanoma Res, 2015. **25**(1): p. 80-7.
29. AKSOY, B., H.M. AKSOY, and E. KARACAOĞLU, *Melanom ile Sıklıkla Karışan Lezyonlar ve Atipik Melanositik Neoplazmlar*. Türkiye Klinikleri Plastic Surgery-Special Topics, 2021. **10**(2): p. 33-40.
30. Elder, D.E., *Dysplastic naevi: an update*. Histopathology, 2010. **56**(1): p. 112-20.
31. Drozdowski, R., et al., *Dysplastic nevus part I: Historical perspective, classification, and epidemiology*. J Am Acad Dermatol, 2023. **88**(1): p. 1-10.
32. Arora, P., et al., *Dermoscopy as a Simple Non-Invasive Tool for Diagnosis and Monitoring of Extensive Nevus Spilus Maculosus*. Indian Dermatology Online Journal, 2023. **14**(1): p. 142-143.
33. Hanayama, H., et al., *Congenital melanocytic nevi and nevus spilus have a tendency to follow the lines of Blaschko: an examination of 200 cases*. The Journal of Dermatology, 2007. **34**(3): p. 159-163.
34. Ahn, C.S., A. Guerra, and O.P. Sangüeza, *Melanocytic Nevi of Special Sites*. Am J Dermatopathol, 2016. **38**(12): p. 867-881.
35. Hofmann-Wellenhof, R., *Special criteria for special locations 2: scalp, mucosal, and milk line*. Dermatol Clin, 2013. **31**(4): p. 625-36, ix.
36. Ribé, A., *Melanocytic lesions of the genital area with attention given to atypical genital nevi*. J Cutan Pathol, 2008. **35 Suppl 2**: p. 24-7.
37. Fisher, K.R., J.C. Maize, Jr., and J.C. Maize, Sr., *Histologic features of scalp melanocytic nevi*. J Am Acad Dermatol, 2013. **68**(3): p. 466-72.
38. Awad, S.S., R.T. Abdel Aziz, and S.S. Mohammed, *Management of resistant halo nevi*. J Cosmet Laser Ther, 2019. **21**(2): p. 118-121.

39. Pan, C., et al., *Transcriptome Analysis Reveals the Molecular Immunological Characteristics of Lesions in Patients with Halo Nevi When Compared to Stable Vitiligo, Normal Nevocytic Nevi and Cutaneous Melanoma*. J Inflamm Res, 2021. **14**: p. 4111-4124.
40. Bandyopadhyay, D., *Halo nevus*. Indian Pediatr, 2014. **51**(10): p. 850.
41. Fernandez-Flores, A., *Eponyms, morphology, and pathogenesis of some less mentioned types of melanocytic nevi*. Am J Dermatopathol, 2012. **34**(6): p. 607-18.
42. Loh, J. and P. Kenny, *Meyerson phenomenon*. J Cutan Med Surg, 2010. **14**(1): p. 30-2.
43. Sommer, L.L., et al., *Persistent melanocytic nevi: a review and analysis of 205 cases*. J Cutan Pathol, 2011. **38**(6): p. 503-7.
44. Fox, J.C., J.A. Reed, and C.R. Shea, *The recurrent nevus phenomenon: a history of challenge, controversy, and discovery*. Arch Pathol Lab Med, 2011. **135**(7): p. 842-6.
45. Cosgarea, I., et al., *Deep Penetrating Nevus and Borderline-Deep Penetrating Nevus: A Literature Review*. Front Oncol, 2020. **10**: p. 837.
46. Hung, T., et al., *The plexiform spindle cell nevus nevi and atypical variants: report of 128 cases*. Hum Pathol, 2014. **45**(12): p. 2369-78.
47. Ebbelaar, C.F., et al., *Towards diagnostic criteria for malignant deep penetrating melanocytic tumors using single nucleotide polymorphism array and next-generation sequencing*. Mod Pathol, 2022. **35**(8): p. 1110-1120.
48. de la Fouchardiere, A., et al., *ESP, EORTC, and EURACAN Expert Opinion: practical recommendations for the pathological diagnosis and clinical management of intermediate melanocytic tumors and rare related melanoma variants*. Virchows Arch, 2021. **479**(1): p. 3-11.
49. Mandal, R.V., et al., *Pigmented epithelioid melanocytoma: favorable outcome after 5-year follow-up*. Am J Surg Pathol, 2009. **33**(12): p. 1778-82.
50. de la Fouchardiere, A., et al., *Attempting to Solve the Pigmented Epithelioid Melanocytoma (PEM) Conundrum: PRKARIA Inactivation Can Occur in Different Genetic Backgrounds (Common, Blue, and Spitz Subgroups) With Variation in Their Clinicopathologic Characteristics*. Am J Surg Pathol, 2022. **46**(8): p. 1106-1115.
