

T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
Patoloji Anabilim Dalı

**MALİGN MELANOMDA KIL FOLLİKÜLÜ TUTULUMUNUN
NESTİN VE SİTOKERATİN 15 İLE İMMUNHİSTOKİMYASAL
OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Birsen Gizem Özamrak

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Peyker Temiz

Manisa, 2018

T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
Patoloji Anabilim Dalı

**MALİGN MELANOMDA KIL FOLLİKÜLÜ TUTULUMUNUN
NESTİN VE SİTOKERATİN 15 İLE İMMUNHİSTOKİMYASAL
OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Birsen Gizem Özamrak

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Peyker Temiz

Manisa, 2018

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam boyunca bilgisi, birikim ve deneyimleri ile bana yol gösterici olan, şefkati ve desteği ile her zaman yanımda olan tez danışmanım Prof. Dr. Peyker Temiz'e, hoşgörüsü ve sabrıyla her konuda desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Aydın İşisağ'a, pratiklik ve hızlı düşünmenin patolojideki önemini bize öğreten, bilimsel bakış açısıyla eğitimime yön veren Prof. Dr. Ali Rıza Kandiloğlu'na, enerjisi ve titizliği ile bana çok şey katan, bilgi aktarımına hayran olduğum Prof. Dr. Semin Ayhan'a, titiz, disiplinli ve azimli çalışma konusunda kendisinden çok şey öğrendiğim Prof. Dr. Nalan Neşe'ye, yoğun iş temposuna rağmen bize her zaman yardımcı olmaya çalışan, neşesi ve çalışkanlığı ile örnek tablo oluşturan Uzm. Dr. Ayça Tan'a, tezimin istatistiksel değerlendirmesinde emeği geçen Prof. Dr. Ali Rıza Kandiloğlu ile Halk Sağlığı Anabilim Dalı üyesi Doç. Dr. Beyhan Cengiz Özyurt'a, birlikte çalışmaktan büyük zevk duyduğum, asistanlık hayatımda önemli, güzel dostluklar edindiğim asistan arkadaşlarıma, eğitim sürecindeki yardımlarından dolayı laboratuvar teknisyenlerimiz, arşiv çalışanlarımız, sekreterlerimiz ve personelimize, tezimin kesit ve boya işleriyle ilgilenen Duru Karakuzu, Melek Türkdal ve İlknur Çalışkan'a, tüm eğitim hayatım boyunca bana destek olan ve haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim başta canım annem olmak üzere aileme teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Birsen Gizem Özamrak

İÇİNDEKİLER

I. GİRİŞ.....	1
II. GENEL BİLGİLER.....	3
Normal deri ve melanositler.....	3
Kıl follikülünün yapısı.....	4
Kutanöz malign melanom.....	7
Epidemiyoloji.....	8
Etiyoloji ve risk faktörleri.....	9
Patogenez.....	11
Kanser kök hücreleri hipotezi.....	11
Klinik özellikler.....	13
Histopatolojik sınıflandırma.....	14
Yüzeyel yayılan melanom.....	15
Lentigo maligna.....	15
Akral lentiginöz melanom.....	16
Nodüler melanom.....	17
Dezmozplastik melanom.....	18
Melanomda prognostik faktörler, raporlama ve evreleme.....	18
Prognostik faktörler ve raporlama.....	19
Evreleme.....	25
Melanomda kıl follikülü tutulumu.....	28
İmmunhistokimyasal belirteçler.....	30
Sitokeratin 15.....	30
Nestin.....	31
III. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	35
IV. BULGULAR.....	41
V. TARTIŞMA.....	73
VI. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	90
VII. ÖZET.....	97
VIII. İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT).....	99
IX. KAYNAKLAR.....	102

KISALTMALAR

AJCC.....	Amerikan Kanser Komitesi Birliği
BCC.....	Bazal hücreli karsinom
CAP.....	College of American Pathologists
CK.....	Sitokeratin
DSÖ.....	Dünya Sağlık Örgütü
F(+).	Kıl follikülü tutulumu var
F(-).	Kıl follikülü tutulumu yok
ICCR.....	International Collaboration on Cancer Reporting
IF.....	İntermediyer filaman
LDH.....	Laktat dehidrogenaz enzimi
LM.....	Lentigo maligna
LMM.....	Lentigo maligna melanom
LVİ.....	Lenfovasküler invazyon
MHC.....	Major histocompatibility complex
MM.....	Malign melanom
NOS.....	Başka türlü sınıflandıralamayan (Not Otherwise Specified)
RCPATH.....	Royal College of Pathologists
RCPA.....	Royal College of Pathologists of Australasia
RR.....	Rölatif risk
SCC.....	Skvamöz hücreli karsinom
SLF.....	Steel factor, c-kit reseptör ligandı
TİL.....	Tümörü infiltrate eden lenfositler
UV.....	Ultraviyole

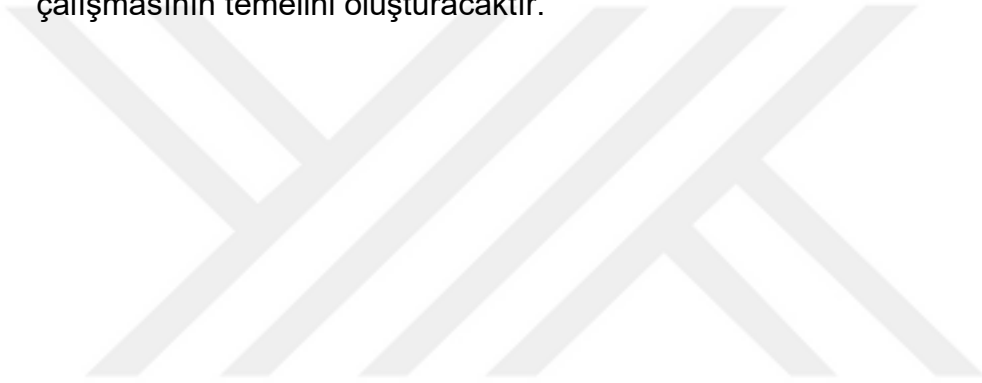
GİRİŞ

İnsidansı giderek artan malign melanomlarda varolan sınıflama veya evreleme sistemlerinde yer almamakla birlikte kıl follikül tutulumu, son yıllarda önemle üzerinde durulan bir konudur. Halen kullanılan sınıflamalara göre, prognostik belirteçler arasında yer alan tümör kalınlığı ölçümünde Clark düzeyi ve Breslow kalınlığı belirlenirken, kıl follikülü tutulumu göz önüne alınmamaktadır. Oysa ki, atipik melanositlerin kıl follikül infundibulumuna dek kıl follikülü epiteli boyunca uzanımı, malign melanom olgularında izlenebilen ve çok da nadir olmayan bir bulgudur. Son 10 yılda melanom olgularında kıl follikülü tutulumu ile ilgili konunun önemine vurgu yapan tanımlayıcı çalışmalar giderek artmaktadır. Kıl follikül tutulumunun evrelemede göz önünde bulundurulması, raporlamaya eklenmesi gerekliliği öne sürülmekte ve follikül tutulumuna ilişkin yeni bir sınıflandırma önerilmektedir. Bu konuyla ilgili “folliküler malign melanom” ve “follikülotropik malign melanom” kavramları konusundaki tartışmalar da sürmektedir.

Diğer taraftan, kanser gelişiminde kök hücrelerin rolüne ilişkin görüşler güçlenmekte, melanom patogeneğinde kök hücrelerin etkisini araştıran çalışmalar artmaktadır. Bir intermediate filament olan ve temel olarak nöral kök hücre belirteci olarak ortaya çıkan nestinin melanom olgularında agresif gidiş ve kötü prognozla ilişkili olduğu öne sürülmektedir. Özellikle bazal keratinositlerde ve kıl follikülünün bazı alanlarında (bulge) yer alan epidermal kök hücre belirteci olan sitokeratin 15'in ise melanomun kıl follikülüne ilerlemesinde rolü olduğu düşünülmektedir.

Literatürdeki kısıtlı verilerle prognozdaki önemi henüz ortaya konamamış olan kıl follikülü tutulumunu immunohistokimyasal

değerlendirmeye ele alan çalışma yok denecek kadar azdır. Çalışmamızda arşivimizde yer alan melanomlarda kıl follikülü tutulumuna ait histopatolojik verilerin toplanması, nestin ve sitokeratin 15 immunohistokimyasal belirteçleri kullanılarak, melanositik ve epidermal kök hücrelerin melanom patogenezi ve kıl follikülü tutulumundaki rolünün araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmamızda elde edilecek verilerle melanom patogenezi, tümörün dokudaki yayılımı ile ilişkili yeni bilgiler ve kök hücrelerin rolüne ilişkin yeni ipuçlarının elde edilmesi, hastalığın ilerlemesinin önlenmesinde ya da tedavisinde yeni yaklaşımlara ışık tutabilir. Ayrıca bu çalışmanın sonuçları, olgulara ait klinik prognoz verilerinin ele alındığı klinikopatolojik korelasyona dayalı daha geniş çaplı bir prognoz çalışmasının temelini oluşturacaktır.



GENEL BİLGİLER

NORMAL DERİ VE MELANOSİTLER

Deri epidermis, dermis ve subkutan yağ dokudan oluşur. Epidermiste keratinositler, melanositler, Langerhans hücreleri ve Merkel hücreleri yer alır (1,2,3).

Melanositler, nöral krestten köken alan, melanin sentezleyen dendritik hücrelerdir. Periferal nöronlar ve Schwann hücrelerine de dönüşebilen öncü hücrelerden köken alırlar. Melanositlerin epidermiste görülmesi kraniokaudal doğrultuda, köken aldıkları nöral krest gelişimi ile paralel biçimde olur. Nöral krestten göç etmelerine bağlı olarak melanositler deriden başka yerlerde de bulunurlar (1,2).

Melanositler epidermiste bazal tabakada, kıl follikülü bulbusu ve dış kök kılıfında yer alırlar ve dendritik prosesleri tüm yönlere uzanır. Rutin hematoksilen eozin (HE) kesitlerde normal melanositlerin dendritik doğası net olarak ayırt edilemeyebilir. HE kesitlerde melanositler, elonge ya da oval nükleuslu, berrak sitoplazmalı hücreler olarak izlenmektedir. Nükleusları, genellikle komşu bazal keratinositlerinkinden küçüktür. Doku takibi nedeniyle oluşan büzüşme perinükleer halo olarak gözlenir (1,2,3).

Melanositler bazal tabakada gelişigüzel dağılımda olup melanosit sayısı vücut bölgesine göre değişkenlik göstermektedir. Her 4-10 bazal keratinosite 1 melanosit düşecek şekilde oranlanmış olan melanosit sayısı, tekrarlanan ultraviyole ışık maruziyeti ile artar (1,2).

Melanositlerin ürettiği melanin pigmenti, dendritik prosesler aracılığı ile melanositlerden bazal keratinositlere transfer edilir, burada depolanır ve sonrasında degradasyona uğrar. Melanositler bazal tabakadaki hücrelerin yalnızca %10'luk kısmını oluşturduğu için, her bir melanosit birden fazla

keratinosite melanin sağlar (epidermal melanin ünitesi, yaklaşık 1:35)(1,2). Rete çıkıntılarının uçları melanin konsantrasyonunun en yoğun olduğu bölgedir. Melanositlerde kahve-siyah ömelanin ve sarı-kırmızı feomelanin olmak üzere iki tip melanin sentezi gerçekleşir. Kahve-siyah ömelanin koyu tenlilerde baskın olarak gözlenen tip olup zararlı ultraviyole (UV) ışığı absorbe ederek ısıya dönüştürür. Sarı-kırmızı feomelanin ise açık tenlilerde baskın olan tiptir. UV ışığı absorbe edemez, reaktif oksijen ürünlerinin oluşumunu arttırır.

KIL FOLLİKÜLÜNÜN YAPISI

Kıl follikülü insan vücudundaki en karmaşık mini organlardan biridir. Sebace bez, erekör pili kası ile (var ise) ekrin ve apokrin bezler ile birlikte derideki “pilosebace birim” adı verilen yapıyı oluşturmaktadır (3). Kıl follikülünün oluşumu fetal ve perinatal deri gelişimi sürecinde izlenmektedir. Erken fetal dönemde (9-12.hafta) stratum germinativumdan gelişmeye başlar ve dermise doğru proliferasyon görülür (4,5). Doğumdan sonra folliküllerin ve kılın boyutlarında değişmeler görölse de yeni kıl follikülü oluşumu gözlenmemektedir. Ancak deri yaralanmalarından sonra yeni kıl follikülü oluşumunu erişkin fare ve tavşanlarda gösteren çalışmalar yanı sıra erişkin insan derisinde de yaralanma sonrasında yeni kıl follikülü oluşumu uyarılabildiğini bildiren yayınlar bulunmaktadır(6,7).

Yüksek rejeneratif kapasiteye sahip bir mini organ olan kıl follikülü, kök hücrelerin rol oynadığı nöroektodermal-mezodermal etkileşimler sonucu gelişir (8). Ektoderm kaynaklı kıl follikülü kök hücreleri, kıl follikülünün, sebace bez ve apokrin bez de dahil, bütün epitelyal komponentini oluştururken mezoderm kaynaklı hücreler kıl follikülü ve dermal papillayı saran bağ dokusu kılıfı oluştururlar. Nöral krestten köken alan melanositik öncüler ise follikülün pigmente kısmını yapar. Erektör pili kası, kıl follikülünden bağımsız olarak mezenkimal dokuda gelişir, aşağı doğru büyüyerek kıl follikülünün kök hücrelerini içeren “bulge” bölgesi ile bağlantı kurar (9).

Kıl follikülünün mikroanatomi ve fonksiyonu oldukça karmaşıktır. Her kıl follikülü epitelyal ve mezenkimal parçalardan oluşmaktadır. Olgun (anajen) kıl follikülü, yenilenmeyen “kalıcı” üst kısım ve “düzenli olarak yenilenen alt kısımdan oluşur. Üst kısım, ektodermden köken alan, erektör pili kasının distalinde yer alan ve döngü boyunca değişmeyen infundibulum ve isthmustan oluşurken; alt kısım mezodermden köken alan ve döngüyle yenilenen kıl shaftı ve bulbusu içerir. Buna göre kıl follikülü yüzeyden derine doğru üç bölümde incelenir (3) (Şekil 1-A).

- (i) İfundibulum: Kıl follikülünün epidermise açıldığı alandan, altta sebace duktusun açıldığı alana kadar olan bölümdür.
- (ii) İsthmus: Sebace duktusun açıldığı alandan, altta erektör pili kasının kıl follikülü fibröz kök kılıfına tutunduğu alana kadar olan bölümdür.
- (iii) Bulbus: İnférieur segment olarak bilinir. Folliküler (dermal) papilla denen vaskülarize alanı içeren, erektör pili kasının yapıştığı ve kıl follikülünün geniş gözlendiği “bulge” bölgesini içeren bölümdür. Bulge bölgesi epitelyal, nöroektodermal kök hücrelerin bulunduğu bölgedir. Bulbusta dermal papillayı çevreleyen ve yüksek mitotik aktivite gösteren germinatif epitel bulunmaktadır.

Kıl matriksine ait hücreler 6 hücre dizisi yönünde diferansiyasyon gösterir. En iç tabakadan dışa doğru: (a) kıl medullası, (b) kıl korteksi, (c) kıl kütikülü, ve (d) iç kök kılıfının konsantrik 3 tabakası (iç kök kılıfının kütikülü, Hexley tabakası ve Henle tabakası) (Şekil 1-B).

- a. Medulla: Gevşek bir santral akstan ve kornifiye, küboidal hücrelerin oluşturduğu 2-3 tabakadan oluşur. Devamlı ya da kesintili yapıda olabilir. Bazen hiç gözlenmeyebilir. Medulla hücrelerinin içerdiği keratin yumuşaktır, düşük oranda sülfür içerir ve tipik küçük partiküllerden oluşur (10).
- b. Korteks: Kıl follikülünün en önemli yapısal parçasıdır. Sülfürden zengin bir matriks içinde paketlenmiş, iğsi şekilli kornifiye hücre tabakalarından ve sert keratin filamanlardan oluşur. Korteks hücrelerinin spiral şekilde dizilmiş çok sayıda fibril içeren ultrastrüktürel yapısı kılın gerilebilmesini sağlar. Medulla ile birlikte kıl shaftını oluşturur, fonksiyonu bu yapının

mekanik stresörlere karşı dayanıklılığını sağlamak ve onarmaktır. Kıl şaftı iç kök kılıfının kütikülü tarafından sarılmıştır (10).

c. Kütikül: En dışta kalan kornifiye hücrelerden oluşan tabakadır. Asıl fonksiyonu kıl follikülünü fiziksel ve kimyasal etkenlere karşı korumaktır. Başlangıçta tek sıralı hücrelerden oluşur, sonra perifere doğru ilerledikçe çok sıralı bir tabaka halini alır (10).

d. İç kök kılıfı:

Kütikül: Kıl kütikülü gibi üst üste ince şeritlerden oluşur. Sülfür proteinlerinden zengindir. Kıl şaftını aşınmadan korur.

Huxley tabakası: Yassılaştırmış bir veya iki sıra hücreden oluşur. Kıl şaftının geometrik şeklini korur.

Henle tabakası: Kübik şekilde tek sıra hücrelerden oluşur ve eksternal örtüye yapışık tek kattır.

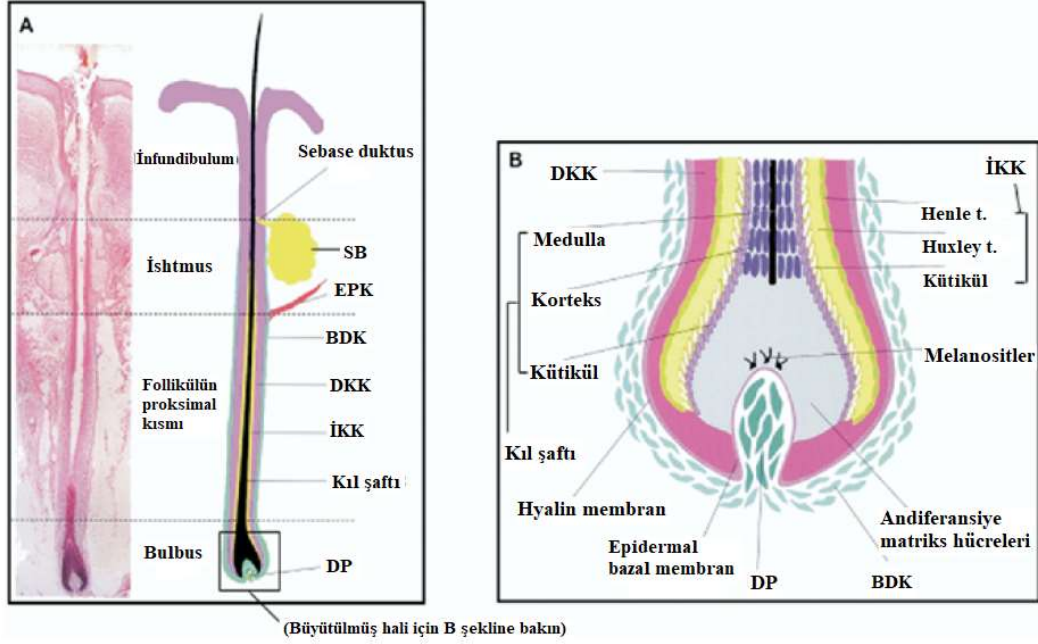
Bu tabakalarda kaba bir keratinizasyon mevcuttur (10)

Dış kök kılıfı ise farklı progenitör hücrelerden köken alır. Epidermis hücrelerinin kıl folikülünü çevrelemesi sonucu meydana gelir, follikülün en dış epitelyal tabakasını oluşturur. Alt kısımda tek sıralı küboidal hücrelerden oluşurken, üst kısımlara ilerledikçe çok katlı tabaka halini alır (13). Folikülün alt segmenti boyunca iç kılıfa sıkıca tutunmuştur. İsthmus düzeyine kadar keratinize değildir. Bu düzeyden sonra iç kök kılıfı kaybolur ve dış kök kılıfı keratinize olur. Dış kök kılıfının kök hücre rezervuarı olma, beslenme ve oksijen için kıl folikül silendir merkezine doğru transit yol oluşturma, enerji deposu olma gibi görevleri vardır. Ayrıca fibroblast büyüme faktörü 5 (FGF5), nörotropin ve apoptoz uyarıcı otokrin ve parakrin etkili bir hormon olan prolaktin gibi pek çok hormondan etkilenmektedir. Bu nedenlerle, kıl folikül siklusunun aktif düzenleyicisi olarak kabul edilmektedir (11,12)..

Dermal papilla sıkı paketlenmiş fibroblast hücrelerini içerir ve kıl bulbusu boyutunu, kıl şaftının çapını ve uzunluğunu ve anajen fazın süresini belirler (9).

Tüm kıl follikülü epitel tabakaları, en dışta mezoderm kökenli olan, kollagen ve stroma hücrelerini içeren bağ dokusu kılıfı ile çevrelenmiştir.

Şekil 1. Anagen kıl follikülü. Kıl follikülü longitudinal kesiti (A). Şematik çizim ve anatomik detaylar (B). SB: Sebace bez; EPK; Errektör pili kası; BDK: Bağ dokusu kılıfı; DKK: Dış kök kılıfı; İKK: İç kök kılıfı; DP: Dermal papilla. (Krause K, Foitzik K, 2006, *Semin Cutan Med Surg* 2006 Mar;25(1):2-10.)



KUTANÖZ MALİGN MELANOM

Malign melanom (MM) melanositlerden köken alan, insidansı ve mortalitesi yüksek bir tümördür. MM'lar melanositlerin dağılımına bağlı olarak deri, müköz membranlar, gözün uveal tabakası, beyinde leptomeninksler gibi oldukça çeşitli yerleşimlerde görülürler.

Primer kutanöz MM'ler genellikle güneş maruziyetine açık bölgelerde görülmekle birlikte el ve ayakların volar yüzleri, subungual yerleşimler ve genital bölge gibi güneş maruziyetinden uzak alanlarda da izlenir. De novo gelişebilecekleri gibi, önceden var olan benign (konjenital ya da edinilmiş) melanositik nevüs, displastik nevüs, ya da nadiren sellüler bir blue nevüsten veya dermal dendrositozisten gelişebilirler (14).

EPİDEMİYOLOJİ:

Deri kanserleri arasında %4'lük bir kısmı oluşturan kutanöz MM'lar, agresif davranışlar sergileyen tümörler olup deri kanserlerine bağlı ölümlerin yaklaşık %75'inden sorumludur (15).

Amerika Birleşik Devletleri'nde erkeklerde en sık görülen 5. kanser, kadınlarda ise en sık görülen 6. kanser melanomdur. Melanom insidansı genel olarak kadın ve erkek arasında benzerdir. Ancak 40 yaş altında, genç kadınlarda daha yüksekken, 40 yaş sonrası, erkeklerde daha hızlı bir insidans artışı gözlenmektedir (16). Amerikan Dermatoloji Akademisi raporlarına göre 20-29 yaş kadınlarda en sık görülen 2. kanser melanomdur (17).

Yıllar içinde insidansı azalan ya da stabil duruma gelen çoğu solid tümörün aksine MM'larda 1970'lerden bu yana, insidanda belirgin bir artış gözlenmektedir ve tüm kanserlerin %1,6'sını oluşturmaktadır (15,18-20). 2006-2010 yıllarına ait veriler ışığında yıllık melanom insidansı ise 100 000'lik populasyonda erkeklerde 27,4, kadınlarda 16,7 olarak hesaplanmıştır (21). En yüksek yıllık insidans oranları Avusturalya'nın kuzeyinde yer alan subtropik Queensland bölgesinde gözlenmiş olup, 100 000'lik popülasyonda erkeklerde 83,4, kadınlarda 53,8'dir; yaşam boyu melanom gelişim riski sırasıyla 11'de 1 ve 18'de 1'dir (22). Türkiye'de ise yaşla standardize edilmiş malign melanom insidansı 100 000'lik populasyon için erkeklerde 2,1, kadınlarda 1,6 olarak bildirilmiştir (23).

Malign melanom baskın olarak erişkin yaş grubunda izlenir, çocuk olgular da bildirilmektedir (24-26). Çocukluk yaş grubunda görüldüğünde, kseroderma pigmentozum, familyal displastik nevus sendromu ya da familyal melanom gibi genellikle eşlik eden bir risk faktörü bulunmaktadır (27,28).

ETYOLOJİ VE RİSK FAKTÖRLERİ:

Birçok hastalığın etyolojisinde olduğu gibi melanomda da konağa ait ve çevresel faktörler ile çeşitli genetik faktörlerin etkilerinden bahsedilmektedir

Yaş, olguda veya ailede melanom öyküsü, potansiyel prekürsör lezyonların varlığı (displastik nevüs vb), güneş maruziyeti, güneş hasarına

eğilim yaratan cilt özellikleri gibi konağa faktörler melanom gelişimi için majör risk faktörlerini oluşturur (16,29-32). Bu faktörler ve tanımlanmış çeşitli genetik değişikliklere ait rölatif riskler Tablo 1'de verilmiştir.

Nevüs sayısının >100 olması, küçük, koyu pigmente olması ve lezyon çapının >6 mm olması bağımsız risk faktörleri arasında sayılmaktadır (33).

Konağa ait faktörlerden bir diğeri kronik immunsupresyon varlığıdır. Edinilmiş immun yetmezlik sendromu (AIDS) bulunan olgularda, organ transplantasyonu sonrasında melanom gelişim riskinin arttığını bildiren yayınlar bulunmaktadır(34,35).

Melanomların başka lezyonlar ve hastalıklar ile de birlikteliği bildirilmektedir. Skuamöz hücreli karsinomlar (SCC) ve bazal hücreli karsinomlar (BCC) (36), Merkel hücreli karsinom (37), retinoblastom (38), sistemik mastositoz, kseroderma pigmentozum (39), albinizm (40), Li-Fraumeni sendromu (41), Cowden sendromu, Gorlin sendromu (42), Turner sendromu (43), çeşitli lösemi ve lenfomalar (44,45), eritema diskromikum perstans, kronik yaralar/ülserler ve lenfödem (46), staz dermatiti (47), yanık skarları, travma (subungual melanom) vb. bunlara örnek olarak verilebilir. Bunlardan bazılarının birlikteliği tesadüfi görülse de, hastalıklarla ilişkiyi destekleyen genetik veriler elde edilmektedir.

Çevresel faktörler içinde melanom gelişimi için en önemli risk faktörü ultraviyole güneş ışığı (UV) maruziyetidir (48-51). UV ile indüklenen DNA hasarı premutajenik olup, onarılmaz ise mutasyonlara neden olarak melanomogenezi başlatır. UV maruziyetinin CDKN2A, PTEN, NRAS ve BRAF gibi melanom ilişkili genlerde mutasyona neden olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (51). Doğal UV maruziyetine ek olarak, artifisiyel ve iatrojenik UV maruziyeti de melanom riskini artırmaktadır. Psoriasis ya da diğer hastalıklar nedeniyle fazla seans (>250) PUVA tedavisi alan olgularda melanom riskinin arttığı bildirilmektedir (52,53).

Tablo 1. Melanomda risk faktörleri (32)

Risk faktörleri	Risk
Klinik	
5 ve daha fazla sayıda displastik nevüs	10 RR
Öncesinde melanom öyküsü	9 RR
Toplam nevüs sayısı >100 olması	7 RR
Kızıl saç	4 RR
Aile öyküsü	1,5-2,5 RR
1 displastik nevüs	
Toplam nevüs sayısının 16-40 olması	
Açık renkli ten	
Açık renkli göz	
Açık renkli saç	
Çil varlığı	
Bronzlaşmama	
Solaryum kullanımı	
Güneş yanıkları öyküsünün bulunması	
Genetik mutasyonların varlığı	
Yüksek riskli	
Yüksek riskli ailelerde CDKN2A mutasyonu	0,91 (Avustralya) ^a 0,76 (Amerika Birleşik Devletleri) ^a 0,58 (Avrupa) ^a
CDKN2A mutasyonu (seçilmemiş)	0,28 ^a
CDK4	(CDKN2A ile aynı)
BAP1	Net olarak bilinmemektedir
RB1	4-80 RR
XP (A-G)	600-800 RR
Orta riskli	
MC1R	2,7 RR (tek bir allel etkilenmiş)
MITF	2,2 RR (E318K varyantı)
Düşük riskli/bilinmeyen risk	
ASIP, ATM, CASP8, CCND1, EDNRB, GSTM1, IRF4, MTAP, MX2, OCA2, PARP1, PLA2G6, SETDB1, SLC45A2, TERT, TYR, TYRP1, VASH2, VDR, diğerleri	Net olarak bilinmemektedir
^a 80 yaştaki penetrans. 1,00 değeri, olgunun 80 yaşına kadar %100 (kümülatif risk) oranda melanom geliştireceğini ifade eder.	

Güneş etkisine açık olmayan anatomik yerleşimlerde de melanom görülmesi, melanom gelişiminde diğer çevresel faktörlerin de etkisi olabileceğine işaret etmektedir. Polivinil klorid, insektisidler, kimyasal

solventler, arsenik ile kontamine su, redoks aktif metaller (mesleki maruziyetler ve/veya eklem protezleri) bu etkenler arasında sayılabilir (32).

PATOGENEZ:

Melanositlerin genetik ve çevresel çeşitli faktörler nedeniyle uyarılması ve proliferasyonu sonucunda melanositik lezyonlar oluşmaktadır. Melanositlerden MM gelişim basamakları, melanomagenezde görev alan sinyal yolları halen net olarak aydınlatılamamıştır. Transforme matür melanositlerin dediferansiyasyonu olarak da tanımlanan, ilk olarak Clark ve ark.'nın oluşturdukları histolojik modelde benign melanositik nevüsten, displastik nevüse, sonrasında radyal büyüme fazında melanom, vertikal büyüme fazında melanom ve son olarak metastatik hastalığa progresyon özetlenmiştir (54). Daha sonraları melanositik transformasyonda rol oynayan genetik ve moleküler değişikliklere yönelik birçok çalışma yayınlanmıştır. Tanımlanan bu değişiklikler, melanomun tek bir entegre hastalık olmayıp, daha çok kompleks moleküler değişiklikler zemininde gelişen heterojen lezyonlar grubu olduğu düşüncesini destekler niteliktedir. 9p21 lokusundaki siklin bağımlı kinaz inhibitör 2A (CDKN2A) ve siklin bağımlı kinaz 4 (CDK4) gen mutasyonları (55-57), NRAS/MAPK yolağında izlenen değişiklikler (RAS/BRAF mutasyonları), fosfotidilinositol fosfat kinaz-aktive protein kinaz B (PI3K/AKT) yolağında izlenen değişiklikler (PTEN mutasyonları) (58), BAP1 mutasyonları (59), RB1 mutasyonları (60) yanı sıra intermediate-düşük risk lokusları olarak tanımlanan melanokortin 1 reseptör (MC1R) geni (61), mikroftalmi-ilişkili transkripsiyon faktörü (MITF) (62) ve TERT promoter mutasyonları (63) da melanom olgularında görülebilmektedir.

“Kanser kök hücreleri” hipotezi:

Melanomun normal deride ya da nöral krest göç yolunda beklenmeyen lokalizasyonlarda görülebilmesi, melanomagenezde bir başka hipotezi ön plana çıkarmıştır (64). “Kanser kök hücreleri hipotezi”ne göre malign tümörlerin, sınırlı proliferatif kapasiteye sahip daha diferansiye kanser hücreleri yanı sıra yüksek proliferatif potansiyele sahip kanser kök

hücrelerinden oluştuğu düşünülmektedir (65,66). Bu hücrelerin varlığına dair kanıtlar akut myeloid lösemi, meme kanseri, glioblastom, multipl myelom ve baş-boyun, over, prostat, pankreas, kolon kanserleri gibi çeşitli malignitelerde de gösterilmiştir (67-74). Deride ve kıl follikülünde kanser kök hücreleri olarak tanımlanan, mutant melanositik kök hücrelerin ya da immatür progenitör hücrelerin melanom hücreleri prekürsörleri olabileceği görüşü son on yılda güçlenmiştir. Melanomda kök hücrelerin, melanomun gelişimi yanı sıra dokudaki ilerleyişi ile ilgili rol oynadığı ileri sürülmektedir (75-79).

Derideki epitelyal kök hücreler, başlıca kıl follikülünde yerleşmiş olup bu hücrelerden, apoptoz ile kontrol edilen bir epitelyal regresyon dönemini takiben (katajen) ve göreceli bir dinlenme evresinden sonra (telojen), yeni kıl follikülü matriksi, iç ve dış kök kılıfı, eşlik edici tabaka (companion layer) ve kıl shaftı oluşmaktadır. Bu diferansiyasyon ve proliferasyon, anajen fazda, çeşitli kök hücre düzenleyicileri yardımıyla özelleşmiş mezenkim kontrolünde olmaktadır (80). Kıl follikülünde yer alan epitelyal kök hücrelerin ikili görevi bulunduğu düşünülmektedir: Normal kıl follikülünün yeniden yapılandırılması ve bütünlüğün bozulduğu durumlarda (travma, yaralanma, yangısal uyarılar, yanıklardan sonra gibi) epidermal rejenerasyon.

Pigmente kıl follikül shaftlarında, intrafolliküler melanogenezi de sağlayan ayrı bir grup kök hücre varlığı da belirtilmiştir (81). Melanoblastlar olarak da isimlendirilen immatür melanositler ilk defa Cock ve Cohen tarafından 1958'de tanımlanmıştır. Nöral krestten köken alan melanoblastlar gelişim sırasında epidermis ile kıl folliküllerine doğru göç ederek pigment sentezleyen matür formlarına diferansiye olurlar ya da alternatif olarak melanositik sistemin idamesini sağlayan melanositik kök hücreler için kaynak oluşturabilirler (82-84). Melanoblastların geniş göç kapasitesinin, MM hücrelerinin yüksek metastaz eğiliminden sorumlu faktörlerden biri olduğu düşünülmektedir (66).

Ayrıca, tanımlanan melanoblastlardan farklı olarak fenotipik olarak immatür, kıl döngüsü boyunca kendini idame ettirebilen yavaş sikluslu hücrelerin melanin üreten matür formlara diferansiye olabildikleri gösterilmiştir.

Bu tip nonpigmente, yavaş sikluslu hücrelerin MM kök hücresi popülasyonu içinde bulunabileceği düşünülmektedir.

KLİNİK ÖZELLİKLER:

Melanomların klinik tanısal kriterleri “ABCD kriterleri” olarak özetlenmiştir. Bu kriterler asimetri (*asymmetry*; lezyonun bir yarısı, diğer yarısından şekil ve pigmentasyon açısından farklılık gösterir), sınır düzensizliği (*border irregularity*), renk çeşitliliği (*color variegation*; lezyonun yüzeyi kahve, mavi-siyah, gri-beyaz, deri renginde ya da bunların çeşitli karışımları biçiminde alacalı, çok renkli olarak izlenir) ve lezyon çapıdır (*diameter*; büyük çoğunluk >6mm). Son kılavuzlarda bunlara ek olarak, “E” kriteri (*evolution*; lezyonun değişen/gelişen doğasını yansıtır) ile özellikle nodüler melanom gibi lezyonlar için “F,G” (*firm, growing for 1 month*; sert, son 1 ayda büyüme gösteren) kriterleri tanımlanmıştır (85-87).

Melanomun tümör gelişiminde birbirini izleyen klinik ve histolojik aşamalar bilinmektedir. Nontümörjenik radyal ya da horizontal büyüme fazı, neoplastik melanositlerin epidermise sınırlı (melanoma in situ) olduğu ya da dermiste proliferasyonun izlenmediği, ekspansil bir tümör kitlesi oluşturmayan, epidermis ve papiller dermise sınırlı lezyonu ifade eder. 0,5 cm- 1 cm çaplı, sınırları düzensiz, hipopigmente eritematöz bölgelerle karışık yoğun siyah pigmente bir plak olarak ortaya çıkan lezyon yavaş progrese olur. Aylar/yıllarla ifade edilebilecek bir süre sonrasında bu faz mitojenik/tümörjenik vertikal büyüme fazı ile devamlılık gösterebilir. Klinik olarak vertikal büyüme fazı, radyal büyüme fazındaki bir melanomda ya da normal deride hızlı büyüyen bir nodül olarak tanımlanır. Dermal invazyonun izlendiği fazdır. Dermis içinde mitotik aktivitenin varlığı melanomun vertikal büyüme fazında olduğunun işaretidir. Nontümörjenik, in situ ya da mikroinvaziv radyal büyüme fazı ve bunun devamındaki tümörjenik vertikal büyüme fazı, tam gelişmiş bir melanomdaki iki temel lezyon kompartmanını oluşturur. Bunlara ek olarak bazı lezyonlarda dermal ve/veya epidermal alanda nevüslerin varlığı görülebilir. Köken aldığı alt tipten bağımsız olarak vertikal büyüme fazındaki melanom varlığı, neoplazinin metastaz kapasitesi kazandığına işaret eder (86-88).

HİSTOPATOLOJİK SINIFLANDIRMA:

Melanom, başlangıçta klinikopatolojik olarak, Clark ve ark'nın 1969'daki ve sonrasında McGovern ve ark'nın 1973'teki çalışmaları temel alınarak 6 grupta sınıflandırılmıştır (89,90): Lentigo maligna melanoma (LMM), yüzeysel yayılan melanom, nodüler melanom, akral lentiginöz melanom, dezmoplastik melanom, diğer. Bu alanda yapılan çalışmalar arttıkça çeşitli nadir histolojik varyantlar tanımlanarak, "diğer" kategorisi genişletilmiştir. Spitzoid melanom, amelanotik melanom, balon hücreli melanom, miksoid melanom, taşlı yüzük hücreli melanom, küçük hücreli melanom, anjiomatoid melanom, kondroid melanom, kistik (adenoid kistik) melanom, büllöz melanom, plazmasitoid melanom, rabdoid melanom bu nadir histolojik varyantların bir kısmını oluşturur (32). Herhangi bir spesifik alt tip kriterlerini karşılamayan olgular MM-başka türlü sınıflandırılmayan (MM-NOS) grubunda değerlendirilir.

Tablo 2. Malign melanomun histolojik sınıflandırması (2006 Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) sınıflandırması)

Histolojik alt tip
Yüzeysel yayılan melanom
Nodüler melanom
Lentigo maligna
Akral lentiginöz melanom
Dezmoplastik melanom
Blue nevüs zemininde gelişmiş melanom
Dev konjenital nevüs zemininde gelişmiş melanom
Çocukluk çağı melanomu
Nevoid melanom
Persistan melanom

Yukarıda sözü geçen alt tipler hasta populasyonlarının epidemiyolojik özellikleriyle korelasyon göstermekle birlikte, melanomun morfolojik heterojenitesini yansıtan ve biyolojik özellikleriyle korele, yeni çalışmalarda tanımlanan çeşitli moleküler değişikliklerin, diğer tümörlerde olduğu gibi melanom sınıflandırmasında da güncelleme gereksinimini doğuracağı düşünülmektedir. Burada yalnızca temel histolojik alt tiplere yer verilecektir.

Yüzeyel yayılan melanom:

Tüm melanomların yaklaşık %70'ini oluşturan yüzeyel yayılan melanomlar en yaygın görülen histolojik alt tiptir (91). Gövde, kolların üst kısmı ve bacakların alt kısımlarında, güneş gören bölgelerle birlikte vücutta herhangi bir yerleşimde izlenebilir.

Klinik olarak başlangıç lezyonu koyu renkli, birkaç mm boyutlarında makül şeklindedir, zamanla büyüyerek 2,5 cm çapa kadar ulaşabilir. Lezyon tam geliştiğinde alacalı renkli ve düzensiz sınırlıdır. %75'i de novo gelişir. Kalan kısım prekürsör konjenital veya displastik nevüs zemininde gelişir. Displastik nevüs zemininde gelişen melanomlar sıklıkla bu alt tiptedir (92).

