



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

BAP1, EZH2 VE 5HMC MOLEKÜLLERİNİN MELANOM TANISINDA VE PROGRESYONUNDA ROLÜ VE ÖNEMİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Savalan KARİM

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Arbil AÇIKALIN

ADANA-2021



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

BAP1, EZH2 VE 5HMC MOLEKÜLLERİNİN MELANOM TANISINDA VE PROGRESYONUNDA ROLÜ VE ÖNEMİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Savalan KARİM

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Arbil AÇIKALIN

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonunun TTU-2020-12599 nolu Projesi ile desteklenmiştir.

ADANA-2021

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince ve tezimin her aşamasında sabrı, bilgi, beceri, deneyimleri ve güler yüzüyle beni aydınlatan değerli tez danışmanım Doç. Dr. Arbil Açıkalin'a teşekkürlerimi sunarım.

Saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Suzan Zorludemir, Prof. Dr. Figen Doran, Prof. Dr. Gülfiliz Gönlüşen, Prof. Dr. Melek Ergin, Prof. Dr. Derya Gümürdülü, Prof. Dr. Aysun Uğuz, Doç. Dr. Arbil Açıkalin, Doç. Dr. Emine Kılıç Bağır, Doç. Dr. Kıvılcım Eren Erdoğan ve Dr. Öğr. Üyesi Tuğba Toyran'a uzmanlık eğitimim boyunca mesleki tecrübelerini benimle paylaştıkları için teşekkür ederim.

Çalışmamın kesit alma aşaması için Sinan Özbulat ve Zübeyde Kızıl'a, immünohistokimya aşaması için Öznur Akın ve Kürşat Mutlu'ya özverili çalışmaları için teşekkür ederim. Ayrıca yardımlarını esirgemeyen tüm laboratuvar ekibimize, arşiv çalışanlarına ve bölümümüzde görevli olan tüm bölüm çalışanlarına teşekkür ederim.

Asistanlık sürecini paylaştığım, birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum, bölümümüzden mezun olmuş ve halen araştırma görevlisi olarak çalışmakta olan arkadaşlarım Merve İnceman, Aslı Aydoğdu, Özge Yaprak, Büşra Nur Ateş, Merve Aksın, Ayşe Daş Çerçi, Hande Yanar, Evin Kuşsever ve Fatma Çalkan'a ayrıca teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde bana büyük katkısı olan, yaşamımın her anında desteklerini esirgemeyen, bana güç veren sevgili babam İlgar Kerim ve annem Mehpere Kerimova'ya varlıkları ve büyük destekleri için sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
TABLO LİSTESİ	v
ŞEKİL LİSTESİ	vii
RESİM LİSTESİ	viii
KISALTMALAR LİSTESİ	ix
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 İnsan derisi anatomi ve embriyolojisi	3
2.2. Melanositler ve Melanin Sentezi	5
2.3. Melanositik tümörler	7
2.3.1. Aralıklı Olarak Güneşe Maruz Kalan Deride Benign Melanositik Tümörler	9
2.3.1.1. Basit Lentigo ve Lentiginöz Melanositik Nevüs	9
2.3.1.2. Junctional, Kompound ve Dermal Nevüs	10
2.3.1.3. Displastik Nevüs	11
2.3.1.4. Spilus Nevüs	11
2.3.1.5. Özel Alan Nevüsleri	12
2.3.1.6. Halo Nevüs	12
2.3.1.7. Meyerson Nevüs	13
2.3.1.8. Rekürren Nevüs	13
2.3.1.9. Derin Penetran Nevüs	14
2.3.1.10. Pigmente Epiteloid Melanositom	14
2.3.1.11. Kombine Nevüs	15
2.3.2. Spitz Tümörler	16
2.3.2.1. Spitz Nevüs	16
2.3.2.2. Pigmente İgşi Hücreli Nevüs (Reed Nevüs)	16
2.3.3. Akral Deride Benign Melanositik Tümörler	17