51. Donati, M., et al., *Novel insights into the BAP1-inactivated melanocytic tumor*. Mod Pathol, 2022. **35**(5): p. 664-675.
52. Ardakani, N.M., D.L. Palmer, and B.A. Wood, *BAP1 deficient malignant melanoma arising from the intradermal component of a congenital melanocytic naevus*. Pathology, 2015. **47**(7): p. 707-10.
53. Farquhar, N., et al., *Patterns of BAP1 protein expression provide insights into prognostic significance and the biology of uveal melanoma*. J Pathol Clin Res, 2018. **4**(1): p. 26-38.
54. de la Fouchardiere, A., et al., *Clear cell tumor with melanocytic differentiation and MITF-CREM translocation: a novel entity similar to clear cell sarcoma*. Virchows Arch, 2021. **479**(4): p. 841-846.
55. de la Fouchardiere, A., et al., *Clear Cell Tumor With Melanocytic Differentiation and ACTIN-MITF Translocation: Report of 7 Cases of a Novel Entity*. Am J Surg Pathol, 2021. **45**(7): p. 962-968.
56. Plaza, J.A., et al., *Intradermal spitz nevi: a rare subtype of spitz nevi analyzed in a clinicopathologic study of 74 cases*. Am J Dermatopathol, 2014. **36**(4): p. 283-94; quiz 295-7.
57. Requena, C., et al., *Spitz nevus: a clinicopathological study of 349 cases*. Am J Dermatopathol, 2009. **31**(2): p. 107-16.

58. Kutzner, H., et al., *Histological and genetic evidence for a variant of superficial spreading melanoma composed predominantly of large nests*. Mod Pathol, 2012. **25**(6): p. 838-45.
59. Lallas, A., et al., *Update on dermoscopy of Spitz/Reed naevi and management guidelines by the International Dermoscopy Society*. Br J Dermatol, 2017. **177**(3): p. 645-655.
60. Díaz, A., et al., *Pigmented spindle cell nevus: clues for differentiating it from spindle cell malignant melanoma. A comprehensive survey including clinicopathologic, immunohistochemical, and FISH studies*. Am J Surg Pathol, 2011. **35**(11): p. 1733-42.
61. Sainz-Gaspar, L., et al., *Spitz Nevus and Other Spitzoid Tumors in Children—Part 1: Clinical, Histopathologic, and Immunohistochemical Features*. Actas Dermo-Sifiliográficas (English Edition), 2020. **111**(1): p. 7-19.
62. Barnhill, R.L., *The Spitzoid lesion: rethinking Spitz tumors, atypical variants, 'Spitzoid melanoma' and risk assessment*. Mod Pathol, 2006. **19 Suppl 2**: p. S21-33.
63. Gerami, P., et al., *Histomorphologic assessment and interobserver diagnostic reproducibility of atypical spitzoid melanocytic neoplasms with long-term follow-up*. Am J Surg Pathol, 2014. **38**(7): p. 934-40.
64. Urso, C., et al., *Sentinel lymph node biopsy in patients with "atypical Spitz tumors." A report on 12 cases*. Hum Pathol, 2006. **37**(7): p. 816-23.
65. Madankumar, R., et al., *Acral melanocytic lesions in the United States: Prevalence, awareness, and dermoscopic patterns in skin-of-color and non-Hispanic white patients*. J Am Acad Dermatol, 2016. **74**(4): p. 724-30.e1.
66. Saida, T., H. Koga, and H. Uhara, *Key points in dermoscopic differentiation between early acral melanoma and acral nevus*. J Dermatol, 2011. **38**(1): p. 25-34.
67. Kim, N.H., et al., *Anatomic mapping and clinicopathologic analysis of benign acral melanocytic neoplasms: A comparison between adults and children*. J Am Acad Dermatol, 2017. **77**(4): p. 735-745.
68. Elder, D.E., *Precursors to melanoma and their mimics: nevi of special sites*. Mod Pathol, 2006. **19 Suppl 2**: p. S4-20.
69. Ren, J., et al., *Clinicopathological diversity and outcome of longitudinal melanonychia in children and adolescents: analysis of 35 cases identified by excision specimens*. Histopathology, 2020. **77**(3): p. 380-390.
70. Kim, J., et al., *Cellular blue naevus involving the urinary bladder*. Pathology, 2012. **44**(7): p. 664-8.
71. Bastian, B.C., *The molecular pathology of melanoma: an integrated taxonomy of melanocytic neoplasia*. Annu Rev Pathol, 2014. **9**: p. 239-71.
72. Murali, R., S.W. McCarthy, and R.A. Scolyer, *Blue nevi and related lesions: a review highlighting atypical and newly described variants, distinguishing features and diagnostic pitfalls*. Adv Anat Pathol, 2009. **16**(6): p. 365-82.