Lezyon mutlaka radyal büyüme fazı içerir. Hem yuvalanmış hem de lentiginöz epidermal melanositik proliferasyon görülür, anaplastik melanositlerin pagetoid infiltrasyonu da izlenebilir. Epiteloid melanom hücreleri yuvarlak-oval nükleuslu, kalın nükleer kenarlı, makronükleollü, değişken boyutlarda ve şekillerde melanin granülleri içeren, geniş eozinofilik sitoplazmalı hücrelerdir. Lezyonun progresyonu ile vertikal büyüme fazına geçilir. Bu komponentin sitolojik özellikleri prognozu etkiler. Ağırlıklı olarak epiteloid hücre komponenti bulunan olguların prognozlarının, ağırlıklı olarak iğsi hücre komponenti içeren lezyonları bulunanlardan daha kötü seyrettiği bildirilmektedir (93).

Güncel çalışmalarda bu alt tip ile BRAF mutasyonu arasında güçlü bir ilişki olduğuna dair kanıtlar elde edilmiştir (94).

Lentigo maligna:

Lentigo maligna (LM), in situ melanomun bir formudur. Genellikle ileri yaş olgularda, kronik güneş maruziyetine açık bölgelerde (öncelikle yüz, baş-boyun, daha az sıklıkta vücuttaki diğer güneş gören alanlar) izlenir. Lentigo malign melanom terminolojisi, tümör invaziv özellik kazandığında kullanılır (95). Lezyon uzun yıllar makül biçiminde sınırlıdır, zamanla büyüyerek, invazyonun göstergesi olan palpabl nodül oluşturur. İnvazyon geliştiğinde lezyon çapı 6 cm'e dek ulaşabilir.

Mikroskopisinde radyal büyüme gösteren, çoğunluğu hiperkromatik ve angule nükleuslu, küçük malign melanositlerden oluşan, dermoepidermal bileşke boyunca devam eden, yoğun lentijinöz proliferasyon görülür. Zeminde sıklıkla aktinik hasar, baziler keratinositik hiperpigmentasyon ve epidermal atrofi dikkati çeker. Vertikal büyüme fazının işareti, dermis içinde herhangi bir dermal yuvalanmanın boyutunu aşan nodül veya fasikül oluşumudur. Bu fazda hücreler genellikle iğsi morfolojide olur ve epidermis içindeki yuvaları oluşturan iğsi hücrelere benzer, ancak epiteloid görünüm de bulunabilir. Dezmozplastik ve nörotropik invaziv paternler sıklıkla vertikal büyüme fazına geçiş ile ilişkilidir (96).

Sık gözlenen bir başka bulgu da malign melanositik hücrelerin folliküler ve ekrin epitelin birleştiği alanlar boyunca uzanmasıdır. Bu özellik, invazyon seviyesi ve derinliğinin değerlendirilmesinde zorluklara yol açar.

Bu grup melanomlarda KIT amplifikasyonu gözlenebilmektedir (97).

Akral lentijinöz melanom:

Melanomların %1'den azını oluşturur. Güneş maruziyeti ilişkili melanomlar açısından düşük riskli grubu oluşturan koyu ten renkli popülasyonda daha sıktır. Altıncı dekatta pik yapar. Tipik olarak palmar, plantar, subungual ve periungual deride yerleşmiş, sınır düzensizliği gösteren ve hızlı büyüyen, koyu pigmentli yamalar biçimindedir. Akral yerleşimli lezyonların tümü akral lentijinöz alt tipte değildir. Ayak tabanı yerleşimli lezyonu bulunan 62 olgunun dahil edildiği bir seride, olguların %14,5'i nodüler melanom, %3,2'si yüzeysel yayılan melanom olarak sınıflandırılmıştır (98).

Lezyon radyal büyüme fazında, atipik iğsi ve dendritik melanositlerin lentijinöz proliferasyonu ile karakterlidir ve sıklıkla retiform epidermal hiperplazi eşlik eder. Vertikal büyüme fazında genellikle iğsi hücreler baskındır, epidermal ülserasyon gözlenir. Dezmozplastik stromal yanıt görülebilir, stromada osteosarkomatöz değişiklik varlığı bildirilen olgular da bulunmaktadır (98).

Akral lentijinöz melanomlar santral sinir sistemi, karaciğer, akciğerler, kemik ve lenf nodu metastazı eğilimi gösterir. Literatürde tartışmalı veriler

bulunmakla birlikte (99), bazı yayınlarda bu alt tipin bağımsız bir olumsuz prognostik faktör olduğu bildirilmektedir (100).

Akral lentiginöz melanom olgularının %36'sında ve mukozal lentiginöz melanomların %39'unda KIT'de değişiklikler gözlenir (97).

Nodüler melanom:

İkinci en sık görülen melanom alt tipi olup, tüm melanomların yaklaşık %15-30'luk kısmını oluşturur (91). Vücudun herhangi bir bölgesinde izlenebilirler.

Çoğu melanomun aylar, yıllar içinde, vertikal büyüme fazı başlamadan primer radyal büyüme fazındaki plak benzeri bir büyümeden geliştiği gözlenmesine rağmen vertikal büyüme fazındaki bir lezyonun primer olarak ortaya çıktığı da görülebilmektedir. Nodüler melanom olarak tanımlanan bu durum, gerçekte orijinal radyal büyüme fazındaki bir lezyonun, vertikal büyüme fazı nodülü ya da plağı ile yer değiştirmiş halini tanımlar. Yüzeysel yayılan ve lentiginöz melanom varyantlarıyla klinik ve moleküler bazı ortak özelliklerin bulunması da bu görüşü destekler niteliktedir (87). Ancak klasik tanım, lezyon komşuluğunda atipik melanositlerle karakterli intraepidermal bir komponent varlığının gözlenmemesidir (32).

Histolojik olarak dermal komponent genellikle oval ya da yuvarlak epitelioid hücrelerden oluşur. Nadiren "canavar (monster) hücreleri" görülebilir, bu olgularda ayırıcı tanıda atipik fibroksantom akla gelir.

Nodüler melanomlarda, bir nöral kök hücre belirteci olan nestinin, dermal komponentteki HMB-45 (-) melanom hücrelerinde pozitif olduğu gözlenmiştir (101). Dahası, nestin ekspresyonunun artmış tümör kalınlığı, yüksek mitotik oran, tümör nekrozu ve ülserasyonu ile belirgin azalmış sağkalım ile ilişkili olduğuna dair yayınlar bulunmaktadır (102).

Dezmoplastik melanom:

Nadir olarak gözlenir. Klinik, histolojik, immunhistokimyasal profil ve gen ekspresyon profili ve biyolojik davranışındaki farklılıklar nedeniyle özel bir alt tip olarak incelenmektedir (103). Klinik olarak amelanotiktir; skar, fibrom gibi

benign lezyonları ya da melanom dışı deri kanserlerini (BCC, SCC) taklit eder, bu nedenle tanıda gecikmeler görülebilmektedir.

Histolojik olarak pleomorfik ve hiperkromatik iğsi hücrelerin infiltratif proliferasyonu ve bunu çevreleyen saçılmış kronik yangısal hücre yuvalarını içeren dezmoplastik bir stroma barındıran lezyonlar olarak tanımlanır. Stroma fibroblastlar ve bol kollajenden oluşur, değişen oranda müsin birikimi de görülebilir. Neoplastik iğsi hücreler, fibroblastlara benzeyen değişmiş fenotipte melanositleri temsil eder. Lezyonun infiltre eden kenarları etrafında, bazen ana lezyondan ayrık görünümde, yoğun perinöral ve intranöral tutulum dikkati çeker. Nörotropik lezyonlarda lokal rekürrensler sık görülür.

Dezmoplastik melanomlarda nörotropik faktörlerin ve ekstrasellüler matriks üretiminde görev alan genlerin upregülasyonu ve melanin pigment sentezi ile ilişkili genlerin daha düşük düzeyde eksprese edildiği gözlenmiştir. BRAF mutasyonu az görülür (104-106).

MELANOMDA PROGNOSTİK FAKTÖRLER, RAPORLAMA VE EVRELEME

Kutanöz melanomların klinik ve patolojik olarak evrelendirilmesi ve hastalık seyrinin öngörülmesi için belirtilmesi gereken klinik ve histopatolojik veriler, Amerikan Kanser Komitesi Birliği (AJCC) kanser evreleme kılavuzunda (107) ve The College of American Pathologists (CAP) tarafından çevrimiçi olarak, belli aralıklarla güncellenen raporlama kılavuzunda (108) bildirilmektedir. AJCC kanser evreleme kılavuzu 8. baskıda yer alan TNM evrelendirmesinde T kategorisi için tümör kalınlığı (Breslow), ülserasyon durumu kullanılır. N kategorisini belirlemede sentinel/bölgesel lenf nodlarının durumu, in-transit/mikrosatellit lezyonların varlığı kullanılırken, M kategorisinde histopatolojik olarak doğrulanmış uzak organ metastazına ek olarak serum laktat dehidrogenaz (LDH) düzeyi belirtilir (Tablo 3-6). Mitotik oran, regresyon durumu, büyüme fazı (radyal/vertikal), tümörü infiltre eden lenfositlerin (TİL) varlığı, lenfovasküler invazyon (LVİ), nörotropizm, Clark invazyon düzeyi ise

diğer prognostik belirteçler olup bunlara ilişkin bilgilerin MM raporunda bulunması gerekmektedir (107).

PROGNOSTİK FAKTÖRLER VE RAPORLAMA

Bir MM raporu, hastalık seyrini öngörme ve klinisyenin uygun tedaviye yönlendirilmesini kolaylaştırarak hasta yönetiminin optimal yapılmasını sağlayacak şekilde bir dizi morfolojik parametreyi barındırmalıdır.

Yaş- Cinsiyet: Önemli klinik prognostik belirteçlerdir. Yaşlı olgularda, gençlere göre; erkek olgularda kadınlara göre daha kötü bir seyir izlenir. Cinsiyetler arasındaki farklılık, primer tümör lokalizasyonu ve tümör kalınlığından bağımsızdır (32,109-111).

Primer tümörün lokalizasyonu: Sırt, üst ekstremitte proksimali, boyun ve saçlı deri yüksek riskli olarak belirlenmiş lokalizasyonlardır (112). Bunun yanı sıra akral bölgelerin de kötü prognozla ilişkili olduğu bilinmektedir (113).

Breslow tümör kalınlığı: İlk olarak Dr. Alexander Breslow tarafından tanımlanan yönergelerle göre ölçülen tümör kalınlığı (114), TNM evrelemesine göre kutanöz MM'lerdeki T kategorisinin primer belirleyicisidir. Tümör kalınlığı ölçümü epidermin granüler tabakasının en yüzeysel kısmından, adneksiyel yapılardan uzak en derin invaziv hücreye doğru vertikal olarak yapılır. Periadneksiyel yayılımın önemi henüz net olarak aydınlatılamamıştır. Eğer periadneksiyel yayılım Breslow kalınlığını aşıyor ise bu durumun raporlamada ayrı bir yorum olarak belirtilmesini ve hatta belki de ayrı bir evrelendirme sistemi geliştirilmesi gerektiğini savunan yayınlar bulunmaktadır (115). Polipoid tümörler de benzer şekilde değerlendirilmelidir, tümörün en kalın olduğu alandan ölçüm yapılmalıdır. Dermal komponentin bütün yüzeyi ülser görünümde ise ülser tabanı yüzeydeki başlangıç noktası olarak alınır. Ölçüm 0,1 mm hassasiyetle ve kalibre bir oküler (kompüterize, oküler mikrometre vb.) ile yapılmalıdır. Eğer tümör spesimenin en alt sınırını geçiyor ise "en az ...mm" olarak yorum yapılmalıdır. AJCC 2017, 8. baskıda T1 kategorisindeki alt

tiplendirmede 1,00 mm eşik değeri 0,8 mm olarak güncellenmiş olup, diğer kategorilerde değişiklik yapılmamıştır (107).

Primer tümör ülserasyonu: Kutanöz MM'lerde evrelendirmede T kategorisinin ikinci önemli belirleyicisidir (107). Ülser varlığı pT evresini "T1a-4a"dan "T1b-4b"ye değiştirir, bu nedenle ülserasyon durumu mikroskopik incelemeyle doğrulanmalıdır. MM'de ülserasyon, stratum korneumun ve dermoepidermal bileşkedeki bazal membranın ortadan kalkması, fibrin ve nötrofil birikimi gibi reaktif değişikliklerin varlığı ile çevre epidermiste, travma ya da bir prosedüre bağlı olmadan incelleme, ortadan kalkma ya da reaktif hiperplazi görülmesi olarak tanımlanır. Daha önceden biyopsi yapılan bir lezyonun değerlendirilmesinde ayrıca dikkatli olunmalıdır. Bu gibi olgularda ülserasyon, önceki işlemin bir sonucu olabilir (107).

Ülserasyon, metastatik hastalık gelişiminde yüksek risk ile ilişkilidir (116). Evre I ve II hastalarda ülserasyon varlığında 10 yıllık sağkalım oranı %50 iken, ülserasyon bulunmadığında bu oran %78 civarındadır (117).

Mitoz sayısı: Kutanöz MM'ler için önemli bir prognostik parametredir. Sayım için "en yoğun alan (hot spot)" yöntemi kullanılır ve milimetrekare başına düşen dermal mitoz sayısı "mitoz/mm²" olarak rapor edilir. En yoğun alan tespit edilememişse ve mitozlar lezyonda gelişigüzel saçılmışsa temsilen bir mitoz seçilir ve onun 1mm²'lik komşu alanları boyunca sayım yapılır. Uygun ölçümü sağlayabilmek için mikroskobun kalibrasyonu önemlidir. Dermal mitoz yok ise sayı mm²'de 0 mitoz olarak raporlanmalıdır. AJCC 2010, 7.baskıya göre tek bir dermal mitozun varlığı lezyonu T1a'dan T1b'ye yükseltirken (118), AJCC 2017, 8.baskıya göre mitotik oran T evrelemesinde belirleyici faktör olmaktan çıkarılmıştır. Yine de prognozu belirlemede önemli bir faktör olarak değerlendirilmesi önerilmektedir (107).

Literatürde mitoz sayısı ≥ 6 olgularda metastaz riskinin, mitozu olmayan olgulara göre 12 kat fazla olduğu bildirilmiştir (119). Dermiste mitoz varlığı yalnızca sağkalım açısından değil, sentinel lenf nodu pozitifliğini öngörme açısından da önemlidir (120,121).

İnvazyon düzeyi: Dr. Wallace Clark tarafından tanımlanmış (89), ve 40 yıldan uzun süredir çeşitli melanom evreleme sistemlerinde kullanılan anatomik tümör invazyon düzeyleri şu şekilde değerlendirilir:

- Clark I: Melanom hücreleri epidermise sınırlıdır (melanoma in situ)
- Clark II: Melanom hücreleri papiller dermise girmiş, ancak papiller dermisi doldurmamış ve genişletmemiştir (düzey II melanomların bir kısmı tümörjenik kabul edilmezler).
- Clark III: Melanom hücreleri papiller dermisi doldurmuş ve genişletmiştir. Tümör papiller-retiküler dermal alana doğru uzanım gösterir. Papiller dermisi genişletmiş ancak doldurmamış görünümdeki polipoid lezyonlar düzey III olarak sınıflandırılmalıdır.
- Clark IV: Melanom hücreleri retiküler dermise infiltridir.
- Clark V: Melanom hücreleri subkutan dokuya infiltridir.

Clark invazyon düzeyi tek değişkenli analizlerde prognostik olarak anlamlı bulunmakla birlikte, çeşitli çalışmalarda değerlendirmenin gözlemciler tarafından tekrarlanabilirliğinin ("*interobserver* ve *intraobserver*") düşük olması nedeniyle, prognoz tayininde tümör kalınlığı kadar başarılı bir parametre kabul edilmemektedir (122). Clark invazyon düzeyi AJCC 2017, 8.baskıda evrelemede kullanılmamakla birlikte, primer tümör karakteristiklerini bildirme açısından değerlendirilmesi önerilmektedir (AJCC kanıt düzeyi I) (107).

Regresyon: Benign, atipik veya malign lezyonlarda görülebilen regresyon fenomeni, melanositik proliferasyonun veya lezyonun bir kısmının immun cevap aracılığıyla kaybolmasını ifade eder. İlk kez Clark ve ark. tarafından tanımlanmıştır (87,119). Tümör kalınlığından bağımsız metastaz olasılığını arttıran önemli bir prognostik faktördür. Histolojik olarak atrofik epidermis (retelerin kaybı) ve bu epidermis altında fibroplazi, neovaskülarizasyon/vasküler ektazi, kronik yangısal hücre infiltrasyonu ve/veya melanofajlar gibi reaktif stromal değişiklikler içeren, canlı tümör bulundurmayan lezyon alanı olarak tanımlanır. Genellikle bu alan, tümör ile yanyanadır. Tüm tümörün reaktif değişikliklerden oluşan, çok sayıda melanofaj içeren bir plak veya nodül ile yer değiştirdiği durumlar da gözlenebilmektedir. Bazı çalışmalarda regresyonun prognostik değerinin tartışmalı olduğu ileri

sürülmekle birlikte kötü prognozla ilişkili olduğunu öngören çalışmalar da bulunmaktadır. Tümörde >%75 regresyon varlığının metastaz habercisi olabileceği bildirilmektedir (123).

Tümörü infiltrate eden lenfositler (TİL): MM'lerin rutin histolojik incelemesinde tümör hücrelerinin lenfositlerce infiltrate edildiği ve kısmen çevrelendiği (lenfosit rozetleri) görülebilmektedir. Ön çalışmalarda (89), tümörü infiltrate eden lenfosit popülasyonu varlığının vertikal büyüme fazında olan tümörlerde prognostik önemi olduğuna dair veriler elde edilmiştir. TİL tümör adalarını infiltrate eden ve onlarla iç içe görünümdeki ya da tümör hücreleri ile doğrudan temas halinde bulunan lenfositlerin varlığı şeklinde tanımlanır. TİL değerlendirmesi için lenfositlerin vertikal büyüme fazındaki tümörü çepeçevre sarmaları ve infiltrate etmeleri gerekmektedir.

TİL derecelendirmesi semikantitatif bir yöntem ile yapılır (123):

- TİL yok (*absent*): Lenfositler yok veya lenfositler var fakat tümörü infiltrate etmiyor.
- TİL var, belirgin olmayan (*nonbrisk*): Lenfositler tümörü fokal olarak infiltrate ediyor ve vertikal büyüme fazı bazalinde kalıyor (izole, multifokal ya da segmental).
- TİL var, belirgin (*brisk*): Lenfositler vertikal büyüme fazının bazalini diffüz olarak infiltrate ediyor veya tümörün invaziv komponentine giriyor.

Güncel bir çalışmada lenfositik infiltrat yoğunluğunun sentinel lenf nodu durumunun ve sağkalımın bağımsız bir belirteci olduğu bulunmuştur (124). İmmün sistem, tümör rejeksiyonunda kritik bir role sahiptir ve T lenfositler, etkili bir tümör immün yanıtın gelişmesinde en önemli hücrelerdir. Bu nedenle, tümürlü olgularda pek çok immün tedavi modeli, T hücre yanıtının aktivasyonuna odaklanmaktadır. Tümördeki bariz (diffüz) bir lenfosit infiltrasyon paterni varlığının, konak yanıtının tamamen yokluğundan daha iyi bir sonuca götürdüğü bilinmektedir. Konak yanıtı bariz olmayan (kısmi) olgular intermediyer bir prognoza sahiptir (125). Bir MM'deki TİL varlığının ve dağılımının tariflenmesi, yalnızca prognozu tahmin etmek için değil, aynı zamanda da muhtemel immunoterapiye rehberlik edecek bir temel olması açısından faydalı bilgiler sağlar (AJCC kanıt düzeyi III) (107).

Lenfovasküler invazyon: Kan damarı ve/veya lenfatik damar lümeni içerisinde melanom hücrelerinin varlığı olarak tanımlanır. Damar tutulumu gerçek lüminal invazyon, damar duvarı tutulumu ve tümör hücrelerinin perivasküler göçü olarak görülebilir. LVİ MM'lerde çok sık görülmemekle birlikte varlığının kötü prognozla ilişkili olduğunu bildiren yayınlar bulunmaktadır (126,127). Metastaz için bağımsız bir göstergedir (87). LVİ varlığı/yokluğu primer tümör karakteristiklerini tanımlama açısından raporda belirtilmelidir (AJCC kanıt düzeyi III) (107).

Nörotropizm: Nörotropik ve/veya dezmoplastik melanomlarda, özellikle rezeksiyon sınırı 1,0 cm'den az olduğunda, nüksü tahmin etmede önemlidir (88,123). Nörotropizm varlığı/yokluğu primer tümör karakteristiklerini tanımlama açısından raporda belirtilmelidir (AJCC kanıt düzeyi III) (107).

Mikrosatellit, satellit ve in-transit metastazlar: Mikrosatellit, satellit ya da in-transit metastaz varlığı/yokluğu N kategorisini değerlendirmede yardımcıdır. Bunların intralenfatik metastaz ya da muhtemel anjiotropik tümör yayılımına bağlı görülen lezyonlar oldukları düşünülmektedir (87). Mikrosatellitler, ana tümörden bağımsız, 0,05 mm'den büyük ayrı bir grup ya da melanom hücresi yuvası olarak tanımlanır ve en az 0,3 mm'lik bir normal dermis ya da subkutan doku mesafesi ile ana tümör kitlesinden ayrılırlar (128). Ancak aradaki normal deri alanında regresyonu düşündürecek fibrozis ya da yangısal yanıt gibi reaktif değişiklikler bulunmamalıdır. Tümör metastazı için belirleyici ve kötü prognozla ilişkili oldukları düşünülmektedir (107,128).

Satellit metastazlar, makroskopik olarak görülebilen ve/veya primer tümörün 2 cm'lik çevre alanında izlenen subkutan metastazlar olarak tanımlanır (107).

In-transit metastazlar ise, primer MM'ye 2 cm'den daha uzak, lezyon ile bölgesel lenf nodu çevresine uyan alandaki dermis ve subkutan yağ doku yerleşimli intralenfatik tümörler olarak tanımlanır (107,123). Mikrosatellit, satellit ve/veya in-transit metastaz N1c, N2c ya da N3c olarak sınıflandırılır. Bölgesel lenf nodu tutulumunun bulunmadığı, mikrosatellit, satellit ve/veya in-transit metastaz görülen grup N1c olarak kategorize edilirken, 1 bölgesel lenf nodu tutulumu varlığı N2c, 2 ya da daha fazla bölgesel lenf nodu tutulumu

varlığı N3c olarak raporlanır (107). Klinik ya da mikroskopik olarak satelit ya da in-transit metastaz varlığının gösterilmesi görece kötü bir prognoza işaret eder (129,130).

Sentinel lenf nodu tutulumu ve bölgesel lenf nodu tutulumu:

Sentinel lenf nodu primer tümörün lenfatığının ilk drene olduğu lenf nodu olarak tanımlanır, bazı tümörlerde birden fazla sentinel lenf nodu bulunabilir. Sentinel lenf nodunda metastaz görülmez ise diğer lenf nodlarında da büyük ihtimalle tümör bulunmayacağı varsayılır. Metastatik lenf nodu sayısı ve boyutu raporda yer almalıdır.

MM'de mikroskopik olarak sentinel lenf nodu tümör yükünü belirlemede kullanılmak üzere kesinleşmiş bir eşik değer ya da ölçüm tekniği tanımlanmamıştır. Malign hücre infiltrasyonunun varlığı, tümör pozitif lenf nodu olarak raporlanırken metastatik tümör depozitinin en büyük boyutu ya da subkapsüler derinliğinin de belirtilmesi önerilmektedir.

AJCC 2017, 8.baskıda yapılan güncellemelere göre N kategorisi değerlendirilirken mikroskopik ve makroskopik metastaz terimleri yerine "klinik olarak okült" (sentinel lenf nodu biyopsisi ile karar verilen, nodal metastazlı klinik evre I-II) ve "klinik olarak saptanan" bölgesel nodal hastalık (klinik evre III) tanımlamaları getirilmiştir.

Lenf nodlarında bulunabilen benign nevüs hücreleri (benign nevüs rest cells) ile MM metastazının ayrımı yapılarak yanlış pozitifliklerden kaçınılmalıdır.

Tümörün lenf nodu kapsülü dışına çıkarak komşu dokuları infiltre etmesi ektranodal yayılım olarak tanımlanır. Ekstranodal yayılım sentinel lenf nodu örneklemelerinde de görülebilmektedir. Prognozu kötü etkileyen parametrelerdendir (107).

Serum LDH düzeyi: Evrelemeye serum faktörlerinin dahil edilmesi pek rastlanmayan bir durum olsa da AJCC 2010, 7.baskı ile M kategorisine eklenen ve 8.baskıda da güncelliğini koruyan yüksek serum LDH düzeyi, sağkalım için bağımsız prediktörlerden biri olarak kabul edilmektedir. Sistemik ilaç tedavisi (ipilimumab, anti-PD1 tedavisi gibi) alan ileri evre MM hastalarında

tedaviye yanıt, progresyonsuz sağkalım ve toplam sağkalım gibi parametrelere etkisi bulunmaktadır (107).

EVRELEME

AJCC'ye göre "T" daha önce tedavi almamış, primer tümörü ifade etmektedir. "p" sembolü TNM evrelemede patolojik evrelemeyi ifade eder ve cerrahi olarak çıkarılmış spesimende makroskopik ve mikroskopik inceleme ile yapılır. TNM evrelemede tam ve doğru bir şekilde yapılabilmesi için ana primer rezeksiyon spesimeni ve bölgesel lenf nodlarının disseksiyon spesimenleri ile uzak metastazın doğrulanabilmesi için o dokuya ait patolojik spesimesimenin incelenmesi gerekir. Kutanöz MM'ler için T kategorisini belirlerken primer tümörün kalınlığı ve ülserasyon varlığına bakılır.

TNM evrelemesi aşağıdaki şekilde yapılmaktadır (107):

Tablo 3 Primer tümör (pT) durumu

pTX	Primer tümörün kalınlığı değerlendirilemiyor (küretaj, shave biyopsi veya regrese melanom gibi).
pT0	Primer tümöre dair kanıt bulunmuyor (bilinmeyen primer ya da tam regresyon gösteren melanom)
pTis	Melanoma in situ
pT1	≤ 1 mm melanomlar, ülserasyon durumu bilinmiyor/belirtilmemiş
pT1a	< 0,8 mm, ülserasyon yok
pT1b	< 0,8 mm, ülserasyon var
	0,8 mm – 1 mm ülserasyon var ya da yok
pT2	> 1-2 mm melanomlar, ülserasyon durumu bilinmiyor/belirtilmemiş
pT2a	> 1 mm - 2 mm, ülserasyon yok
pT2b	> 1 mm - 2 mm, ülserasyon var
pT3	>2 mm - 4 mm melanomlar, ülserasyon durumu bilinmiyor/belirtilmemiş
pT3a	> 2 mm - 4 mm, ülserasyon yok
pT3b	> 2 mm - 4 mm, ülserasyon var
pT4	>4 mm melanomlar, ülserasyon durumu bilinmiyor/belirtilmemiş
pT4a	> 4 mm, ülserasyon yok
pT4b	> 4 mm, ülserasyon var

Tablo 4. Bölgesel lenf nodlarının (pN) durumu

pNX	Bölgesel lenf nodu belirlenemiyor (Sentinel lenf nodu biyopsisi yapılmamış, bölgesel lenf nodları öncesinde başka bir nedenle çıkarılmış).
pN0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
pN1	1 adet bölgesel lenf nodunda metastaz var
pN1a	1 adet klinik olarak okült (sentinel lenf nodu biyopsisi ile saptanmış lenf nodu gibi)
pN1b	1 adet klinik olarak saptanan nodal metastaz
pN1c	Bölgesel lenf nodu metastazı yok; mikrosatellit, satellit ya da "in-transit" metastaz var
pN2	2-3 adet bölgesel lenf nodunda metastaz var
pN2a	2-3 adet klinik olarak okült (sentinel lenf nodu biyopsisi ile saptanmış lenf nodu gibi)
pN2b	2-3 adet klinik olarak saptanan nodal metastaz (en az 1'i klinik olarak saptanan)
pN2c	1 adet klinik olarak okült ya da klinik olarak saptanan lenf noduna ek olarak mikrosatellit, satellit ya da "in-transit" metastaz var
pN3	4 ya da daha fazla adet bölgesel lenf nodunda metastaz var
pN3a	4 ya da daha fazla klinik olarak okült (sentinel lenf nodu biyopsisi ile saptanmış lenf nodu gibi)
pN3b	4 ya da daha fazla klinik olarak saptanan nodal metastaz (en az 1'i klinik olarak saptanan ya da konglomere lenf nodu varlığı)
pN3c	2 ya da daha fazla klinik olarak okült ya da klinik olarak saptanan lenf noduna ek olarak mikrosatellit, satellit ya da "in-transit" metastaz var
İstisna: pT1 melanomlar için N kategorisi kullanımı gerekmemekte olup, "cN" olarak kullanılır.	

Tablo 5. Uzak metastaz (pM) durumu

pM0	Uzak metastaza ait kanıt yok, LDH düzeyi kriteri uygulanmaz.	
pM1	Uzak metastaz var	
pM1a	Deri, kas da dahil olmak üzere yumuşak doku metastazı ve/veya bölgesel olmayan lenf noduna metastaz varlığı	
	pM1a(0)	Serum LDH düzeyi yükselmemiş
	pM1a(1)	Serum LDH düzeyi yüksek
pM1b	M1a bölgeleri eşlik ederek/etmeden akciğere metastaz varlığı	
	pM1b(0)	Serum LDH düzeyi yükselmemiş
	pM1b(1)	Serum LDH düzeyi yüksek
pM1c	M1a ya da M1b bölgeleri eşlik ederek/etmeden santral sinir sistemi (SSS) dışı visceral organlara metastaz	
	pM1c(0)	Serum LDH düzeyi yükselmemiş
	pM1c(1)	Serum LDH düzeyi yüksek
pM1d	M1a, M1b ya da M1c bölgeleri eşlik ederek/etmeden SSS'e metastaz varlığı	
	pM1d(0)	Serum LDH düzeyi yükselmemiş
	pM1d(1)	Serum LDH düzeyi yüksek

Tablo 6. Kutanöz melanomda patolojik ve klinik evreleme (107)

Patolojik Evreleme		Klinik Evreleme	
Evre 0	Tis N0 M0	Evre 0	Tis N0 M0
Evre IA	T1a N0 M0	Evre IA	T1a N0 M0
	T1b N0 M0	Evre IB	T1b N0 M0
Evre IB	T2a N0 M0		T2a N0 M0
Evre IIA	T2b N0 M0	Evre IIA	T2b N0 M0
	T3a N0 M0		T3a N0 M0
Evre IIB	T3b N0 M0	Evre IIB	T3b N0 M0
	T4a N0 M0		T4a N0 M0
Evre IIC	T4b N0 M0	Evre IIC	T4b N0 M0
Evre IIIA	T1a/b-T2a N1a, N2a M0	Evre III	Herhangi bir T, Tis \geq N1 M0
Evre IIIB	T0 N1b, N1c M0	Evre IV	Herhangi bir T ve N M1
	T0 N2b, N2c, N3b, N3c M0		
	T1a/b-T2a N1b/c, N2b M0		
	T2b/T3a N1a-N2b M0		
Evre IIIC	T1a-T3a N2c, N3a/b/c M0		
	T3b/T4a \geq N1 (herhangi biri) M0		
	T4b N1a-N2c M0		
Evre IIID	T4b N3a/b/c M0		
Evre IV	Herhangi bir T, Tis ve N M1		

MELANOMDA KIL FOLLİKÜLÜ TUTULUMU

Bilinen prognostik parametrelere ek olarak, son yıllarda literatürde folliküler melanom, follikülotropik melanom gibi kavramların ortaya atılması melanomlardaki kıl follikülü tutulumu (F) durumunun da önemli bir prognostik

belirteç olabileceği görüşünün önem kazanmasına yol açmıştır. Ancak literatürde bu konudaki çalışmalar oldukça az sayıdadır ve elde edilen kısıtlı veriler ile prognozdeki önemi ortaya konamamıştır. Güncel kılavuzlarda (AJCC, CAP) evrelemede Breslow kalınlığı belirlenirken, tümör kalınlığı ölçümünde F durumu göz önüne alınmamaktadır. Oysa, atipik melanositlerin kıl follikül infundibulumuna dek kıl follikülü epiteli boyunca uzanımı, MM olgularında izlenebilen ve çok da nadir olmayan bir durumdur.

Daha öncesinde konuya ilişkin nadir yayınlar bulunsa da (131) ilk kez Hantschke ve arkadaşları, baş-boyun bölgesi yerleşimli, yaşları 61-82 arasında değişen 5 olguda “folliküler malign melanom” kavramını ortaya atarak konunun önemine dikkati çekmiştir ve bunu benzer olgu sunumları izlemiştir (132-136). LMM gibi aktinik hasara açık deri bölgelerinde görülen folliküler malign melanom, MM'nin nadir bir varyantıdır. Folliküler malign melanom, derin yerleşmiş follikülde, atipik melanositlerin folliküler kök kılıfı epiteli boyunca aşağıya doğru uzanımı ile karakterizedir. Tanım olarak, tutulu follikülün her iki lateralinde izlenen sekonder epidermal yayılımın uzunluğu, folliküldeki tutulumun derinliğini aşmamalıdır. Atipik melanositler follikül yapısının iç ve aşağı bölgelerine kadar yayılır, yuvalanmalar oluşturabilir, buna ek olarak komşu dermis, sebase bezlerin bir kısmına da yayılım olabilir. Bu lezyonlar genellikle 0,5 cm'den küçüktür ve klinik olarak melanomun ABCD kriterlerine uymayabilir. LMM'ye daha hızlı progresse olur ve daha erken (9 ay-1,5 yılda) invaziv karakteristikler kazanırlar. Olgu sunumları ile “folliküler malign melanom, metastatik varyant” (137), “metastatik follikülotropik malign melanom” gibi kavramlar literatüre eklenmiş, MM'deki kıl follikülü tutulumunu tanımlamak üzere kullanılan terimlerde çeşitlilik ortaya çıkmıştır (138-140).

Literatürde MM'de F durumunu ele alan olguların sayılarındaki artış ve bu tümörlerle ilgili daha çok verinin birikmesi, bu özelliğin tümörlerin biyolojik davranışları etkisinin olabileceği görüşünü desteklemiş ve F genellikle ince melanomlardaki beklenmedik agresif davranışı açıklayacak bir bulgu olarak görülmüştür (131-140).

Kıl follikülü tutulumunu immunohistokimyasal değerlendirmeye ele alan çalışma yok denecek kadar azdır (141).

İMMUNOHİSTOKİMYASAL BELİRTEÇLER

SİTOKERATİN 15

İntermediyer filaman (IF) proteinleri olan sitokeratinler, bir protein süper ailesi olup, sitokeratin 15 (CK15) bu ailenin en asidik keratin IF'larından (142).

Deride kıl folliküllerinin bulge kısmında yerleşen kök hücreler CK15 pozitifdir. Daha önce kutanöz kök hücre belirteçlerinden biri olarak tanımlanan sitokeratin 19 (CK19)'a ek olarak CK19'un yetersiz kaldığı daha andiferan durumdaki hücrelerde de CK15'in boyandığı bildirilmiştir (143).

Epidermin bazal tabakası, sitokeratin 5 (CK5) ve sitokeratin 14 (CK14) yanı sıra CK15 eksprese eder. Normal stratifiye epitelde, CK5/CK14 ve CK15 ekspresyonu proliferan olan bazal keratinositlere sınırlı olup, bu hücreler terminal diferansiyasyon gösterip yüzeye doğru yönlendiklerinde ekspresyon kaybı izlenir (144). Bazal tabakadaki CK15 ekspresyonu, çoğunlukla yamalı biçimde olup derin rete uçlarındaki hücreler güçlü CK15 pozitifliği gösterirken, dermal papillayı örtenlerde boyanma düşüktür ya da izlenmez. Neonatal insan derisinde ve genç epidermiste (~1,5 yaş), ekspresyon bazal tabaka boyuncadır, bu da CK15'in epidermis gelişiminde rolü bulunduğuna işaret eder. Mukozal çok katlı yassı epitelde (oral mukoza gibi) CK15 ekspresyonu bazalde süreklilik gösterir (145,146).

CK15 yalnızca kök hücre komponentinde değil, diferansiyasyon gösteren bir kısım hücrede de eksprese edilmekte olup keratinositlerin değişik koşullar altında (örneğin bir transkripsiyon faktörü olan "Human Forkhead Box M1" (FOXM1) aktivasyonu ile) CK15 ekspresyon kapasitesi kazanabildiklerine dair veriler bulunmaktadır (147,148).

CK15, epidermin bazal tabakası yanı sıra kıl follikülünün dış kök kılıfında ve ekrin bezlerde de ekspresyon gösterir (149). Bunun yanında, kıl follikülü bulge bölgesindeki, embriyonik kök hücre belirteci eksprese eden nöral krest benzeri multipotent kök hücrelerin de CK15 ile boyanabildiklerini gösterilmiştir (150).

CK15'in ekspresyon paterni, keratinosit diferansiyasyonun erken basamaklarını düzenleyici bir rolü olduğuna, hücrenin diferansiyasyonunun epidermal ya da kıl follikülü yönünde gelişimi etkilediğine işaret etmektedir (151,152).

Çeşitli yayınlarda CK15'in MM dışı kutanöz malignitelerden folliküler kökenli neoplazilerde eksprese edildiği bildirilmiştir. BCC'ların bir kısmında (yaklaşık %30) gözlenirken, mikrokistik adneksiyal karsinom ve desmoplastik trikoepitelyom, trişilemmom gibi lezyonlarda CK15 pozitifliği gözlenebilmektedir (153-155). SCC'lerde CK15 pozitifliği oldukça nadir olmasına karşın (75,151), aktinik keratozis, SCC in situ ve bowenoid papülozis gibi öncü lezyonlarda görülebilmektedir (156).

CK15'in keratinosit diferansiyasyonun erken basamaklarını düzenleyici bir rolü olduğuna, hücrenin diferansiyasyonunun epidermal ya da kıl follikülü yönünde gelişimini etkilemesine yönelik rolleri açısından tartışmalar sürerken, bulge bölgesi yerleşimli CK15 (+) hücrelerin kıl follikülünde fiziksel bir bariyer oluşturup oluşturmadığı da üzerinde önemle durulan bir araştırma konusudur (157,158).