2.3.3.1. Akral Nevüs.....	17
2.3.4. Mavi Nevüsten Gelişen Melanositik Benign Tümörler	18
2.3.4.1. Mavi Nevüs ve Sellüler Mavi Nevüs	18
2.3.4.2. Moğol Lekesi.....	18
2.3.4.3. İto Nevüs ve Ota Nevüs	19
2.3.5. Konjenital Nevüsten Gelişen Benign Melanositik Tümörler.....	19
2.3.5.1. Konjenital Melanositik Nevüs.....	19
2.3.5.2. Konjenital Melanositik Nevüste Proliferatif Nodüller	20
2.4. Malign Melanositik Tümörler	20
2.4.1. Tanım ve İnsidans	20
2.4.2. Etiyopatogenez ve moleküler sınıflandırma	20
2.4.3. Melanositik Tümörlerin Genetik Yapısı	23
2.4.4. Melanomun Klinik Özellikleri.....	27
2.4.5. Primer Kutanöz Melanom Tanı Kriterleri	27
2.4.6. Prognostik Faktörler ve AJCC (American Joint Committee on Cancer)	
Evreleme Sistemi.....	27
2.4.6.1. Prognostik Faktörler.....	27
2.4.6.2. AJCC (American Joint Committee on Cancer) Evreleme Sistemi	
(8. Edisyon, 2017).....	28
2.5. Kutanöz Melanom Sınıflandırılması	31
2.5.1. Güneş Maruziyeti Olan Deride Görülen Melanomlar	31
2.5.1.1. Düşük Kümülatif Güneş Hasarlı (KGH) Melanom / Yüzeyel	
Yayılan Melanom.....	32
2.5.1.2. Yüksek KGH melanomu	33
2.5.1.2.1. Lentigo Maligna Melanom.....	33
2.5.1.2.2. Desmoplastik melanom	33
2.5.2. Güneşten Korunan Bölgelerde Ortaya Çıkan veya UV Radyasyonu ile	
Etiyolojik İlişkileri Olmayan Melanomlar	34
2.5.2.1. Malign Spitz Tümör (Spitz Melanoma)	34
2.5.2.2. Akral Melanom	34
2.5.2.3. Konjenital Nevüste Ortaya Çıkan Melanom	35
2.5.2.4. Mavi Nevüste Ortaya Çıkan Melanom.....	35

2.6. BRCA1-İlişkili Protein 1 (BAP1) ve Kanser	36
2.6.1. BAP1 ve Kromatin modifikasyonundaki rolü	37
2.6.2. DNA hasar yanıtı ve BRCA1 ile ilişkisi	38
2.6.3. Hücre döngüsü kontrolü ve hücre çoğalması.....	39
2.6.4. BAP1 ve Hücre Ölümü Regülasyonu	40
2.6.5. BAP1 Değişiklikleri ve İmmün Cevap	41
2.6.6. BAP1 İlişkili Tümörler	42
2.6.6.1. BAP1 Germline Mutasyonu İlişkili Kanserler	42
2.6.6.2. BAP1 Somatik Mutasyonu İlişkili Kanserler.....	45
2.6.7. BAP1 ve kanser tedavisi	45
2.7. 5- hidroksimetilsitozin (5-hmC) ve Melanomdaki Rolü	46
2.7.1. DNA Hidroksimetilasyonu ve Regülasyonu.....	47
2.7.2. DNA Hidroksimetilasyonu ve Melanom İlişkisi	48
2.8. EZH2 ve Melanomda Rolü	49
2.8.1. EZH2 Ekspresyonu ve Melanom Progresyonu	51
3. GEREÇ ve YÖNTEM	53
3.1. Olgu Seçimi.....	53
3.2. Etik Kurul.....	53
3.3. Yöntem.....	53
3.4. İmmünohistokimyasal Değerlendirme	54
3.5. Verilerin İstatistiksel Analizi	55
4. BULGULAR.....	56
4.1. Klinikopatolojik Bulgular	56
4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirilmesi.....	58
4.2.1. BAP1 bulguları	58
4.2.2. 5hmC Bulguları.....	63
4.2.3. EZH2 Bulguları.....	68
4.2.4. Sağkalım Analizleri	75
5. TARTIŞMA	78
6. SONUÇLAR	84
KAYNAKLAR	86
EKLER	97
Ek-1. Çalışmaya dahil edilen tüm olgulara ait klinikopatolojik ve İHK bulgular	97