73. Hung, T., et al., *Cellular Blue Nevomelanocytic Lesions: Analysis of Clinical, Histological, and Outcome Data in 37 Cases*. Am J Dermatopathol, 2016. **38**(7): p. 499-503.
74. Sugianto, J.Z., et al., *Blue nevus and "malignant blue nevus:" A concise review*. Semin Diagn Pathol, 2016. **33**(4): p. 219-24.
75. Franceschini, D. and J.G. Dinulos, *Dermal melanocytosis and associated disorders*. Curr Opin Pediatr, 2015. **27**(4): p. 480-5.

76. Resende, C., et al., *Late onset Ito's nevus*. BMJ Case Rep, 2013. **2013**.
77. Plateroti, A.M., et al., *An Update on Oculodermal Melanocytosis and Rare Associated Conditions*. Semin Ophthalmol, 2017. **32**(4): p. 524-528.
78. Kuo, K.L., et al., *Meningeal Melanocytoma Associated with Nevus of Ota: Analysis of Twelve Reported Cases*. World Neurosurg, 2019. **127**: p. e311-e320.
79. Mukhopadhyay, A.K., *Unilateral Nevus of Ota with Bilateral Nevus of Ito and Palatal Lesion: A Case Report with a Proposed Clinical Modification of Tanino's Classification*. Indian J Dermatol, 2013. **58**(4): p. 286-9.
80. Gupta, D. and D.M. Thappa, *Mongolian spots--a prospective study*. Pediatr Dermatol, 2013. **30**(6): p. 683-8.
81. Gupta, D. and D.M. Thappa, *Mongolian spots: How important are they?* World J Clin Cases, 2013. **1**(8): p. 230-2.
82. Zhong, C.S., J.T. Huang, and V.E. Nambudiri, *Revisiting the history of the "Mongolian spot": The background and implications of a medical term used today*. Pediatr Dermatol, 2019. **36**(5): p. 755-757.
83. Cramer, S.F. and A. Fesyuk, *On the development of neurocutaneous units--implications for the histogenesis of congenital, acquired, and dysplastic nevi*. Am J Dermatopathol, 2012. **34**(1): p. 60-81.
84. Tannous, Z.S., et al., *Congenital melanocytic nevi: clinical and histopathologic features, risk of melanoma, and clinical management*. J Am Acad Dermatol, 2005. **52**(2): p. 197-203.
85. Alikhan, A., O.A. Ibrahim, and D.B. Eisen, *Congenital melanocytic nevi: where are we now? Part I. Clinical presentation, epidemiology, pathogenesis, histology, malignant transformation, and neurocutaneous melanosis*. J Am Acad Dermatol, 2012. **67**(4): p. 495.e1-17; quiz 512-4.
86. Gassenmaier, M., et al., *Histological and Immunohistochemical Changes of Congenital Melanocytic Nevi With Age*. Am J Dermatopathol, 2021. **43**(10): p. 707-713.
87. Kinsler, V.A., et al., *Melanoma in congenital melanocytic naevi*. Br J Dermatol, 2017. **176**(5): p. 1131-1143.
88. Yélamos, O., et al., *A comparative study of proliferative nodules and lethal melanomas in congenital nevi from children*. Am J Surg Pathol, 2015. **39**(3): p. 405-15.
89. Zembowicz, A., R.V. Mandal, and P. Choopong, *Melanocytic lesions of the conjunctiva*. Arch Pathol Lab Med, 2010. **134**(12): p. 1785-92.
90. Alkatan, H.M., K.M. Al-Arfaj, and A. Maktabi, *Conjunctival nevi: Clinical and histopathologic features in a Saudi population*. Ann Saudi Med, 2010. **30**(4): p. 306-12.
91. Bresler, S.C., et al., *Conjunctival Melanocytic Lesions*. Arch Pathol Lab Med, 2022. **146**(5): p. 632-646.
92. Esmaili, D.D., et al., *Ocular melanocytoma*. Int Ophthalmol Clin, 2009. **49**(1): p. 165-75.
93. Lafaut, B.A., et al., *Melanocytoma of the choroid: angiographic and histopathologic findings*. Ophthalmic Surg Lasers, 2002. **33**(2): p. 158-62.
94. Küsters-Vandeveld, H.V., et al., *Primary melanocytic tumors of the central nervous system: a review with focus on molecular aspects*. Brain Pathol, 2015. **25**(2): p. 209-26.
95. Wang, H., et al., *Melanocytomas of the central nervous system: a clinicopathological and molecular study*. Eur J Clin Invest, 2013. **43**(8): p. 809-15.

96. Smith, A.B., E.J. Rushing, and J.G. Smirniotopoulos, *Pigmented lesions of the central nervous system: radiologic-pathologic correlation*. Radiographics, 2009. **29**(5): p. 1503-24.