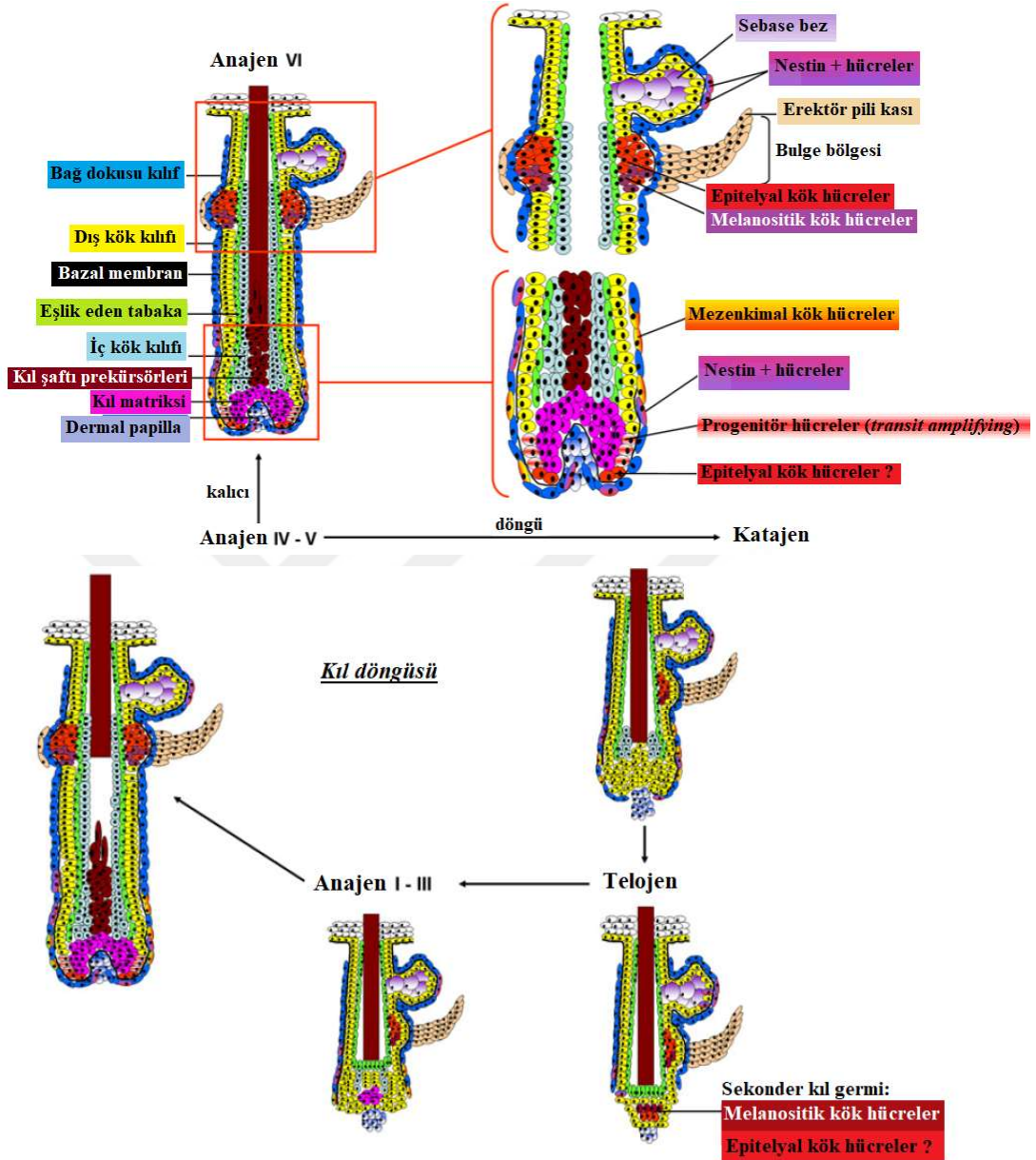
NESTİN

Santral sinir sistemindeki nöral progenitör hücreler için bir belirteç olduğu bilinen nestin (159), nöroepitelyal hücrelerin sitoplazmasında eksprese edilen, tip VI intermediyer filaman proteindir (149,152,155). Fare kıl folliküllerinin bulge bölgesinde, nöral krest kökenli nestin (+) kök hücrelerin varlığı tanımlanmıştır (160,161). Bulge bölgesindeki bu nöral krest kök hücreleri CK15 (-), CD34 (+) olup, homeostatik durumlarda keratinosit kompartmanına katkıları yoktur, ancak kıl follikülü gelişiminde kan damarı oluşumunu arttıırırlar. İn vitro koşullarda keratinositlere, nöronlara melanositlere, glial hücrelere, düz kas hücrelerine ve adipositlere diferansiye olabildikleri gösterilmiştir (160-162). Bu özellikleri nestin ekprese eden pluripotent kök hücrelerin görece andiferansiye bir durumda olduklarını düşündürür. Benzer nestin (+) kök hücrelerin varlığı folliküler bulge bölgesi ve bağ doku kılıfına ek olarak, insan ter bezlerinde ve interfolliküler dermiste az sayıda, gelişigüzel saçılmış halde

gözlenmiştir (151). Nestin (+) kıl follikülü kök hücreleri dış kök kılıfı hücrelerine köken oluşturur. Erken embriyolojik dönemde dermiste, doğumdan sonra ise kıl folliküllerinde eksprese edilir (163).

Normal insan derisinde epidermal bazal tabaka hücreleri nestin (-), CD34(-), CK15 (+)'tir. Sebace bezler altında kalan kıl follikülü hücreleri, buldukları kıl seviyesine göre nestin, CK15 ve CD34 ile değişken boyanmalar göstermektedir. Kıl döngüsünde geç anajen fazda nestin ekspresyonunu saptamak genellikle güç olsa da, nestin eksprese eden hücreler, bulge bölgesinin hemen üst kısmında, sebace bezlerin başlangıç yerinin hemen altında kalan, erekteör pili kasının insersiyon bölgesine yakın, erken ve mid anajen faz kıl folliküllerinde kolaylıkla izlenebilir (164). Bu bölgedeki nestin (+) hücrelerin CK15 (-) oldukları bildirilmiştir. Follikülün bulge bölgesi üzerinde kalan bu nestin (+), CK15 (-) kıl follikülü hücrelerinin yara iyileşmesi sırasında değişik hücre tiplerine diferansiye olabildiği (nöronlar, glial hücreler, keratinositler, düz kas hücreleri, melanositler) gözlenmiştir (150,160-166). Nestin (-) CK15(+) hücrelerin ise yalnızca keratinositler için progenitör hücreler oldukları düşünülmektedir (164). Ek olarak nestin (+)'liği bulbusta, mezenkim kökenli dermal papilla ile epitelyal kökenli matriks ve prekorteks kısımlarında izlenir. Dermal papilladaki nestin (+) kıl follikülü kök hücreleri yukarıya doğru ilerler ve dış kök kılıfı hücrelerini oluşturur. Daha sonra nestin (+) hücreler dermal papilladan, bulge bölgesinin hemen üzerindeki alana gelir, kıl follikülünün rejenerasyonunda da görev alır (167). Nestin (+) hücrelerin kıl follikülünde buldukları yerleşim Şekil 2'de gösterilmiştir.

Şekil 2. Kıl follikülünün yapısı, kök hücrelerin mikroanatomik yerleşimi ve kıl döngüsü (S. Tiede ve ark, 2007, Euro J Cell Biol 86:355-376.)



MM, kutanöz periferik sinir kılıfı tümörleri (malign periferik sinir kılıfı tümörü gibi) kutanöz maligniteler ile dermatofibrosarkoma protuberans gibi mezenkimal tümörlerde nestin ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir (168-170). Diğer kutanöz malignitelerden BCC'lerde nestin ekspresyonu gözlenmezken (151,155), SCC'lerin az bir kısmında nestin ekspresyonu görülebilmektedir. Bunun tümör hücrelerindeki kök hücre benzeri bir duruma dediferansiyasyonu yansıtır olabileceği düşünülmektedir (151) Trişilemmomlarda da nestin ekspresyonu gösterilmiştir (155).

MM'lerde eksprese edilen ve normalde nöral krest kök hücre ilişkili olduğu tanımlanan nestinin, melanom kök hücresi/başlatıcı hücre belirteci olabileceği ileri sürülmüştür. Ayrıca nestinin, matris metalloproteinazları üzerine etki ederek MM'nin invaziv karakterine katkıda bulunduğu düşünülmektedir (171).



GEREÇ VE YÖNTEM

Olgular:

Çalışmamızda Manisa Celal Bayar Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı arşivinde yer alan Ocak 2006-Mart 2018 arasında, eksizyonel deri biopsileriyle tanı almış 105 MM olgusu ele alındı. Akral melanom olguları çalışmaya dâhil edilmedi. Bu olgulara ait hematoksilen eozin (HE) boyalı preparatlar ile varsa Melan-A, HMB-45 ve S100 immunhistokimyasal boyalı preparatlar arşivden çıkarılarak, Dünya Sağlık Örgütü ve AJCC sınıflamasına göre olguların tanıları doğrulandı. Histolojik alt tipleri ve olgulara ait prognostik parametreler (Clark düzeyi, Breslow kalınlığı, ülserasyon, mitoz, regresyon, lenfosit yanıtı, nörotropizm, LVİ, satellit - in-transit metastazlar, lenf nodu durumu, uzak metastaz) kaydedildi. Lezyonlara ait klinik veriler (yaş, cins, lokalizasyon) ve lezyon çapı patoloji raporlarından ya da hastane kayıtlarından elde edildi.

Çalışmamızda kullanılan nestin ve CK15'in nonneoplastik deri yanı sıra benign melanositik lezyonlarda da boyanma göstermesi nedeniyle, MM olgularıyla boyanma paterni açısından karşılaştırmak amacıyla, olguların yaş grupları ve lezyon yerleşimlerine benzer seçilmiş kıl follikülü içeren 10 nonneoplastik deri örneği çalışmaya dahil edildi.

Yine malign lezyonlarla karşılaştırmak üzere, benign melanositik nevüsler çalışmada yer aldı. Ocak 2012 – Mart 2018 yılları arasında tanı almış 141 konjenital, kompond ve junctional nevüse ait HE preparatları değerlendirilerek, nevüs hücrelerinin kıl follikül epiteline ilerlediği 30 olgu seçildi. Olguların klinik özellikleri raporlardan elde edildi.

Kıl Follikülü Tutulumunun Değerlendirilmesi:

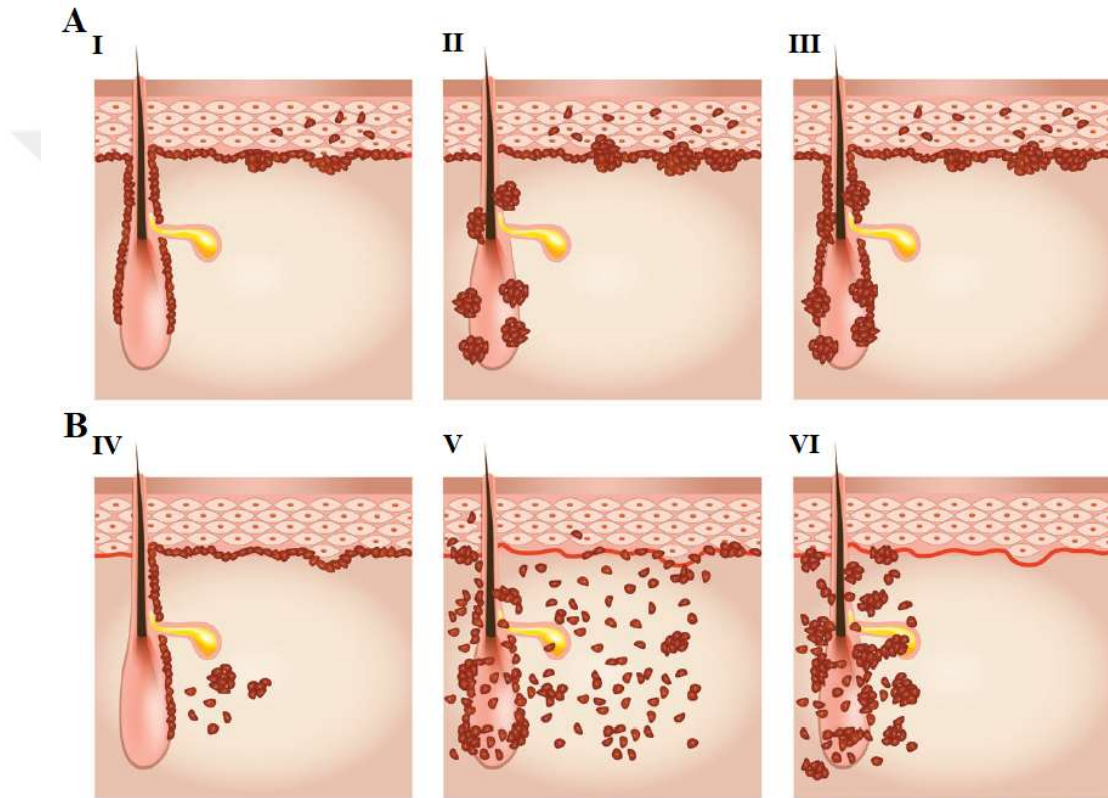
Lezyonlara ait tüm HE boyalı preparatlar iki patolog tarafından (P.T ve B.G.Ö.) önce ayrı ayrı ve uyumsuzluk yaşanan olgularda bir kez daha birlikte değerlendirildi.

Buna göre melanom ve nevüslerde

- I- Kıl follikülü tutulumunun olup olmadığı [F (+)/(-)],
- II- Var ise bunun yaygınlığı:
 - 1- Tek bir kıl follikülünde tutulum,
 - 2- Multipl follikül tutulumu,
 - 3- İzlenen kıl folliküllerinin tümünde tutulum,
- III- Tutulumun mikroanatomik düzeyi:
 - 1- İfundibulum,
 - 2- İsthmus,
 - 3- Bulbus
- IV- Tjarks ve ark tarafından önerilen (115) folliküler melanom sınıflamasına göre tutulum paterni (Şekil 3):
 - 1- in situ melanomlar için
 - lentiginöz (patern I),
 - nested (yuvalanma) (patern II)
 - lentiginöz + nested (patern III) tutulumla gidenler;
 - 2- invaziv melanomlar için
 - yaygın follikül tutulumu gösteren ve in situ melanomdan kaynaklanan melanom (patern IV)
 - follikülotropik melanom (epidermisten köken alan ve derine doğru ilerleyen, kıl folliküllerinde de belirgin ya da yaygın tutulum yapmış melanomlar) (patern V)
 - primer folliküler melanom (kıl follikülünden köken almış, minimal epidermal yayılımı bulunan, epidermal komponentin lateral yayılımının, kıl follikülü çevresindeki atipik melanositik tutulumun derinliğinden az olduğu melanomlar) (patern VI)

Ayrıca, invaziv melanom ve nevüslerdeki tutulumun da tutulum tipi (lentijinöz, nested ve lentijinöz+nested) olacak şekilde kaydedildi.

Şekil 3. Melanomda kıl follikülü tutulum paternleri (*Tjarks et al, 2017, J Cutan Pathol 2017;44:45-52.*) [A] İn situ melanomlarda follikül tutulum paternleri: lentijinöz (I), nested (II), lentijinöz+nested (III). B) İnvaziv melanomlarda follikül tutulum paternleri: İn situ melanomdan kaynaklanan melanomda yaygın follikül tutulumu (IV), follikülotropik (V), primer folliküler melanoma (VI).]



İmmunohistokimyasal Boyama:

Nestin ve CK15 ile boyanmak üzere lezyonu temsil eden F(+) MM olgularında, kıl follikülü tutulumunun en yaygın olduğu, baskın tutulum paterninin izlendiği preparatlara ait bir blok seçildi. F(-) MM olgulardan da, lezyon içerisinde ya da komşuluğunda kıl follikülü barındıran bir blok seçildi. F(-) MM olgularından, kesitlerinde kıl follikülü bulunmayan (tümörün ileri evre olması, lezyonun az kıl follikülü gözlenen anatomik bölgeden alınmış olması, alınan örneklerin

kesitlerine kıl follikül kesitinin denk gelmemesi gibi nedenlerle) olgular, immünohistokimyasal boyamada değerlendirme dışı bırakıldı.

Nestin ve CK15 immünohistokimyasal boyaları için F(+) 57 MM olgusundan, blokları bulunan 55'inin uygun bloklarına boyamalar yapıldı. F(-) 48 MM olgusundan yalnızca 19'unda, epiteli intakt kıl follikülü ile lezyon aynı kesitlerde izlenebilmekteydi. Bu 19 olgudan 3'üne ait blokların arşivde bulunmaması, 2 olguya ait kesitlerin ise teknik sorunlar nedeniyle değerlendirilememesi sonucunda kalan 14 olgu değerlendirmeye alındı.

Benign lezyonlar için F(+) liğinin saptandığı lezyon bloğu seçildi. Otuz nevüs olgusundan 2'sinin kesitlerinde tutulumun izlendiği follikül seviyesi kaybolduğu için bu olgular değerlendirme dışı bırakıldı. Kalan 28 olgu değerlendirmeye alındı.

Formalin ile tespitli ve parafine gömülü dokulardan elde edilen 4 mikron kalınlığındaki kesitler pozitif yüklü elektrostatik lamlara (Isotherm Technical Laboratory Glass Materials) alındı ve deparafinizasyon işlemi için 58°C'lik etüvde 4 saat tutuldu ve ardından barkodları basılarak çalışmaya hazır hale getirildi. Elde edilen tüm kesitler otomatik immünohistokimya boyama cihazlarına (BenchMark Ultra automated IHC/ISH slide staining system, Ventana Medical Systems; BenchMark XT automated IHC/ISH slide staining system, Ventana Medical Systems) yerleştirildi. İmmünohistokimya boyamaları için cihaz ile uyumlu immünohistokimyasal kit (Ultraview Universal AEC Detection Kit ve EZ prep, LCS, SSC, Cell Condition 1 (CC1), Reaction Buffer Concentrate solüsyonları ile Hematoksilen ve Blue Reagent) kullanıldı.

İmmünohistokimyasal boyama için konsantre rabbit monoklonal anti-human Nestin (Klon EP287, Epitomics-Abcam) ve konsantre rabbit monoklonal anti-human CK15 (Klon EP14, Epitomics-Abcam) antikörleri uygulandı.

Seçili olgu gruplarında [F(+) ve F(-) MM olguları, nevüs olguları, nonneoplastik deri örneği] her iki antikör için 1:700'lük dilüsyon ile CC1(EDTA) (64 dakika), inkübasyon (32 dakika), Hematoksilen (8 dakika), Blue reagent (4 dakika) uygulandı.

Otomatik boyama cihazında boyama işlemi tamamlandıktan sonra lamlar ılık deterjanlı su ile yıkanıp alkol serilerinden geçirildi. Şeffaflandırma işlemi için ksilolden geçirildi ve Entellan^R(Merck and Co. Berlin) ile kapatıldı.

Dokularda pozitif iç kontrol bulunması nedeniyle ayrıca pozitif kontrol kullanılmadı.

Melanin soldurma yöntemi

Yoğun melanin pigmenti içeren 22 olguya (1 nonneoplastik deri, 2 nevüs, F(+) 17 MM ve F(-) 2 MM olmak üzere toplam 19 MM olgusu). melanin soldurma işlemi uygulandı. Bunun için olgular sırasıyla 70⁰C'lik etüvde 1 saat ve ksilende 1 saat bekletildi. Kurutulduktan sonra %96'lık alkolde 10 dakika bekletilip suda yıkandı. İşlem için gerekli olan %0,25'lik potasyum permanganat (0,25 gr potasyum permanganat ve 100 ml distile su) ve %5'lik oksalik asit (5 gr oksalik asit ve 100 ml distile su) solüsyonları hazırlandı. Lamlar önce potasyum permanganat solüsyonunda 5 dakika bekletildikten sonra distile suda 1-2 dakika yıkandı. Daha sonra üzerlerine oksalik asit solüsyonu damlatılıp, pigment kayboluncaya/kesit berraklaşana kadar bekletildi (2-3 sn). Bu işlem sonrasında preparatlar akan distile su altında 5 dakika yıkandı. Hazırlanan preparatlar tam otomatik immunhistokimya cihazlarında, yukarıda tanımlandığı biçimde, 1:700 dilüsyon ile Nestin ve CK15 antikoru ile tekrar boyandı.

İmmunhistokimyasal sonuçların değerlendirilmesi:

Tüm değerlendirmeler standart ışık mikroskopunda iki araştırmacı tarafından (P.T. ve B.G.Ö.) yapıldı.

Nestin için endotelyal hücrelerin sitoplazmik boyanması, CK 15 için epidermin bazal tabakasındaki keratinositlerin, kıl follikülü bulge bölgesindeki keratinositlerin, ekrin bezlerin sekretuar hücrelerinin sitoplazmik boyanması ve kıl follikülünün dış kök kılıfı boyanması pozitif iç kontrol olarak kullanıldı.

Her iki belirteç ile sitoplazmik boyanma görüldü. CK15 ile tüm olgu gruplarında yaygın ve benzer bir boyanma görülmesi nedeniyle tanımlayıcı veriler kaydedildi, skorlama yapılmadı.

Nestin boyanması için ise boyanan hücre yüzdesi ve yoğunluğu göz önünde bulundurularak semikantitatif bir skorlama sistemi geliştirildi. Bu skorlamada

0: Lezyonun tamamen negatif olması ya da %5'ten az hücrede (zayıf ya da güçlü) boyanma varlığı

1: %90'dan fazla hücrede diffüz zayıf boyanma

2: %90'dan fazla hücrede diffüz güçlü boyanma

3: Heterojen boyanma (0, 1 ve 2 kategorisinde tanımlanan boyanma paternlerinden en az ikisinin birlikte görülmesi; ikinci komponentin en az %10 hücrede varlığının görülmesi kaydıyla)

İstatiksel değerlendirme:

Çalışma sonucunda elde edilen tüm verilerin istatiksel değerlendirmesinde kişisel bilgisayarda çalışan IBM SPSS (Statistical Package for Social Sciences) programının 20.0 versiyonu kullanıldı. Korelasyonun araştırılmasında Pearson ve Spearman korelasyon analizi, farklı serilerin anlamlılığının sınanmasında Kruskal-Wallis testi, Mann-Whitney U testi, ve Ki-kare testi kullanıldı. Sonuçlar $p < 0,05$ olduğunda istatiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya toplam 105 MM olgusu ile karşılaştırma amacıyla 30 F (+) benign melanositik nevüs ve kıl follikülü içeren 10 nonneoplastik deri örneği alındı. Nonneoplastik deri örneklerinin boyanma özellikleri, olgu grubuna referans olması açısından Resim 1,2'de gösterilmiştir.

F durumuna göre gruplandırılan melanomlardan 57'sinde (%54,3) kıl follikülü tutulumu bulunurken [F(+) MM olgular], 48'sinde (%45,7) kıl follikül tutulumu görülmedi [F(-) MM olgular].

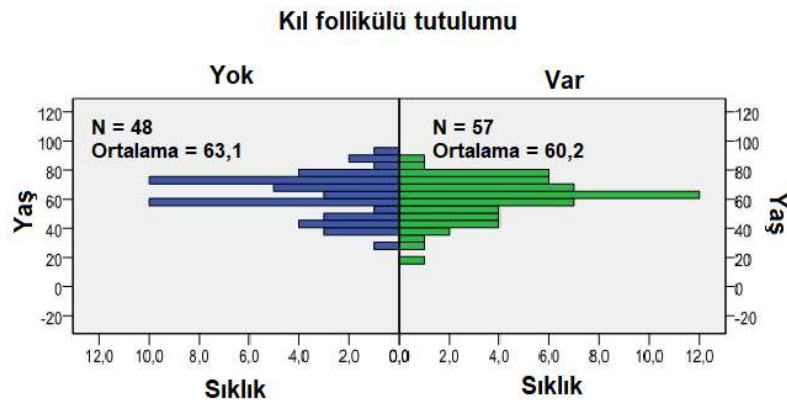
YAŞ VE CİNSİYET:

Yüz beş MM olgusunun 55'i kadın (%52,4), 50'si erkek (%47,6) idi. F(+) MM grubunda dağılım 30 erkek (%52,6), 27 kadın (%47,4) şeklinde iken, F(-) MM grubunun 20'si erkek (%41,7), 28'i kadındı (%58,3). Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

Tüm MM olgularının yaşları 18 ile 94 arasında değişmekte olup ortalama yaş 61,5 ($\pm 14,27$) idi, 40 yaş altı 8 olgu bulunmaktaydı. F(+) MM grubunda dağılım 18-87 yaş arasında değişmekteydi (ort. 60,2 \pm 13,91). F(-) MM grubunda dağılım 29-94 yaşlar arasındaydı (ort. 63,1 \pm 14,69). Gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$).

Olgulara ait yaş dağılımı Şekil 4'te gösterilmiştir.

Şekil 4. Melanom olgularının kıl follikül tutulumu varlığına göre yaş dağılımı



ÇAP:

Lezyon çapı bilinen 100 olguda en geniş boyut 0,26 cm ile 10 cm arasında değişmekte olup ortalama çap $1,85(\pm 1,43)$ cm idi. F(+) MM grubunda çap 0,5 cm ile 5 cm arasında değişirken (ort. $1,78 \pm 0,93$), F(-) MM grubunda 0,26 cm ile 10 cm arasında değişmekteydi (ort. $1,94 \pm 1,90$). Beş olguda lezyon çapı bilgisi bulunamadı. Gruplar arasında çap açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p > 0,05$).

LOKALİZASYON:

Yerleşimlerine göre dağılıma bakıldığında tüm MM lezyonlarının yaklaşık yarısının baş-boyun bölgesi ($n=57$, %54,3) yerleşimli olduğu görüldü. Gövde ön yüz %7,6 ($n=8$), gövde arka yüz %9,5 ($n=10$), üst ekstremité %10,5 ($n=11$), alt ekstremité %14,3 ($n=15$), saçlı deri %1,9 ($n=2$), yerleşimi bilinmeyenler %1,9 ($n=2$) oranındaydı (Tablo 7).

Tablo 7. Melanom olgularının yerleşimlere göre dağılımları

Lokalizasyon	F(-) MM Olgu sayısı (%)	F(+) MM Olgu sayısı(%)	Toplam Olgu sayısı
Baş-boyun	19 (%39,6)	38 (%66,7)	57
Gövde ön yüz	5 (%10,4)	3 (%5,3)	8
Gövde arka yüz	3 (%6,3)	7 (%12,3)	10
Üst ekstremité	6 (%12,5)	5 (%8,8)	11
Alt ekstremité	13 (%27,1)	2 (%3,5)	15
Skalp	1 (%2,1)	1 (%1,8)	2
Bilinmiyor	1 (%2,1)	1 (%1,8)	2
Toplam olgu sayısı	48	57	105

F(+) MM grubunda tümörlerin yerleşimlere göre dağılımı şöyleydi: Baş-boyun %66,7 ($n=38$), gövde ön yüz %5,3 ($n=3$), gövde arka yüz %12,3 ($n=7$), üst ekstremité %8,8 ($n=5$), alt ekstremité %3,5 ($n=2$), saçlı deri %1,8 ($n=1$), yerleşimi bilinmeyen %1,8 ($n=1$).

F(-) MM grubunda ise dağılım, baş-boyun %39,6 ($n=19$), gövde ön yüz %10,4 ($n=5$), gövde arka yüz %6,3 ($n=3$), üst ekstremité %12,5 ($n=6$), alt ekstremité %27,1 ($n=13$), saçlı deri %2,1 ($n=1$), yerleşimi bilinmeyen %2,1 ($n=1$) şeklindeydi.

Baş-boyun yerleşimli 57 olgunun 38'inde (%66,7) F(+), 19'unda (%33,3) F(-) idi.

Gruplar arası karşılaştırmada kıl follikülü tutulumunun daha çok baş-boyun yerleşimli olgularda izlendiği ve bunun F(-) MM grubuna göre istatistiksel olarak da anlamlı fark gösterdiği ($p=0,003$) saptandı.

HİSTOLOJİK ALT TİP

Olguların 21'i (%20) pür in situ MM, 22'si (%21) in situ komponenti olmayan invaziv MM idi. Kalan 62 olgu (%59) in situ ve invaziv komponenti bir arada içermekteydi. İnvaziv komponentin histolojik alt tiplere göre dağılımı, yüzeysel yayılan melanom %4,8 (n=5), nodüler melanom %7,6 (n=8), LMM %14,3 (n=15), MM-NOS %53,3 (n=56) şeklinde idi. İnvaziv komponente eşlik eden in situ komponent ve in situ lezyonlardaki histolojik alt tiplere bakıldığında, lezyonların yarıya yakınında in situ-NOS (%42,9, n=45) görülürken, spesifik alt tipler açısından dağılım; LM %22,9 (n=24), yüzeysel yayılan %13,3 (n=14) şeklindeydi.

F(+) MM grubunda, invaziv komponent histolojik alt tiplerin görülme oranları; MM-NOS %47,4 (n=27), LMM %21,1 (n=12), yüzeysel yayılan %5,8 (n=3), nodüler %3,5 (n=2), şeklindeydi. Görülen in situ alanların histolojik alt tiplere göre dağılımı ise in situ-NOS %40,4 (n=23), LM %33,3 (n=19), yüzeysel yayılan %17,5 (n=10) şeklindeydi. Tümörlerin yaklaşık dörtte biri pür in situ MM idi (%22,8, n=13). Beş olguda in situ komponent izlenmedi.

F(-) MM grubunda invaziv komponent içeren tümörlerin histolojik alt tiplere göre dağılımı; MM-NOS %60,4 (n=29), nodüler %12,5 (n=6), LMM %6,3 (n=3), yüzeysel yayılan %4,2 (n=2) şeklindeydi. Tümörlerde gözlenen in situ komponentin histolojik alt tiplere göre dağılımı ise in situ-NOS %45,9 (n=22), LM %10,4 (n=5), yüzeysel yayılan %8,3 (n=4) şeklindeydi. Bunlar içinde 8'i (%16,7) pür in situ MM, 17'si (%35,4) in situ komponent içermeyen invaziv MM idi.

İnvaziv ve in situ komponent histolojik alt tipleri açısından gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0,05$).

PROGNOSTİK PARAMETRELER

Çalışmada ele alınan prognostik parametreler ilişkin verilerin olgu gruplarına göre dağılımı Tablo 8'de topluca sunulmuştur.

Ülserasyon, 49 olguda (%46,7) izlenirken, 56 olguda (%53,3) görülmedi. F(+) MM grubunda olguların 24'inde (%42,1), F(-) MM grupta ise olguların 25 (%52,1)'inde ülserasyon bulunmaktaydı.

Breslow kalınlığı, tüm MM olguları incelendiğinde 0,06 mm ile 25 mm arasında değişmekteydi, ortalama Breslow kalınlığı 4,02 ($\pm 4,50$) mm olarak kaydedildi. Olguların yaklaşık %70'i Clark invazyon düzeyi IV (%53,3, n=56) ve Clark V (%17,1, n=18) olgulardan oluşmaktaydı. Sırasıyla Clark I, II ve III düzeyindeki olguların dağılımı 9 (%8,6), 10 (%9,5) ve 12 (%11,4) olarak saptandı.

F(+) MM grubunda kalınlık 0,06 mm ile 15 mm arasında değişmekteydi (ortalama $3,31 \pm 3,32$). Yarısında Clark invazyon düzeyi IV (%50,9, n=29) idi. Clark I 5 olgu(%8,8), Clark II 6 olgu(%10,5), Clark III 10 olgu (%17,5) ve Clark V 7 olgu (%12,3) saptandı.

F(-) MM grubunda ise lezyon kalınlığı 0,10 mm- 25 mm arasında değişmekteydi (ortalama $4,86 \pm 5,51$). Bu olguların da yaklaşık dörtte üçü ilerlemiş tümörler olup Clark düzeyi IV (%56,3, n=27) ve Clark düzeyi V (%22,9, n=11) idi. Clark I 4 olgu (%8,3), Clark II 4 olgu (%8,3) ve Clark III 2 olgu (%4,2) bulunmaktaydı.

Milimetrekaredeki mitoz sayısı 0 ile 28 arasında değişiyordu (ortalama $3,58 \pm 5,14$). F(+) MM grubunda bu sayı milimetrekarede 0 ile 17 arasında değişirken (ort. $2,77 \pm 3,92$), F(-) MM grubunda 0 ile 28 arasında değişmekteydi (ort. $4,54 \pm 6,20$).

Ülserasyon, tümör kalınlığı (Clark ve Breslow kalınlığı) ve mitotik oran açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p > 0,05$).

Olguların %85,7'inde (n=90) **regresyon** görülmedi. Kalan kısmında ise regresyon oranları değişkenlik gösteriyordu. Tümörlerin %12,4'ünde (n=13) lezyonun %50'sinden azında regresyon izlendi ve 10'u F(+) MM idi. Tümörlerin

%1,9'unda (n=2) %50'den fazla oranda regresyon görüldü. Bunlardan biri F(+) MM idi.

Nörotropizm yalnızca F(+) MM grubundaki 1 olguda izlendi.

Lenfovasküler invazyon varlığı 8 olguda (%7,6) kaydedildi, 97 olguda ise (%92,4) izlenmedi. Bu olguların 4'ü F(+) MM, 4'ü F(-) MM'lar idi.

Gruplarda nörotropizm, LVİ ve regresyon içeren yeterli sayıda olgu bulunmadığından bu parametrelere istatistiksel testler uygulanmadı.

Olgularımızda literatürde önerilen semikantitatif skorlama sistemine göre **TİL yoğunluğu** şu şekilde dağılmıştır: Tümörlerin 54'inde (%51,4) TİL bulunmazken, 28 olguda (%26,7) belirgin olmayan infiltrasyon (*nonbrisk*), 23 olguda (%21,9) belirgin (*brisk*) infiltrasyon görüldü. Bunların F(+) MM ve F(-) MM gruplarındaki dağılımı Tablo 8'de verilmiş olup, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p>0,05$).

Prekürsör lezyon varlığı 101 olguda (%96,2) izlenmezken, 3 olguda (%2,9) sıradan nevüs (2 'si F(+) MM, 1'i F(-) MM), 1 olguda (%1) displastik nevüs varlığı (F(+) MM) görüldü.

Yüz olguda (%95,2) **satellit lezyon** bulunmamaktaydı, 3 olguda (%2,9) mikrosatellit varlığı (2'si F(+) MM, 1'i F(-) MM), 2 olguda (%1,9) makrosatellit (1'i F(+) MM) varlığı saptandı.

Prekürsör lezyon ve satellit varlığı karşılaştırmaları için istatistiksel analiz açısından yeterli sayıda olgu bulunmadığından değerlendirme yapılmadı.

Lenf nodu durumu sentinel lenf nodu ve sonrasında gönderilen lenf nodu eksizyonu/disseksiyonu varlığı ile değerlendirildi. Çalışmaya dahil edilen MM olguları içerisinde yalnızca 24 olguda sentinel lenf nodu çalışılmış, lenf nodu eksizyonu/disseksiyonu ise yalnızca 18 olguda yapılmıştı. Sentinel lenf nodu çalışılan 24 olgudan 4'ünde metastaz saptanırken, lenf nodu eksizyonu/disseksiyonu yapılan 18 olgunun 9'unda metastaz görüldü. Olgu sayıları istatistiksel analiz için yeterli olmamakla birlikte, , metastatik sentinel lenf nodu saptanan 4 olgudan 3'ü F(+) MM; metastatik diğer lenf nodu saptanan 9 olgudan 6'sı F(+) MM olguları idi.

Tablo 8. Tüm melanom olgularının histopatolojik özellikleri

Histopatolojik Özellikler	F(+) MM	F (-) MM	Tüm MM'lar
	Olgu Sayısı (%)	Olgu Sayısı (%)	Olgu Sayısı (%)
İnvaziv komponent histolojik alt tip			
- MM-NOS	27 (%47,4)	29 (%60,4)	56 (%53,3)
- Yüzeysel yayılan	3 (%5,3)	2 (%4,2)	5 (%4,8)
- Nodüler melanom	2 (%3,5)	6 (%12,5)	8 (%7,6)
- LMM	12 (%21,1)	3 (%6,3)	15 (%14,3)
- İnvaziv komponent bulunmayan	13 (%22,8)	8 (%16,7)	21 (%20)
İn situ komponent histolojik alt tip			
- İn situ-NOS	23 (%40,4)	22 (%45,9)	45 (%42,8)
- LM	19 (%33,3)	5 (%10,4)	24 (%22,9)
- Yüzeysel yayılan	10 (%17,5)	4 (%8,3)	14 (%13,3)
- İn situ komponent bulunmayan	5 (%8,8)	17 (%35,4)	22 (%21)
Clark invazyon düzeyi			
- Clark düzeyi I	5 (%8,8)	4 (%8,3)	9 (%8,6)
- Clark düzeyi II	6 (%10,5)	4 (%8,3)	10 (%9,5)
- Clark düzeyi III	10 (%17,5)	2 (%4,2)	12 (%11,4)
- Clark düzeyi IV	29 (%50,9)	27 (%56,3)	56 (%53,3)
- Clark düzeyi V	7 (%12,3)	11 (%22,9)	18 (%17,1)
Ülserasyon			
- Var	24 (%42,1)	25 (%52,1)	49 (%46,7)
- Yok	33 (%57,9)	23 (%47,9)	56 (%53,3)
TİL			
- TİL yok (<i>absent</i>)	25 (%43,9)	29 (%60,4)	54 (%51,4)
- TİL var, belirgin olmayan (<i>nonbrisk</i>)	19 (%33,3)	9 (%18,8)	28 (%26,7)
- TİL var, belirgin (<i>brisk</i>)	13 (%22,8)	10 (%20,8)	23 (%21,9)
Regresyon			
- Regresyon yok	46 (%80,7)	44 (%91,7)	90 (%85,7)
- Regresyon <%50	10 (%17,5)	3 (%6,3)	13 (%12,4)
- Regresyon >%50	1 (%1,8)	1 (%2,1)	2 (%1,9)
Satellit			
- Satellit yok	54 (%94,7)	46 (%95,8)	100 (%95,2)
- Mikrosatellit	2 (%3,5)	1 (%2,1)	3 (%2,9)
- Makrosatellit	1 (%1,8)	1 (%2,1)	2 (%1,9)
LVI			
- Var	4 (%7)	4 (%8,3)	8 (%7,6)
- Yok	53 (%92,9)	44 (%91,7)	97 (%92,4)

Tablo 8. Tüm melanom olgularının histopatolojik özellikleri (DEVAM)			
Histopatolojik Özellikler	F(+) MM	F (-) MM	Tüm MM'lar
	Olgu Sayısı (%)	Olgu Sayısı (%)	Olgu Sayısı (%)
Sentinel lenf nodu			
- Pozitif	3 (%5,3)	1 (%2,1)	4 (%3,8)
- Negatif	8 (%14)	12 (%25)	20 (%19)
- Sentinel lenf nodu gönderilmemiş / bilinmiyor	46 (%80,7)	35 (%72,9)	81 (%77,1)
Diğer lenf nodları			
- Metastaz var	6 (%10,5)	3 (%6,3)	9 (%8,6)
- Metastaz yok	4 (%7)	5 (%10,4)	9 (%8,6)
- Lenf nodu gönderilmemiş / bilinmiyor	47 (%82,4)	40 (%83,3)	87 (%82,8)
Toplam	57 olgu	48 olgu	105 olgu

Melanom olgularının **pT evrelerinin dağılımı** tablo 9'da verilmiştir. F(+) MM ve F(-) MM grupları arasında pT evrelerinin dağılımı açısından fark gözlenmedi ($p>0,05$).

Tablo 9. Tüm melanom olgularının pT evrelerine göre dağılımı (AJCC 8.baskı)

pT evresi	F (+) MM	F (-) MM	Tüm MM'lar
	Olgu sayısı (%)	Olgu sayısı (%)	Olgu sayısı (%)
pTis	13 (%22,8)	8 (%16,7)	21 (%20)
pT1a	6 (%10,5)	1 (%2,1)	7 (%6,7)
pT1b	3 (%5,3)	5 (%10,4)	8 (%7,6)
pT2a	3 (%5,3)	4 (%8,3)	7 (%6,7)
pT2b	3 (%5,3)	1 (%2,1)	4 (%3,8)
pT3a	5 (%8,8)	4 (%8,3)	9 (%8,6)
pT3b	6 (%10,5)	7 (%14,6)	13 (%12,4)
pT4a	3 (%5,3)	5 (%10,4)	8 (%7,6)
pT4b	15 (%26,3)	13 (%27,1)	28 (%26,7)
Toplam olgu sayısı	57	48	105

F(+) MM olgularında kıl follikülü tutulum özelliklerinin değerlendirilmesi: MM ile tutulan **kıl follikülü sayısına** bakıldığında, 21 lezyonda (%36,8) folliküllerin tümünde tutulum görülürken, 31'inde (%54,4) multipl follikül tutulumu görüldü, 5 olguda (%8,8) ise yalnızca bir follikülde tutulum izlendi.

Mikroanatomik olarak tutulum düzeyleri incelendiğinde, büyük kısmında kıl follikülünün infundibulumu düzeyinde (%68,4, n=39) tutulum saptanırken, daha az olguda tutulum isthmus düzeyine ulaşmaktaydı (%29,8, n=17). Bulbus infiltrasyonu varlığı yalnızca 1 olguda (%1,8) saptandı.

Tjarks ve arkadaşları tarafından önerilen sınıflama sistemine göre yapılan **patern analizi** dağılımı ise şöyle idi: Patern I %14 (n=8) (Resim 3), patern II %5,3 (n=3) (Resim 4), patern III %3,5 (n=2) (Resim 5), patern IV %31,6 (n=18) (Resim 6-8), patern V %45,6(n=26) (Resim 9-15). Patern VI, "primer folliküler melanom" tanımlamasına uyan olgu yoktu.