TABLO LİSTESİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Melanositik tümörlerin sınıflandırılması (DSÖ 2018)	8
Tablo 2. Melanomların yolaklarına göre sınıflandırılması	22
Tablo 3. Epidemiyolojik, klinik, patolojik ve genomik özellikler temelinde melanomların ve prekürsör lezyonların sınıflandırılması.	26
Tablo 4. Anatomik Evre	31
Tablo 5. BAP1 germline değişiklikleri ile ilişkili yaygın tümörler (BAP1-tümör yatkınlık sendromu (BAP1-TPDS).	44
Tablo 6. Melanomda EZH2 deregülasyon metodlarının özeti.....	51
Tablo 7. İHK yöntemi ile çalışılan antikorların marka ve dilüsyonları	54
Tablo 8. Melanom olgularına ait klinikopatolojik bulguların dağılımı	57
Tablo 9. BAP1 için tanı performans ölçüleri.....	58
Tablo 10. Bap1 ile cinsiyet ilişkisi	58
Tablo 11. Bap1 ile Clark's Level ilişkisi.....	59
Tablo 12. Bap1 ile konak cevabı ilişkisi	59
Tablo 13. Bap1 ile satellit nodül ilişkisi.....	59
Tablo 14. Bap1 ile transit nodül ilişkisi.....	59
Tablo 15. Bap1 ile uzak metastaz ilişkisi	60
Tablo 16. Bap1 ile nicel ölçümler ilişkisi.....	60
Tablo 17. Bap1 ile ülserasyon ilişkisi.....	60
Tablo 18. Bap1 ile LN tutulumu ilişkisi	61
Tablo 19. Bap1 ile status ilişkisi	61
Tablo 20. 5-hmC için ROC Analizi.....	63
Tablo 21. 5-hmC için ROC analizinde elde edilen farklı kesim noktaları için performans ölçüleri	64
Tablo 22. 5-hmC yönüyle cinsiyet ortalamalarının karşılaştırılması.....	65
Tablo 23. 5-hmc yönüyle ülserasyon grup (var-yok) ortalamalarının karşılaştırılması	65
Tablo 24. 5-hmc yönüyle LN tutulumu grup (var-yok) ortalamalarının karşılaştırılması	65
Tablo 25. 5-hmC yönüyle satellit grup (var-yok) ortalamalarının karşılaştırılması	65
Tablo 26. 5-hmC yönüyle uzak metastaz grup (var-yok) ortalamalarının karşılaştırılması	65
Tablo 27. 5-hmC yönüyle status ve grup ortalamalarının karşılaştırılması	66
Tablo 28. 5-hmC yönüyle Clark's Level karşılaştırılması.....	66
Tablo 29. 5-hmC yönüyle konak cevap grup ortalamalarının karşılaştırılması.....	66
Tablo 30. 5-hmC ile nicel değişkenler arası ilişkiler (Spearman korelasyon katsayısı)	66
Tablo 31. 5-hmC yönüyle transit grup (var-yok) ortalamalarının karşılaştırılması	67
Tablo 32. EZH2 için ROC Analizi	69
Tablo 33. EZH2 için ROC analizinde elde edilen farklı kesim noktaları için performans ölçüleri	70

Tablo 34.	EHZ2 yönüyle cinsiyet ortalamalarının karşılaştırılması	71
Tablo 35.	EHZ2 yönüyle satelit grup (var-yok) ortalamalarının karşılaştırılması	71
Tablo 36.	EHZ2 yönüyle Clark's Level ortalamalarının karşılaştırılması	71
Tablo 37.	EHZ2 yönüyle konak cevap grup ortalamalarının karşılaştırılması	71
Tablo 38.	EHZ2 ile nicel değişkenler arası ilişkiler (Spearman korelasyon katsayısı)	72
Tablo 39.	EHZ2 yönüyle ülserasyon grup (var-yok) ortalamalarının karşılaştırılması	72
Tablo 40.	EHZ2 yönüyle LN tutulumu grup (var-yok) ortalamalarının karşılaştırılması	73
Tablo 41.	EHZ2 yönüyle transit grup (var-yok) ortalamalarının karşılaştırılması	73
Tablo 42.	EHZ2 yönüyle uzak metastaz grup (var-yok) ortalamalarının karşılaştırılması	73
Tablo 43.	EHZ2 yönüyle sağkalım oranları grup (var-yok) ortalamalarının karşılaştırılması	74
Tablo 44.	Cox Regresyon çözümleme sonuçları	76
Tablo 45.	Sağkalım Tablosu	77



ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Derinin tabakaları	4
Şekil 2. Dermis histolojisi	5
Şekil 3. Melanosit histolojisi	6
Şekil 4. Melanin sentezi	7
Şekil 5. BRCA1-İlişkili Protein 1'in (BAP1) fonksiyonel alanları	37
Şekil 6. BAP1'in işlevsel rollerinin özeti.	38
Şekil 7. 5-hidroksimetilsitozinin (5-hmc) tanıtımı ve düzenlenmesi.	48
Şekil 8. PRC2 kompleksi ve histon metilasyonu	49
Şekil 9. EZH2 ekspresyonunun regülasyonu	50
Şekil 10. Melanomda EZH2 overekspresyonunun biyolojisi.	52