97. Salgado, C.M., et al., *Amplification of mutated NRAS leading to congenital melanoma in neurocutaneous melanocytosis*. Melanoma Res, 2015. **25**(5): p. 453-60.
98. Ahmed, B., M.I. Qadir, and S. Ghafoor, *Malignant melanoma: skin cancer– diagnosis, prevention, and treatment*. Critical Reviews™ in Eukaryotic Gene Expression, 2020. **30**(4).
99. Broussard, L., et al., *Melanoma Cell Death Mechanisms*. Chonnam Med J, 2018. **54**(3): p. 135-142.
100. Samlowski, W., *The Effect of Non-Overlapping Somatic Mutations in BRAF, NRAS, NF1, or CKIT on the Incidence and Outcome of Brain Metastases during Immune Checkpoint Inhibitor Therapy of Metastatic Melanoma*. Cancers (Basel), 2024. **16**(3).
101. Hodi, F.S., et al., *Imatinib for melanomas harboring mutationally activated or amplified KIT arising on mucosal, acral, and chronically sun-damaged skin*. J Clin Oncol, 2013. **31**(26): p. 3182-90.
102. 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.
103. McGovern, V.J., *The classification of melanoma and its relationship with prognosis*. Pathology, 1970. **2**(2): p. 85-98.
104. Turaçlı, İ.D., *Malign melanom oluşum ve ilerleme sürecinde gözlenen bazı moleküler değişimler*. 2017.
105. Berger, M.F., et al., *Melanoma genome sequencing reveals frequent PREX2 mutations*. Nature, 2012. **485**(7399): p. 502-506.
106. Hodis, E., et al., *A landscape of driver mutations in melanoma*. Cell, 2012. **150**(2): p. 251-263.
107. Krauthammer, M., et al., *Exome sequencing identifies recurrent somatic RAC1 mutations in melanoma*. Nature genetics, 2012. **44**(9): p. 1006-1014.
108. *Genomic Classification of Cutaneous Melanoma*. Cell, 2015. **161**(7): p. 1681-96.
109. Huang, F.W., et al., *Highly recurrent TERT promoter mutations in human melanoma*. Science, 2013. **339**(6122): p. 957-959.
110. Potrony, M., et al., *Update in genetic susceptibility in melanoma*. Ann Transl Med, 2015. **3**(15): p. 210.
111. Curtin, J.A., et al., *Distinct sets of genetic alterations in melanoma*. N Engl J Med, 2005. **353**(20): p. 2135-47.
112. Huang, F.W., et al., *Highly recurrent TERT promoter mutations in human melanoma*. Science, 2013. **339**(6122): p. 957-9.
113. Shain, A.H. and J.R. Pollack, *The spectrum of SWI/SNF mutations, ubiquitous in human cancers*. PLoS One, 2013. **8**(1): p. e55119.
114. Whiteman, D.C., et al., *Melanocytic nevi, solar keratoses, and divergent pathways to cutaneous melanoma*. J Natl Cancer Inst, 2003. **95**(11): p. 806-12.
115. Maldonado, J.L., et al., *Determinants of BRAF mutations in primary melanomas*. J Natl Cancer Inst, 2003. **95**(24): p. 1878-90.
116. Shain, A.H., et al., *The genetic evolution of metastatic uveal melanoma*. Nat Genet, 2019. **51**(7): p. 1123-1130.

117. Küsters-Vandeveld, H.V., et al., *SF3B1 and EIF1AX mutations occur in primary leptomeningeal melanocytic neoplasms; yet another similarity to uveal melanomas*. Acta Neuropathol Commun, 2016. **4**: p. 5.
118. Murali, R., et al., *GNAQ and GNA11 mutations in melanocytomas of the central nervous system*. Acta Neuropathol, 2012. **123**(3): p. 457-9.
119. Pollock, P.M., et al., *High frequency of BRAF mutations in nevi*. Nat Genet, 2003. **33**(1): p. 19-20.
120. Yeh, I., et al., *NTRK3 kinase fusions in Spitz tumours*. J Pathol, 2016. **240**(3): p. 282-290.
121. Newman, S., et al., *Clinical genome sequencing uncovers potentially targetable truncations and fusions of MAP3K8 in spitzoid and other melanomas*. Nat Med, 2019. **25**(4): p. 597-602.
122. Shain, A.H., et al., *The Genetic Evolution of Melanoma from Precursor Lesions*. N Engl J Med, 2015. **373**(20): p. 1926-36.
123. Wiesner, T., et al., *A distinct subset of atypical Spitz tumors is characterized by BRAF mutation and loss of BAP1 expression*. Am J Surg Pathol, 2012. **36**(6): p. 818-30.