F(+) **MM'larda** tutulum paterninin mikroanatomik tutulum düzeyi Tablo 10'da, lokalizasyona göre dağılımı Tablo 11'de ve pT evrelerine göre dağılımı Tablo 12'de gösterilmiştir.

Tablo 10. F(+) **MM'larda** mikroanatomik tutulum düzeyine göre tutulum paterni durumu

Tutulum düzeyi	Tutulum paterni - P Olgu sayısı (n)					Toplam olgu sayısı
	P I	P II	P III	P IV	P V	
İfundibulum	8	2	1	13	15	39
İsthmus	0	1	1	5	10	17
Bulbus	0	0	0	0	1	1
Toplam olgu sayısı	8	3	2	18	26	57

Tablo 11. F(+) MM'larda lokalizasyonlara göre patern dağılımı

Lokalizasyon	Tutulum paterni - P Olgu sayısı (n)					Total olgu sayısı
	P I	P II	P III	P IV	P V	
Baş-boyun	7	2	2	12	15	38
Gövde ön yüz	0	1	0	1	1	3
Gövde arka yüz	1	0	0	2	4	7
Üst ekstremité	0	0	0	3	2	5
Alt ekstremité	0	0	0	0	2	2
Skalp	0	0	0	0	1	1
Bilinmiyor	0	0	0	0	1	1
Total olgu sayısı	8	3	2	18	26	57

Tablo 12. F(+) MM'larda kıl follikülü tutulumu paternlerine göre olguların evrelerinin dağılımı

pT/Olgu sayısı (n)	Patern I (n)	Patern II (n)	Patern III (n)	Patern IV (n)	Patern V (n)
pTis	8	3	2	0	0
pT1a	0	0	0	5	1
pT1b	0	0	0	1	2
pT2a	0	0	0	0	3
pT2b	0	0	0	1	2
pT3a	0	0	0	1	4
pT3b	0	0	0	2	4
pT4a	0	0	0	1	2
pT4b	0	0	0	7	8
Total olgu sayısı	8	3	2	18	26

Kıl follikülü tutulumu tipi, olguların 30'unda (%52,6) lineer tipte iken, 12'sinde (%21,1) infiltrasyon nested (yuvalanma) görünümdeydi, kalan 15 olguda (%26,3) ise lineer ve nested tip infiltrasyon gözlenmekteydi. Olguların 13'ünde (%22,8) tümörün follikülü destrükte ettiği dikkati çetti, bu olguların 10'u Clark IV, 2'si Clark V, 1'i Clark III idi. Tutulum paternlerine göre destrüksiyon izlenen olguların beklendiği üzere, patern IV (n=3) ve patern V (n=10) gruplarındaki olgular oldukları gözlemlendi. Bu 13 olgunun 6'sında tümöral

infiltrasyon infundibulum sınırlı iken, 6'sında isthmus düzeyine ulaşmaktaydı. Kalan 1 olgu ise bulbus tutulumunun izlendiği olgu idi.

F(+) MM olguları kendi aralarında, tutulumun izlendiği follikül sayısı, kıl follikülü tutulumunun mikroanatomik düzeyi, paterni, destrüksiyon varlığı açısından karşılaştırıldığında, cinsiyet, yaş, lezyonun çapı ve lokalizasyonu, pT evresi, invaziv-in situ komponent histolojik alt tipi ile kıl follikülü tutulumu özellikleri arasında ilişki saptanmadı.

Mikroanatomik tutulum düzeyi ile tutulum tipi arasında, lentijinöz tip tutulum varlığında infiltrasyonun daha çok infundibulum düzeyine sınırlı kaldığı ve bu verinin istatistiksel olarak da anlamlı olduğu görüldü ($p=0,002$).

Tutulum paternlerinin histopatolojik parametrelerle karşılaştırılmasında, ülserasyon varlığının, beklendiği üzere yalnızca, invaziv gruplar olan patern IV ($n=10$) ve patern V ($n=14$) olgularda görüldü. Bu özellik istatistiksel olarak da anlamlı idi ($p=0,017$). Mitotik oran yine beklenildiği üzere, in situ lezyonlarda (özellikle patern I ve patern II) daha düşük olarak kaydedildi ($p=0,002$). Breslow kalınlığı ve Clark invazyon düzeyi, beklenildiği üzere, invaziv gruplar olan patern IV ve patern V olgulara doğru artmaktaydı. TİL varlığı in situ olgu grubunda (patern I-III) yalnızca 4 olguda görülmekle birlikte, istatistiksel analizde tutulum paternleri ile TIL arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p>0,05$)

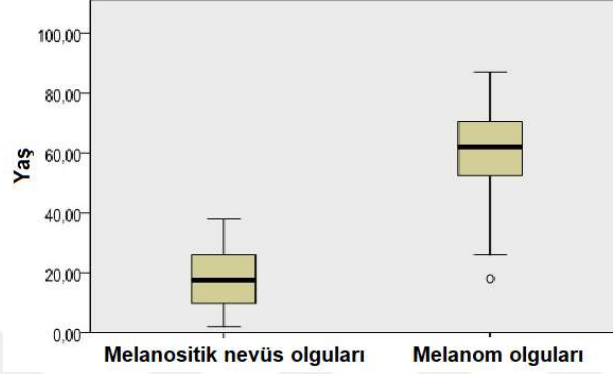
Destrüksiyon varlığı oldukça az sayıda olguda gözlenmekteydi, bu olgular kıl folliküllerinin multipl ($n=4$) ya da tümünün ($n=9$) tutulumunun izlendiği olgular idi. Olgu sayısının azlığı nedeniyle veriler istatistiksel analize uygun kabul edilmedi.

Tutulumun izlendiği follikül sayısı ile diğer histopatolojik parametrelerin karşılaştırılmasında istatistiksel açıdan anlamlı bir sonuç elde edilmedi ($p>0,05$).

Melanositik nevüslerin özellikleri:

Karşılaştırma amaçlı seçilen 30 F(+) nevüs olgusunun 11'i erkek (%36,7), 19'u kadın (%63,3) idi. Olguların yaşı 2-38 arasında değişmekte olup, ortalama yaş 18,2 idi. ($\pm 18,2$) (Şekil 5).

Şekil 5.F(+) MM ve nevüs olgularının yaş dağılımı



Nevüslerde lezyon çapı 0,3 -5 cm ($1,17 \pm 9,57$) arasında değişmekteydi. Yine F(+) MM grubuyla benzer biçimde, olguların çoğunda (%40, n=12) lezyonlar baş-boyun yerleşimli idi. Diğer olguların yerleşimlere göre dağılımı; gövde ön yüz %16,7 (n=5), gövde arka yüz %13,3 (n=4), üst ekstremitte %10 (n=3), alt ekstremitte %10 (n=3), aksilla-pubik-genital bölge %10 (n=3) şeklindeydi (Tablo 13).

Tablo 13. Nevüs olgularının lokalizasyonlara göre dağılımı

Lokalizasyon	Olgu sayısı (%)
Baş-boyun	12 (%40)
Gövde ön yüz	5 (%16,7)
Gövde arka yüz	4 (%13,3)
Üst ekstremitte	3 (%10)
Alt ekstremitte	3 (%10)
Aksilla-pubik-gluteal bölge	3 (%10)
Toplam olgu sayısı	30

Olguların büyük kısmında multipl follikülde (Resim 18) ya da folliküllerin tümünde tutulum dikkati çaktı (%93,3, n=28). Yalnızca iki olguda tek bir follikül tutulumu gözlemlendi. Olguların yaklaşık yarısında (%53,3, n=16) tutulum lineer tipte iken, bunu lineer+nested tip tutulumlu olgular (%33,3, n=10) ve nested tip tutulumlu olgular (%13,3, n=4) izlemekteydi. Olguların çoğunda follikül

tutulumu infundibulum düzeyine sınırlı olup(%73,3, n=22) isthmus düzeyine kadar tutulum yalnızca 8 olguda (%26,7) görüldü. Bulbus düzeyinde follikül tutulumu gözlenmedi.

İmmunhistokimyasal boyaların değerlendirilmesi:

Sitokeratin 15:

Nonneoplastik deri örnekleri incelendiğinde, epidermin bazal tabakasındaki keratinositlerde, kıl follikülü bulge bölgesindeki keratinositlerde, ektrin bezlerin sekretuar hücrelerinde diffüz ve güçlü sitoplazmik boyanma ve kıl follikülünün dış kök kılıfında pozitiflik gözlemlendi. Epidermin bazal tabakasında izlenen boyanma, bazı örneklerde tüm bazal sıra boyunca süreklilik gösterirken, bazı örneklerde arada segmental negatif/zayıf boyanma alanları da içeren yamalı boyanma paterni sergilemekteydi (Resim 1B).

MM olgularında, tümöre komşu bazal keratinositlerde nonneoplastik derideki benzer boyanma paterni görüldü (Resim 14A). Tümöral hücrelerin ya da yuvaların bulunduğu epidermal bazal tabakada, tümöre uyan alanlarda boyanmanın kesintiye uğradığı saptandı (Resim 3C, 14B). Bazal tabakada yerleşmiş tümöral hücreler arasında tek tek rezidü CK15 pozitif hücre boyanmaları yanı sıra in situ MM olgularındaki neoplastik dermoepidermal yuvaların periferinde tek tek rezidü hücre boyanması ya da tümör yuvalarını çevreleyen kontinü bir tek sıralı boyanma dikkati çekti (Resim 4C, 8, 11A).

F(-) MM grubunda, çoğu lezyonda kıl follikülündeki CK15 boyanması, olağan boyanma paterni ile benzer diffüz ve güçlüyken, bazı olgularda yamalı bir boyanma izlendi (Resim 16). F(+) MM olgularında ise, follikül epitelindeki neoplastik tutulum alanlarında CK15 boyanması kesintiye uğramakta olup (Resim 5C, 8, 14D, 15C), diğer bölgelerde nonneoplastik deride tanımlandığı biçimdeydi. Tutulumun mikroanatomik düzeyi altında kalan kıl follikülü alanlarında follikül epitelinde CK15(+)'liğinin çoğu olguda kontinü olarak sürdüğü görüldü. Ancak tutulumun follikülde destrüksiyona yol açtığı ve CK15(+)'liğinin tamamen ortadan kalktığı az sayıda olgu da bulunmaktaydı.

Benzer şekilde, kıl follikülü tutulumu bulunan melanositik nevüs olgularında da, follikül epitelindeki tutulum alanlarında CK 15 boyanması kesintiye uğramaktaydı (Resim 18C). Bu lezyonlarda da, in situ MM olgularındakine benzer şekilde, dermoepidermal proliferasyon alanlarında boyanmanın tamamen kaybolduğu ya da arada kalmış rezidü hücre boyanmaları ve yuvaların periferini çevreleyen tek sıralı boyanmanın sürdüğü görüldü.

Hem malign hem benign lezyonların komşuluğundaki nonneoplastik alanlarda yukarıda tanımlanan olağan CK15 boyanması gözlenmekteydi.

Nestin immunhistokimyasal boyası:

Nonneoplastik deri örnekleri incelendiğinde epidermiste bazal tabakada gelişigüzel saçılmış az sayıda nestin (+) hücre izlendi (Resim 2B). Kıl follikülü epitelinde özellikle sebace bezler altında kalan alanda saçılmış tek tek hücrelerde pozitiflik, yine bu düzey altında kalan dış kök kılıfında parsiyel pozitiflik, kıl follikülü bulge bölgesindeki kök hücrelerin yer aldığı alanda pozitiflik, kıl follikülü bağ doku kılıfında parsiyel pozitiflik ile endotelial hücrelerde ve ekrin bezlerde pozitiflik görüldü.

MM ve nevüslerde, lezyonun melanositik hücrelerinde görülen sitoplazmik nestin boyanması yoğunluk ve yüzde oranına göre skorlandı (Tablo 14)

Tablo 14.Nestin boyanmasının F(+), F(-) MM ve nevüs olgularındaki dağılımı

Nestin skoru	F(-) MM Olgu sayısı (%)	F(+) MM Olgu sayısı (%)	Tüm MM Olgu sayısı (%)	Nevüsler Olgu sayısı (%)
0	1 (%7,1)	11 (%20)	12 (%17,3)	0 (%0)
1	0 (%0)	1 (%1,8)	1 (%1,4)	4 (%14,2)
2	8 (%57,1)	17 (%30,9)	25 (%36,2)	15 (%53,5)
3	5 (%35,7)	26 (%47,2)	31 (%44,9)	9 (%32,1)
Toplam olgu sayısı	14	55	69	28

Nestin immunhistokimyasal boyası uygulanabilen F(-) MM olgularının sayısı az olmakla birlikte, F(+) MM olguları ile karşılaştırıldığında (Tablo 14),

bütünüyle nestin negatif olan 12 olgunun yalnızca 1'nin F(-) MM olması, diğer 11 olgunun F(+) olması, nevüslerde ise nestin (-) lezyonun bulunmaması dikkat çekici idi. F(-) MM olgularının yarısında (%57,1, n=8) güçlü diffüz pozitiflik (skor 2) görüldü, bunu skor 3 (%35,7, n=5) (Resim 17) ve skor 0 (%7,1, n=1) boyanma gösteren tümörler izlemekteydi, zayıf pozitifliğin izlendiği (skor 1) tümör görülmedi. F(+) MM olgu grubunda ise olguların yaklaşık yarısını (%47,2, n=26) heterojen boyanmanın gözleendiği skor 3 tümörler oluşturmaktaydı (Resim 5B, 7A-B, 10B, 11C, 13A-C). Bunu sırasıyla skor 2 (%30,9, n=17) (Resim 3B), skor 0 (%20, n=11) (Resim 4B) ve skor 1 (%1,8, n=1) (Resim 15B) boyanma gösteren tümörler izlemekteydi. Nevüslerde skor 2 boyanma gösteren lezyonlar çoğunlukta (%53,5) (Resim 18B) olup bunu skor 3 (%32,1) ve skor 1 (%14,2) lezyonlar izlemekteydi.

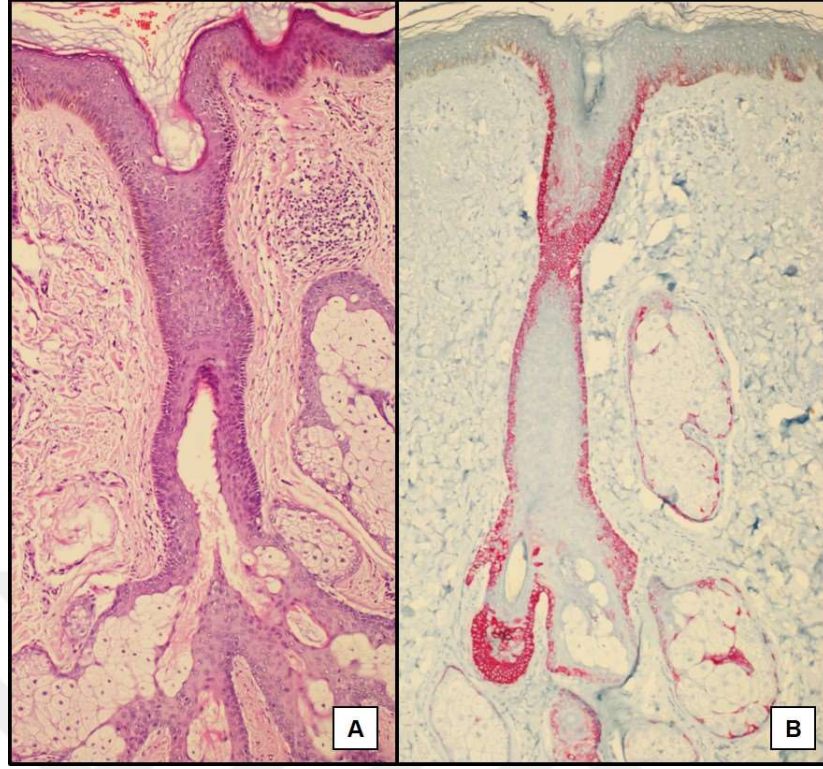
Ancak F(+) ve F(-) MM grupları arasında nestin boyanma skoru açısından ya da bu gruplardaki skorlar ile histopatolojik parametrelerin karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir bulgu gözlenmedi ($p>0,05$). F(+) MM grubu içerisinde, kıl follikülü tutulumu özellikleri (tutulan follikül sayısı, tutulum paterni, tutulumun mikroanatomik düzeyi, destrüksiyon varlığı, tutulu tipi) ile nestin boyanması arasında da herhangi bir korelasyon görülmedi ($p>0,05$).

Malın ve benign olgular karşılaştırıldığında lezyondaki boyanma yüzdesi ve yoğunluğu belirgin bir farklılık göstermiyordu ($p>0,05$). Ancak nevüs grubunda bütünüyle nestin negatif olan olgu yoktu. Nevüslerin kıl follikülü tutulum özellikleri ile nestin boyanma durumu arasında ilişki saptanmadı.

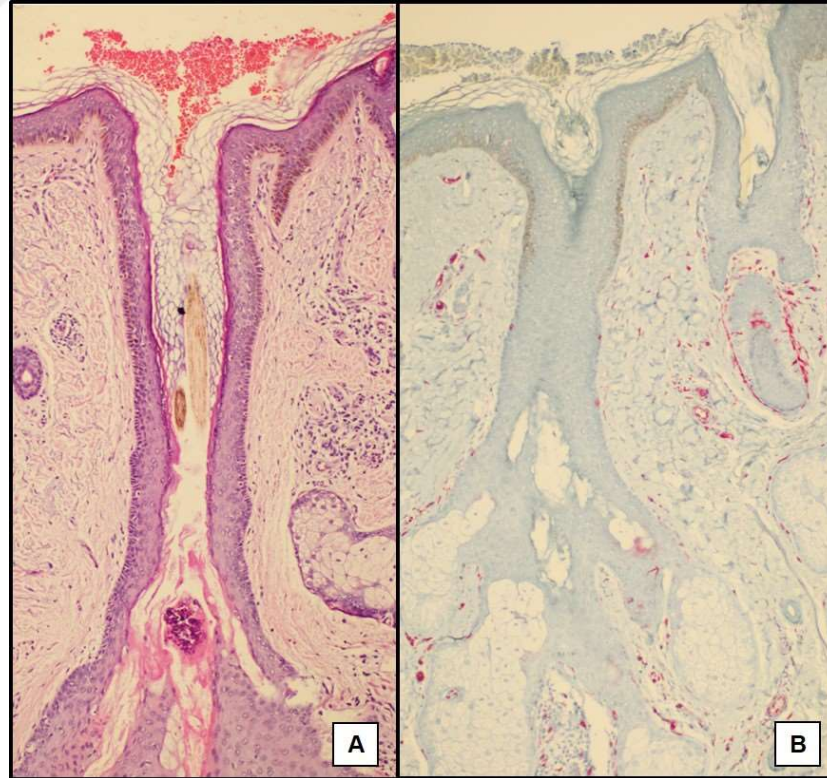
Olguların değerlendirilmesi sırasında malın ve benign olgularda pigmentasyon içeren (lezyonu oluşturan hücrelerin sitoplazmasınının melanin pigmenti ile tümüyle kahverengiye boyanması) alanlarda, nestin ile boyanmanın olmadığı ya da oldukça zayıf olduğu gözleendi (Resim 7A-B, 13B-C, 15B). MM'ların 3/4 ünde nestin (-) pigmente alanlar gözleendi. Bu bulgudan yola çıkarak nestin ekspresyonunun pigmentasyon varlığından etkilenip etkilenmediğini araştırmak üzere, melanin soldurma yöntemi uygulanarak, seçili pigmente olgulara yeniden nestin immunhistokimyasal boyası uygulandı.

Melanin soldurma işlemi sonrasında nestin immunhistokimyasal boyası uygulanan preparatlarda da, pigmente alanlardaki durumun farklılık göstermediği saptandı. Ancak hem pigmentasyon gösterip, hem de nestin ekspresyonunun çok fazla etkilenmediği olgular da bulunmaktaydı. F(+) MM grubu ele alındığında nestin boyanması ile pigmentasyon varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki varlığı gözlemlendi ($p=0,038$). Ancak tüm melanomlar ele alındığında ya da nevüs grubunda pigment varlığında nestin negatifliği ya da ekspresyonun zayıfladığı görülse de nestin boyanması ile pigmentasyon varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p>0,05$).

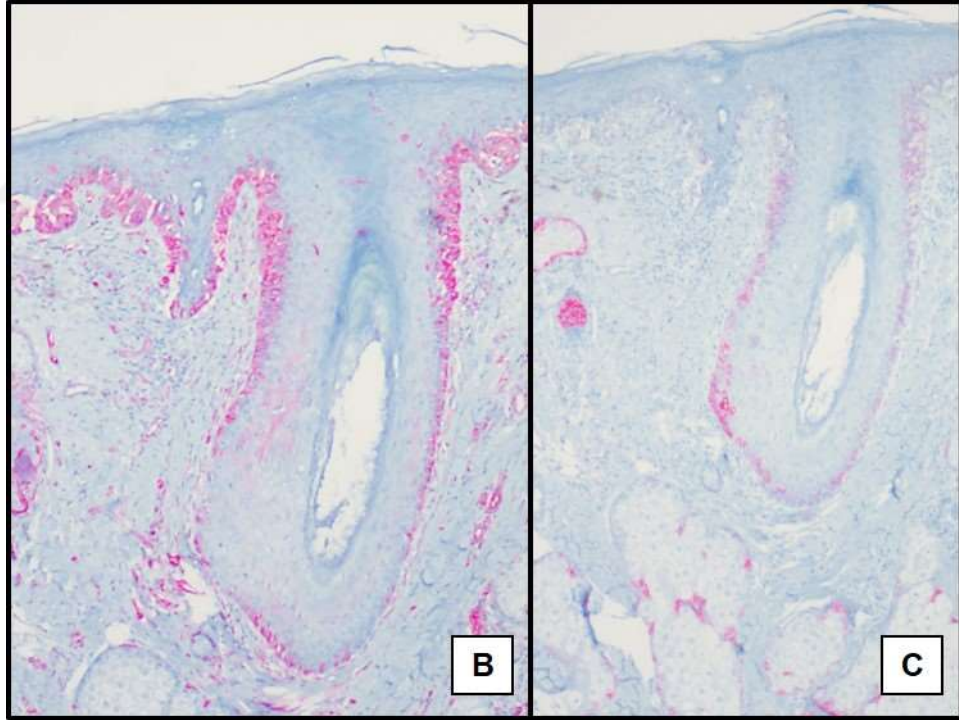
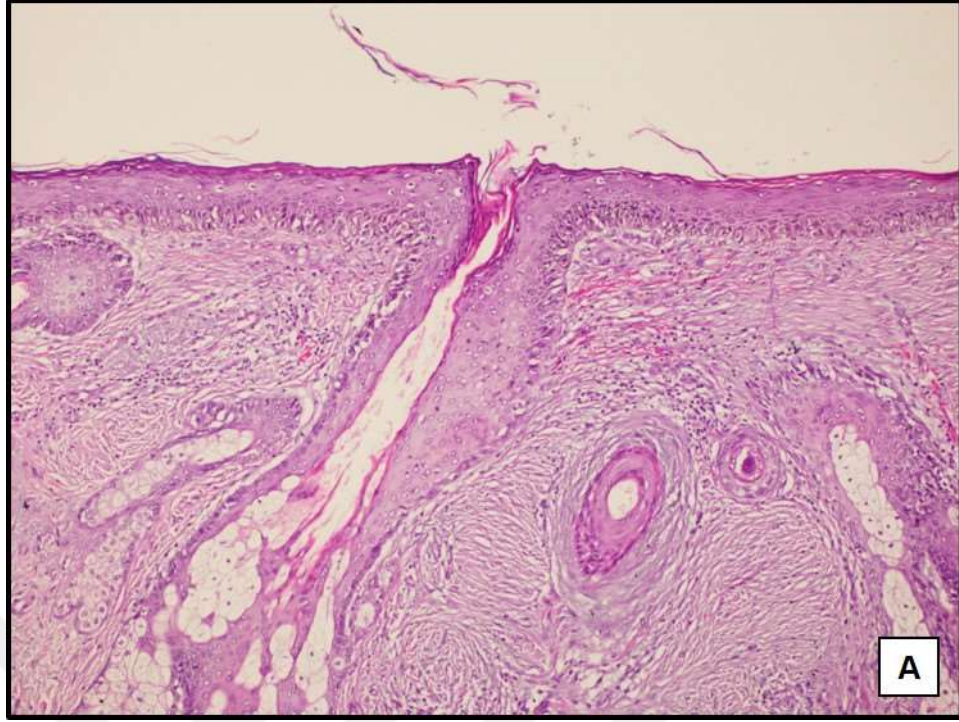




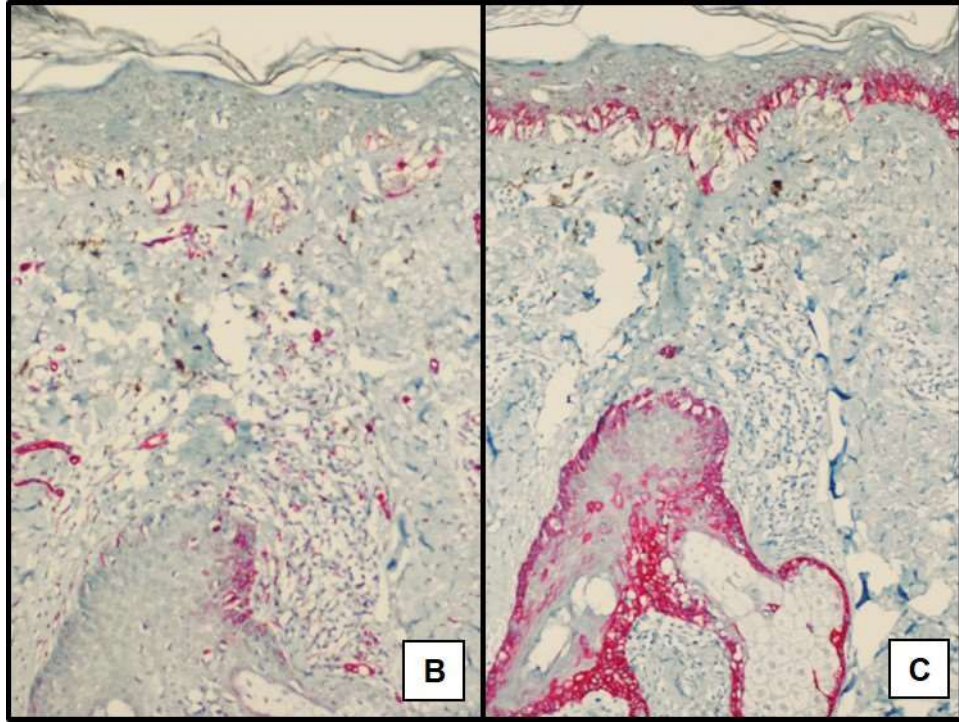
Resim 1. Nonneoplastik deri örneği. Olağan kıl follikülü (A; HE, x100).
CK15 ile olağan boyanma paterni (B; x100).



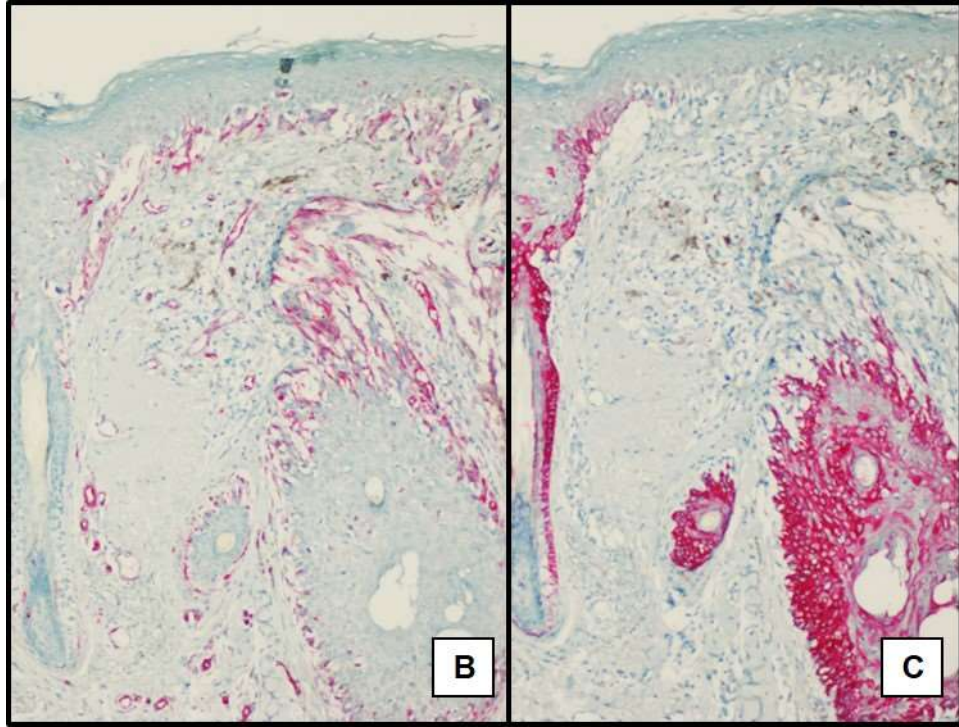
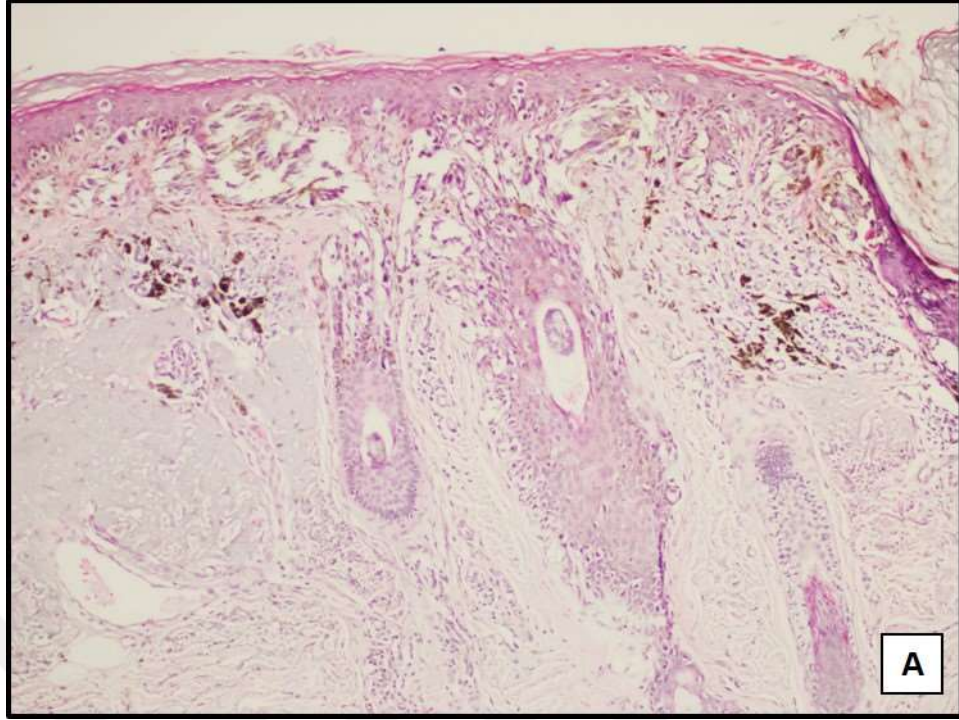
Resim 2. Nonneoplastik deri örneği. Olağan kıl follikülü (A; HE, x100).
Nestin ile olağan boyanma paterni (B; x100).



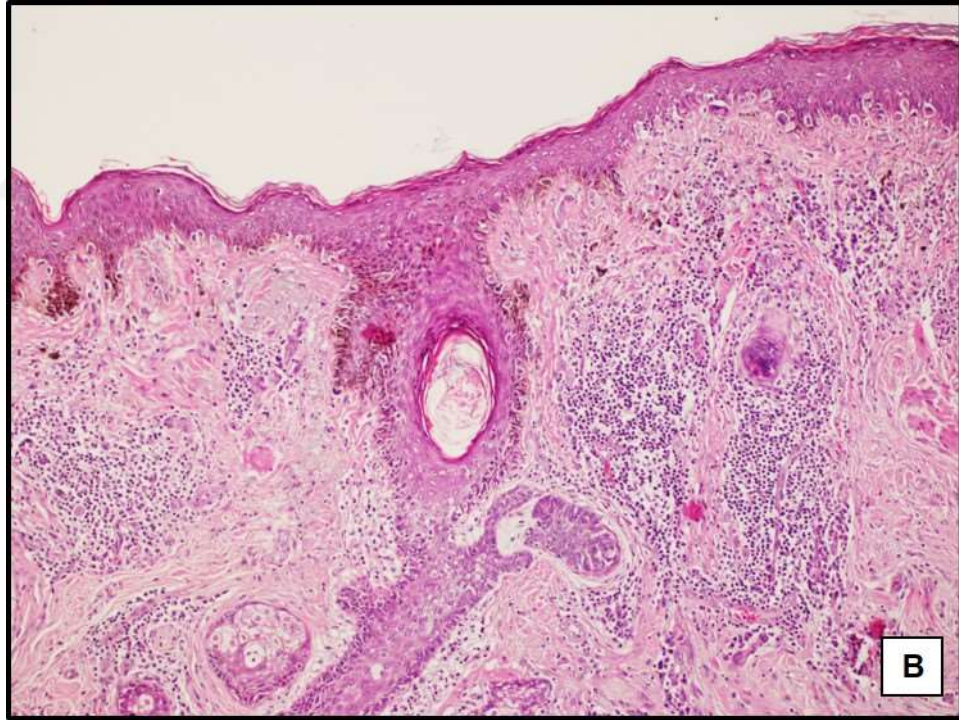
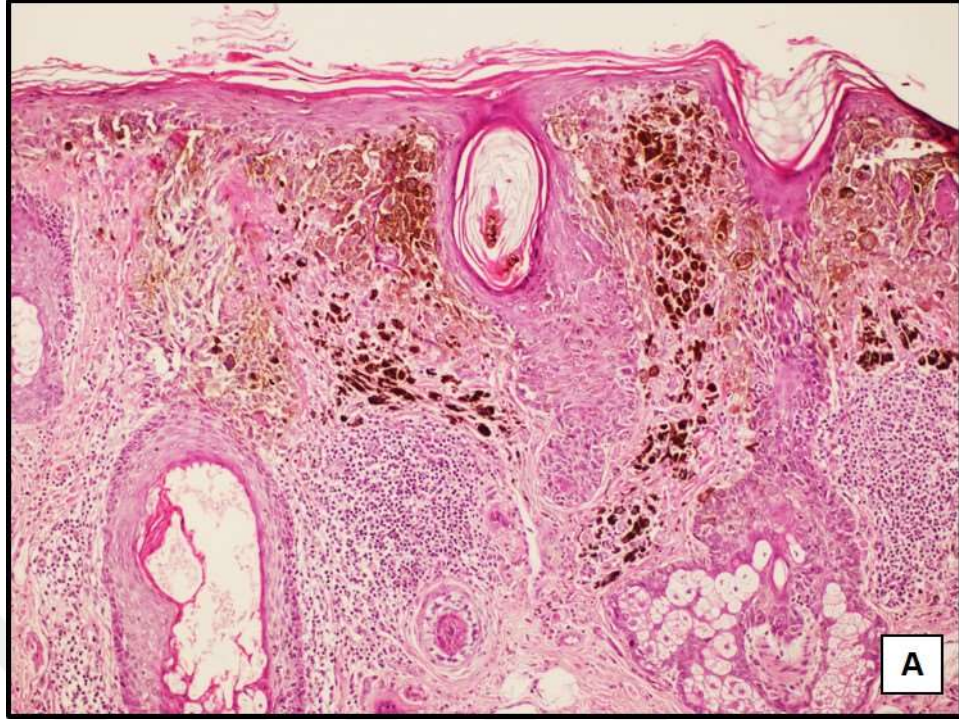
Resim 3. F(+) in situ MM olgusu (Patern I). Follikülde infundibulum düzeyine sınırlı lentijinöz tip tutulum izlenmektedir (A; HE, x100). Nestin boyanma skoru 2 (B; x100). Dermoepidermal bileşke ve follikül epitelindeki MM tutulum alanlarında CK15(+)'liği gözlenmemektedir (C; x100).



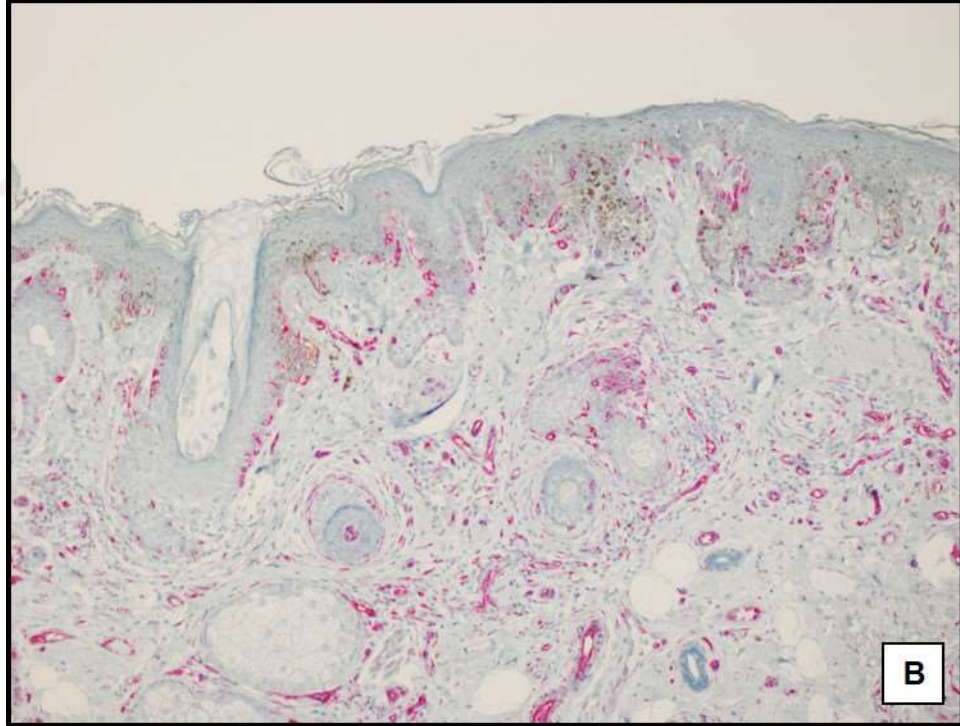
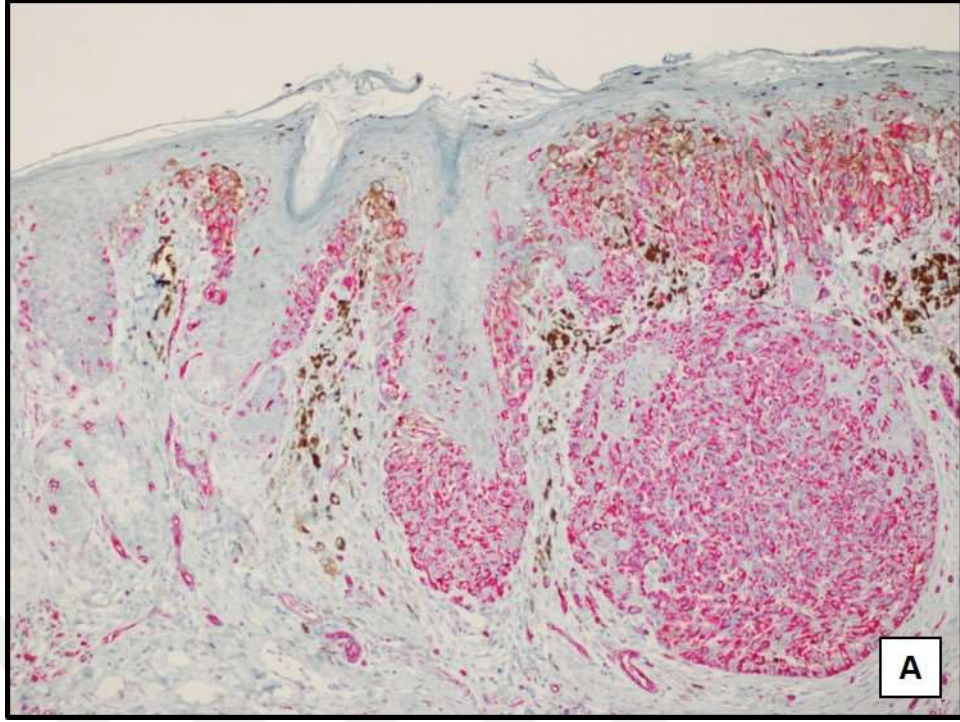
Resim 4. F(+) in situ MM olgusu (Patern II). Follikülde infundibulum düzeyine sınırlı nested tip tutulum izlenmektedir (A; HE, x100) Nestin boyanma skoru 0 (<%5 hücrede zayıf pozitiflik) (B; x100). Bazal tabaka ve follikül epitelinin MM ile tutulu alanlarında CK15(+)'liği gözlenmezken arada CK15(+) hücreler varlığını korumaktadır.(C; x100).