RESİM LİSTESİ

<u>Resim No</u>	<u>Sayfa No</u>
Resim 1. Yüzeysel Yayılan Malign Melanom (HE, x100)	32
Resim 2. Nodüler Melanom (HE, x100)	36
Resim 3. İntradermal nevüste nükleer BAP1 pozitifliği (İHK, x100)	62
Resim 4. İnvaziv melanomda BAP1 negatifliği (-) İHK, x400 (B23518/18)	62
Resim 5. İnvaziv melanomda nükleer BAP1 pozitifliği (İHK, x400) (B22129/18)	62
Resim 6. İnvaziv melanomda nükleer BAP1 negatifliği (İHK, x400) (B10835/16)	63
Resim 7. İntradermal nevüste 5hmC ile %100 nükleer pozitif boyanma (İHK, x100).	67
Resim 8. İnvaziv melanomda 5hmC ile tümör hücrelerinin tümünde nükleer kayıp (İHK, x400) (B22129/18)	67
Resim 9. Resim 11. İnvaziv melanomda 5hmC ile %100 nükleer pozitif boyanma (İHK, x400). (B10835/16)	68
Resim 10. İnvaziv melanomda 5hmC ile %15 nükleer pozitif boyanma (İHK, x400) (B615/15)	68
Resim 12. İntradermal nevüste EZH2 ile Skor= 0 (İHK, x200)	74
Resim 11. İnvaziv melanom EZH2 skor= 152 (İHK, x400) (B18200/10).	74
Resim 13. İnvaziv melanom EZH2 skor= 0 (İHK, x400) (B7247/19).	75
Resim 14. İnvaziv melanom EZH2 skor= 15 (İHK, x200) (B21551/15).	75

KISALTMALAR LİSTESİ

5cac	: 5-karboksilsitozin
5fc	: 5-formilsitozin
5hmc	: 5-hidroksimetilsitozin
5mc	: 5-metilsitozin
Ac	: Asetilasyon
ACTH	: Adrenokortikotropik hormon
AJCC	: American Joint Committee on Cancer
APSCT	: Atipik pigmentli iğsi hücreli tümörü
AST	: Atiik Spitzoid Tümör
BAP1	: BRCA1 ile ilişkili protein 1
BAP1-TPDS	: BAP1 tümör yatkınlık sendromu
BFGF	: Basic fibroblast growth faktör
BIMT	: BAP1-inaktive melanositik tümör
BNLM	: Mavi nevüs benzeri melanom
CdkI	: Sikline bağımlı kinaz inhibitörü
CDKN2A	: Sikline Bağımlı kinaz inhibitörü 2A
CG	: Sitozin-Guanin
CMN	: Hücresel mavi nevüs
CTD	: C-terminal bağlanma alanı
DMN	: Dendritik mavi nevüs
DMNT	: DNA metiltransferazlar
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
DPN	: Derin penetran nevüs
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EMT	: Epitelyal-Mezenkimal Geçiş
ER	: Endoplazmatik retikulum
ERK	: Ekstrasellüler signal regulated protein kinase
ET-1	: Endotelin-1
EZH2	: Enhancer of zest homologue 2
H3K27me1	: Histon3lysine27' nin monometilasyon

H3K27me2	: Histon3lysine27' nin dimetilasyon
H3K27me3	: Histon3lysine27' nin trimetilasyonu
HCF	: Host cell factor1
HDAC	: Histon deasetilaz
HGF	: Hepatosit büyüme faktörü
HR	: Homolog rekombinasyon
IDH	: İzositrat dehidrojenaz
IMPSG	: Uluslararası Melanom Patolojisi Çalışma Grubu
IP3R3	: Tip-3 inositol-1,4,5-trifosfat reseptörü
KGH	: Kümülatif güneş hasarı
LMM	: Lentigo maligna melanom
LN	: Lenf Nodu
MAPKN	: Mitogen activated protein kinase
MELTUMP	: Malign Potansiyeli belirsiz Melanositik Tümör
miRNA	: MikroRNA
MSH	: Melanosit stimüle edici faktör
NKD	: Negatif kestirim değeri
NLS	: Nükleer lokalizasyon sinyali
PCG	: Polycomb grubu
PD-L1	: Programlanmış Ölüm Antijen Ligandı-1
PEM	: Pigmente epiteloid melanositom
PKD	: Pozitif kestirim değeri
PLEXSCN	: Pleksiform iğsi hücreli nevüs
PR –DUB	: Polycomb baskılayıcı deubiquitinize
pRB	: Fosforile retinoblastoma geni
PRC1	: Polycomb baskılayıcı kompleks 1
PRC2	: Polycomb baskılayıcı kompleks 1
PSCN	: Pigmentli iğsi hücreli nevüs
RBF	: Radyal büyüme fazı
SCF	: Stem cellfactor
SLN	: Sentinel Lenf Nodu
SVCT	: Sodyuma bağımlı C vitamini taşıyıcılar

TDG	: Timin DNAglikozilaz
TET	: Ten-eleven translocation
TRP1	: Tirozin-bağımlı-protein 1
UCH	: Ubiquitin karboksi hidrolaz
UV	: Ultraviyole
VBF	: Vertikal büyüme fazı
YY1	: Yin Yang 1
YYM	: Yüzeyel yaylına melanom



ÖZET

Bap1, Ezh2 ve 5hmc Moleküllerinin Melanom Tanısında ve Progresyonunda Rolü ve Öneminin Araştırılması

Giriş-Amaç: Malign melanom, yıllık artan insidans oranıyla en ölümcül deri kanseridir. Erken dönemde melanom cerrahi ile tedavi edilebilirken, metastatik lezyonlarda yaşam süresi dramatik şekilde düşmektedir. Çalışmalar göstermektedir ki; melanomun gen haritası oldukça heterojen olup, özellikle epigenetik bozuklukların tanısall ve terapötik yeri diğer kanserlerde olduğu gibi günümüzde anahtar rolü kazanmıştır.