124. Zembowicz, A., et al., *Loss of expression of protein kinase a regulatory subunit 1alpha in pigmented epithelioid melanocytoma but not in melanoma or other melanocytic lesions*. Am J Surg Pathol, 2007. **31**(11): p. 1764-75.
125. Vermariën-Wang, J., et al., *Ambiguous melanocytic lesions: a retrospective cohort study of incidence and outcome of melanocytic tumor of uncertain malignant potential (MELTUMP) and superficial atypical melanocytic proliferation of uncertain significance (SAMPUS) in the Netherlands*. Journal of the American Academy of Dermatology, 2023. **88**(3): p. 602-608.
126. Tanriverdi-Akhisaroglu, S., *Malign Melanomda Tümör İnfiltrat Edici Lenfositlerin (TIL) Immunohistolojik Karakterizasyonu ve Regülatör T Hücreleri'nin Tümör Dokusu ve Dolaşımında Değerlendirilip Prognoz İle İlişkisinin Saptanması*. 2009, Dokuz Eylül Üniversitesi (Turkey).
127. Konz, B. and C. Kunte. *Maligne Melanome: Stand der operativen Therapie 2004*. in Fortschritte der praktischen Dermatologie und Venerologie: Vorträge und Dia-Klinik der 19. Fortbildungswoche 2004 Fortbildungswoche für Praktische Dermatologie und Venerologie eV c/o Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie Ludwig-Maximilians-Universität München. 2005. Springer.
128. Lachiewicz, A.M., et al., *Epidemiologic support for melanoma heterogeneity using the surveillance, epidemiology, and end results program*. J Invest Dermatol, 2008. **128**(5): p. 1340-2.
129. Shitara, D., et al., *Nevus-associated melanomas: clinicopathologic features*. Am J Clin Pathol, 2014. **142**(4): p. 485-91.
130. Elder, D.E., et al., *The 2018 World Health Organization Classification of Cutaneous, Mucosal, and Uveal Melanoma: Detailed Analysis of 9 Distinct Subtypes Defined by Their Evolutionary Pathway*. Arch Pathol Lab Med, 2020. **144**(4): p. 500-522.
131. Elder, D.E., *Pathology of melanoma*. Surg Oncol Clin N Am, 2015. **24**(2): p. 229-37.
132. Elder, D.E., *Skin cancer. Melanoma and other specific nonmelanoma skin cancers*. Cancer, 1995. **75**(1 Suppl): p. 245-56.
133. Erickson, C. and S.J. Miller, *Treatment options in melanoma in situ: topical and radiation therapy, excision and Mohs surgery*. Int J Dermatol, 2010. **49**(5): p. 482-91.
134. Viros, A., et al., *Improving melanoma classification by integrating genetic and morphologic features*. PLoS Med, 2008. **5**(6): p. e120.
135. Chen, L.L., et al., *Desmoplastic melanoma: a review*. J Am Acad Dermatol, 2013. **68**(5): p. 825-33.

136. Ortega, C.A., et al., *Nasal Mucosal Desmoplastic Melanoma: A Case Report with Review of the Literature*. Head Neck Pathol, 2022. **16**(3): p. 942-946.
137. Wiesner, T., et al., *NF1 Mutations Are Common in Desmoplastic Melanoma*. Am J Surg Pathol, 2015. **39**(10): p. 1357-62.
138. Eroglu, Z., et al., *High response rate to PD-1 blockade in desmoplastic melanomas*. Nature, 2018. **553**(7688): p. 347-350.
139. Busam, K.J., *Cutaneous desmoplastic melanoma*. Adv Anat Pathol, 2005. **12**(2): p. 92-102.
140. Pópulo, H., et al., *TERT promoter mutations in skin cancer: the effects of sun exposure and X-irradiation*. J Invest Dermatol, 2014. **134**(8): p. 2251-2257.
141. Benton, S., et al., *Impact of Next-generation Sequencing on Interobserver Agreement and Diagnosis of Spitzoid Neoplasms*. Am J Surg Pathol, 2021. **45**(12): p. 1597-1605.
142. Carrera, C., et al., *Prognostic role of the histological subtype of melanoma on the hands and feet in Caucasians*. Melanoma Res, 2017. **27**(4): p. 315-320.
143. Moon, K.R., et al., *Genetic Alterations in Primary Acral Melanoma and Acral Melanocytic Nevus in Korea: Common Mutated Genes Show Distinct Cytomorphological Features*. J Invest Dermatol, 2018. **138**(4): p. 933-945.
144. Shin, H.T., et al., *Histopathological analysis of the progression pattern of subungual melanoma: late tendency of dermal invasion in the nail matrix area*. Mod Pathol, 2014. **27**(11): p. 1461-7.
145. Seifried, S., et al., *Melanoma of the vulva and vagina: principles of staging and their relevance to management based on a clinicopathologic analysis of 85 cases*. Ann Surg Oncol, 2015. **22**(6): p. 1959-66.