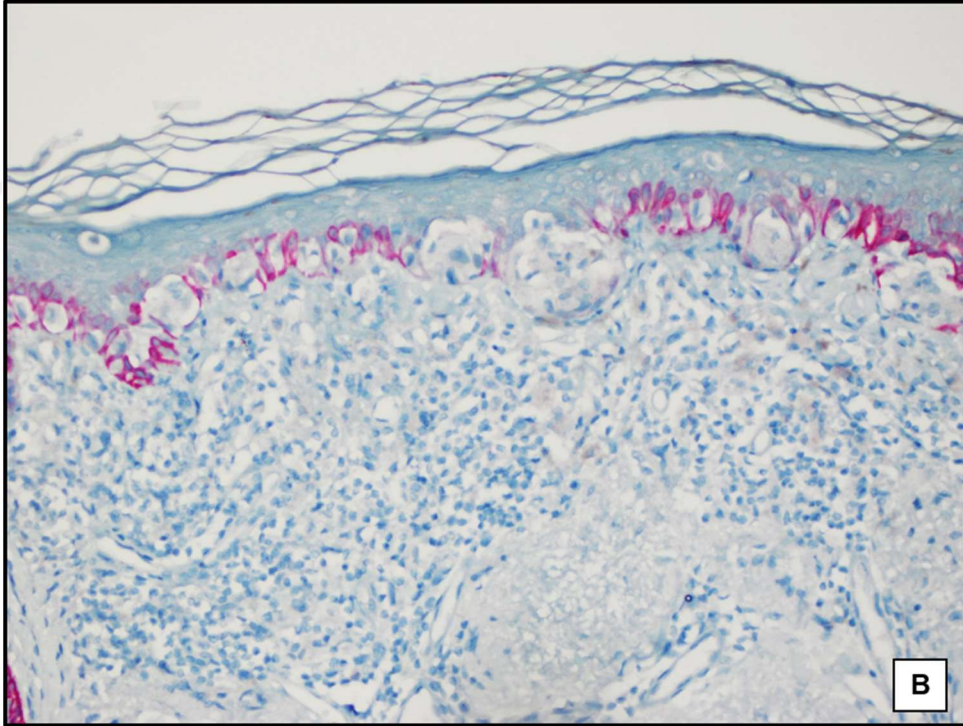
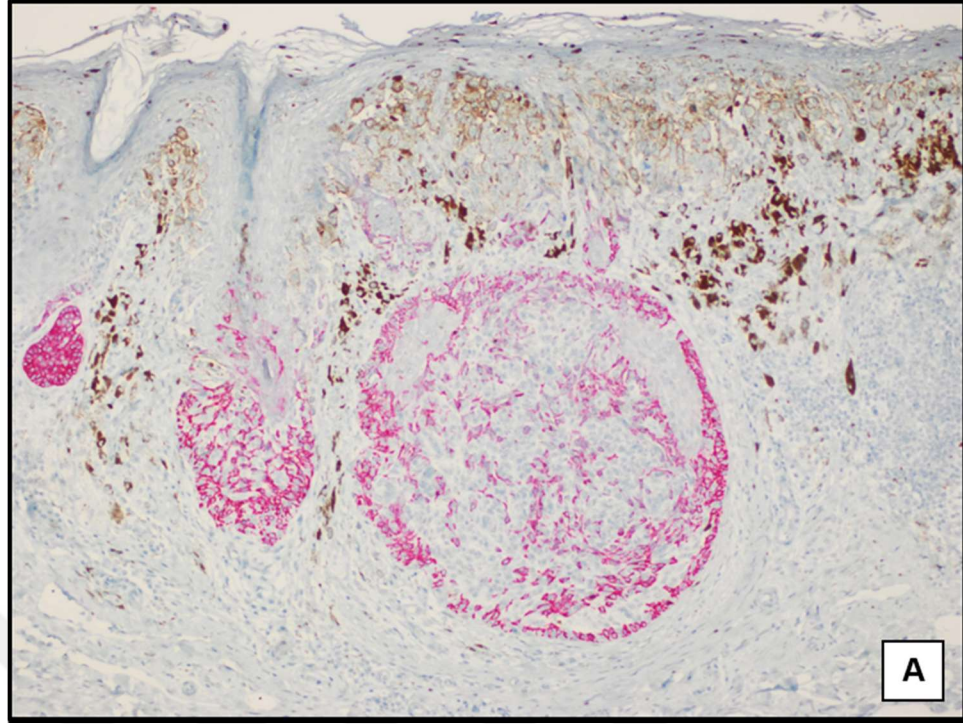
Resim 5. F(+) in situ MM olgusu (Patern III). Follikülde isthmus düzeyine ilerleyen lentijinöz+nested tip tutulum izlenmektedir (A; HE, x100). Nestin boyanma skoru 3 (güçlü ve zayıf pozitif alanlar ile negatif alanlar birlikte) (B; x100). Dermoepidermal ve follikül epitelinin infiltrasyon alanlarında CK15(+)'liği gözlenmemektedir (C; x100).



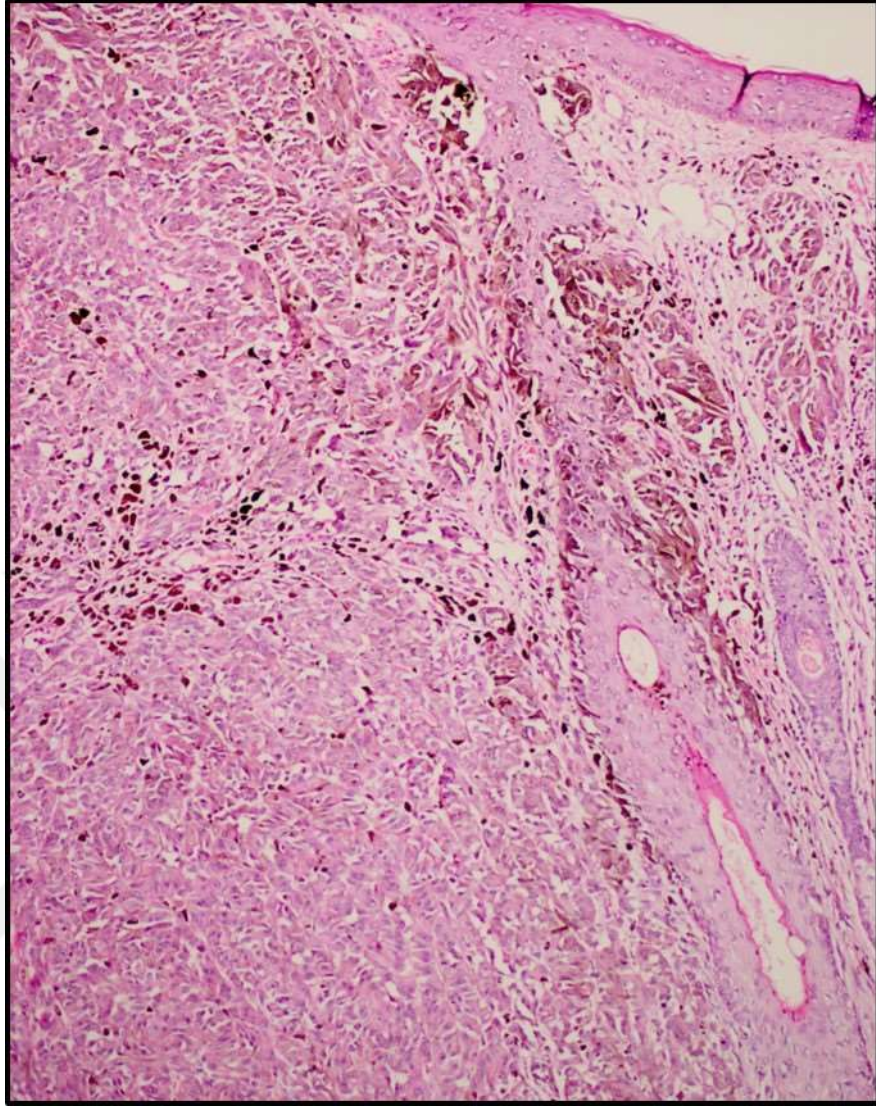
Resim 6. İn situdan kaynaklanan yaygın F(+) tutulumlu MM olgusu (Patern IV). Follikülde infundibulumda lentijinöz+nested tip tutulum izlenmektedir (A, B, HE, x100).



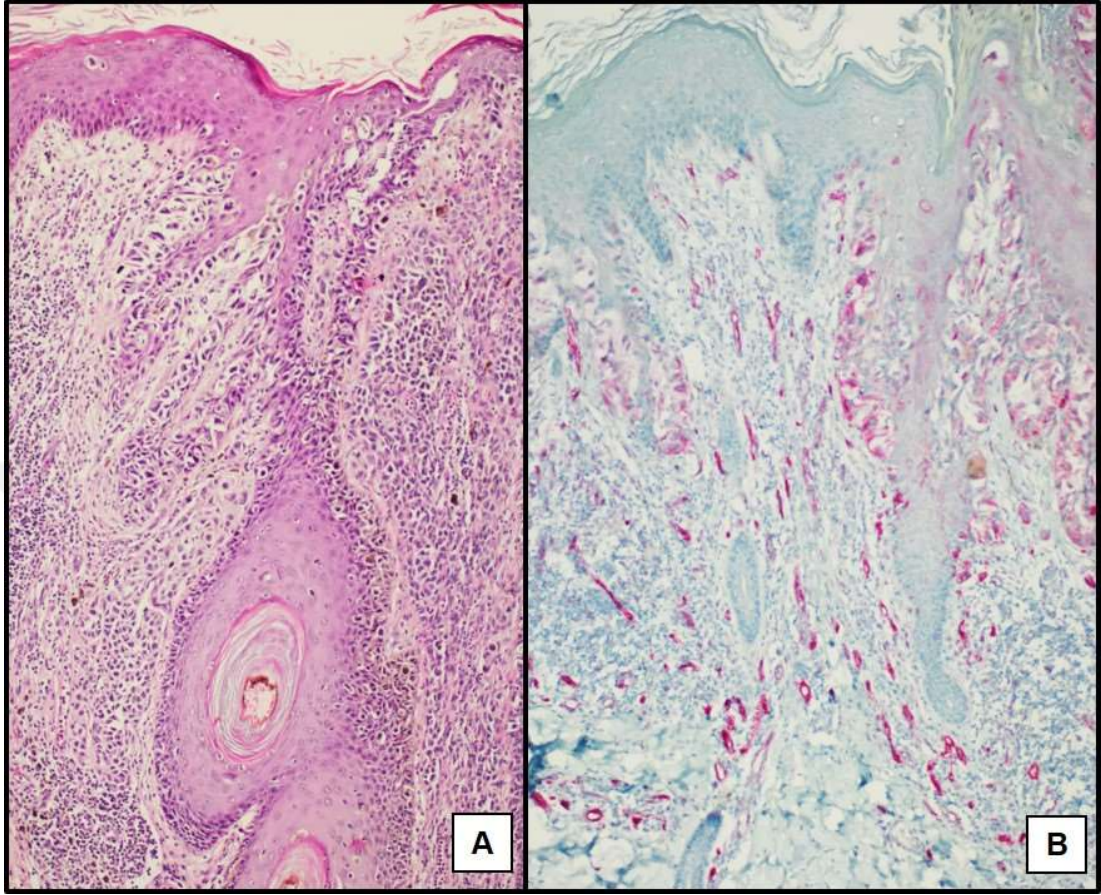
Resim 7. İn situdan kaynaklanan yaygın F(+) MM olgusu (Patern IV). Nestin boyanma skoru 3 (negatif ve güçlü pozitif alanlar). Pigmente alanlarda nestin ekspresyonu oldukça zayıflamış olarak izlenmektedir (A, B, x100)



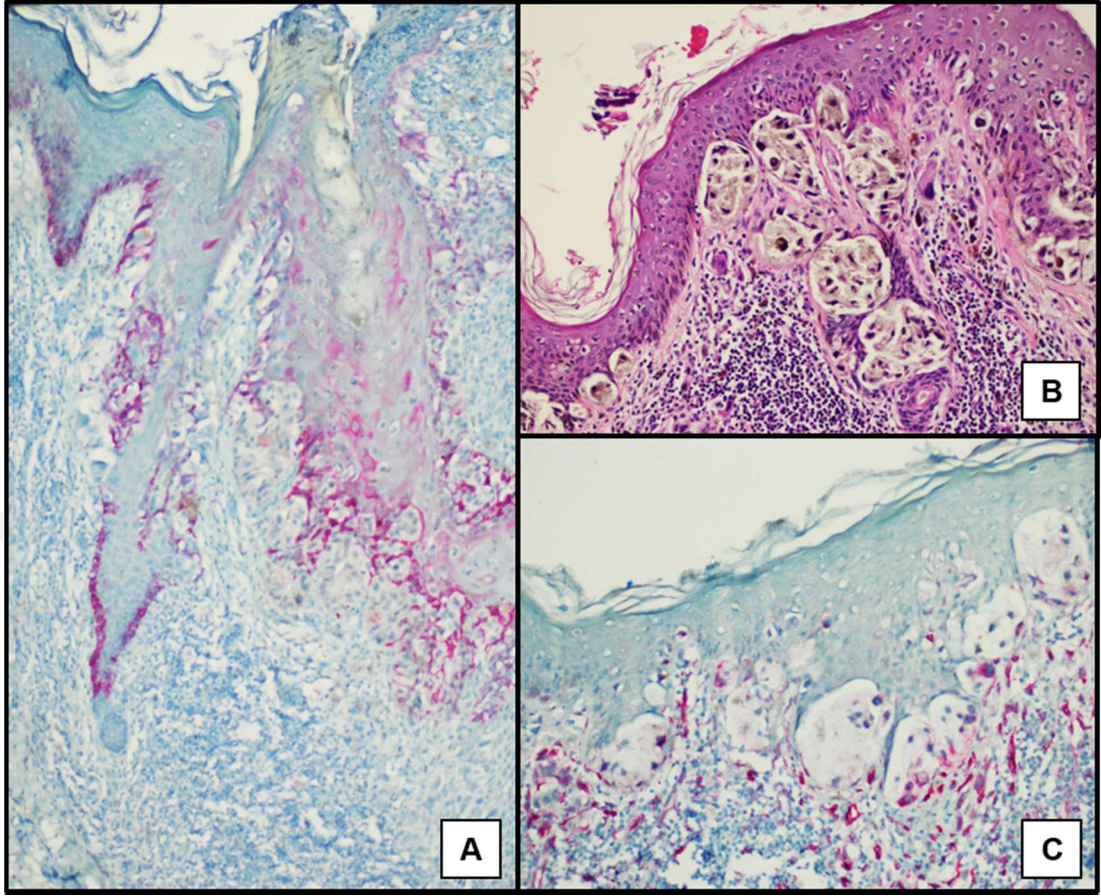
Resim 8. İn situdan kaynaklanan yaygın F(+) MM olgusu (Patern IV). Bazal tabaka ve follikülde MM tutulum infiltrasyonunun izlendiği alanlarda tümörle içiçe geçmiş yuvaları sarar tarzda ya da rezidü CK15(+) hücreler (A, x100) (B,x200).



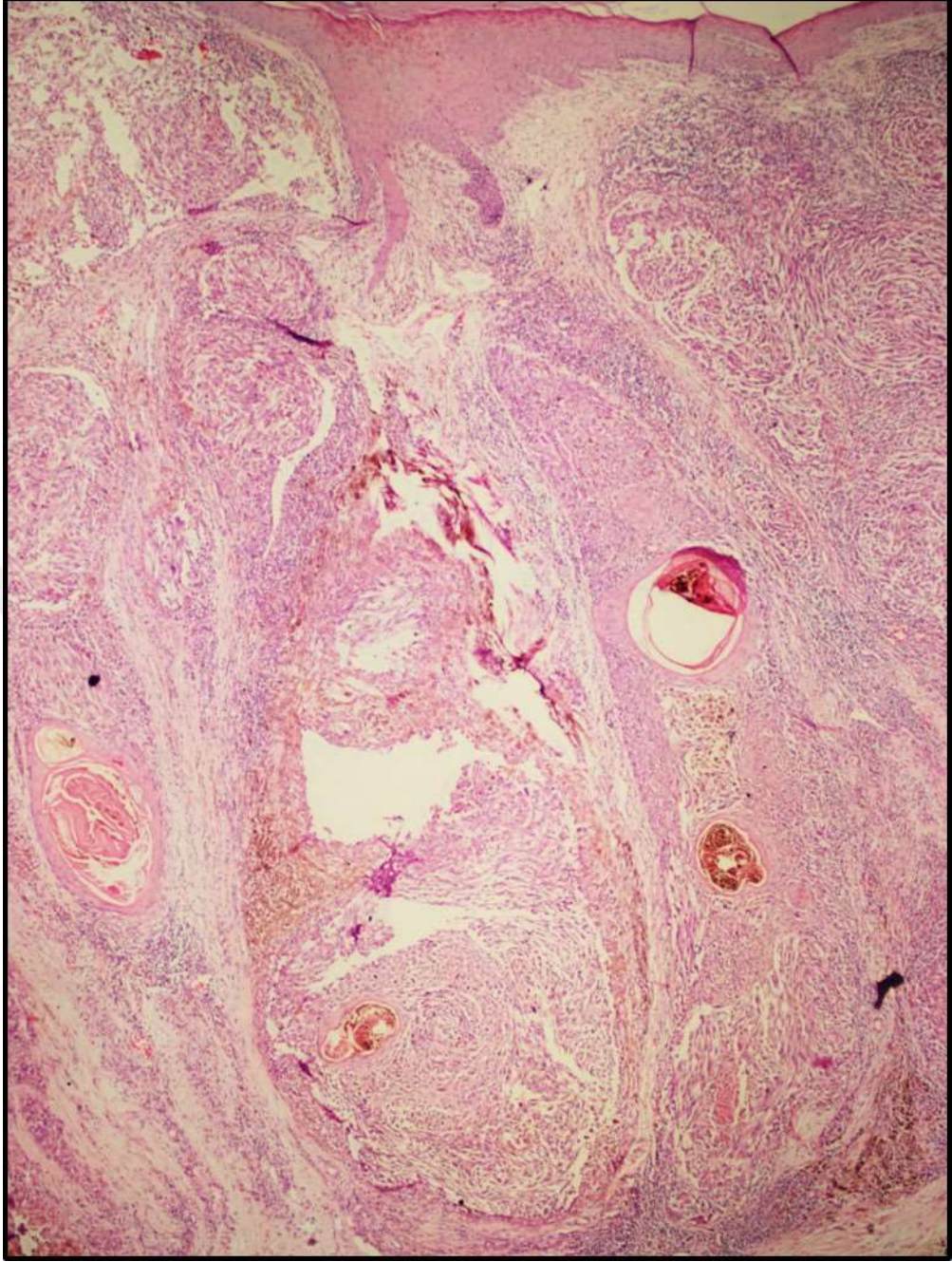
Resim 9. Follikülotropik MM olgusu (Patern V) (HE, x100). Lentijinöz + nested tip, infundibulum düzeyi tutulum.



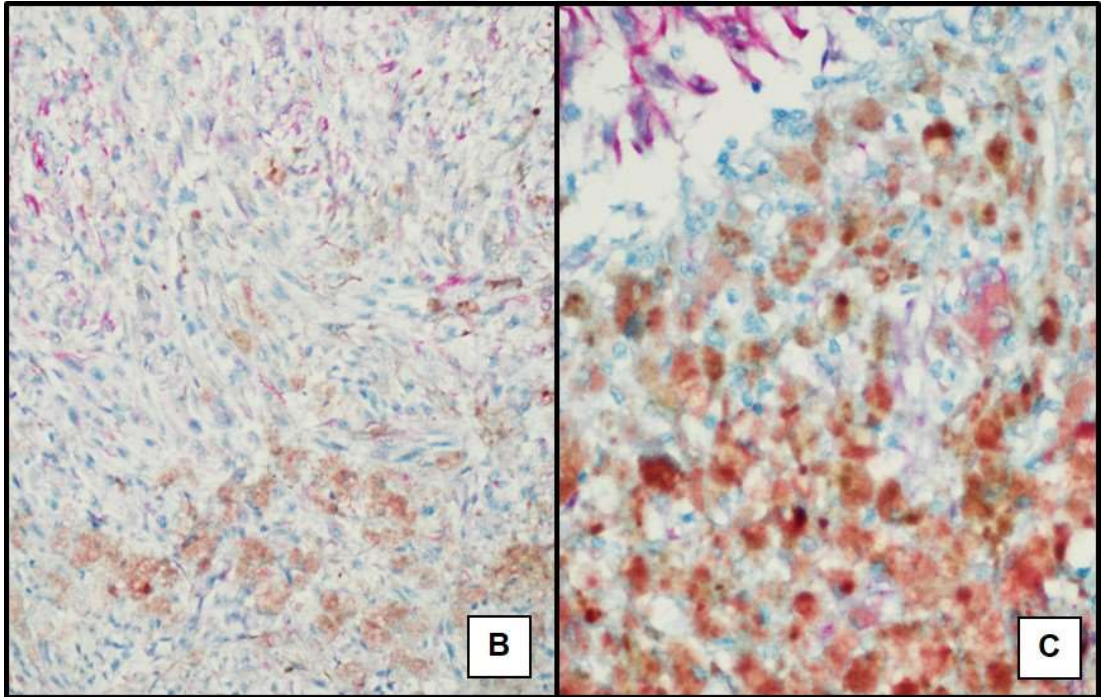
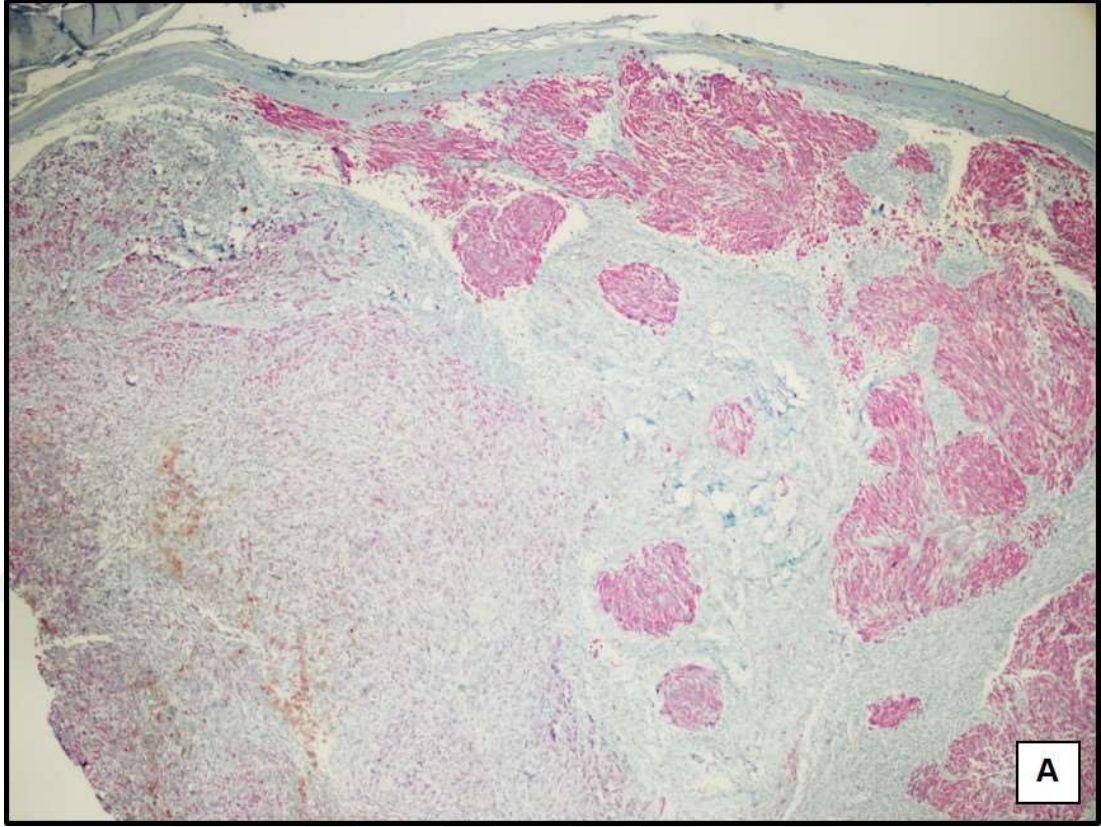
Resim 10. Follikülotropik MM olgusu (Patern V). Follikülde isthmus düzeyine dek uzanan lentijinöz tip tutulum ve komşuluğunda invaziv MM alanı izlenmektedir (A, HE, x100). Nestin boyanma skoru 3 (negatif ve zayıf pozitif alanlar bulunmaktadır) (B, x100).



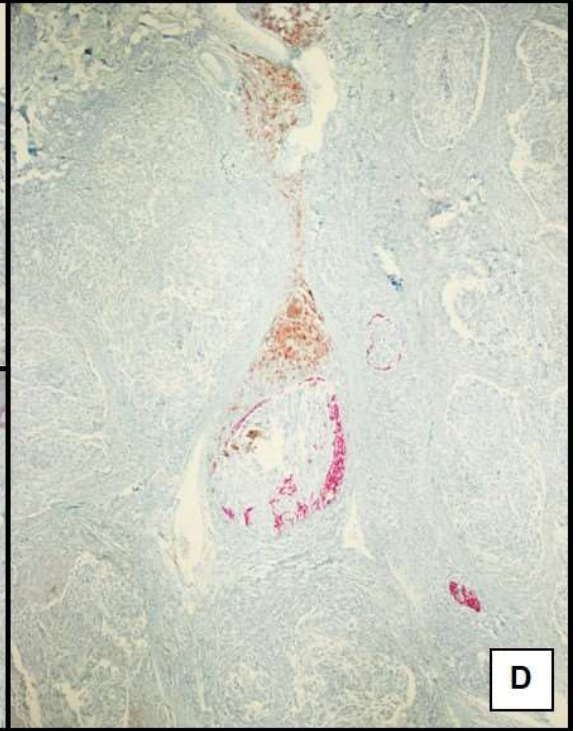
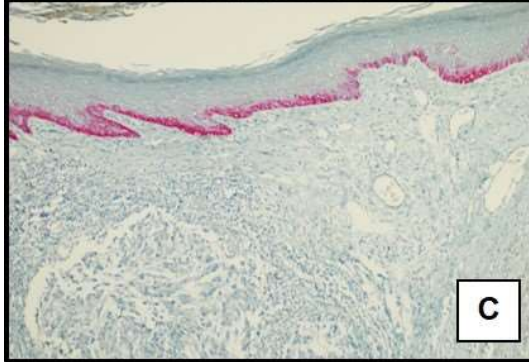
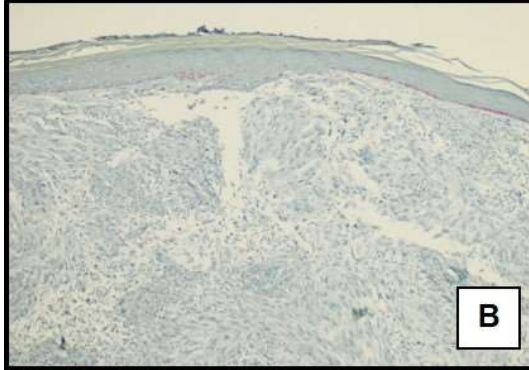
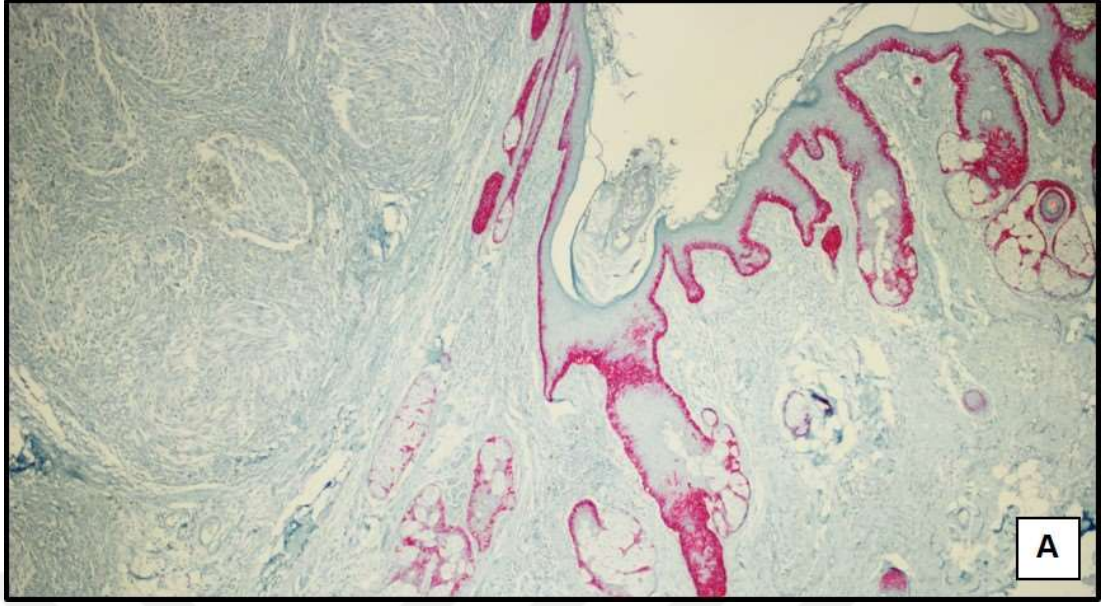
Resim 11. Follikülotropik MM olgusu (Patern V). Follikülde isthmus düzeyine dek uzanan lentijinöz tip tutulum ve komşuluğunda invaziv MM alanı izlenmektedir. Folliküldeki MM tutulum alanlarında rezidü CK15(+) hücreler gözlenmektedir (A, x100). Dermoepidermal alanda ve follikülde, tozsü melanin içeren hücrelerden oluşan neoplastik yuvalar görülmektedir (B, HE, x200). Nestin boyanma skoru 3 (negatif ve zayıf pozitif alanlar bulunmaktadır) (C, x200).



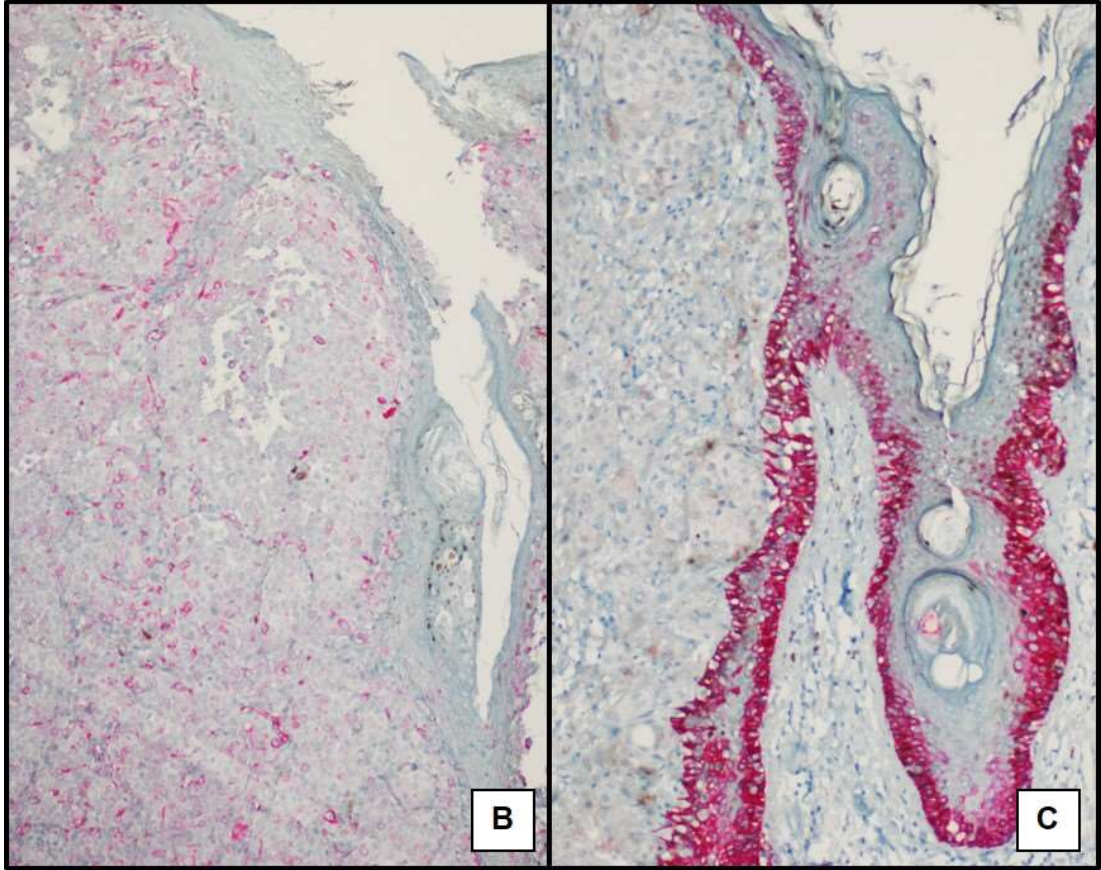
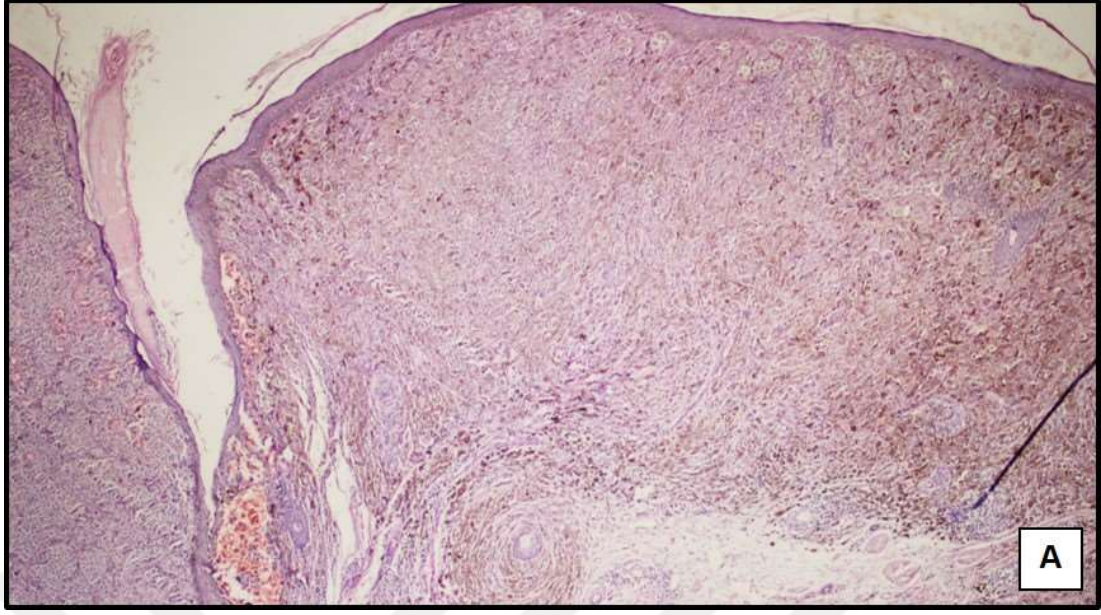
Resim 12. Follikülotropik MM olgusu (Patern V). İnvaziv komponent içerisinde kalan follikülde bulbus düzeyine kadar infiltrasyon görülmekte olup, infiltrasyonun yer yer destrüksiyona da neden olduğu izlenmektedir (HE, x40).



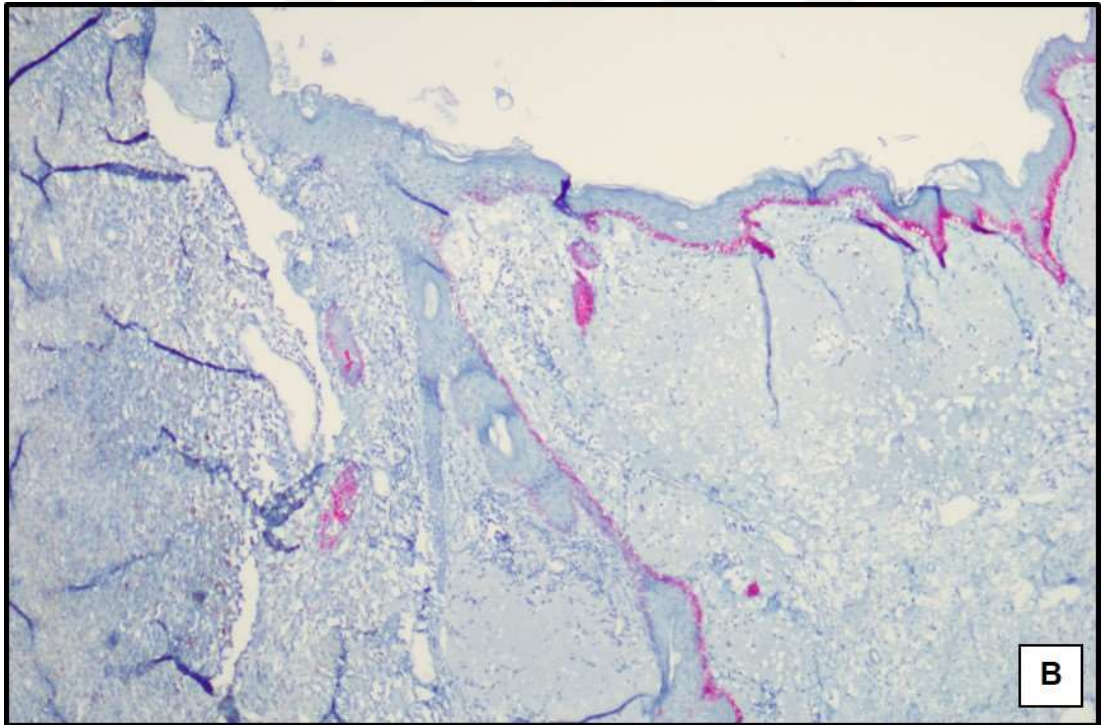
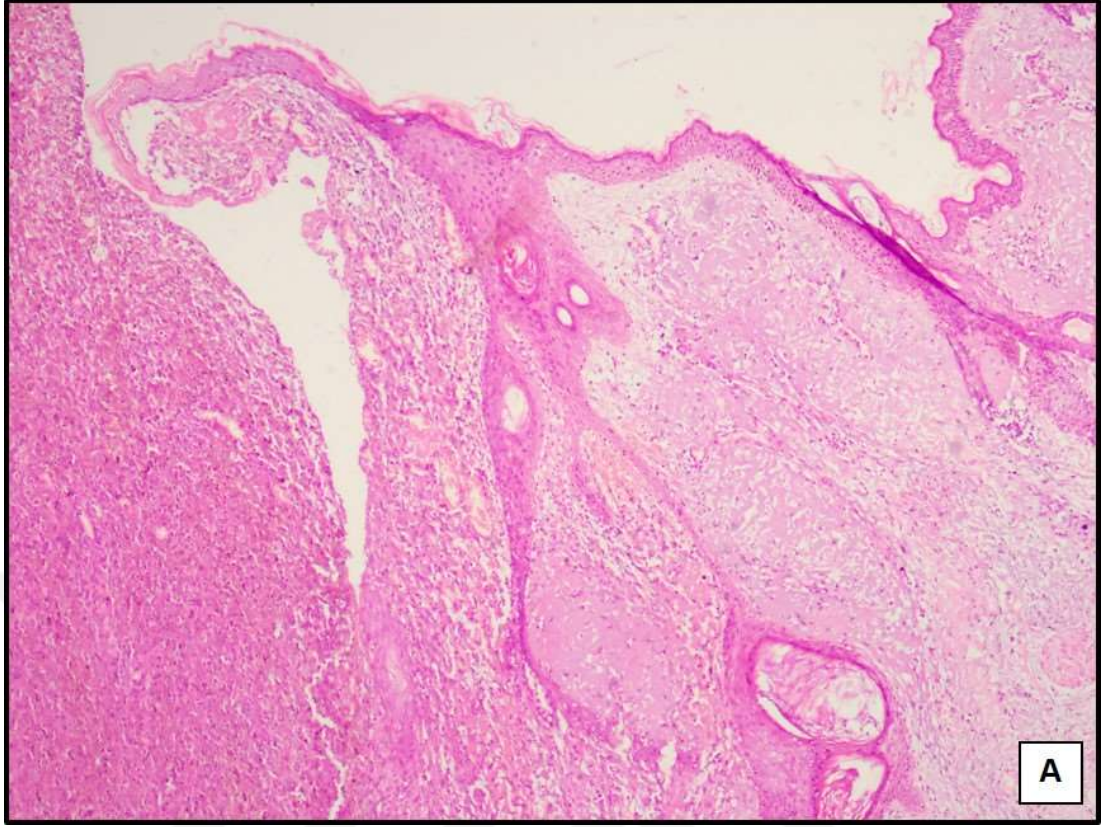
Resim 13. Follikülotropik MM olgusu (Patern V). Nestin boyanma skoru 3 (negatif ve zayıf/güçlü pozitiflik gösteren alanlar bulunmaktadır) (A; x40) Pigmente alanların bazıları tümüyle nestin ile (-) ya da oldukça zayıf (+)'lik gösterirken (B; x200), bazıları ise daha güçlü (+)'lik sergilemektedir (C; x400).