Çalışmamızın amacı retrospektif olarak, hastanemizde tanı almış kutanöz malign melanom olgularına ait biyopsi örneklerini prognostik parametreler yönünden klinikopatolojik olarak yeniden değerlendirmek, immünohistokimyasal olarak BAP1, EZH2 ve 5hmC antikorlarının ekspresyonlarını değerlendirmek ve bu belirteçlerin tanı ve prognoz ile yaşam süresi ile ilişkisini istatistiksel olarak araştırmaktır.

Materyal-Method: Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivinde, 2010-2020 yılları arasında melanom tanısı almış toplam 114 olgu ve intradermal nevüs tanısı almış 49 olguya ait Hematoksilen-Eozin kesitler histopatolojik olarak yeniden değerlendirilmiştir. Ayrıca immünohistokimyasal olarak BAP1, 5hmC ve EZH2 uygulanmış, sonuçların klinikopatolojik parametreler ve sağkalım ile istatistiksel olarak ilişkisi araştırılmıştır.

Bulgular: Melanom olgularının %59,7'si erkek olup, ortalama yaş 60,3 idi. Olguların %50,9' u ex olup, ortanca ölüm süresi 55 ay idi. BAP1 kaybı ile daha uzun süre ve yüksek oranda sağkalım, daha az lenf nodülü tutulumu ve daha düşük oranda ülserasyon olması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır. 5hmC kaybı ile yalnızca transit nodül varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır. EZH2 skor ortalaması ile ülserasyon varlığı, Breslow derinliği, lenf nodu tutulumu, transit nodül varlığı, uzak metastaz olması ve eksitus olgu oranı arasında pozitif yönde istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır.

Tartışma: BAP1 ve 5 hmC kaybı ve EZH2 ekspresyon artışı melanomda anlamlı rol almaktadırlar. BAP1 kaybı iyi prognoz ve uzun sağkalım ile ilişkilidir. 5hmC kaybı melanoma progresyonda rol oynamaktadır. EZH2 artmış ekspresyonu melanoma progresyonda görev almakla birlikte kötü prognostik parametredir ve ölüm riskini arttırmaktadır. Bu belirteçler patogenetik ve prognostik rolleri ile birlikte; halen en ölümcül kanserlerden olan melanomun gerek hedefe yönelik gerek kombine tedavi planlamasında umut vaat etmektedir.

Anahtar Kelimeler: BAP1, 5hmc, EZH2, Melanom, Epigenetik

ABSTRACT

Investigation of the Role and Importance of Bap1, Ezh2 and 5hmc Molecules in Melanoma Diagnosis and Progression

Background-Aim: Melanoma is the most fatal skin cancer with increasing incidence. In early- stage tumors, surgery is usually therapeutic whereas survival is dramatically decreased in metastatic tumors. In recent years, it is well established that melanoma has a heterogenous genomic landscape. Additionally, diagnostic and therapeutic role of the epigenetic alterations have become important in various cancer types as well as in melanoma. Aim of our study is to re-evaluate primary cutaneous melanoma cases clinicopathologically, and to analysis the expressions of BAP1, EZH2 and 5hmC molecules immunohistochemically and to search the the prognostic and diagnostic roles, statistically.

Material-Method: One hundred fourteen melanoma and 49 intradermal nevus cases were selected from the archive of Cukurova University Medical Faculty Pathology Department. Hematoxyline and Eosine slides were re-evaluated. Immunohistochemically, BAP1, 5hmC and EZH2 was performed to all cases, the results were analyzed statistically.

Results: %59,7 of melanoma cases was male, mean age was 60,3 years. %50,9 cases were deceased, median death period was 55 months. BAP1 loss was statistically significantly related to longer survival time and overall survival, lesser lymph node metastasis and ulceration. 5hmC loss was statistically related to only transit nodule presence. Mean EZH2 score was statistically significantly related to ulceration, Breslow, lymph node metastasis, transit nodule, distant metastasis, and deceased case ratio.

Discussion: Loss of BAP1 and 5hmC and overexpression of EZH2 plays an important role in melanoma. Our results reveal that loss of BAP1 is associated with better survival and longer lifetime. 5hmC plays an important role in melanoma progression as well as overexpression of EZH2. EZH2 overexpression is a poor prognostic factor and increases death risk. Besides the pathogenetic and prognostic importance of these markers, they seem to be promising in treatment of melanoma for both targeted therapy and adjunct to combined therapy.