146. Furney, S.J., et al., *Genome sequencing of mucosal melanomas reveals that they are driven by distinct mechanisms from cutaneous melanoma*. J Pathol, 2013. **230**(3): p. 261-9.
147. Murali, R., et al., *Diagnosis of metastatic melanoma by fine-needle biopsy: analysis of 2,204 cases*. Am J Clin Pathol, 2007. **127**(3): p. 385-97.
148. Caccavale, S., et al., *Cutaneous Melanoma Arising in Congenital Melanocytic Nevus: A Retrospective Observational Study*. Dermatology, 2021. **237**(3): p. 473-478.
149. Yilmaz, I., et al., *Molecular alterations in malignant blue nevi and related blue lesions*. Virchows Arch, 2015. **467**(6): p. 723-732.
150. Costa, S., et al., *Melanomas Associated With Blue Nevi or Mimicking Cellular Blue Nevi: Clinical, Pathologic, and Molecular Study of 11 Cases Displaying a High Frequency of GNA11 Mutations, BAP1 Expression Loss, and a Predilection for the Scalp*. Am J Surg Pathol, 2016. **40**(3): p. 368-77.
151. Masson Regnault, M., et al., *[The role of new molecular tests in the diagnosis of melanoma in a setting of congenital naevus in an infant]*. Ann Dermatol Venereol, 2020. **147**(11): p. 746-754.
152. McLean, I.W., V.S. Saraiva, and M.N. Burnier, Jr., *Pathological and prognostic features of uveal melanomas*. Can J Ophthalmol, 2004. **39**(4): p. 343-50.
153. Gorham, J.P., et al., *Retinoinvasive Uveal Melanoma: Report of 2 Cases and Review of the Literature*. Ocul Oncol Pathol, 2017. **3**(4): p. 292-295.
154. Shields, C.L., et al., *Conjunctival melanoma: risk factors for recurrence, exenteration, metastasis, and death in 150 consecutive patients*. Arch Ophthalmol, 2000. **118**(11): p. 1497-507.

155. Cisarova, K., et al., *Genomic and transcriptomic landscape of conjunctival melanoma*. PLoS Genet, 2020. **16**(12): p. e1009201.
156. Shen, S., et al., *Characteristics and associations of high-mitotic-rate melanoma*. JAMA Dermatol, 2014. **150**(10): p. 1048-55.
157. Skala, S.L., et al., *Comprehensive histopathological comparison of epidermotropic/dermal metastatic melanoma and primary nodular melanoma*. Histopathology, 2018. **72**(3): p. 472-480.
158. Longo, C., et al., *Morphological features of naevoid melanoma: results of a multicentre study of the International Dermoscopy Society*. Br J Dermatol, 2015. **172**(4): p. 961-7.
159. Zembowicz, A., et al., *Morphological analysis of nevoid melanoma: a study of 20 cases with a review of the literature*. Am J Dermatopathol, 2001. **23**(3): p. 167-75.
160. Maxfield, K.E., et al., *Comprehensive functional characterization of cancer–testis antigens defines obligate participation in multiple hallmarks of cancer*. Nature communications, 2015. **6**(1): p. 8840.
161. Almeida, L.G., et al., *CTdatabase: a knowledge-base of high-throughput and curated data on cancer-testis antigens*. Nucleic acids research, 2009. **37**(suppl_1): p. D816-D819.
162. Ikeda, H., et al., *Characterization of an antigen that is recognized on a melanoma showing partial HLA loss by CTL expressing an NK inhibitory receptor*. Immunity, 1997. **6**(2): p. 199-208.
163. Epping, M.T., et al., *The human tumor antigen PRAME is a dominant repressor of retinoic acid receptor signaling*. Cell, 2005. **122**(6): p. 835-847.
164. Lee, M.S. and Y.-J. Kim, *Signaling pathways downstream of pattern-recognition receptors and their cross talk*. Annu. Rev. Biochem., 2007. **76**(1): p. 447-480.
165. Bose, M., *Preferentially expressed antigen in melanoma is a multifaceted cancer testis antigen with diverse roles as a biomarker and therapeutic target*. International Journal of Translational Medicine, 2023. **3**(3): p. 334-359.
166. Radich, J.P., et al., *Gene expression changes associated with progression and response in chronic myeloid leukemia*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2006. **103**(8): p. 2794-2799.
167. Szczepanski, M.J., et al., *PRAME expression in head and neck cancer correlates with markers of poor prognosis and might help in selecting candidates for retinoid chemoprevention in pre-malignant lesions*. Oral oncology, 2013. **49**(2): p. 144-151.
168. Orlando, D., et al., *Adoptive immunotherapy using PRAME-specific T cells in medulloblastoma*. Cancer research, 2018. **78**(12): p. 3337-3349.