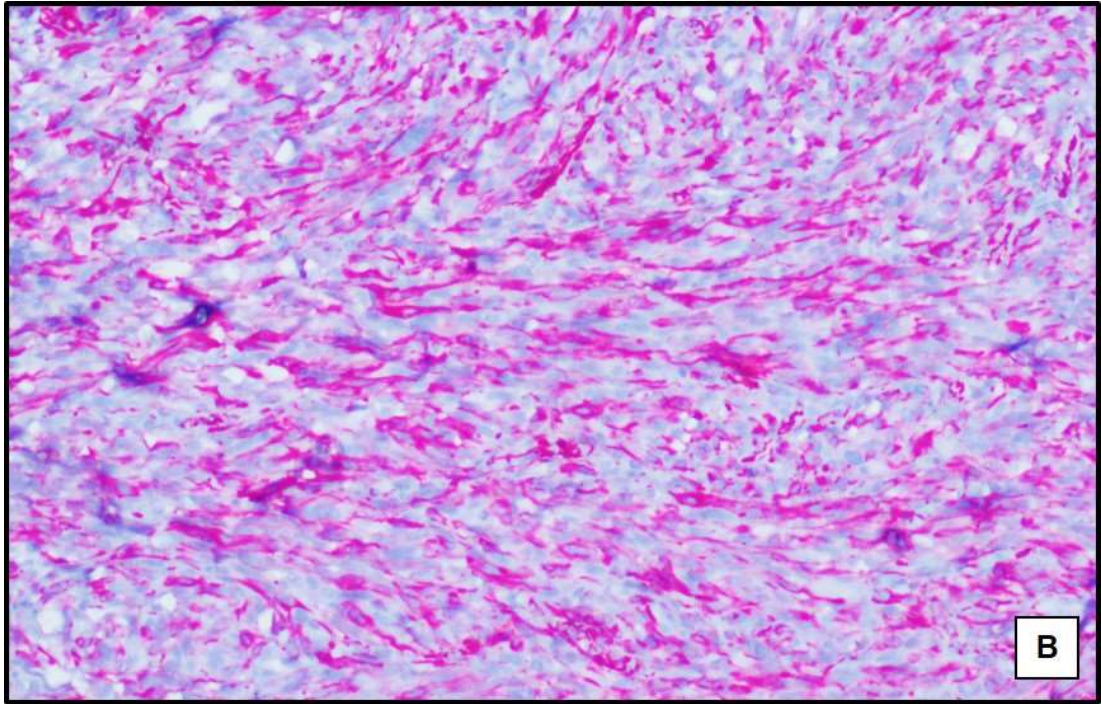
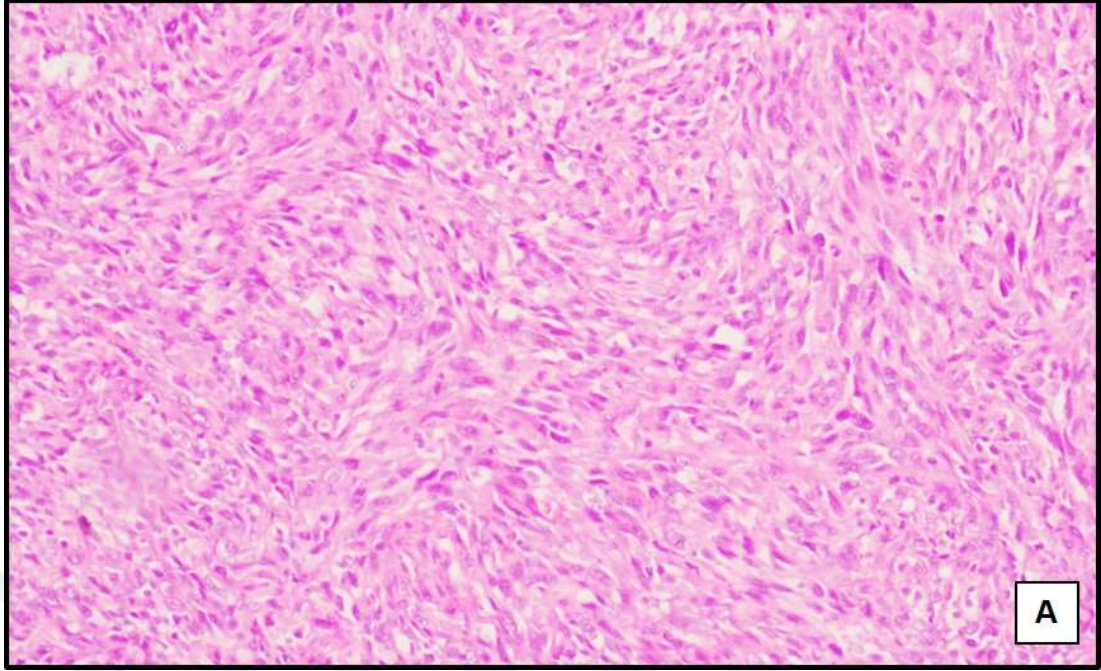
Resim 14. Follikülotropik MM olgusu (Patern V). Tümör komşuluğundaki epidermiste ve kıl folliküllerinde olağan CK15 boyanma paterni izlenmektedir (A; x40). Tümörün epidermis ile ilişkili olduğu alanlarda bazaldeki CK15(+) hücreler ortadan kalkmış görünümündedir (B; x100), neoplastik infiltrasyonun epidermise ilerlemediği alanlarda ise kontinü CK15(+)'liği izlenmektedir (C; x100). Destrükte olmuş kıl follikül epitelindeki rezidü CK15 boyanması görülmektedir (D; x40).



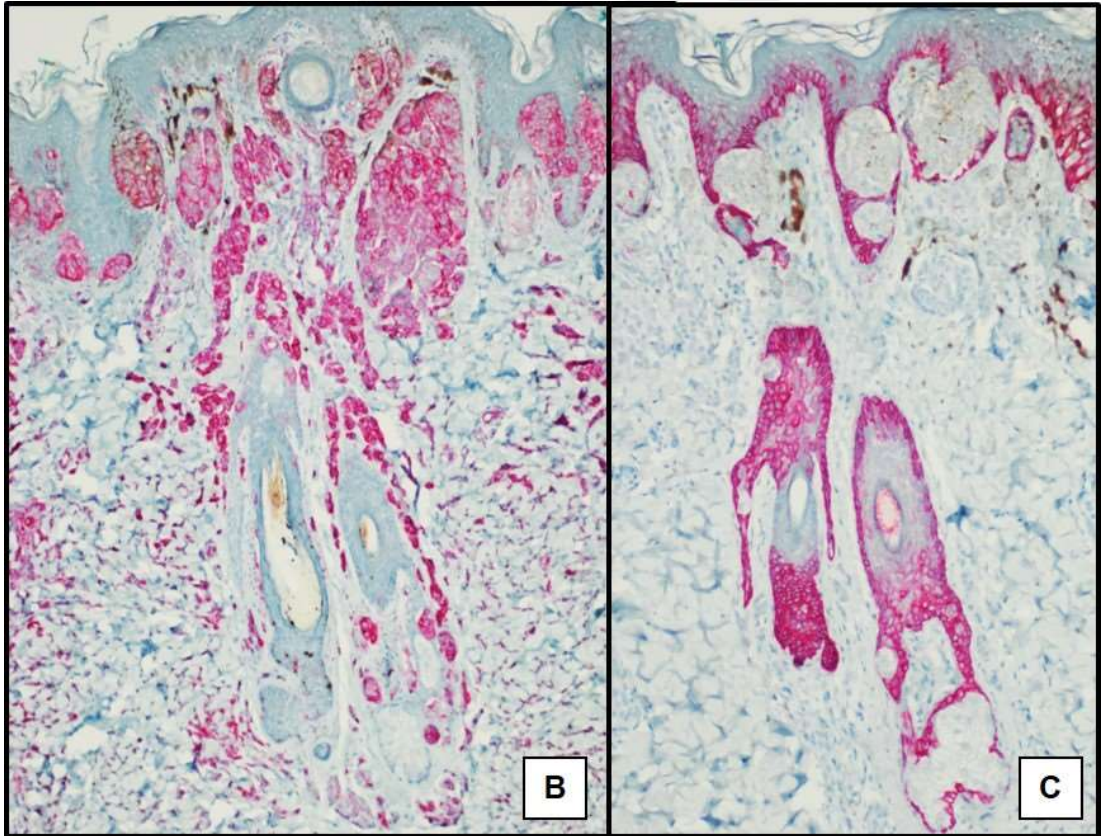
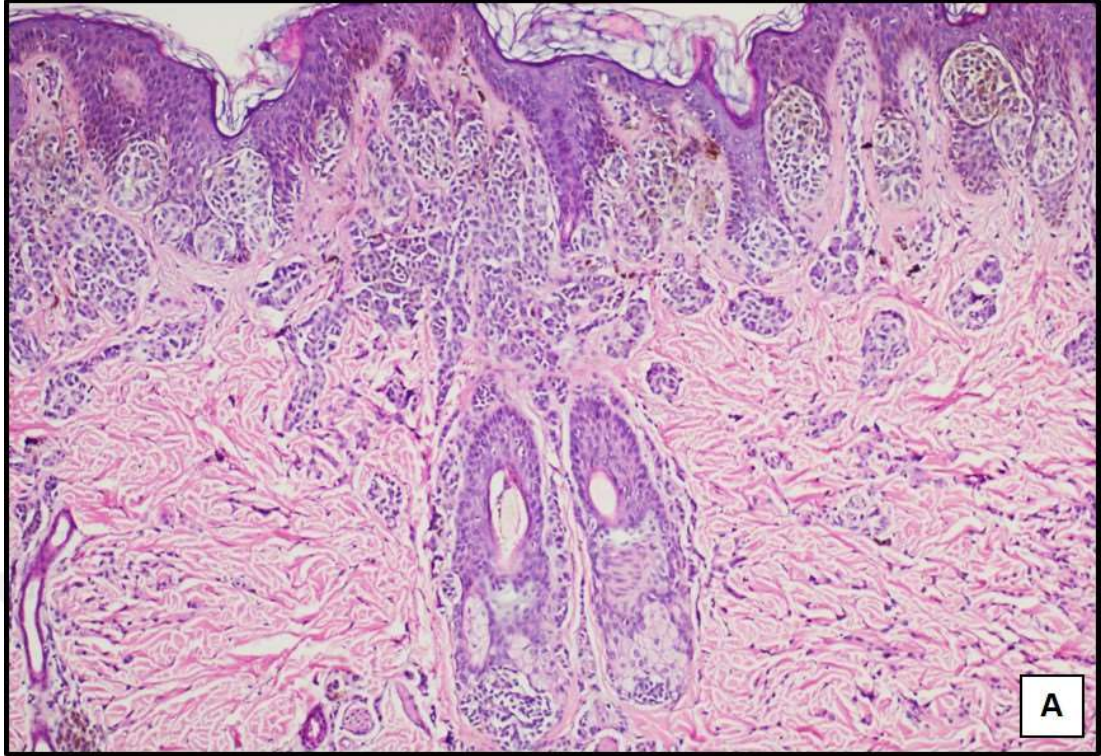
Resim 15. Pigmentasyon gösteren follikülotropik MM olgusu (Patern V) (A; HE, x40). Nestin boyanma skoru 1 (B; x100). Folliküldeki lentijinöz tutulum alanlarını atlayan, tümör komşuluğu nonneoplastik epidermiste devam eden kontinü CK15(+)'liği (C; x100).



Resim 16. F(-) invaziv MM olgusu (A; HE, x40). İnvaziv alan komşuluğundaki epidermisteki bazalde tek sıralı olağan ve intakt kıl follikülü epitelindeki, yer yer kesintili olarak izlenen CK15 boyanması (B; x40).



Resim 17. F(-) invaziv MM olgusu (A; HE, x200). Nestin boyanma skoru 3 (negatif ve güçlü pozitif alanlar içermektedir) olarak kaydedilen olguda hafif içsi morfolojinin görüldüğü, güçlü (+)'lik gösteren alanlar izlenmektedir (B; x200).



Resim 18. İsthmik düzey F(+) melanositik nevüs olgusu (A; HE, x100).Nestin boyanma skoru 2 (B; x100). Melanositik yuvalarda CK15 kesintiye uğramakta, yer yer yuvaları sarar tarzda boyanmaktadır. (C; x100).

TARTIŞMA

Yüksek mortalite oranları ve yüksek insidansı nedeniyle MM ile ilgili patogenez ve tümör davranışına etkisi olabilecek faktörler konusundaki araştırmalar yoğun bir şekilde sürmektedir. MM'un evresi, prognozun öngörülmesinde ve tedavi yönetiminin seçilmesinde önemli bir parametredir. Halen kullanılan sınıflamalara göre, raporlamada yer alan Clark ve Breslow kalınlığı belirlenirken, tümör kalınlığı ölçümünde F durumu göz önüne alınmamaktadır. Ancak son yıllarda melanom olgularındaki F ile ilgili konunun önemine vurgu yapan tanımlayıcı çalışmalar giderek artmaktadır.

İlk kez Hantschke ve arkadaşlarının baş-boyun bölgesi yerleşimli beş olgusu ile "folliküler malign melanom" kavramı ortaya atılmış, bunu benzer olgu sunumları izlemiştir (132; 133).

Hantschke ve arkadaşlarının serisindeki olguların, klasik LM/LMM'ye kıyasla daha erken (9 ay-1,5 yılda) invaziv karakteristikler kazandıkları görüldüğü için bu yayın ile birlikte, MM'deki kıl follikülü tutulumunun tümörün biyolojik davranışını etkileyebilecek bir parametre olduğuna dikkat çekilmiş ve takip eden olgu sunumu ve çalışmalar ile bu özelliğin prognostik bir önemi olup olmadığı sorgulanmaya başlamıştır. Olgu sunumları şeklinde F(+) agresif, metastatik melanomlar tanımlanmaya devam etmiş, "folliküler malign melanom, metastatik varyant", "metastatik follikülotropik malign melanom" gibi isimlendirmelerin kullanılmasıyla ve terminolojide farklılık ve çeşitlilik ortaya çıkmaya başlamıştır (134-139). Bildirilen olgularda primer tümörün follikülotropizm gösterdiği durumlarda, izleyen metastatik lezyonlarda da bu özelliğin devam etmesi, malign melanositlerin köken aldığı hücreler ve kıl folliküllerine yayılım gösteren melanositlerin biyolojik davranışları hakkında soru işaretlerinin artmasına yol açmıştır. Çalışmamızda da ilk tanımlanan

olgulara benzer şekilde rekürrens ve uzak metastazlarla giden, sonradan gelişen melanom lezyonlarında da follikülotropizmin devam ettiği bir olgu bulunmaktadır.

Brick ve ark'ları 2013 yılında, BRAF mutasyonunun saptandığı ilk follikülotropik metastatik melanom olgusunu yayınlamışlardır (140).

Literatürde MM'lerde kıl follikülü tutulumunu ele alan olguların sayılarındaki artış ve bu tümörlerle ilgili daha çok verinin birikmesi, bu özelliğin tümörlerin biyolojik davranışına etkisinin olabileceği görüşünü desteklemiştir. Aslında, Hantschke ve ark'nın primer folliküler melanom tanımını ortaya attıkları yayınlarından önce, 2002 yılında, Cook ve ark'ı, <1 mm Breslow kalınlığında ve metastaz göstermiş 54 MM olgusu ile < 1 mm Breslow kalınlığındaki, invaziv, ancak 5 yıllık takiplerinde metastaz saptanmamış 56 kontrol MM olgusunu karşılaştırmış; vertikal büyüme, regresyon ya da belirgin mitoz varlığı gibi progresyon için önemli olan diğer risk faktörlerinin bulunmadığı, düşük riskli kabul edilebilecek 8 ince MM olgusundan 5'inde, atipik melanositlerce destrüktif perifolliküler ve folliküler invazyonun gözlenmesinin metastazı kolaylaştırabilecek faktörlerden biri olduğunu belirtmiş; ince MM'lerdeki yaygın F(+)'liğinin vertikal büyüme fazının bir varyantı olabileceğini ileri sürmüşlerdir (131). Bu bulgu, Hantschke ve ark'nın, kendi olgularında gözlemledikleri, kıl follikülü tutulumu oluşturan in situ lezyonların daha erken invaziv karakteristikler kazanması özelliği ile de paralellik göstermektedir.

Sonuçta artan yayınlar ile MM'lerde kıl follikül tutulumuna dikkatin çekilmesi, kıl follikülünde atipik melanositlerin yaptıkları infiltrasyon paternleri ve follikül tutulumunun bir prognostik önemi konusuna yoğunlaşılmasını da beraberinde getirmiştir. Kullanılan kaynakların çeşitliliği (DSÖ, CAP, Royal College of Pathologists (RCPATH), Royal College of Pathologists of Australasia (RCPA) gibi) ve dermatopatoloji kitaplarında kılavuzların yer almaması, MM raporlamasındaki standardizasyonu güçleştirdiği gibi kaynaklarda kıl follikülünün melanom hücreleri ile invazyonunun nasıl tanımlanacağı konusunda da bir fikir birliği bulunmamaktadır. Kanser raporlamalarında fikir birliği oluşturmak, hangi parametrelerin zorunlu olarak bildirimini yapılması

gerektiğini, hangilerinin yorumlara eklenmesinin faydalı olacağını belirlemek amacıyla, 2011 yılında International Collaboration on Cancer Reporting (ICCR)'in oluşturulması için yapılan toplantıda kutanöz MM'larda standardize patolojik raporlama geliştirilmesi için çalışmalar yapılması planlanarak, bildirim zorunlu parametreler arasında yer alan Breslow kalınlığı kısmında, periadneksiyel yayılım konusuna da değinilmiştir (172). Burada alınan kararlara göre, invazyon alanının yalnızca periadneksiyel yayılım odağı olduğu durumlarda klasik Breslow kalınlığı ile beraber, dış kök kılıfı epitelinin en iç tabakasından ya da ter bezlerinin iç lüminal yüzeyinden başlayarak, periadneksiyel dermisteki en uç infiltrasyon alanına dek yapılan ölçümün verilmesinin doğru olacağı belirtilmiştir. Periadneksiyel yayılım odağı dışında başka invaziv alanlar varsa periadneksiyel yayılım göz önünde bulundurulmadan klasik ölçüm sistemine göre Breslow kalınlığının belirlenmesi konusunda fikir birliğine varılmıştır.

Literatürdeki tüm bu verilerden yola çıkarak, yayınların çoğunun olgu sunumu biçiminde olduğu ve geniş serilerin pek bulunmadığı “melanomlarda kıl follikülü tutulumu” konusunda raporlamaya katkı sağlamak amacıyla, 2017 yılında Tjarks ve arkadaşları yeni bir histopatolojik sınıflama sistemi önermişlerdir (115). Cleveland Clinic dermatopatoloji veritabanından, 1992-2016 yılları arasındaki 24 yıllık periyotta F(+) 29'u invaziv, 90 MM olgusunda in situ ve invaziv lezyonlar için tutulum paternlerine göre bir sınıflama sistemi geliştirilmiştir. “Primer folliküler melanom” tanısı için Hantschke ve ark'nın (132) tanımlaması temel alınmış, bu tutulum “patern VI” olarak belirlenmiştir. Patern V olarak tanımlanan follikülotropik melanom, epidermisten köken alan ve derine doğru ilerleyen, kıl folliküllerinde de yaygın tutulum yapmış MM'ler olarak tanımlanmıştır (bu olgular için her iki yana doğru olan epidermal yayılım, folliküldeki melanomatöz invazyonun derinliğini aşar). Patern IV, in situ melanomdan kaynaklanan invaziv melanom + yaygın follikül tutulumu olarak tanımlanmıştır; tutulum lentijinöz ya da nested karakterde olabilir. İn situ MM'ler için kıl follikülü epitelindeki lentijinöz ya da nested karakterdeki tutulum baz alınarak patern I “lentijinöz tip”, patern II “nested tip” ve patern III “lentijinöz+nested tip” tutulumu tanımlamaktadır. Bu çalışmada 29 invaziv MM

olgusunun 12'sinde invaziv komponentte F(+) izlenmiştir (patern VI, n=2; patern V, n=7; patern IV, n=3). Kalan 17 invaziv MM olgusunda ise invaziv komponentte değil, eşlik eden in situ alanlarda F(+) görülmüştür (patern 1, lentijinöz, n=2; patern 2, nested, n=9; patern 3, lentijinöz+nested, n=6). İn situ MM tanısı alan 61 olguda en sık gözlenen tutulum paterni lentijinöz tip (patern I, n=33) olmuştur. Bunu lentijinöz+nested (patern III, n=18) ve nested (patern II, n=10) tip tutulumlu olgular izlemiştir.

Çalışmamızda F(+) MM'lardaki patern değerlendirmesi, bu sınıflamadaki tanımlamalara göre yapılmıştır. On bir yıllık periyoda ait MM eksizyonel biopsilerinin yeniden değerlendirmesinde 57 olguda (%54,3) gördüğümüz F(+)’liğin patern sınıflamasında, patern IV’e uyan 18, patern V’e uyan 26 invaziv MM olgusu saptanmıştır. Olgularımız arasında patern VI- primer folliküler melanom tanımına uyan bir olgu görülmemiştir. İn situ MM'larda, Tjarks ve ark'nın olguları gibi, en sık lentijinöz tip tutulum (patern I, n=8) görülmüştür. Bunu nested tip (patern II, n=3) ve lentijinöz+nested tip (patern III, n=2) tutulum izlemiştir.

Tjarks ve ark'nın serisinde lezyonların 62'si (%68,8) baş-boyun bölgesi yerleşimli olup, ikinci en sık yerleşim sırt bölgesi (n=16) olarak kaydedilmiştir. Bizim serimizde de F(+) MM grubunda, benzer şekilde en sık lezyon yerleşimi baş-boyun bölgesi olarak kaydedilmiştir (n=39, %68,4). Lezyonların ikinci sık görüldüğü bölge gövde arka yüzdür (n=7, %12,3). Literatürde tanımlanan primer folliküler melanom olgularının da çoğunun baş-boyun bölgesi yerleşimi gösterdiği unutulmamalıdır (132; 138; 135).

Tjarks ve ark'nın serisinde olguların erkek/kadın (E/K) oranı yaklaşık 2/1 iken, bizim serimizde ise F(+) MM'lar içerisinde E/K oranı yaklaşık 1/1'dir.

Tjarks ve ark'nın çalışmasında değerlendirilen bir başka histopatolojik özellik, tümör mikroçevresi için TİL oranlarına bakılması olmuştur. Ancak bu özellik tüm olgu grubunda değil, daha yaygın folliküler tutulumun izlendiği, sadece lentijinöz tip tutulum izlenen 12 olguda incelenmiştir. Bu olgularda epidermal melanom hücreleri-folliküler melanom hücreleri çevresi TİL yoğunluğu karşılaştırılmıştır. Olguların 10'unda epidermal melanom hücreleri çevresi TİL yoğunluğu daha fazla iken, 2 olguda fark gözlenmemiştir. Tümör

genelindeki TİL yoğunluğu verisi hakkında ise yorum yapılmamıştır. Literatürde TİL skorlaması ile ilgili çeşitli yayınlar ve birbirlerinden minimal farklılıklar gösteren çeşitli skorlama sistemleri bulunmaktadır (89; 123; 173).. Çalışmamızda hem F(-) hem F(+) MM'lerde yalnızca tümör genelindeki TİL yoğunlukları kaydedilmiştir. Paternlere göre TİL durumu karşılaştırmasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilmemekle birlikte, F(+) in situ MM olgu grubunda (patern I-III) yalnızca 4 olguda TİL varlığı saptanması dikkat çekicidir. Ancak F(+) görülen MM olgularında TİL durumunu, Tjarks ve ark'nın çalışmalarında ortaya atıldığı biçimde, epidermal melanom hücreleri-foliküler melanom hücreleri çevresi TİL yoğunluğunu karşılaştıracak biçimde bir değerlendirme sistemi geliştirilebilmesi ve bunun prognostik bir önemi olup olmadığının araştırılabilmesi için, TİL'i temel alan geniş olgu grubunu kapsayan çalışmalar yapılması gereklidir.

Tjarks ve ark'ları çalışmalarında, raporlamada "folliküler Breslow kalınlığı"nın da belirtilmesi konusuna da değinmişlerdir. Bu araştırma, MM olgularının raporlanmasında patologlar arası tutarsızlıkların vurgulanması açısından önemlidir. Arşiv taramaları sırasında bazı patologların yalnızca Breslow kalınlığını bildirdiği, bazılarının hem Breslow kalınlığı hem folliküler Breslow kalınlığını bildirdiği, bazılarının ise yalnızca folliküler Breslow kalınlığını bildirdiği gözlenmiştir. Raporlamada folliküler Breslow kalınlığına (granüler tabakadan, folliküler epitelden yayılmış en derin atipik melanosite dek) da yer verilmesi önerilmiştir.

Foliküler Breslow kalınlığı ile ilgili tartışmalar önceki başka çalışmalarda da yer almaktadır. Pozdnyakova ve ark'nın çalışmasında da (174) bu konuya değinilmiştir. Yine, MM'lardaki histopatolojik prognostik faktörlerin ele alındığı, Ivan ve Pioto'nun yayınında da F(+)'liği izlenen olgularda rapora klasik Breslow kalınlığına ek olarak follikül çevresi melanom kalınlığı ölçümünün de eklenebileceği belirtilmiştir (175). Bununla birlikte, hem Tjarks ve ark'larının çalışmasında, hem de diğer yayınlarda, bu verinin gerçek tümör volümünü yansıtan bir parametre olmadığı, yalnızca yaygın follikül tutulumunun bir göstergesi olduğunun açıkça belirtilmesi gerektiği de vurgulanmıştır. Raporlamada yalnızca folliküler Breslow kalınlığının bulunmasının metastaz

riskinin olduğundan fazla yorumlanması gibi sonuçlar doğuracağı düşünülmektedir.

F(+) MM'larda tutulum derinliğinin belirtilmesinde follikül tutulumunun mikroanatomik düzeylerinin kaydedilmesinin yararlı olabileceği düşünülmüştür. F(+) MM olgularındaki mikroanatomik tutulum düzeyi, Tjarks ve ark'dan önce, Pozdnyakova ve ark'nın serilerinde ele alınmış, 61'i in situ MM, 39'u in situ+invaziv MM olmak üzere toplam 100 MM olgusunun %82'sinde bir ya da daha fazla kıl follikülünde tutulum görülmüştür (174). Kıl follikülü tutulumu, mikroanatomik düzeylerine göre kategorilendirilerek (57 olguda (%69,5) infundibulum, 24 olguda (%29,3) isthmus, 1 olguda bulbus tutulumu bildirilmiştir.

Tjarks ve ark'nın serilerinde, 4 olguda tutulum düzeyi bildirilmezken, kalan 86 olgunun yarısında isthmus düzeyine dek infiltrasyon görülmüş (27'si in situ, 8'i invaziv, 8'i invaziv+in situ komponent izlenen MM olmak üzere toplam 43 MM) bunu infiltrasyonun infundibulumda sınırlı kaldığı olgular izlemiştir (31'i in situ, 2'si invaziv, 2'si invaziv+in situ komponent izlenen MM, toplam n=35 MM).

Çalışmamızdaki F(+) MM grubundaki olgularda ise infiltrasyon daha çok infundibulumda sınırlı olup (11'i in situ, 4'ü invaziv, 24'ü invaziv+in situ komponent izlenen MM, toplam 39 MM, %68,4) 17 olguda (%29,8) isthmik bölgeye dek ilerlemiştir (2'si in situ, 15'i invaziv+in situ komponent izlenen olgular). Yazarların 90 olguluk serilerinde yalnızca 8 tümörde (%8,8) bulbus düzeyine dek infiltrasyon izlenmiş olup (3'ü sadece in situ, 2'si sadece invaziv, 3'ü invaziv+in situ komponent izlenen MM); bizim olgu grubumuzda ise in situ komponent içermeyen 1 olguda (%1,7) bulbus düzeyine dek infiltrasyon saptanmıştır.

Hem bizim serimizde, hem Pozdnyakova ve ark'nın, hem de Tjarks ve ark'nın serisinde, bulbus tutulumunun oldukça nadir bir bulgu olduğu dikkati çekmektedir. Tjarks ve ark'ları çalışmalarında bununla ilgili ek bir yorumda bulunmazken, Pozdnyakova ve ark'ları, kıl follikülündeki invazyon derinliğinin olası nedenleri konusunda görüşler ileri sürmüştür. Neden bazı lezyonlarda kıl follikülü epitelinde tutulum gözlenmediği, tutulum gözlenen olgularda ise

lezyonun in situ–invaziv komponentleri içermesi, histolojik alt tipi, lokalizasyonu gibi özelliklerin bu durum üzerinde etkisi olup olmadığı sorularına yanıt aranmıştır. Çalışmalarında pür in situ lezyonlarla karşılaştırıldığında, in situ+invaziv MM'daki follikül tutulumunun daha derin düzeyli olduğu dikkati çekmiştir. Bizim serimizde pür in situ F(+) MM olgu sayısı az olmakla birlikte (n=13), oransal olarak bakıldığında pür in situ grup ile in situ+invaziv MM grubu karşılaştırıldığında benzer bir durum gözlenmiştir. Pür in situ grupta isthmus düzeyi tutulumu %15,3 (n=2) olarak kaydedilirken, in situ+invaziv MM grubunda (n=39), daha yüksek oranda (%38,4, n=15) isthmus düzeyi tutulumu izlenmiştir. Ancak yine de belirtmek gerekir ki, serimizde hem pür invaziv MM grubunda, hem in situ+invaziv MM grubunda baskın olarak infundibuler düzey F(+)’liği gözlenmiştir. İn situ MM’lerde de, kıl follikülünde tümör hücrelerinin isthmus düzeyinin altına kadar bulunabileceği bildiren araştırmacılar az da olsa vardır (176).

Lokalizasyon ile tutulum düzeyi ilişkisi incelendiğinde Pozdnyakova ve ark’ları, baş-boyun yerleşimli lezyonlarda, diğer yerleşimli lezyonlara göre daha çok isthmusa doğru yayılım olduğunu saptamışlardır. Bizim çalışmamızda ise, lokalizasyon ile mikroanatomik tutulum düzeyi arasında anlamlı bir ilişki varlığı gözlenmemiştir.

Yine olgular histolojik alt tipler açısından incelendiğinde LMM’lerde, yüzeysel yayılan melanomlara göre daha derine (isthmus) doğru infiltrasyon varlığı gözlenmiştir (174). Bizim çalışmamızda ise histolojik alt tipler ile tutulum düzeyi arasında anlamlı bir ilişki varlığı gözlenmemiştir.

Pozdnyakova ve ark’ları, follikül tutulum düzeyi açısından cinsiyetler arasında fark saptamadıklarını belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da cinsiyetler arası istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemekle birlikte, oransal olarak, erkek cinsiyette, lezyonlardaki tutulum düzeyinin daha derin olduğu dikkati çekmiştir (isthmus düzeyi tutulumu erkeklerde %36,6 iken kadınlarda %22 bulunmuştur).

Kendi olgu serimizdeki 57 F(+) MM olgusu içerisinde çoğunlukla multipl ya da tüm kıl folliküllerinin tutulumu izlenmiş, yalnızca bir kıl follikülünün

infiltrasyonunun izlendiği 5 olgu (%8,8) saptanmıştır. Ancak tutulan follikül sayısı ile diğer histopatolojik parametreler arasında ilişki gözlenmemiştir.

Çalışmamızda, mikroanatomik tutulum düzeyi ile tutulum tipi arasındaki ilişkiye bakıldığında, lentijinöz tip tutulum varlığında infiltrasyonun daha çok infundibulum düzeyine sınırlı kaldığı ve bu verinin istatistiksel olarak da anlamlı olduğu görüldü ($p=0,002$).

Pozdnyakova ve ark'ları serilerinde hem dinlenme fazındaki telojen killarda, hem de büyümekte olan anajen killarda infundibulum ve isthmus düzeyinde tutulumlarını saptamış, bu veriden yola çıkarak tutulum düzeyi ile kıl döngüsü arasında ilişki bulunmadığını belirtmişlerdir. Ancak bu çalışmada da bulge bölgesi altına yayılımın yalnızca 1 olguda gözlenmiş olması burada fizyolojik bir bariyer olabileceği hipotezini gündeme getirmiştir.

Kıl follikül epitelinde yalnızca malign melanositik hücre popülasyonu ile değil, bazı melanositik nevüslerde olduğu gibi, benign hücrelerle de infiltrasyon gözlenebildiği bilinmektedir. Bir çalışmada benign nevüslerde kıl folliküllerinde melanositlerin lentijinöz yayılımının oranı %7,7 (7/91) olarak bildirilmiş olsa da (177) bu özellik nevüslerde net tanımlanmış değildir. Çalışmamızda karşılaştırma amacıyla 30 melanositik nevüs olgusu yer almaktadır. Olgu grubumuzda nevüslerde lentijinöz tip tutulum baskın olmakla birlikte ($n=16$), lentijinöz+nested tip ($n=10$) ve nested tip ($n=4$) tutulum da gözlenmiştir. Ancak lezyonun lokalizasyon, yaş, cinsiyet gibi özellikler ile tutulum tipi arasında bir ilişki bulunmamıştır. Bu olgularda da infiltrasyon çoğunlukla infundibulum düzeyine sınırlıdır ($n=22$), yalnızca 8 olguda isthmus düzeyine ulaşan infiltrasyon görülmüştür. Bulbus düzeyine ulaşan infiltrasyon saptanmamıştır. Nevüslerdeki tutulum tipi ya da mikroanatomik tutulum düzeyi, MM gruplarından farklılık göstermemiştir.

Bu veriler bazı soruları da beraberinde getirmiştir: MM'ler neden kıl follikülü melanositlerinden kaynaklanmamaktadır? İn situ MM'ler epidermis boyunca ya da epidermis içinde yaygın yayılım gösterebiliyor iken, kıl follikül epitelinde neden daha yüzeye sınırlı olarak izlenmektedir? Melanom hücrelerinin tüm kıl follikülünde tutulum oluşturmasını engelleyen nedir?

Podznyakova ve ark'nın çalışmalarında (174) bu soruları cevaplamaya yönelik çeşitli hipotezler ileri sürülmüştür:

Bunlardan ilki “*stay in place*” – “*yerinde kalma*” hipotezidir. Normalde melanositler dermal-epidermal bileşkede yerleşir ve UV ışık ya da diğer uyarılara bağlı olarak proliferere olabilir. Dermoepidermal bileşkede, melanositlerin büyümesini ve yayılımını sağlayan kemotatik faktörler olabileceği düşünülmektedir. Ideta ve ark'nın (178) çalışmalarında in vitro olarak bu özelliğe bir faktör tanımlanmıştır. Melanositlerin büyümesi ve gelişimi için epidermal faktörlerin önemli olması, in situ melanom hücrelerinin bu spesifik anatomik lokalizasyonda ve muhtemelen epidermis içerisindeki yayılıma daha meyilli olması görüşünü desteklemektedir.

İkinci hipotez “*direct spread*” – “*direkt yayılım*” olarak isimlendirilir. İfundibular keratinositler, epidermal keratinositler ile devamlılık gösterdiğinden, in situ epidermal melanom hücrelerinin, infundibular keratinositlere doğru yayılması beklenebilir ve bu özellik lentiginöz yayımlı melanomlarda da gözlenebilen bir bulgudur. Bu durum, iki keratinosit tipinin histolojik ve biyolojik benzerlikleri ile açıklanabilir. Epidermal ve infundibular keratinositler MRP8 (S100A8) adı verilen bir epitelyal belirteç ekspres eder. MRP8 ekspresyonu, bulge bölgesi altında kalan kıl follikülü alanlarında gözlenmemekte olup, keratinositlerin yerleşimlerine göre biyolojik davranışlarında farklılıklar izlenebileceği görüşünü desteklemektedir.

Üçüncü hipotez “*immunologic barrier*” – “*immünolojik bariyer*” hipotezidir. Normal kıl follikülünün immün sistemi oldukça komplekstir. Major histocompatibility complex (MHC) sınıf I ve sınıf II hücrelerin büyük kısmı follikülün üst kısımlarında yer alırken, Langerhans hücreleri, CD4(+) ve CD8(+) T lenfositler dış kök kılıfının üst kısımlarında, makrofajlar ve mast hücreleri ise bağ doku kılıfı içerisinde yer alır (179). İsthmusun altında kalan kıl follikülü kısmı, sadece birkaç MHC sınıf I hücrelerin bulunduğu immün ayrıcalıklı bir bölgedir (180). İmmün yanıtı sağlayan hücrelerin bu seçici dağılımı, kıl follikülünün değişik enfeksiyonlardan korunmasına ek olarak, kök hücrelerin varlığı ile kıl follikülünün en önemli kısmını oluşturan bulge bölgesinin de diğer antijenik uyarılardan korunmasında rol oynamaktadır (179). Ohyama ve

ark'ları insan bulge dış kök kılıfı hücrelerinde yüksek CD200 ekspresyonu gözlemlediklerini bildirmiştir. Bir tip I transmembran glikoproteini olan CD200, myeloid seri hücreleri yanı sıra CD4(+) ve $\gamma\delta$ T hücrelerinde ekspresyonu bulunan CD200R üzerinden negatif regülatuar sinyal iletir (181). Fare kıl folliküllerinin aksine, CD200 ekspresyonunun insan kıl folliküllerinde bulge bölgesine sınırlı olması, kök hücre nişine immün bir ayrıcalık kazandırmaktadır. Epidermise yakın komşuluktaki bu immünolojik bariyerin varlığı malign melanositlerin yayılımına durdurucu bir etki olabilir.

Dördüncüsü "*physical barrier*" – "*fiziksel bariyer*" hipotezidir. Melanom yayılımının önlenmesinde bir başka alternatif ise kıl follikülünün derin kısımlarındaki ya da follikül etrafındaki bağ doku kılıfında bulunan henüz tanımlanmamış faktörlerin varlığıdır. Bir tenascin glikoproteini olan Tenascin-C bu faktörlerden biri olabilir. Tenascin-C'nin fonksiyonu ve regülasyonu net olarak aydınlatılamamış olsa da tümör invazyonunda stromal-epitelyal etkileşimde rol oynadığı düşünülmektedir (141). Tenascin-C, yalnızca bulge bölgesini çevreleyen stromada bulunduğundan, bunun kıl follikülünü malign hücrelerin infiltrasyonundan koruyan bir faktör olabileceği düşünülmektedir. Buna ek olarak, kök hücre nişi yakınlarındaki, henüz tanımlanmamış başka faktörlerin de melanomun, kıl follikülünün derin kısımlarına doğru büyüme ve göçünde engelleyici olma ihtimali vardır.