Keywords: BAP1, 5hmc, EZH2, Melanom, Epigenetics

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Malign melanom, yıllık artan insidans oranıyla en ölümcül deri kanseridir. Erken dönemde melanom cerrahi ile tedavi edilebilirken, metastatik lezyonlarda yaşam süresi dramatik şekilde düşmektedir. Bu nedenle bu hastaların erken dönemde doğru tanı ve tedavi almaları iyi prognoz için en önemli faktörlerdir. Bu amaca yönelik olarak, son dekatlarda melanomun tanısına ve tedavisine yönelik yeni biyobelirteç ve moleküllerin tanımlanması hız kazanmıştır. Çalışmalar göstermektedir ki; malign melanomun gen haritası oldukça heterojen olup, özellikle epigenetik bozuklukların tanısal ve terapötik yeri diğer kanserlerde olduğu gibi günümüzde anahtar rolü kazanmıştır.

Histon metiltransferazların disregülasyonunun melanom gelişimindeki rolü tanımlanmıştır. “Enhancer of zest homologue 2 (EZH2)” metiltransferaz ise hücre içindeki önemli kromatin yeniden biçimlendirici komplekslerden olan PRC2’ nin katalitik subünitidir. EZH2’ nin görevi önemli bir gen sessizleştirici belirteç olan histon3lysine27’ nin trimetilasyonunu (H3K27me3) katalize etmektir. EZH2’ nin yüksek ekspresyonu veya aktive edici mutasyonları melanom gibi bazı kanserlerin patogenezinde tanımlanmaktadır.

Diğer önemli epigenetik modifikasyon ise; 5-metilsitozin (5mC) konumundaki DNA metilasyonudur. Bu reaksiyon sırasında 5-hidroksimetilsitozin (5hmC) gibi 5mC türevleri ortaya çıkar. Yakın zamanda meme, karaciğer, akciğer, pankreas, kolon, beyin, myeloid kanserlerde ve melanomda 5hmC proteininin anlamlı olarak düşüklüğü bildirilmektedir.

BAP1 proteini, hücre proliferasyonu, farklılaşması, hücre ölümü ve DNA hasar yanıtı gibi hücresel süreçlerde anahtar rol oynayan bir deubikuitinazdır. Son zamanlarda BAP1'deki germline mutasyonların uveal melanom, kutanöz melanositik lezyonlar, berrak hücreli renal hücreli karsinom, akciğer adenokarsinomu, menenjiyom, mezotelyoma ve diğer tümörlerin gelişimi için duyarlılığı arttırdığı bildirilmiştir. Multiple BAP1-negatif melanositik neoplazmların varlığı, BAP1'deki germline mutasyonlarının neden olduğu ailesel kanser yatkınlık sendromu için uyarıcıdır. BAP1 kaybı germline BAP1 mutasyonu olmayan hastalarda sporadik lezyonlar olarak da tanımlanmaktadır ve bunun prognostik önemi henüz bilinmemektedir.

Çalışmamızın amacı retrospektif olarak, hastanemizde tanı almış kutanöz malign melanom, banal nevüs olgularına ait biyopsi örneklerini prognostik parametreleri yönünden klinikopatolojik olarak yeniden değerlendirmek, immünohistokimyasal olarak BAP1, EZH2 ve 5hmC antikorlarının ekspresyonlarını değerlendirmek ve bu belirteçlerin tanıda ve prognoz ile yaşam süresi ile ilişkisini istatistiksel olarak araştırmaktır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 İnsan derisi anatomi ve embriyolojisi

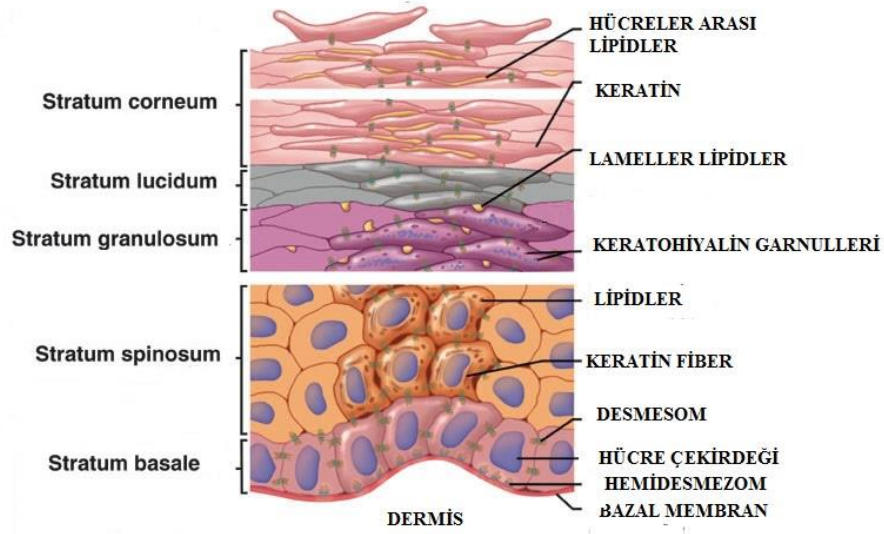
Vücut yüzeyini örten deri, epidermis tabakasının sertliği, bezlerin salgıları, dermis tabakasının elastikiyeti ve sıklığı sayesinde her türlü mekanik, termik ve kimyasal etkilere karşı vücudumuzun korunmasında önemli rol oynayan, 1.5-2 m² yüzey alanı ile ve vücut ağırlığının %15-16'sını oluşturması ile, vücudumuzun en büyük organıdır.