169. Zhu, H., et al., *Downregulation of PRAME suppresses proliferation and promotes apoptosis in hepatocellular carcinoma through the activation of P53 mediated pathway*. Cellular Physiology and Biochemistry, 2018. **45**(3): p. 1121-1135.
170. Tajeddine, N., et al., *Tumor-associated antigen preferentially expressed antigen of melanoma (PRAME) induces caspase-independent cell death in vitro and reduces tumorigenicity in vivo*. Cancer research, 2005. **65**(16): p. 7348-7355.
171. Santamaria, C., et al., *The relevance of preferentially expressed antigen of melanoma (PRAME) as a marker of disease activity and prognosis in acute promyelocytic leukemia*. 2008.
172. Lee, Y.-K., et al., *Tumor antigen PRAME is up-regulated by MZF1 in cooperation with DNA hypomethylation in melanoma cells*. Cancer Letters, 2017. **403**: p. 144-151.

173. Googe, P.B., K.L. Flanigan, and J.R. Miedema, *Preferentially expressed antigen in melanoma immunostaining in a series of melanocytic neoplasms*. The American Journal of Dermatopathology, 2021. **43**(11): p. 794-800.
174. Toyama, A., et al., *Analyses of molecular and histopathologic features and expression of PRAME by immunohistochemistry in mucosal melanomas*. Modern Pathology, 2019. **32**(12): p. 1727-1733.
175. Malumbres, M. and M. Barbacid, *Cell cycle, CDKs and cancer: a changing paradigm*. Nature reviews cancer, 2009. **9**(3): p. 153-166.
176. Moldovan, G.-L., B. Pfander, and S. Jentsch, *PCNA, the maestro of the replication fork*. Cell, 2007. **129**(4): p. 665-679.
177. Carbone, C.J., et al., *p21 loss cooperates with INK4 inactivation facilitating immortalization and bcl-2-mediated anchorage-independent growth of oncogene-transduced primary mouse fibroblasts*. Cancer research, 2007. **67**(9): p. 4130-4137.
178. Liu, S., W.R. Bishop, and M. Liu, *Differential effects of cell cycle regulatory protein p21WAF1/Cip1 on apoptosis and sensitivity to cancer chemotherapy*. Drug Resistance Updates, 2003. **6**(4): p. 183-195.
179. Shiraki, K. and H. Wagayama, *Cytoplasmic p21WAF1/CIP1 expression in human hepatocellular carcinomas*. Liver International, 2006. **26**(8): p. 1018-1019.
180. Xia, W., et al., *Phosphorylation/cytoplasmic localization of p21Cip1/WAF1 is associated with HER2/neu overexpression and provides a novel combination predictor for poor prognosis in breast cancer patients*. Clinical cancer research, 2004. **10**(11): p. 3815-3824.
181. Alonso, S.R., et al., *Progression in cutaneous malignant melanoma is associated with distinct expression profiles: a tissue microarray-based study*. The American journal of pathology, 2004. **164**(1): p. 193-203.
182. Saleem, M., *Lupeol, a novel anti-inflammatory and anti-cancer dietary triterpene*. Cancer letters, 2009. **285**(2): p. 109-115.
183. Fröhlich, L.M., et al., *Enhanced expression of p21 promotes sensitivity of melanoma cells towards targeted therapies*. Experimental Dermatology, 2022. **31**(8): p. 1243-1252.
184. Akkaya, F., et al., *Retrospective Evaluation of Cutaneous Malignant Melanoma Patients in the Eastern Black Sea Region in Terms of Tumor Thickness and Survival: Cohort Study Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki Kutanöz Malign Melanom Hastalarının Tümör Kalınlığı ve Sağkalım Açısından Retrospektif Değerlendirilmesi: Kohort Çalışması*. Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences, 2023. **43**(2).
185. Lideikaitė, A., J. Mozūraitienė, and S. Letautienė, *Analysis of prognostic factors for melanoma patients*. Acta Med Litu, 2017. **24**(1): p. 25-34.
186. See, S.H.C., B.S. Finkelman, and A.V. Yeldandi, *The diagnostic utility of PRAME and p16 in distinguishing nodal nevi from nodal metastatic melanoma*. Pathology - Research and Practice, 2020. **216**(9): p. 153105.
187. Gradecki, S.E., C.L. Slingluff Jr, and A.A. Gru, *PRAME expression in 155 cases of metastatic melanoma*. Journal of Cutaneous Pathology, 2021. **48**(4): p. 479-485.
188. Lopez, D.R., et al., *PRAME expression in Melanoma (PRAME) expression in BRCA1-associated protein (BAP1)-inactivated melanocytic tumors and deep penetrating nevi: A pilot study*. Journal of Cutaneous Pathology, 2021. **48**(4).