Beşinci hipotez ise "*one-way migration*" – "*tek yöne göç*" hipotezidir. Melanositler hem epidermis bazal tabakasında, hem de kıl folliküllerinin bulbus kısmında bulunmaktadır. Melanositlerin normal yaşam döngüsü halen net olarak aydınlatılamamış olsa da Nishimura ve ark'nın çalışmasında insan melanoblastlarının, kıl follikülünün alt, kalıcı kısmında gözlendiği, bu bölgenin kıl matriksi ve epidermal melanositler için kök hücre kaynağı olduğu belirtilmiştir (182). Folliküler papillaya yakın yerleşmiş, kıl matriksinde proliferasyon gösteren melanoblastlar yüksek steel factor (SLF), c-kit reseptörü ligandı ekspresyonu gösterir (183). SLF'nin insan bazal keratinositlerinde ekspresyonunun varlığı, dış kök kılıfı ve epidermis arasında, melanoblastların göçünü kolaylaştıran muhtemel bir ilişki olduğuna işaret eder.

Bunlara karşılık literatürde, MM'lerin primer olarak kıl folliküllerinden kaynaklanıp kaynaklanamayacağı konusunda tartışmalı görüşler bulunmaktadır. 1988 yılında Sigg ve ark tarafından böyle bir olgu tanımlanmış ancak daha sonra benzer bir melanom bildirilmemiştir (184; 185). Teorik olarak kıl follikülünden kaynaklanan primer MM'lerin bulunma olasılığı olmakla birlikte, bunların kökenini net bir şekilde saptamak güçtür. Tümör büyük boyutlara ulaştığında, böyle bir tümörün primer mi yoksa bir kutanöz MM metastazı mı ayrımının histolojik olarak yapılması mümkün olmayabilir.

Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde isthmusun inferior kısmında, bulge bölgesi kök hücre nişindeki hücrelerde yüksek $\beta 1$ integrin ve CK15 pozitifliği daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (143). Kök hücre nişi bağ doku kılıfın başladığı alanda sonlanmaktadır. Ek olarak daha önceki bir çalışmada MRP8(S100A8)'in, bulbus kısmıyla kıyaslandığında, alt isthmus bölgesinde daha fazla eksprese olduğu gözlenmiştir (186). Bu epitelyal diferansiyasyon belirteci, isthmus, infundibulum ve epidermis gibi MM gelişimini destekleyen ve dış kök kılıfından farklı biyokimyasal özellikler sergilediği anlaşılan bölgede izlenmektedir. Bu bölgenin özelliklerini aydınlatılmak amacıyla Podznyakova ve arkadaşları tenascin C ve CD200 ekspresyon paternlerini değerlendirmiş ve bu belirteçlerin, MM invazyonunun efektif bir şekilde bloklandığı, bulge bölgesinde yüksek ekspresyon gösterdiklerini gözlemlemiştir. CD200, otoimmünitede rol oynayan bir hücre yüzey belirteci olup folliküler kök hücre belirteçleri arasında da sayılmaktadır, bulge bölgesinde CK15 (+) hücrelerle CD200 (+) hücrelerin birlikte bulunduğu bilinmektedir (187) Bu verilerin, olası bir kıl follikülü bariyeri varlığı konusundaki çalışmalar için öncü olacağı öngörülmüştür.

İmmunolojik bariyer ve fiziksel bariyer ile ilgili hipotezlerle ilgili olarak epidermis ve kıl follikülünde yer alan kök hücrelerde eksprese edilen CK15'ten söz edilmelidir. CK15'in keratinosit diferansiyasyonun erken basamaklarını düzenleyici bir rolü olduğu, hücrenin epidermal ya da kıl follikülü yönünde gelişimini etkilediği ile ilgili tartışmalar sürerken, bir diğer tartışma konusu da bulge bölgesi yerleşimli CK15 (+) hücrelerin kıl follikülünde fiziksel bir bariyer oluşturup oluşturmadığıdır. CK15 (+) hücrelerin yüksek $\beta 1$ integrin ve ATP-

binding cassette (ABC) transporter ekspresyonu gösterdikleri saptanmıştır. ABC transporter gen ekspresyonunun kıl folliküllerinin kemoterapötik ajanlardan savunmadaki muhtemel rolleri ile ilgili çalışmalardan elde edilen veriler (157), bu moleküllerin kıl follikülü bütünlüğünü sağlayan epitelyal hücre popülasyonunu korumada rolü olabileceğini düşündürmüştür. Bu genlerin ekspresyonlarının CK15 (+) hücrelerde gözlenmesi, CK15 (+) hücrelerin kıl follikülü bariyerinde rolü olabileceğini akla getirmektedir.

Çalışmamızda, MM'larda ve nevüslerde birbirine tamamen benzer şekilde melanositik proliferatif hücrelerin ya da yuvaların bulunduğu epidermal bazal tabakada, tümöre uyan alanlarda boyanmanın kesintiye uğradığı saptandı. Bazal tabakada yerleşmiş tümöral hücreler arasında tek tek rezidü CK15 (+) hücre boyanmaları yanı sıra in situ MM olgularında ve nevüslerde dermoepidermal melanositik yuvaların periferinde tek tek rezidü hücre boyanması ya da tümör yuvalarını çevreleyen kontinü bir tek sıralı boyanma dikkati çekti. F(-) MM grubunda, çoğu lezyonda kıl follikülündeki CK15 boyanması, olağan boyanma paterni ile benzer diffüz ve güçlüyken, bazı olgularda yamalı bir boyanma izlendi. F(+) MM olgularında ise, follikül epitelindeki neoplastik tutulum alanlarında CK 15 boyanması kesintiye uğramakta olup, diğer bölgelerde nonneoplastik deride tanımlandığı biçimdeydi. Tutulumun mikroanatomik düzeyi altında kalan kıl follikülü alanlarında follikül epitelinde CK15(+)'liğinin çoğu olguda kontinü olarak sürdüğü görüldü. Ancak tutulumun follikülde destrüksiyona yol açtığı ve CK15(+)'liğinin tamamen ortadan kalktığı az sayıda olgu da bulunmaktaydı. Hem malign hem benign lezyonların komşuluğundaki nonneoplastik alanlarda yukarıda tanımlanan olağan CK 15 boyanması gözlenmekteydi.

CK 15 boyanmasının tüm olgu gruplarında benzer nitelikte olması nedeniyle, CK15 (+) hücrelerin MM gelişimi, tümör davranışı veya kıl follikülü tutulumundaki rolüne ilişkin bir veri elde edilmedi.

Nöral krest kök hücrelerde tanımlanan ve tümör virulans ilişkili tip VI intermediyer filaman hücre iskeleti proteini olan nestinin, kıl follikülün bulge bölgesi üzerinde kalan hücrelerde var olduğu ve bu hücrelerin yara iyileşmesi sırasında değişik hücre tiplerine diferansiye olabildiği gözlenmiştir (165).

Deneysel nestin deplesyonunun, prostat karsinomu hücrelerinin invazivliği ile ilişkili olduğu (188), pankreatik kanserlerde ise kanser hücrelerinin göç, invazyon ve metastazını süprese etmek için nestinin terapötik amaçlı yeni bir hedef olabileceği belirtilmiştir (189). Buna karşın MM'lerde (+) olduğu bilinen nestinin melanom kök hücresi/başlatıcı hücre belirteci olabileceği, ancak nestin (+) kök hücrelerin MM'lerdeki fonksiyonel rolünün, konvansiyonel kanser başlatıcı hücrelerden farklılık gösterdiği öne sürülmektedir (190). MM'lerde nestin inhibisyonunun, in vitro olarak melanom hücrelerinin büyüme, göç, invazyon ve küre formasyonu oluşturma yeteneklerini azalttığı, in vivo olarak ise, F-aktin'in ekspresyon paterninde ve MAPK yolağının regülasyonundaki bazı değişikliklere bağlı olarak, tümör büyümesi ve metastazının azalmasıyla ilişkili olduğuna dair veriler elde edilmiştir (191). MM'lerde ileri evre hastalık (192) ve tümörün infiltratif yetenekteki kısımları (193) yanı sıra MM metastazlarının izlendiği bölgelerde nestin overekspresyonu gözlemlendiği bilinmektedir (168). Hastaların periferik kanında, dolaşan nestin(+) melanom hücresi sayısının kötü prognozla korele olduğu bildirilmiştir (194).

Literatürde nestin ekspresyonunun MM alt tiplerinden nodüler tipte, yüzeysel yayılan tipe göre daha güçlü olarak görüldüğü bildirilmiştir. Ayrıca nestin ekspresyonunun tümör kalınlığı, yüksek mitotik oran, ülserasyon varlığı ve tümör nekrozu ile de korelasyon gösterdiği bildirilmiştir. Çok değişkenli analizlerde klinikopatolojik faktörlerle kıyaslandığında, yüksek nestin ekspresyonunun azalmış sağkalım ile birlikte olduğu gözlenmiştir (102). Flamminger ve ark'ları, nestinin, seri-sınırlı transkripsiyon faktörleri olan BRN2, SOX9 ve SOX10 ile birlikte melanositik seri hücrelerinin tüm progresyon evrelerinde eksprese olduklarını göstermiş, SOX9 ve SOX10'un MM'de nestin ekspresyonunda değişikliğe yol açabildiğini belirtmiştir (195). Bakos ve ark, nestin ve SOX9 ekspresyonunu ülsere MM'lerde ve ileri evre MM'lerde yüksek olarak gözlemişler ve bu belirteçlerin tümör agresifliğini yansıtabileceğini öne sürmüşlerdir (196). Tanabe ve ark, nestinin prognostik önemini araştırdıkları çalışmalarında, nestin (-) MM olgularıyla kıyaslandığında, nestin (+)'liği gösteren evre I ve evre II MM olgularının 5 yıllık sağkalımlarının düşük

olduklarını bildirmişler, nestin ekspresyonu varlığının MM olgularında kötü prognostik faktörlerinden biri olabileceğini vurgulamışlardır (197). Klein ve ark, nestin ekspresyonu yoğunluğunun melanomların evresi ile anlamlı korelasyon gösterdiğini gözlemlemişlerdir (168). Bunlara ek olarak nestinin melanotik ve amelanotik HMB-45 (-) nodüler melanomların dermal komponentinde pozitifliği gösterilmiş, tanı zorluklarıyla karşılaşılabilen bu olgularda, diğer belirteçlerle kombine edildiğinde, tanısal değeri olabileceği de ileri sürülmüştür (101).

Bu bulgulardan yola çıkarak, MM patogenezindeki rolünü, nestin (+) kök hücrelerin MM gelişimine katkısı olup olmadığını, nestin ekspresyonunun diğer kötü histopatolojik parametrelerle olası ilişkisini incelemek amacıyla uygulanan immunohistokimyasal nestin belirteci ile, çoğu MM'da ve nevüste diffüz ve güçlü boyanma saptanmış olup literatürdeki bilgileri destekleyen bir bulgu gözlenmemiştir. Nestin ekspresyonunun histolojik alt tipe göre değişkenlik göstermediği saptanmıştır ($p>0,05$). Bu durum, olgularımızın büyük kısmının ileri evre, invaziv olgular olması ve özel bir alt tipe uymamasından kaynaklanıyor olabilir.

Yine nestin boyanma yoğunluğu ve yüzdesi ile Breslow kalınlığı, mitotik oran, ülserasyon varlığı, pT evresi gibi histopatolojik parametreler arasında herhangi bir korelasyon saptanmamıştır. Kötü prognostik faktörleri barındıran, ileri evreli olgularda literatürde tanımlandığı gibi güçlü nestin ekspresyonu görülebildiği gibi, yine bu özellikleri taşıyan ancak bütünüyle nestin (-) olgular da bulunmaktadır.

Çalışmamızda F(-) ve F(+) MM grupları arasında nestin boyanması açısından fark izlenmemekle birlikte nestin (-) olguların ($n=12$), büyük kısmının F(+) MM olguları olması ($n=11$) dikkat çekici bir özelliktir. F(+) MM grubu içinde, tümörün invaziv ya da in situ komponenti arasında, veya kıl follikülü epiteline invazyon izlenen alanlarda, farklı kök hücreden gelişmiş klonların varlığını düşündürecek bir boyanma paterni farklılığı görülmemiştir. Nestin boyanması ile tutulu follikül sayısı, tutulum paterni, tutulumun mikroanatomik düzeyi, destrüksiyon varlığı parametreleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Nestin (-) lezyonların tümünün MM olması ve bunların biri hariç tümünün (11/12) F(+) olgular olması, olası ortak başka özellikler açısından irdeleme yapmayı gerektirmiştir. Nestin (-) F(+) 11 MM'un çoğunda (n=7) infiltrasyon follikülün infundibulum kısmına sınırlı kalmıştır. İsthmik bölgeye uzanan infiltrasyon gösteren 4 olgudan 3'ü invaziv MM olgularıdır. Nestin (-) F(+) 11 olgunun 3'ü patern IV, 4'ü patern V invaziv MM'dur. Kalan 4 in situ MM'un 3'ü patern I, 1'i patern II'ye uyan olgulardır. Nestin (-) 11 olguda izlenen bir başka özellik, olguların yaklaşık yarısını Clark IV (n=5) ve Clark V (n=2) olguların oluşturmasıdır. Nestin negatifliği gözlenen olgularımızdan biri oldukça agresif seyirli giden metastatik folliküler melanom olarak tanımlayabileceğimiz bir olgudur. Bu bulgular nestin ekspresyonu ile tümörün agresif potansiyelinin arttığı görüşünü destekleyen literatür verilerine pek de uymamaktadır (102,168,192,193).

Literatürde nevüslerde de nestin ekspresyonu varlığı bildirilmiştir. Compound nevüslerde ekspresyon daha fazla iken, junctional nevüslerin oldukça az bir kısmında ekspresyon saptanmıştır. Nestin ekspresyonunun bu benign lezyonlarda düşük olduğu ve ekspresyon oranlarının, dermisteki nörotizasyon alanlarında daha güçlü olduğu gözlenmiştir. Bu özelliğin, nestinin bir nöral kök/progenitor hücre belirteci olması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (198). Bir çalışmada nestin ekspresyonunun benign melanositik nevüsler ile karşılaştırıldığında MM'larda daha güçlü olarak izlendiği bildirilmiştir (102).

Çalışmamızdaki nevüs olgularındaki nestin ekspresyonunun, MM olgularıyla karşılaştırıldığında boyanma yoğunluğu ve yüzdesi açısından farklılık göstermediği görülmüş, nevüs olgularında da güçlü diffüz pozitiflikler izlenmiştir. Nevüs olgularında nestin (-)'liği saptanmamıştır. Nevüslere ilişkin bulgularımız, literatür bilgileri ile örtüşmemiştir.

Nestin (-) MM olgularındaki değinilmesi gereken bir başka özellik ise pigmentasyon durumudur. Olguların 10'unda lezyonda pigmente alanlar görülmüştür. Daha önce bulgular kısmında da bahsedildiği üzere, nestin ekspresyonunun pigmente alanlarda kaybolduğu ya da oldukça zayıfladığı gözlemlenmiştir. Kalan 2 olguda ise lezyonda pigmentasyon alanı bulunmamasına rağmen nestin ekspresyonu saptanmamıştır.

Nestin immunhistokimyasal boyası uygulanan 69 MM olgusunun 35'inde (%50,7) olguların anamnezine ait veri bulunmazken; verilerin ulaşılabildiği olgular arasında, nestin (-) gruptaki 12 olgudan 9'unda (%75), lezyonun doğuştan itibaren bulunan ya da en az 3 yıl ve üstü bir süredir varolan bir lezyonun büyümesi, değişmesi (progresyonu) ile geliştiği öyküsüne ulaşılmıştır. Ancak bu olgulardan yalnızca 1'nin kesitlerinde nevüs zemininde geliştiğine dair histolojik kanıt gözlenmiştir. Çalışmamızda nestin ekspresyonunun ileri evre lezyon ile ilişkisini kanıtlayacak bir sonuca ulaşılmamış olsa da, nestin (-) lezyonların daha çok prekürsör lezyon zemininde gelişmiş lezyonlar olabileceğini akla getiren bu özellik, daha geniş olgu gruplarında araştırılmaya değer olabilir.

Sonuç olarak, Tjarks ve ark'nın çalışmalarından (115) ve bizim çalışmamızdan elde edilen verilere bakıldığında, MM'lerde kıl follikülü tutulumu nadir görülen bir bulgu değildir. Literatürde son yıllarda "primer folliküler melanom", "follikülotropik metastatik melanom" gibi antitelerin tanımlanması, öncelerde raporlamada yer verilmeyen bu histopatolojik parametrenin ilgi odağı haline gelmesine neden olmuştur. MM prognozunda etkisi olabilecek, metastatik eğilimin ön görülmesinde yardımcı olabilecek bu parametrenin nasıl yorumlanacağı, ne şekilde raporlanması gerektiği konusunda halen bir görüş birliği olmasa bu özelliğin patoloji raporlarında yer alması, dikkatten kaçmasını engelleyecek ve ileride yapılacak prognoz çalışmalarına veri oluşturacaktır.

Tjarks ve arkadaşları tarafından önerilen sınıflama sistemi, MM'lerdeki kıl follikülü tutulumunun belli bulgulara göre tariflenerek, tekrarlanabilir bir değerlendirme modeli oluşturmak ve raporlamada ortak bir dil kullanımını teşvik ederek, ileride yapılacak çalışmalara daha objektif bir biçimde elde edilmiş verilerin bulunduğu bir veritabanı sağlama potansiyeli taşması açısından önemlidir. Bizim çalışmamız da tanımlayıcı bir çalışma olarak tasarlanmış olup, bu konu hakkındaki veritabanına katkıda bulunmak amacıyla yürütülmüştür.

MM'lerdeki kıl follikülü tutulumunun, özellikle in situ lezyonlarda prognoza etkili olabileceği düşünölmektedir. Bizim alışmamızdaki olguların büyük kısmının invaziv (%80) ve ileri evre (pT3a-pT4b; %75,3) lezyonlar

olması, bu konuda bir değerlendirme yapmamızı kısıtlamıştır. MM'lerin biyolojik davranışlarında görülen çeşitliliğin açıklanmasına katkıda bulunabilecek kıl follikülü tutulumunun karakteristiklerinin daha iyi ortaya konabilmesi için daha çok veri elde edilmesi gerekmektedir. Geniş olgu serilerine ait verilerin bulunmaması da bu konudaki belirsizliklerin devam etmesine yol açmaktadır.

Kanser gelişiminde kök hücrelerin rolüne ilişkin görüşlerin güçlenmesi ile MM patogenezinde de kök hücrelerin rolünü araştıran, kök hücre belirteçlerinin ekspresyonlarını değerlendiren, prognoz üzerindeki etkilerini araştıran çalışmalar bildirilmektedir. Daha önce de bahsedildiği üzere, bunlardan bazılarının melanom hücrelerinin kıl follikülüne ilerleyişinde ya da ilerleyişin durdurulmasında rolü olduğu düşünülmektedir. Literatürdeki kısıtlı verilerle, prognozdaki önemi henüz ortaya konamamış olan kıl follikülü tutulumunu immunohistokimyasal değerlendirmeyele ele alan çalışma yok denecek kadar azdır. Çalışmamızda kök hücre belirteçleri olan nestin ve CK15 ile bu özelliğin ilişkili olup olmadığı araştırılmıştır. Ancak olgularımızda kök hücre belirteçleri ile boyanmanın histopatolojik özelliklerle herhangi bir ilişki göstermediği izlenmiştir. Olgularımızın evrelere göre dağılımının eşit olmaması, olgu sayısının az olması gibi özellikler değerlendirmeyi sınırlandırmıştır. Kanser kök hücreleri hakkında daha fazla bilgi toplanması, follikül epitelindeki olası bariyer mekanizmalarının açıklanması açısından daha ileri çalışmalara gereksinim vardır.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Melanomlarda kıl follikülü tutulumu, literatürde primer folliküler melanomların ve follikülotropik metastatik melanom olgularının tanımlanmasının ardından ilgi odağı haline gelmeye başlamıştır. Bu konu, daha çok olgu sunumları biçimindeki yayınlar ile oldukça az sayıdaki olgu serileriyle irdelenmiş ancak bu histopatolojik parametrenin nasıl yorumlanacağı, raporlamalarda ne şekilde yer alması gerektiği, karakteristiklerinin melanom patogenezinin açıklanmasına katkıda bulunup bulunmayacağı, melanom prognozundaki muhtemel etkisi, nüks/metastaz potansiyelini öngörmeye yarayacak bir özellik olup olmadığı sorularına halen net yanıtlar bulunamamıştır. Yayınlarda farklı tanımlamalar kullanılmakta olup, raporlama konusunda fikir birliği oluşmamıştır. Tekrarlanabilir bir değerlendirme modeli ile raporlamada ortak bir dil kullanımını teşvik eden ve ileride yapılacak çalışmalara daha objektif bir biçimde elde edilmiş verilerin bulunduğu bir veritabanına katkı sağlama amaçlı yapılan çalışmalar referans alınarak tasarlanan bu çalışma da tanımlayıcı bir özellik taşımaktadır.

Çalışmada, anabilim dalımızda Ocak 2006 – Mart 2018 periyodu arasında, eksizyonel deri biopsileriyle tanı almış 105 MM olgusu değerlendirilmiştir. Bu olgularda kıl follikülü tutulumu varlığı ve bu özelliğin diğer histopatolojik özellikler ile ilişkileri incelenmiştir. Melanom hücrelerinin kıl follikülüne ilerleyişinde rol oynayabilecek olası mekanizmalar konusunda tartışmalar, son yayınlarda gündeme gelen kanser kök hücreleri ile ilgili veriler yanı sıra kıl follikülünde yer aldığı tanımlanan kök hücrelerle ilgili bulgular, böyle bir hücre popülasyonunun melanomagenezde etkili olabileceğini düşündürmüştür. Bu özellikler hakkında da gözlemde bulunmak amacıyla çalışmada, kıl follikülü yerleşimli kök hücrelerde eksprese edildiği bilinen nestin

ve CK15 belirteçlerinin immunhistokimyasal boyanma özellikleri değerlendirilmiştir. Bu belirteçlerle malign melanomdaki boyanma özelliklerinin, nonneoplastik deri yanı sıra benign melanositik lezyonlardaki boyanmadan farkını saptamak amacıyla, kıl follikülü tutulumunun izlendiği 30 melanositik nevüs olgusu ile 10 adet nonneoplastik deri örneği de çalışmaya alınmıştır.

Çalışmada, literatürde kıl follikülü tutulumlu melanom olgularını ele alan yayınlarla paralellik gösteren bulgular saptandığı gibi, farklılık gösteren bulgular da gözlenmiştir.

İlk tanımlanan primer folliküler melanom olguları ve follikülotropizmin izlendiği olguların sunulduğu diğer olgu sunumlarına ait veriler, kıl follikülü tutulumunun tümörün biyolojik davranışını (daha erken invaziv karakteristikler kazanma, nüks/metastaz potansiyelinin artması) etkileyebileceğine işaret etmektedir. Özellikle in situ melanom olgularında bu özelliğin önemli olabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızdaki olguların evrelere göre eşit dağılım göstermemesi, in situ melanom olgularının sayısının, tüm melanom grubunun yalnızca beşte birini oluşturması bu konudaki yorumlamaları kısıtlamıştır.

Çalışmamızdaki 105 olgunun 57'sini F(+), 48'ini F(-) MM olguları oluşturmaktadır. Literatürdeki veriler ile karşılaştırıldığında bizim olgu grubumuzda da F(+)'liğinin daha çok baş-boyun yerleşimli lezyonlarda gözleendiği dikkati çekmiştir (n=38, %66,7) ve bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,003). Lezyon çapı ile ilgili daha önceki çalışmalarda herhangi bir karşılaştırma yapılmamış olmakla birlikte, çalışmamızda F(+) ve F(-) gruplar arası lezyon çapları farklılık göstermemiştir. Literatürde bazı serilerde F(+) olgularda erkek cinsiyet baskınlığı bildirilmekle birlikte, çalışmamızdaki gruplarda cinsiyet dağılımı hemen hemen eşittir. Bildirilmiş serilerin bazılarında olguların yaş dağılımı hakkında yorum yapılmamışken, olgu sunumlarında bildirilen olgularla karşılaştırıldığında, benzer şekilde olguların daha çok 40 yaş üstü olgular oldukları (ortalama yaş 61,5) görülmüştür, 40 yaş altı yalnızca 8 olgu bulunmaktadır.

Tjarks ve arkadaşları tarafından önerilen sınıflama sistemi, melanomlardaki kıl follikülü tutulumunun belli bulgulara göre tariflenerek, tekrarlanabilir bir değerlendirme modeli oluşturmak ve raporlamada ortak bir dil kullanımını teşvik ederek, ileride yapılacak çalışmalara daha objektif bir biçimde elde edilmiş verilerin bulunduğu bir veritabanı sağlama potansiyeli taşıması açısından önemlidir. Önerilen bu sınıflama temelinde değerlendirilen F(+) MM olgularımız, kıl follikül tutulumu özellikleri ile (tutulan follikül sayısı, tutulum paterni, tutulumun mikroanatomik düzeyi, tutulum nedeniyle kıl follikülünde destrüksiyon gözlenmesi) açısından incelenmiştir. Ayrıca, Tjarks ve arkadaşlarına ek olarak tümörlerin histopatolojik prognostik özellikleri ile kıl follikül tutulumu (tutulan follikül sayısı, tutulum paterni, tutulumun mikroanatomik düzeyi, tutulum nedeniyle kıl follikülünde destrüksiyon gözlenmesi) ilişkisi de incelenmiştir. Tutulan follikül sayısı, tutulum paterni ve destrüksiyon varlığı ile diğer histopatolojik parametreler arasında ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$). Mikroanatomik tutulum düzeyi açısından ise literatürdeki verilere paralel bulgular gözlenmiş olup lezyonların çoğunda tutulum infundibulum düzeyine sınırlı kalmıştır ($n=39$, %68,4). Bulbus düzeyine dek ulaşan tutulum da oldukça nadir olup, olguların yalnızca birinde gözlenmiştir. Nevüs olgularında da bulbus düzeyine ulaşan bir infiltrasyon varlığının görülmemesi bu bölgedeki olası bir bariyer varlığı hipotezini destekler niteliktedir.

Olguların histopatolojik değerlendirmesinde kıl follikülü tutulumu varlığı ile invaziv-in situ komponent alt tip, ülserasyon, Breslow kalınlığı, Clark invazyon düzeyi, mm^2 'deki mitoz sayısı, TİL durumu, regresyon, satellit lezyon varlığı, prekürsör lezyon varlığı, lenfovasküler invazyon, nörotropizm, pT evresi, sentinel lenf nodu ve diğer lenf nodlarının durumu parametreleri arasındaki ilişki araştırılmıştır. Bu parametrelerden invaziv-in situ komponent alt tip, ülserasyon, Breslow kalınlığı, Clark invazyon düzeyi, milimetrekaredeki mitoz sayısı ve pT evresi açısından F(+) ve F(-) MM grupları arasında farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Paternlere göre TİL durumu karşılaştırmasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilmemekle birlikte ($p>0,05$), F(+) in situ MM olgu

grubunda (patern I-III) yalnızca 4 olguda TİL varlığı saptanması dikkat çekici bir özellik olarak kaydedilmiştir. Ancak olgulardaki TİL durumu değerlendirmesi tümör geneline göre yapılmıştır. Varolan ve halen tartışmalı olan semikantitatif TİL skorlama yöntemlerinin kıl follikülü tutulumu varlığında modifiye edilip edilmemesi gerektiği konusunda yorum yapılabilmesi için daha geniş olgu grubunda TİL'i hedef alan çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Regresyon, satellit lezyon varlığı, prekürsör lezyon varlığı, LVİ ve nörotropizm, sayıca çok az olguda izlendiği için bu parametreler açısından istatistiksel değerlendirme yapılmamıştır. Regresyon yalnızca 15 olguda gözlenmiş olup, bunun 11'ni F(+) MM olguları oluşturmaktadır. Satellit lezyon varlığı yalnızca 5 olguda görülmüştür, bunların 3'ü F(+) MM'lardır. LVİ 8 olguda gözlenmiş olup, 4'ü F(+) MM olgularıdır. Nörotropizm yalnızca F(+) 1 MM olgusunda izlenmiştir. Prekürsör lezyon varlığı 4 olguda saptanmıştır, bunların 3'ü F(+) MM'lardır. BU prognostik parametrelerin, var olan verilere göre oransal olarak daha çok F(+) MM'larda görülmesinin göz ardı edilmemesi gerekir.

Sentinel lenf nodu örneklemesinin olguların yalnızca 24'ünde, diğer lenf nodu eksizyonu/disseksiyonunun ise yalnızca 18 olgudan gönderilmiş olması nedeniyle lenf nodlarının durumları konusunda da sağlıklı bir değerlendirme yapmak güçtür. Yine de, sentinel lenf nodu pozitif 4 olgudan 3'ünün F(+), diğer lenf nodu örneklemelerindeki metastaz saptanan 9 olgudan 6'sının F(+) MM olguları olması dikkat çekici bir özellik olmuştur.

Kanser gelişiminde kök hücrelerin rolüne ilişkin görüşlerin güçlenmesine bağlı olarak melanom patogenezinde de kök hücrelerin rolünü araştıran, kök hücre belirteçlerinin ekspresyonlarını değerlendiren, prognoz üzerindeki etkilerini araştıran çalışmalar bildirilmektedir. Bunlardan bazılarının melanom hücrelerinin kıl follikülüne ilerleyişinde ya da ilerleyişin durdurulmasında rolü olduğu düşünülmektedir. Kıl follikülü tutulumunu immunohistokimyasal değerlendirmeyele ele alan çalışma yok denecek kadar azdır. Çalışmamızda kök hücre belirteçleri olan nestin ve CK15 ile kıl follikülü tutulumunun ilişkili olup olmadığı araştırılmıştır. F(+) 57 MM olgusunun 55'i,

F(-) 48 MM olgusunun 14'ü immunhistokimyasal boyalarla değerlendirmeye uygun bulunmuştur.

CK 15 ile nonneoplastik alanlarda, literatürdeki bilgilere uygun biçimde, epidermin bazal tabakasındaki keratinositlerde, kıl follikülü bulge bölgesindeki keratinositlerde, ektrin bezlerin sekretuar hücrelerde sitoplazmik boyanma ve kıl follikülünün dış kök kılıfında boyanma gözlenmiştir. Literatürde tanımlandığı biçimde, epidermis bazal tabakasında ve kıl follikülü epitelindeki boyanma çoğunlukla süreklilik göstermekte olup bazı örneklerde yamalı boyanma izlenmiştir. MM olgularında ve nevüslerde, birbirine benzer şekilde, melanositik proliferatif hücrelerin veya yuvaların bulunduğu epidermis alanında ve yer yer invaziv tümörün yüzeyindeki epidermiste CK 15 boyanma kaybı görülürken, bu alanlarda yer yer tek tek rezidü CK 15 (+) hücreleri görülmüştür. Bazı in situ melanom olgularındaki neoplastik dermoepidermal yuvaların periferinde, invaziv olgulardakine benzer şekilde, CK15 ile boyanma saptanmazken, bazı örneklerde yalnızca nadir, tek tek rezidü hücrelerde CK 15 boyanması, bazılarında ise bu yuvaları çevreleyen kontinü bir tek sıralı boyanma dikkati çekmiştir. Kıl follikülü tutulumu bulunan melanom olgularında, follikül epitelindeki neoplastik tutulum alanlarında CK 15 boyanması kesintiye uğramakta olup, diğer bölgelerde olağan izlenmektedir. MM'larda izlenen boyanma paternlerinin tümü, nevüslerde de gözlenmiştir.

Literatürde MM'lardaki nestin ekspresyonunu konu alan çalışmalar, ekspresyonun yüksekliğini genellikle tümör davranışının agresifliği ile ilişkilendirmiştir. Nestinin melanom kök hücresi/başlatıcı hücre belirteci olabileceği ileri sürülmüştür. Nestin ekspresyonu epidermiste bazal tabakada nadir hücrede görülmektedir. Literatürde var olan verilerle karşılaştırıldığında olgularımızdaki nestin boyanma yüzdesi ve yoğunluğu ile ilgili özelliklerin, bildirilen sonuçlarla uyumlu olmadığı görülmüştür. Olgularımızda belirtilen prognostik faktörler ile nestin ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki varlığı gözlenmemiştir ($p>0,05$). MM histolojik alt tipi ile nestin ekspresyonu arasında da ilişki bulunmamıştır ($p>0,05$). Kötü prognostik faktörleri barındıran, ileri evre F(+) ve F(-) MM olguları yanı sıra benign nevüsler dahil diğer olgularda da güçlü diffüz nestin pozitifliği görülmüş, nestin boyanmasının agresif davranışa

işaret edeceği yönünde bir bulgu saptanmamıştır. Ayrıca ilerlemiş ve kötü prognostik histopatolojik özellikleri taşıyan melanomlarda nestin negatifliğinin total ya da parsiyel olarak görülmesi de daha önce ileri sürülen sonuçlara ters düşmektedir.

Çalışmamızda dikkat çeken bir başka özellik, nestin ekspresyonu ile pigmentasyon varlığı arasındaki olası ilişkidir. Olgu grubumuzda, pigmentasyon izlenen olgularda nestin ekspresyonunun görülmemesi ya da oldukça zayıf olarak görülmesi, boyanma paternleri değerlendirilirken, lezyon morfolojisi ile ilgili karakteristiklerin de göz önünde bulundurulması gerektiğinin altını çizmektedir. Buna karşın pigmentasyonun bulunduğu ancak güçlü nestin ekspresyonunun izlendiği olgular da gözlenmiştir.

Nestin negatif olgularda ön plana çıkabilecek bir başka özellik, lezyonun uzun süredir var olması/prekürsör bir lezyon zemininde gelişmiş olmasıdır. Ancak olgu grubumuzda bu parametreler ile ilişkili oldukça sınırlı veriler bulunmaktadır. Bu bulgularla ilgili daha ileri yorumlar yapılabilmesi için daha geniş serilerde klinik izlem verilerinin değerlendirildiği klinikopatolojik çalışmalar yapılmalıdır.

Literatürdeki verilerle bir başka uyumsuzluk, nevüslerdeki nestin ekspresyonu ile ilişkilidir. Literatürdeki, benign melanositik lezyonlarda nestin ekspresyonunun, MM'lara göre daha zayıf görüldüğü bilgisinin aksine, çalışmamızdaki nevüs olgularında diffüz ve güçlü pozitiflikler izlenmiştir.

Sonuç olarak, daha önce bildirilen verilere ek olarak çalışmamızda da görüldüğü üzere melanomlarda kıl follikülü tutulumu nadir görülen bir bulgu değildir. Melanom prognozunda etkisi olabilecek, agresif gidiş ve metastatik eğilimin ön görülmesinde yardımcı olabilecek bu parametrenin nasıl yorumlanacağı, ne şekilde raporlanması gerektiği konusunda hala bir görüş birliği bulunmamaktadır. Geniş olgu serilerine ait verilerin bulunmaması da bu konudaki belirsizliklerin devam etmesine yol açmaktadır. Melanomların biyolojik davranışlarında görülen çeşitliliğin açıklanmasına katkıda bulunabilecek kıl follikülü tutulumunun karakteristiklerinin daha iyi ortaya konabilmesi için daha çok veri elde edilmesi gerekmektedir. Ancak melanom raporlarında kıl follikülü tutulumunun varlığının kaydedilmesi, bu bulgunun

dikkatten kaçmasını önleyecek ve ileride prognoza yönelik klinikopatolojik çalışmalara kolaylık sağlayacaktır.

Diğer yandan kanser gelişiminde kök hücrelerin rolüne ilişkin görüşlerin güçlenmesi, melanom patogenezinde de kök hücrelerin rolünü araştıran çalışmaların artması, bunlardan bazılarının melanom hücrelerinin kıl follikülüne ilerleyişinde ya da ilerleyişin durdurulmasında rolü olduğunu ileri sürülmesine karşın kıl follikülü tutulumunu immunohistokimyasal değerlendirmeye ele alan çalışmaların çok az olması şu an için bir kısıtlılıktır.

Melanomlarda kıl follikülü tutulumunun histopatolojik olarak değerlendirilerek arşiv verilerimizin dökümünü yapmak ve kök hücre belirteçlerinden nestin ve CK15'in melanomlarda kıl follikülü tutulumundaki rolünü belirlemek üzere yaptığımız çalışmanın da bu konu hakkındaki veritabanına katkıda bulunacağı düşünülmüştür.

ÖZET

AMAÇ: Malign melanomlarda (MM) sınıflama ve evreleme sistemlerinde yer almayan ancak son yıllarda önemi araştırılan kıl follikül tutulumunu (F) histopatolojik olarak değerlendirmek, MM'lerin gelişimi ve ilerlemesinde rol oynadığı düşünülen kök hücrelerin F ile ilişkisini araştırmak amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM: Ocak 2006 – Mart 2018 arasında, MM tanısı almış 105 olguya ait eksizyonel deri biopsisi ele alınmıştır. Histopatolojik ve prognostik verileri, F durumu ve özellikleri değerlendirilen tümörlere immunohistokimyasal olarak nestin ve sitokeratin 15 (CK15) uygulanmıştır. F (+) 30 melanositik nevüs olgusu ile 10 adet nonneoplastik deri örneği karşılaştırma amacıyla çalışmaya dahil edilmiştir.

BULGULAR: MM olgularının 57'si (%54,3) F(+), 48'i (%45,7) F(-) tir. F(+) ve F(-) MM grupları arasında yaş, cinsiyet, lokalizasyon, çap, histolojik alt tip, ülserasyon varlığı, Breslow kalınlığı, Clark düzeyi, mitoz, tümörü infiltre eden lenfositlerin durumu ve pT evresi parametreleri açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir. F(+) MM'lerin büyük çoğunluğunun (%66,7) baş boyun yerleşimli olduğu saptanmıştır. F ilişkin histopatolojik özellikler (tutulan follikül sayısı, tutulum tipi, tutulum paterni, tutulumla bağlı follikül destrüksiyonu) birbirleriyle veya diğer histopatolojik parametrelerle anlamlı bir ilişki göstermemiştir. CK15, MM ve nevüs lezyonlarında ve normal deride tümüyle benzer paternde epidermin bazal tabakasında ve kıl follikülü epitelinde sitoplazmik pozitiflik göstermiştir. Tümör hücrelerinde sitoplazmik nestin pozitifliği saptanmış olup nestin boyanmasının F(+) ve F(-) MM lezyonları ya da MM ile nevüsler arasında anlamlı bir fark göstermediği, MM'lerin

histopatolojik ve prognostik özellikleriyle bir korelasyon içermediği gözlenmiştir.

TARTIŞMA VE SONUÇLAR: Halen geçerli sınıflamalara göre, MM raporlamasında yer alan Clark düzeyi ve Breslow kalınlığı belirlenirken, F durumu göz önüne alınmamakta ve bu bulgu raporlarda yer almamaktadır. Çalışmamızda F(+)’liğinin MM’lerde nadir görülen bir durum olmadığı gözlenmiştir. Her ne kadar histopatolojik ve prognostik özellikler ile F arasında anlamlı ilişki saptanmamış olsa da, MM’lerin biyolojik davranışlarında görülen çeşitliliğin açıklanmasına, prognoz ve metastaz riskinin öngörülmesine katkıda bulunabilecek bu parametrenin rapora kaydedilmesinin yararlı olacağı düşünülmüştür. Nestin ve CK15 immunohistokimyasal belirteçleri ile MM gelişimi, yayılımı ya da F’nin melanosit ya da keratinosit kök hücreleriyle ilişkisini kanıtlayacak anlamlı bir veri elde edilmemekle birlikte, kök hücre hipotezinin daha başka belirteçler kullanılarak irdelenmesi önem taşımaktadır. F’nin değerlendirilmesi ve raporlanmasının standardize edilmesi, kullanılan kılavuzların güncellenmesi ve bu konunun önemi hakkında daha çok veri elde edilmesi için geniş serilerde yapılacak ileri çalışmalara gerek vardır.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: Malign melanom, kıl follikül tutulumu, nestin, sitokeratin 15

ABSTRACT

EVALUATION OF HAIR FOLLICLE INVOLVEMENT IN MALIGNANT MELANOMA USING NESTIN AND CYTOKERATIN 15 IMMUNOHISTOCHEMISTRY

AIM: Hair follicle involvement (F) by melanoma cells, a finding that is not included in current guidelines for the classification and grading systems in malignant melanoma (MM), has become an object of interest recently. In this study, our aim is to evaluate the histopathological characteristics of F in MM and to investigate the possible role of stem cells in melanoma pathogenesis and its spread in tissues to see whether there is an association with F patterns.