Histolojik olarak, yukarıdan aşağıya doğru epidermis, dermis ve subkutis (hipodermis) tabakalarını içerir.

Epidermis

Embriyolojik olarak üst katmanı oluşturan epidermis, yüzey ektoderminden köken alırken, daha derinde yer alan dermis ise mezenkimal orjinlidir.

İntrauterin dönemin başlarında embriyo tek katlı bir ektodermal hücre katmanı ile çevrili durumdadır. İkinci haftada bu katman bölünerek yassı hücrelerden oluşan periderm veya epitrichium katmanı yüzeyi örtecek şekilde yerleşir. Bazal tabakada devam eden proliferasyon neticesinde ilerleyen dönemde üçüncü bir tabaka olan intermediate bölge de oluşur. Nihayetinde dördüncü haftanın sonunda ise epidermis 4 tabakalı karakteristik görünümüne kavuşur. Bu tabakalar bazalden superiora doğru stratum basale, stratum spinosum, stratum granulosum, stratum lucidum, stratum corneum şeklindedir (Şekil 1).



Şekil 1 Derinin tabakaları

Stratum basale veya diğer ismi ile germinatif tabaka; deride yeni hücrelerin üretiminden sorumlu olan bölümdür. Bu katman tarafından oluşturulan girinti ve çıkıntıların deri yüzeyinde meydana getirdiği görünüm parmak izi gibi karakteristik yapıları oluşturmaktadır (tek sıralıdır).

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

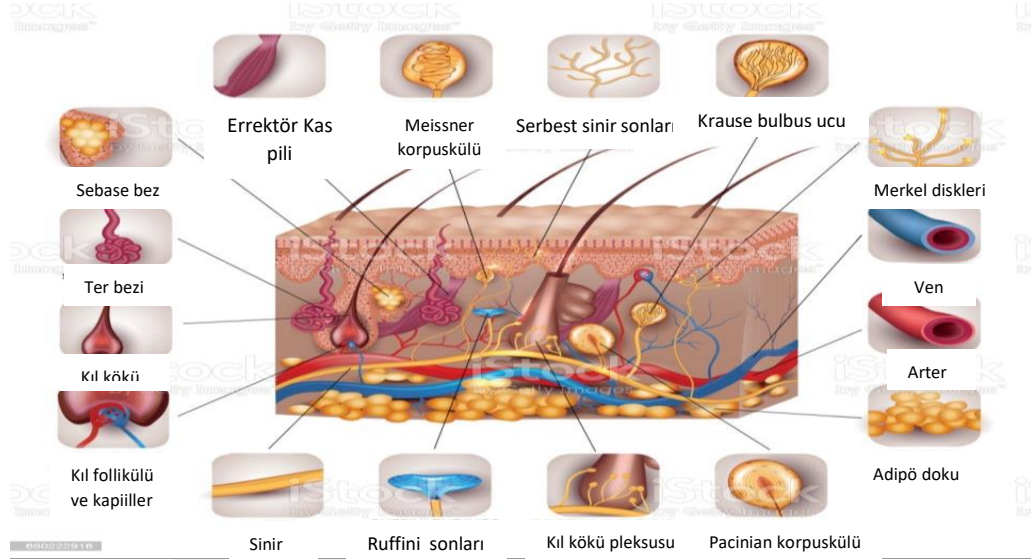
Stratum granulosum; hücrelerin içlerinde küçük keratohyalin granülleri bulunmakta olup, tabakanın adı bu granüllerden gelmektedir (1-3 sıralıdır).