189. Seymour, D.J.L., et al., *Pathology Training for Cancer Diagnosis in Africa*. Am J Clin Pathol, 2022. **157**(2): p. 279-285.

190. Hu, J., et al., *Preferentially expressed antigen in melanoma immunohistochemistry as an adjunct for differential diagnosis in acral lentiginous melanoma and acral nevi*. Human Pathology, 2022. **120**: p. 9-17.
191. Lo Bello, G., et al., *PRAME expression in 137 primary cutaneous melanomas and comparison with 38 related metastases*. Pathology - Research and Practice, 2023. **251**: p. 154915.
192. Shamloo, B. and S. Usluer, *p21 in Cancer Research*. Cancers, 2019. **11**(8): p. 1178.
193. Koster, R., et al., *Cytoplasmic p21 expression levels determine cisplatin resistance in human testicular cancer*. The Journal of clinical investigation, 2010. **120**(10): p. 3594-3605.
194. Huang, Y., et al., *The opposite prognostic significance of nuclear and cytoplasmic p21 expression in resectable gastric cancer patients*. Journal of gastroenterology, 2014. **49**: p. 1441-1452.
195. Vilgelm, A.E., et al., *MDM2 antagonists overcome intrinsic resistance to CDK4/6 inhibition by inducing p21*. Science translational medicine, 2019. **11**(505): p. eaav7171.
196. Stefanaki, C., et al., *G1 cell cycle regulators in congenital melanocytic nevi. Comparison with acquired nevi and melanomas*. Journal of cutaneous pathology, 2008. **35**(9): p. 799-808.
197. Trotter, M.J., L. Tang, and V.A. Tron, *Overexpression of the cyclin-dependent kinase inhibitor p21WAF1/GIP1 in human cutaneous malignant melanoma*. Journal of cutaneous pathology, 1997. **24**(5): p. 265-271.
198. Wiedemeyer, K., et al., *Acral Spitz Nevi: A Clinicopathologic Study of 50 Cases With Immunohistochemical Analysis of P16 and P21 Expression*. The American Journal of Surgical Pathology, 2018. **42**(6): p. 821-827.
199. Kapur, P., et al., *Spitz nevi and atypical Spitz nevi/tumors: a histologic and immunohistochemical analysis*. Modern Pathology, 2005. **18**(2): p. 197-204.
200. Garrido-Ruiz, M.C., et al., *The immunohistochemical profile of Spitz nevi and conventional (non-Spitzoid) melanomas: a baseline study*. Modern Pathology, 2010. **23**(9): p. 1215-1224.
201. Lee, H.L., et al., *Tumor growth suppressive effect of IL-4 through p21-mediated activation of STAT6 in IL-4Ra overexpressed melanoma models*. Oncotarget, 2016. **7**(17).
202. Poyraz, A., et al., *P21 and Bax expression in cutaneous malignant melanomas: correlation with histologic prognostic parameters*. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research: CR, 2004. **23**(4): p. 625-631.
203. Baldi, A., et al., *Expression of AP-2 transcription factor and of its downstream target genes c-kit, E-cadherin and p21 in human cutaneous melanoma*. Journal of cellular biochemistry, 2001. **83**(3): p. 364-372.
204. Maelandsmo, G.M., et al., *Cyclin kinase inhibitor p21WAF1/CIP1 in malignant melanoma: reduced expression in metastatic lesions*. Am J Pathol, 1996. **149**(6): p. 1813-22.
205. Hu, H., et al., *Antibiotic drug tigecycline inhibits melanoma progression and metastasis in a p21CIP1/Waf1-dependent manner*. Oncotarget, 2015. **7**(3): p. 3171.
206. Passeron, T., et al., *Upregulation of SOX9 inhibits the growth of human and mouse melanomas and restores their sensitivity to retinoic acid*. The Journal of clinical investigation, 2009. **119**(4): p. 954-963.
207. Li, Q., et al., *Overexpression of HMGB1 in melanoma predicts patient survival and suppression of HMGB1 induces cell cycle arrest and senescence in association with p21 (Waf1/Cip1) up-regulation via a p53-independent, Sp1-dependent pathway*. Oncotarget, 2014. **5**(15): p. 6387.

208. Tajeddine, N., et al., *Tumor associated antigen PRAME is a marker of favorable prognosis in childhood acute myeloid leukemia patients and modifies the expression of S100A4, Hsp 27, p21, IL-8 and IGFBP-2 in vitro and in vivo*. *Leukemia & lymphoma*, 2008. **49**(6): p. 1123-1131.
209. Sun, K., et al., *PRAME promotes proliferation of multiple myeloma cells through CTMP/Akt/p21/CCND3 axis by ubiquitinating CTMP and p21*. *Heliyon*, 2024. **10**(13).