MATERIALS AND METHODS: One hundred five cases of MM, diagnosed with excisional skin biopsies during period of January 2006-March 2018 were evaluated. Cases were evaluated for histopathological and prognostic parameters, for the presence of F, and if present, for the characteristics of it. The tissues of aforementioned cases were then evaluated with nestin and cytokeratin 15 (CK15) immunohistochemistry. Thirty cases of melanocytic nevi with F and 10 nonneoplastic skin specimens that contain hair follicles were also added for comparison.

RESULTS: Among 105 cases of MM, 57 cases (%54,3) were F(+), 48 cases (%45,7) were F(-). Comparisons of F(+) and F(-) cases revealed no significant differences for sex, age, tumor localization and diameter, histologic subtype, presence of ulceration, Breslow thickness, Clark invasion level, mitotic count, status of tumor infiltrating lymphocytes and pT stage of the tumor between the groups. Most of the F(+) cases (%66,7) were of head and neck localization.

Evaluation of histopathological characteristics of F (the number of follicles that were involved, type of involvement, involvement patterns and destruction of hair follicle by F) revealed no significant associations when compared with each other and other histopathological parameters. CK15 staining patterns showed similarities in cases of MM, nevi and in specimens of nonneoplastic skin; cytoplasmic positivity of basal cells of epidermis and hair follicle epithelium was observed. In tumor cells, cytoplasmic nestin positivity was observed, but its expression patterns showed no significant differences between cases of F(+) and F(-) MM or cases of MM and nevi. In addition, in cases of MM, Nestin expression levels showed no correlation with histopathological or prognostic parameters of the lesion.

CONCLUSIONS: According to current guidelines, Clark level and Breslow depth of the tumor is necessary to be reported for the thickness measurement in MM, but there are no recommendations regarding follicular involvement to be included, thus resulting this feature to be neglected at standard reporting. In our study, we observed that involvement of hair follicle by neoplastic cells is a finding seen not infrequently in MM cases. Although our evaluation revealed no associations that are statistically significant between F status and histopathological and prognostic parameters, reporting of this particular feature that can provide insights for extending our horizon in terms of understanding this disease's nature and behavioral properties, and for predicting the prognosis and metastatic potential is recommended. Evaluation with stem cell markers nestin and CK15 failed to provide statistically significant data to prove whether there is an association between melanocytic-keratinocytic stem cells and MM pathogenesis, the tumor's spread in tissues or F status. But it is important to note that cancer stem cells hypothesis is needed to be further studied with different markers for determining their impact on tumor behavior. In order to F status evaluation and reporting of it to be standardized, a need to revise the current guidelines to include this finding and further exploration of the subject to collect more data to help in determining its significance by larger scale studies seems to be a necessity.

KEYWORDS: Malignant melanoma, hair follicle involvement, nestin, cytokeratin 15



KAYNAKLAR

1. Fitzpatrick TB. Human melanogenesis. *Arch Dermatol Syph* 1952, 65:379–391.
2. Hsu MY, Meier F, Herlyn M. Melanoma development and progression: a conspiracy between tumor and host. *Differentiation*.2002,70(9-10): 522-36.
3. Mills SE. *Histology for Pathologists*, 4th edition. Lippincott Williams & Wilkins. 2012, Section I: Cutaneous Tissue.
4. Moore KLP, Torchia TVN, Mark G. *The developing human: clinically oriented embryology*. 10th edition: Elsevier Health Sciences, 2015,437-55.
5. Sadler TW. *Langman's Medical Embryology*, 11th edition: Wolters Kluwer Lippincott Williams&Wilkins, 2011, 362-7.
6. Ito M, Yang Z, Andl T, et al. Wnt-dependent de novo hair follicle regeneration in adult mouse skin after wounding. *Nature* 2007,447:316-20.
7. Reynolds AJ, Lawrence C, Cserhalmi-Friedman PB, et al. Trans-gender induction of hair follicles. *Nature* 1999, 402:33-4.
8. Schmidt-Ullrich R, Paus R. Molecular principles of hair follicle induction and morphogenesis. *BioEssays: News and reviews in molecular, cellular and developmental biology* 2005,27:247-61.
9. Ozenci ÇÇ. The amazing miniorgan: Hair follicle. *Turkderm*. 2014, 48(1):2-5.
10. Karıncioğlu Y. Kıl follikülünün anatomisi. *Turkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2006, 2:1-4.
11. Legue E, Nicholas JF. Hair follicle renewal: organization of stem cells in the matrix and the role of stereotyped lineages and behaviors. *Development* 2005,132:4143-54.
12. Cotsarelis G. Epithelial stem cells: a folliculocentric view. *J Invest Dermatol* 2006, 126:1459-68.
13. Cotsarelis G, Botchkarev V. Biology of hair follicles. In: Goldsmith LA et al, *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*, 8th edition, The McGraw-Hill 2012, p960-1008.

14. Calonje JE, Brenn T et al. McKee's Pathology of the Skin, 4th edition. Saunders Elsevier, 2011, p1221-1262.
15. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin* 2013,63:11-30.
16. Tucker MA. Melanoma epidemiology. *Hematol Oncol Clin N Am* 2009, 23:383-395.
17. Riker AI, Zea N, Trinh T. The epidemiology, prevention, and detection of melanoma. *Ochsner J* 2010,10:56-65.
18. International Agency for Research on Cancer/World Health Organization: GLOBOCAN 2012: Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012.http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx 2013.
19. Hall HI, Miller DR, Rogers JD, et al.: Update on the incidence and mortality from melanoma in the United States. *J Am Acad Dermatol.* 1999, 40:35-42.
20. Rigel DS, Friedman RJ, Kopf AW: The incidence of malignant melanoma in the United States: Issues as we approach the 21st century. *J Am Acad Dermatol.* 1996, 34:839-847.
21. National Cancer Institute: Surveillance, epidemiology, and end results program.<http://seer.cancer.gov/statfacts/html/melan.html> 2013.
22. Cancer Council Queensland, Viertel Centre for Research in Cancer Control: Queensland cancer statistics online. *Queensl. Cancer Regist.* 1982–2010 data. www.cancerqld.org.au/research/qcsol 2013.
23. Turkish Ministry of Health, Department of Cancer. Turkey Cancer Statistics 2014 <http://kanser.gov.tr/daire-faaliyetleri/kanser-istatistikleri.html>.
24. Ceballos P., Ruiz-Maldonado R., Mihm M.C. Jr: Melanoma in children. *N Engl J Med.* 1995, 332:656–662.
25. Rao B.N., Hayes F.A., Pratt C.B., et al.: Melanoma in children: its management and prognosis. *J Pediatr Surg.* 1990, 25:198–203.
26. Milton G.W., Shaw H.M., Thompson J.F., et al.: Cutaneous melanoma in childhood: incidence and prognosis. *Australas J Dermatol.* 1997,38:S44-S48.
27. Spatz A, Ruitter D, Hardmeier T et al. Melanoma in childhood: an EORTC-MCG multicenter study on the clinico-pathological aspects. *Int J Cancer.* 1996,68:317–324.
28. Lewis K.G.: Trends in pediatric melanoma mortality in the United States, 1968 through 2004. *Dermatol Surg.* 2008,34:152–159.
29. Norris W. Case of fungoid disease. *Edinb Med Surg J.* 1820, 16:562-565.

30. Rebecca VW, Sondak VK, Smalley KS: A brief history of melanoma: From mummies to mutations. *Melanoma Res.* 2012, 22:114-122.
31. Udayakumar D, Tsao H: Melanoma genetics: An update on risk-associated genes. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2009, 23:415-429 vii.
32. Patterson JW. *Weedon's Skin Pathology*, 4th edition. Elsevier, 2016, p866-901.
33. Naldi L, Altieri A, Imberti GL et al. Sun exposure, phenotypic characteristics, and cutaneous malignant melanoma: An analysis according to different clinico-pathological variants and anatomic locations (Italy). *Cancer Causes Control.* 2005,16:893-899.
34. van Ginkel CJ, Sang RT, Blaauwgeers JL, et al. Multiple primary malignant melanomas in an HIV-positive man. *J Am Acad Dermatol.*1991, 24:284-285.
35. Euvrard S, Kanitakis J, Claudy A. Skin cancers after organ transplantation. *N Engl J Med* 2003,348:1681-1691.
36. Cornejo KM, Deng AC: Malignant melanoma within squamous cell carcinoma and basal cell carcinoma: Is it a combined or collision tumor? A case report and review of the literature. *Am J Dermatopathol.* 2013, 35:226-234.
37. Forman SB, Vidmar DA, Ferringer TC: Collision tumor composed of Merkel cell carcinoma and lentigo maligna melanoma. *J Cutan Pathol.* 2008,35:203-206.
38. Albert LS, Sober AJ, Rhodes AR: Cutaneous melanoma and bilateral retinoblastoma. *J Am Acad Dermatol.* 1990, 23:1001-1004.
39. Kraemer KH, Lee MM, Andrews AD et al. The role of sunlight and DNA repair in melanoma and nonmelanoma skin cancer: The xeroderma pigmentosum paradigm. *Arch Dermatol.* 1994, 130:1018-1021.
40. Kennedy BJ, Zelickson AS. Melanoma in an albino. *JAMA.* 1963, 186:839-841.
41. Curiel-Lewandrowski C, Speetzen LS, Cranmer L, et al.: Multiple primary cutaneous melanomas in Li–Fraumeni syndrome. *Arch Dermatol.* 2011, 147:248-250.
42. Gregoriou S, Kazakos C, Belyaeva H et al. Hypomelanotic nail melanoma in a patient with Gorlin syndrome. *J Cutan Med Surg.* 2012, 16:143-144.
43. Gibbs P, Brady BM, Gonzalez R et al. Nevi and melanoma: Lessons from Turner's syndrome. *Dermatology.* 2001, 202:1-3.

44. Goggins WB, Finkelstein DM, Tsao H. Evidence for an association between cutaneous melanoma and non-Hodgkin lymphoma. *Cancer*. 2001,91:874-880.
45. Dueber JC, Coffin CM. Collision of chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma and melanoma. *Blood*. 2013, 121:4819.
46. Turk BG, Bozkurt A, Yaman B et al. Melanoma arising in chronic ulceration associated with lymphoedema. *J Wound Care*. 2013, 22:74-75.
47. Blessing K. Malignant melanoma in stasis dermatitis. *Histopathology*. 1997, 30:135-139.
48. Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: II. Sun exposure. *Eur J Cancer*. 2005, 41:45-60.
49. Tang M. Ultraviolet A light: potential underlying causes of melanoma. *Future Oncol* 2010, 6:1523-1526.
50. Autier P, Dore JF, Eggermont AMM et al. Epidemiological evidence that UVA radiation is involved in the genesis of cutaneous melanoma. *Curr Opin Oncol* 2011,23:189-196.
51. Garibyan L, Fisher DE. How sunlight causes melanoma. *Curr Oncol Rep* 2010,12:319-326.
52. Patel RV, Clark LN, Lebwohl M et al. Treatments for psoriasis and the risk of malignancy. *J Am Acad Dermatol*. 2009,60:1001-1017.
53. Stern RS. The risk of melanoma in association with long-term exposure to PUVA. *J Am Acad Dermatol*. 2001, 44:755-761.
54. Clark WH Jr, Elder DE, Guerry D 4th, Epstein MN, Greene MH, Van Horn M. A study of tumor progression: the precursor lesions of superficial spreading and nodular melanoma. *Hum Pathol*. 1984 Dec,15(12):1147-65.
55. Goldstein AM, Chan M, Harland M et al. High-risk melanoma susceptibility genes and pancreatic cancer, neural system tumors, and uveal melanoma across GenoMEL. *Cancer Res*. 2006, 66:9818-9828.
56. Puig S, Ruiz A, Castel T et al. Inherited susceptibility to several cancers but absence of linkage between dysplastic nevus syndrome and CDKN2A in a melanoma family with a mutation in the CDKN2A (P16INK4A) gene. *Hum Genet*. 1997,101:359-364.
57. Begg CB, Orlow I, Hummer AJ, et al.: Lifetime risk of melanoma in CDKN2A mutation carriers in a population-based sample. *J Natl Cancer Inst*. 2005,97:1507-1515.

58. Kong Yunyi, Kumar SM, Xu X. Molecular pathogenesis of sporadic melanoma and melanoma-initiating cells. *Arch Pathol Lab Med* 2010, 134:1740-1749.
59. Wiesner T, Obenaus AC, Murali R, et al.: Germline mutations in BAP1 predispose to melanocytic tumors. *Nat Genet.* 2011, 43:1018-1021.
60. Njauw C-NJ, Kim I, Piris A, et al. Germline BAP1 inactivation is preferentially associated with metastatic ocular melanoma and cutaneous-ocular melanoma families. *PLoS ONE.* 2012, 7:e35295.
61. Landi MT, Bauer J, Pfeiffer RM, et al.: MC1R germline variants confer risk for BRAF-mutant melanoma. *Science.* 2006, 313:521-522.
62. Yokoyama S, Woods SL, Boyle GM et al. A novel recurrent mutation in MITF predisposes to familial and sporadic melanoma. *Nature.* 2011, 480:99-103.
63. Horn S, Figl A, Rachakonda PS et al. TERT promoter mutations in familial and sporadic melanoma. *Science.* 2013, 339:959-961.
64. Schatton T, Frank MH. Cancer stem cells and human malignant melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res* 2008, 21:39-55.
65. Hamburger AW, Salmon SE. Primary bioassay of human tumor stem cells. *Science* 1977,197:461-463.
66. Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, et al. Stem cells, cancer and cancer stem cells. *Nature* 2001, 414:105-111.
67. Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003,100:3983-3988.
68. Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med* 1997,3:730-737.
69. Lapidot T, Sirard C, Vormoor J et al. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice. *Nature* 1994,367:645-648.
70. Singh SK, Clarke ID, Terasaki M et al. Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer Res* 2003,63:5821-5828.
71. Huff CA and Matsui W. Multiple myeloma cancer stem cells. *J Clin Oncol* 2008, 26:2895-2900.
72. Prince ME, Ailles LE. Cancer stem cells in head and neck squamous cancer. *J Clin Oncol* 2008, 26:2871-2875.
73. Tilly JL, Rueda BR. Stem cell contribution to ovarian development, function and disease. *Endocrinology* 2008, 149:4307-4311.

74. Boman BM, Huang E. Human colon cancer stem cells: a new paradigm in gastrointestinal oncology. *J Clin Oncol* 2008, 26:2828-2838.
75. Grichnik JM, Burch JA, Schulteis RD et al. Melanoma, a tumor based on a mutant stem cell? *J Invest Dermatol* 2006, 126:42-153.
76. Fang D, Nguyen TK, Leishear K, Finko R, Kulp AN, Hotz S, Van Belle PA, Xu X, Elder DE, Herlyn M. A tumorigenic subpopulation with stem cell properties in melanomas. *Cancer Res.* 2005 Oct 15, 65(20):9328-37.
77. Monzani E, Facchetti F, Galmozzi E et al. Melanoma contains CD133 and ABCG2 positive cells with enhanced tumourigenic potential. *Eur J Cancer.* 2007 Mar, 43(5):935-46.
78. Topczewska JM, Postovit LM, Margaryan NV et al. Embryonic and tumorigenic pathways converge via Nodal signaling: role in melanoma aggressiveness. *Nat Med.* 2006 Aug, 12(8):925-32.
79. Wang E, Voiculescu S, Le Poole IC et al. Clonal persistence and evolution during a decade of recurrent melanoma. *J Invest Dermatol.* 2006 Jun, 126(6):1372-7.
80. Tiede S, Kloepper JE, Bodò E, Tiwari S, Kruse C, Paus R. Hair follicle stem cells: Walking the maze. *Euro J Cell Biol* 2007,86:355-376.
81. Peters EM, Botchkarev VA, Botchkareva NV, Tobin DJ, Paus R. Hair-cycle-associated remodeling of the peptidergic innervation of murine skin, and hair growth modulation by neuropeptides. *J. Invest. Dermatol.* 2001, 116, 236–245.
82. Yonetani S, et al. In vitro expansion of immature melanoblasts and their ability to repopulate melanocyte stem cells in the hair follicle. *J Invest Dermatol* 2008 Feb, 128(2):408-20.
83. Mayer TC. The migratory pathway of neural crest cells into the skin of Mouse embryos. *Dev Biol.* 1973 Sep, 34(1):39-46.
84. Mackenzie MA, Jordan SA, Budd PS, Jackson IJ. Activation of the receptor tyrosine kinase Kit is required for the proliferation of melanoblasts in the Mouse embryo. *Dev Biol.* 1997 Dec 1,192(1):99-107.
85. Rigel DS, Friedman RJ. The rationale of the ABCDs of early melanoma. *J Am Acad Dermatol* 1993, 29:1060–1061.
86. Elder DE. *Lever's Histopathology of the Skin*, 11th edition. LWW, 2014, p903-946.
87. Mills SE. *Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology*, 6.baskı. LWW/O'Tıp Kitabevi, 2016, p100-111.

88. LeBoit PE, de Vries E, Bray F, Coebergh JW, et al.: Melanocytic Tumours. In LeBoit PE, Weedon D, Sarasin A (Eds): World Health Organization Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Skin Tumors. 2nd ed., Lyon, France, IARC Press, 2006 ve 50-65.
89. Clark WH, From L, Bernardino EA et al. The histogenesis and biologic behavior of primary human malignant melanomas of the skin. *Cancer Res.* 1969, 29:705-727.
90. McGovern VJ, Mihm MC, Bailly C, et al.: The classification of malignant melanoma and its histologic reporting. *Cancer.* 1973, 32:1446-1457.
91. Paek SC, , Sober AJ, Tsao H, et al. Cutaneous melanoma. In: Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine, 7th, Wolff K, Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrest BA, Paller AS, Leffell DJ (Eds), McGraw Hill Medical, New York 2008. Vol I, p.1134.
92. Clark WH, Reimer RR, Greene M, Mihm MC. Origin of familial malignant melanomas from heritable melanocytic lesions. "The B-K mole syndrome". *Arch Dermatol* May 1978 ve 114(5):732-738.
93. Day CL, Harrist TJ, Mihm CM. Classification of malignant melanomas – according to the histologic morphology of melanoma nodules. *J Dermatol Surg Oncol* 1982 ve 8:874-876.
94. Viros A, Fridlyand J, Bauer J, et al. Improving melanoma classification by integrating genetic and morphologic features. *PLoS Med* 2008,5(6):e120.
95. Clark WH, Mihm MC. Lentigo maligna and lentigo maligna melanoma. *Am J Pathol* Apr 1969 ve 55(1):39-54.
96. Crowson AN, Magro C, Mihm, Jr MC. *Biopsy Interpretation of the Skin*, 2017, p.84-198.
97. Curtin JA, Busam K, Pinkel D et al. Somatic activation of KIT in distinct subtypes of melanoma. *J Clin Oncol* 2006,24(26):4340-4346.
98. Kato T, Suetake T, Tabata N et al. Epidemiology and prognosis of plantar melanoma in 62 Japanese patients over a 28-year period. *Int J Dermatol* July 1999,38(7):515-519.
99. Cascinelli N, Zurrida S, Galimberti V et al. Acral lentiginous melanoma. A histological type without prognostic significance. *J Dermatol Surg Oncol* Dec 1994,20(12):817-822.
100. Massi D, Franchi A, Borgognoni L et al. Thin cutaneous malignant melanomas (< or =1,5 mm): Identification of risk factors indicative of progression. *Cancer* Mar 1999,85(5):1067-1076.

101. Kanoh M, Amoh Y, Tanabe K et al. Nestin is expressed in HMB-45 negative melanoma cells in dermal parts of nodular melanoma. *J Dermatol.* 2010,37:505-511.
102. Ladstein RG, Bachmann IM, Straume O et al. Nestin expression is associated with aggressive cutaneous melanoma of the nodular type. *Mod Pathol.* 2014,27:396-401.
103. Chen LL, Jaimes N, Barker CA, et al. Desmoplastic melanoma: a review. *J Am Acad Dermatol* 2013, 68:825.
104. Busam KJ. Cutaneous desmoplastic melanoma. *Adv Anat Pathol* 2005, 12:92-102.
105. Busam KJ, Mujumbar U, Hummer AJ, et al. Cutaneous desmoplastic melanoma. Reappraisal of morphogenetic heterogeneity and prognostic factors. *Am J Surg Pathol* 2004,28:1518-1525.
106. Hawkins WG, Busam KJ, Ben-Porat L, et al. Desmoplastic melanoma: a pathologically and clinically distinct form of cutaneous melanoma. *Ann Surg Oncol* 2005,12:207-213.
107. Amin MB, Edge SB, Greene FL, Byrd DR et al. *AJCC Cancer Staging Manual*, 8th edition. Springer, 2017. p564-585.
108. Smoller BR, Gershenwald JE, Scolyer RA, Brown JA, Crowson AN, Divaris D, Frishberg DP, McNiff JM, Phung TL, Prieto VG et al. CAP protocol for the examination of specimens from patients with melanoma of the skin. [Çevrimiçi]
<http://www.cap.org/ShowProperty?nodePath=/UCMCon/Contribution%20Folders/WebContent/pdf/cp-skin-melanoma-17protocol-4000.pdf>.
109. Lasithiotakis K, Leiter U, Meier F et al. Age and gender are significant independent predictors of survival in primary cutaneous melanoma. *Cancer.* 2008,112:1795–1804.
110. Zettersten E, Shaikh L, Ramirez R et al. Prognostic factors in primary cutaneous melanoma. *Surg Clin N Am.* 2003, 83:61–75.
111. Unger JM, Flaherty LE, Liu PV, et al. Gender and other survival predictors in patients with metastatic melanoma on Southwest Oncology Group trials. *Cancer.* 2001, 91:1148–1155.
112. Garbe C, Buttner P, Bertz J, et al. Primary cutaneous melanoma. Prognostic classification of anatomic location. *Cancer.* 1995,75:2492–2498.
113. Wells KE, Reintgen DS, Cruse CW. The current management and prognosis of acral melanoma. *Ann Plast Surg.* 1992,28:100–103.
114. Breslow A. Thickness, cross-sectional areas and depth of invasion in the prognosis of cutaneous melanoma. *Ann Surg.* 1970, 172:902-908.

115. Tjarks BJ, Somani N, Piliang M, Bergfeld WF. A proposed classification for follicular involvement by melanoma. *J Cutan Pathol* 2017 Jan,44(1)45-52.
116. Balch CM, Soong SJ, Gershenwald JE, et al. Prognostic factors analysis of 17,600 melanoma patients: validation of the American Joint Committee on Cancer melanoma staging system. *J Clin Oncol*. 2001, 19: 3622-3634.
117. Balch CM. Cutaneous melanoma: prognosis and treatment results worldwide. *Semin Surg Oncol*. 1992, 400-414., 8:.
118. Edge S, Byrd DR, Compton C, Fritz AG, et al. *AJCC Cancer Staging Manual*, 7th edition. Springer, 2011.
119. Clark WH, Jr., Elder DE, Guerry D, Braitman LE et al. Model predicting survival in stage I melanoma based on tumor progression. *J Natl Cancer Inst* 1989 ve 1893-1904., 81:.. [Çevrimiçi]
120. Gimotty PA, Guerry D, Elder D et al. Thin primary cutaneous malignant melanoma: a prognostic tree for 10-year metastasis is more accurate than American Joint Committee on Cancer staging. *J Clin Oncol*, 2004, 22: 3668-3676.
121. Kesmodel SB, Karakousis GC, Botbyl JD, Canter RJ et al. Mitotic rate as a predictor of sentinel lymph node positivity in patients with thin melanomas. *Ann Surg Oncol* 2005, 12: 449-458.
122. Prade M, Sancho-Garnier H, Cesarini JP, Cochran A. Difficulties encountered in the application of Clark classification and the Breslow thickness measurement in cutaneous malignant melanoma. *Int J Cancer*. 1980,26:159-163.
123. Frishberg DP, Balch C, Balzer BL. Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Melanoma of the Skin. *Arch Pathol Lab Med* 2009, 133: 1560-1567.
124. Azimi F, Scolyer RA, Rumcheva P. Tumor-infiltrating lymphocyte grade is an independent factor of sentinel lymph node status and survival in patients with cutaneous melanoma. *J Clin Oncol* 2012,30(21):2678-2683.
125. Clemente CG, Mihm MC Jr, Bufalino R et al. Prognostic value of tumor infiltrating lymphocytes in the vertical growth phase of primary cutaneous melanoma. *Cancer* 1996,77:1303-1310.
126. Kashani-Sabet M, Sagebiel RW, Ferreira CM, Nosrati M, Miller JR, III. Vascular involvement in the prognosis of primary cutaneous melanoma. *Arch Dermatol* 2001, 137: 1169-1173.
127. Straume O, Akslen LA. Independent prognostic importance of vascular invasion and association with macrophage infiltration in cutaneous melanoma. *Modern Pathol*. 2012, 25:493-504.

128. Harrist TJ, Rigel DS, Day CL, Jr., et al. "Microscopic satellites" are more highly associated with regional lymph node metastases than is primary melanoma thickness. *Cancer* 1984, 53: 2183-2187.
129. Leon P, Daly JM, Synnestvedt M, Schultz DJ, Elder DE, Clark WH, Jr. The prognostic implications of microscopic satellites in patients with clinical stage I melanoma. *Arch Surg* 1991,126:1461-1468.
130. Read RL, Haydu L, Saw RP et al. In-transit melanoma metastases: incidence, prognosis, and the role of lymphadenectomy. *Ann Surg* 2015, 22:475-481.
131. Cook MG, Spatz A et al. Identification of histological features associated with metastatic potential in thin (<1mm) cutaneous melanoma with metastases. A study on behalf of the EORTC Melanoma Group. *J Pathol* 2002,197:188-193.
132. Hantschke M, Mentzel T, Kutzner H. Follicular malignant melanoma. A variant of melanoma to be distinguished from lentigo maligna melanoma. *Am J Dermatopathol* 2004,26:359-363.
133. Carrera C, Segura S, Palou J, Puig S, Segura J, Martí RM, Malveyh J. Seborrheic keratosislike melanoma with folliculotropism. *Arch Dermatol* 2007 Mar,143(3):373-6.
134. Somani N, Piliang M, Tuthill R, Billings S, Bergfeld W. Metastatic folliculotropic melanoma: A unique presentation of melanoma. *J Am Acad Dermatol* 2009,60(Suppl):AB131.
135. Machan S, Shabrawi-Caelen L, Nikolay E, Kerl H, Requena L, Cerroni L. Follicular malignant melanoma: primary follicular or folliculotropic? *Am J Dermatopathol* 2015 Jan, 37(1):15-9.
136. Chapman I, Horton S, Liu W. Follicular malignant melanoma: a rare morphological variant of melanoma. Report of a case and review of the literature. *Am J Dermatopathol* 2016,0:1-2.
137. Hu SW, Tahan SR, Kim CC. Follicular malignant melanoma: A case report of a metastatic variant and review of the literature. *J Am Acad Dermatol* 2011 May,64(5):1007-1010.
138. Davis M, Brennan CB, Mullins SC, Sheehan D. A definitive case of metastatic folliculotropic melanoma. *J Am Acad Dermatol* 2012 Jan ve 66(1):159-60.
139. Ishida M, Okabe H. Folliculotropic metastatic melanoma: a distinct variant of metastatic melanoma. *J Cutan Pathol* 2012, 39:298-299.
140. Brick KE, Halling KC, Khan YK, Peters MS. BRAF mutation-positive folliculotropic metastatic melanoma. *Am J Dermatopathol* 2013,35:609-612.

141. Ilmonen S, Jahkola T, Turunen JP, Muhonen T, Asko-Seljavaara S. Tenascin-C in primary malignant melanoma of the skin. *Histopathology* 2004,45:405-411.
142. Whitbread LA, Powell BC. Expression of the intermediate filament keratin gene, K15, in the basal cell layers of epithelia and the hair follicle. *Exp Cell Res* 1998 Nov 1,244(2):448-59.
143. Lyle S, Christofidou-Solomidou M, Liu Y, Elder DE, Albelda S, Cotsarelis G. The C8/144B monoclonal antibody recognizes cytokeratin 15 and defines the location of human hair follicle stem cells. *J Cell Sci* 1998,111,3179-3188.
144. Moll R, Divo M, Langbein L. The human keratins: Biology and pathology. *Histochem Cell Biol* 2008,129,705-733.
145. Bose A, Teh M, Mackenzie IC, Waseem A. Keratin15 as a biomarker of epidermal stem cells. *Int J Mol Sci* 2013,14,19385-19398.
146. Leube RE, Bader BL, Bosch FX, Zimbelmann R, Achtstaetter T, Franke WW. Molecular characterization and expression of the stratification-related cytokeratins 4 and 15. *J Cell Biol* 1988,106,1249-1261.
147. Bose A, Teh MT, Hutchison IL, Wan H, Leigh IM, Waseem A. Two mechanisms regulate keratin K15 expression in keratinocytes: Role of PKC/AP-1 and FOXM1 mediated signalling. *PLoS One* 2012,7,e38599.
148. Ghali L, Wong ST, Green J, Tidman N, Quinn AG. Gli 1 protein is expressed in basal cell carcinomas, outer root sheath keratinocytes and a subpopulation of mesenchymal cells in normal human skin. *J Invest Dermatol* 1999, 113,595-599.
149. Abbas O, Mahalingam M. Epidermal stem cells: Practical perspectives and potential uses. *Br J Dermatol* 2009,161,228-236.
150. Yu H, Fang D, Kumar SM, et al. Isolation of a novel population of multipotent adult stem cells from human hair follicles. *Am J Pathol*. 2006,168:1879-1888.
151. Abbas O, Bhawan J. Expression of stem cell markers nestin and cytokeratin 15 and 19 in cutaneous malignancies. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2011 Mar,25(3):311-6.
152. Kloeppe JE, Tiede S, Brinckmann J et al. Immunophenotyping of the human bulge region: the quest to define useful in situ markers for human epithelial hair follicle stem cells and their niche. *Exp Dermatol* 2008, 17: 592–609.

153. Jih DM, Lyle S, Elenitsas R et al. Cytokeratin 15 expression in trichoepitheliomas and a subset of basal cell carcinomas suggests they originate from hair follicle stem cells. *J Cutan Pathol* 1999,26:113–118.
154. Hoang MP, Dresser KA, Kapur P, et al. Microcystic adnexal carcinoma: an immunohistochemical reappraisal. *Mod Pathol* 2008,21:178–185.
155. Kanoh M, Amoh Y, Sato Y, Katsuoka K. Expression of the hair stem cell-specific marker nestin in epidermal and follicular tumors. *Eur J Dermatol* 2008, 18: 518–523.
156. Abbas O, Richards JE, Yaar R, Mahalingam M. Stem cell markers (cytokeratin 15, cytokeratin 19 and p63) in in situ and invasive cutaneous epithelial lesions. *Mod Pathol* 2011,24,90-97.
157. Haslam I, Pitre A, Schuetz J, Paus R. Protection against chemotherapy-induced alopecia: targeting ATP-binding cassette transporters in the hair follicle? *Trends Pharmacol Sci.* 2013 Nov,34(11):599-604.
158. Tang L. et al. Hematopoietic stem cells exhibit a specific ABC transporter gene expression profile clearly distinct from other stem cells. *BMC Pharmacol.* 2010, 10, 12.
159. Lendahl U, Zimmerman LB, McKay RD. CNS stem cells express a new class of intermediate filament protein. *Cell* 1990,60:585-95.
160. Amoh Y, Li L, Yang M et al. Nascent blood vessels in the skin arise from nestin-expressing hair-follicle cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004, 101: 13291–13295.
161. Amoh Y, Li L, Katsuoka K et al. Multipotent nestin-positive, keratin negative hair follicle bulge stem cells can form neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005, 102: 5530–5534.
162. Hoffman RM. The pluripotency of hair follicle stem cells. *Cell Cycle* 2006, 5: 232–233.
163. Sellheyer K, Krahl D. Spatiotemporal expression pattern of neuroepithelial stem cell marker nestin suggests a role in dermal homeostasis, neovasculogenesis, and tumor stroma development: a study on embryonic and adult human skin. *J Am Acad Dermatol* 2010,63:93–113.
164. Amoh Y, Maejima H et al. Hair follicle stem cell marker nestin expression in regenerating hair follicles of patients with alopecia areata. *Eur J Dermatol* 2011,21(2):209-12.
165. Amoh Y, Kanoh M, Niiyama S et al. Human and mouse hair follicles contain both multipotent and monopotent stem cells. *Cell Cycle* 2009, 8:176–7.

166. Amoh Y, Li L, Katsuoka K, Hoffman RM. Hair follicle pluripotent stem cells promote repair of spinal cord injury and recovery of walking function. *Cell Cycle* 2008, 7: 1865-9.
167. Amoh Y, Li L, Katsuoka K, Hoffman RM. Embryonic development of hair follicle pluripotent stem (hfPS) cells. *Medical Molecular Morphology* 2010, 43: 123-7.
168. Klein WM, Wu BP, Zhao S et al. Increased expression of stem cell markers in malignant melanoma. *Mod Pathol* 2007, 20: 102–107.
169. Mori T, Misago N, Yamamoto O et al. Expression of nestin in dermatofibrosarcoma protuberans in comparison to dermatofibroma. *J Dermatol* 2008, 35: 419–425.
170. Shimada S, Tsuzuki T, Kuroda M et al. Nestin expression as a new marker in malignant peripheral nerve sheath tumors. *Pathol Int* 2007, 57: 60–67.
171. Lee CW, Zhan Q, Lezcano C, Frank MH et al. Nestin depletion induces melanoma matrix metalloproteinases and invasion. *Lab Invest*. 2014 Dec,94(12):1382-95.
172. Scolyer RA, Judge MJ, Evans A et al. Data set for pathology reporting of cutaneous invasive melanoma. Recommendations from the ICRR. *Am J Surg Pathol* 2013 Dec, 37(12):1797-1814.
173. Saldanha G, Flatman K et al. A Novel Numerical Scoring System for Melanoma Tumor-infiltrating Lymphocytes Has Better Prognostic Value Than Standard Scoring. *Am J Surg Pathol* 2017,41:906-914.
174. Podznyakova O, Grossman J, Barbagallo B, Lyle S. The hair follicle barrier involvement by malignant melanoma. *Cancer* 2009 Mar 15,115(6):1267-75.
175. Ivan D, Pieto VG. An update on reporting histopathologic prognostic factors in melanoma. *Arch Pathol Lab Med* 2011,135:825.
176. Crowson AN, Magro CM, Mihm MC, eds. *The Melanocytic Proliferations: A comprehensive textbook of pigmented lesions*. New York: John Wiley and Sons ve 2001:560.
177. Urso C, Rongioletti F, Innocenzi D et al. Histological features used in the diagnosis of melanoma are frequently found in benign melanocytic naevi. *J Clin Pathol* 2005,58:409.
178. Ideta R, Soma T, Tsunenaga M, Ifuku O. Cultured human dermal papilla cells secrete a chemotactic factor for melanocytes. *J Dermatol Sci*. 2002,28:48-59.

179. Christoph T, Muller-Rover S, Audring H, et al. The human hair follicle immune system: cellular composition and immune privilege. *Br J Dermatol* 2000,142:862-873.
180. Paus R, Christoph T, Muller-Rover S. Immunology of the hair follicle: a short journey into terra incognita. *J Invest Dermatol Symp Proc.* 1999,4:226-234.
181. Ohyama M, Terunuma A, Tock CL, et al. Characterization and isolation of stem cell-enriched human hair follicle bulge cells. *J Clin Invest* 2006,116:249-260.
182. Nishimura EK, Jordan SA, Oshima H, et al. Dominant role of the niche in melanocyte stem-cell fate determination. *Nature*, 2002,416:854-860.
183. Yoshida H, Hayashi S, Shultz LD, et al. Neural and skin cell-specific expression pattern conferred by steel factor regulatory sequence in transgenic mice. *Dev Dyn.* 1996,207:222-232.
184. Sigg C, Pelloni F, Hardmeier T. Multiple primary melanomas of the hair-follicles – a special form of malignant melanoma of the skin. *Hautarzt.* 1988,39:447-451.
185. Tobin DJ, Hagen E, Botchkarev VA, Paus R. Do hair bulb melanocytes undergo apoptosis during hair follicle regression (catagen)? *J Invest Dermatol* 1998,111:941-947.
186. Xu X, Lyle S, Liu Y, Solky B, Cotsarelis G. Differential expression of cyclin D1 in the human hair follicle. *Am J Pathol* 2003,163:969-978.
187. Inoue K, Aoi N, Sato T, Yamauchi Y et al. Differential expression of stem-cell-associated markers in human hair follicle epithelial cells. *Lab Invest* 2009,89,844-846.
188. Hyder CL, Lazaro G, Pylvänäinen JW, Roberts MW, Qvarnström SM, Eriksson JE. Nestin regulates prostate cancer cell invasion by influencing the localisation and functions of FAK and integrins. *J Cell Sci.* 2014 May 15, 127(Pt 10):2161-73.
189. Matsuda Y, Naito Z, Kawahara K, Nakazawa N, Korc M, Ishiwata T. Nestin is a novel target for suppressing pancreatic cancer cell migration, invasion and metastasis. *Cancer Biol Ther.* 2011 Mar 1, 11(5):512-23.
190. Laga AC, Zhan Q, Weishaupt C, Ma J, Frank MH, Murphy GF. SOX2 and nestin expression in human melanoma: an immunohistochemical and experimental study. *Exp Dermatol.* 2011 Apr, 20(4):339-45.
191. Akiyama M, Matsuda Y, Ishiwata T, Naito Z, Kawana S. Inhibition of the stem cell marker nestin reduces tumor growth and invasion of malignant melanoma. *J Invest Dermatol.* 2013 May, 133(5):1384-7.

192. Brychtova S, Fiuraskova M, Hlobilkova A et al. Nestin expression in cutaneous melanomas and melanocytic nevi. *J Cutan Pathol* 2007, 34:370–5.
193. Piras F, Perra MT, Murtas D et al. The stem cell marker nestin predicts poor prognosis in human melanoma. *Oncol Rep* 2010, 23:17–24.
194. Fusi A, Reichelt U, Busse A et al. Expression of the stem cell markers nestin and CD133 on circulating melanoma cells. *J Invest Dermatol* 2011,131:487–94.
195. Flamminger A, Besch R, Cook AL, Maier T, Sturm RA, Berking C. SOX9 and SOX10 but not BRN2 are required for nestin expression in human melanoma cells. *J Invest Dermatol* 2009,129:945-53.
196. Bakos RM, Maier T, Besch R, Mestel DS, Ruzicka T, Sturm RA, Berking C, Sturm. Nestin and SOX9 and SOX10 transcription factors are coexpressed in melanoma. *Exp Dermatol* 2010 Aug,19(8):e89-94.
197. Tanabe K, Amoh Y, Kanoh M, Takasu H, Sakai N, Sato Y, Katsuoka K. Prognostic significance of the hair follicle stem cell marker nestin in patients with malignant melanoma. *Eur J Dermatol* 2010,20(3):283-8.
198. Akiyama M, Matsuda Y, Ishiwata T, Naito Z, Kawana S. Nestin is highly expressed in advanced-stage melanomas and neurotized nevi. *Oncol Rep*. 2013 Apr,29(4):1595-9.