Stratum corneum; oldukça sıkı biçimde yerleşmiş keratin ile dolu ölü hücrelerden meydana gelen bu tabaka, cilt yüzeyinin pullu görünümünü sağlamaktadır (5-10 sıralıdır).¹

Dermis

Dermis üç farklı mezenkimal kaynaktan türemiştir. Ekstremiteler ve gövde duvarlarını örten dermis, lateral mezoderm tabakasından, sırtı örten dermis paraksiyel mezodermden, baş ve boynu örten dermis ise nöral krest hücrelerinden köken almaktadır. İntrauterin üç ve dördüncü aylarda, koryum dokusu tarafından dermal papilla olarak da adlandırılan düzensiz parmaklı çıkıntılar oluşturulur. Bu papillaların çok büyük bölümünde küçük kapiller yapılar ve sensörinöral uç organlar yerleşim

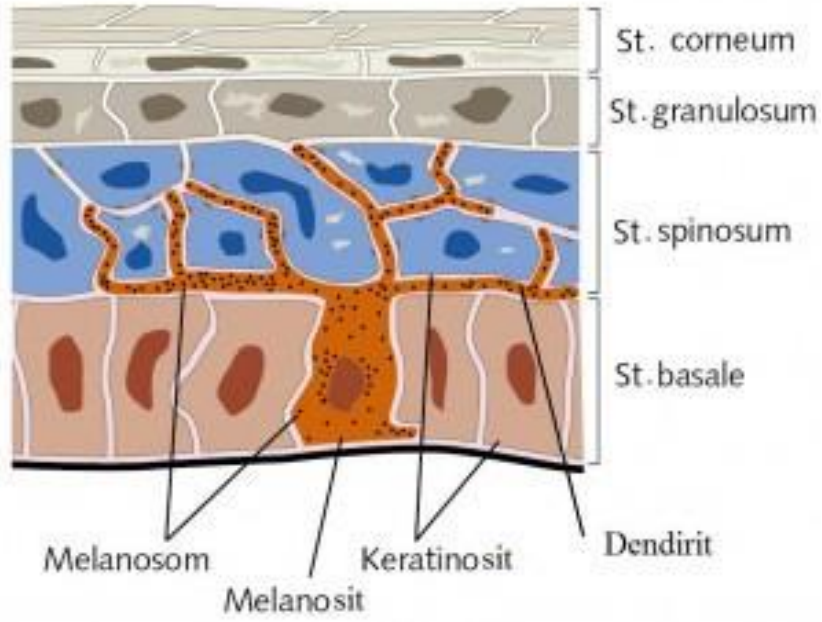
gösterir. Subkoryum olarak isimlendirilen daha altta yerleşik tabaka ise, yüksek oranda yağ dokusu ihtiva etmektedir (Şekil 2).



Şekil 2 Dermis histolojisi

2.2. Melanositler ve Melanin Sentezi

Melanositler, nöral krest kökenli dendritik hücrelerdir. Epidermiste, iç kulakta, uveal traktta, leptomeninkslerde, saç foliküllerinin yanı sıra müköz membranlarda, gastrointestinal traktta da yaygın olarak bulunurlar. Epidermiste dermoepidermal bileşkedeki bazal tabaka boyunca dağılmışlardır. Komşu keratinositlere uzanan ve pigment transferini sağlayan çok sayıda dendritik uzantıları vardır. Melanositler epidermiste bazal tabaka hücreleri arasında teritoryal tarzda yerleşmişlerdir. Yani üç-dört bazal tabaka hücresi arasında bir melanosit bulunur.² (Şekil 3).

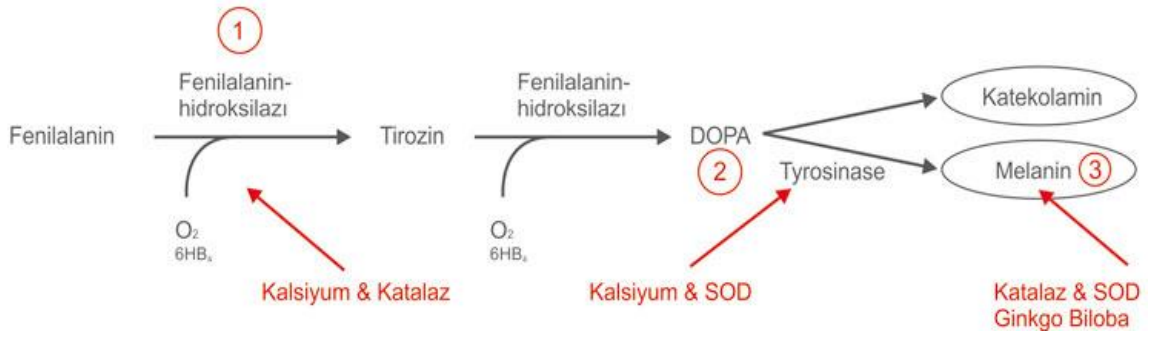


Şekil 3 Melanosit histolojisi

Melanin Sentezi

Melanin, açık sarıdan koyu kuzguni siyaha kadar değişen renklerde görülmekle beraber, başlıca kahverengi-siyah (pheomelanin) ya da kırmızımsı-sarı (eumelanin) renklidir. Normal epidermal melanositler her iki melanini de sentez ederler; ancak deri, saç ve kılların rengi melanin miktarı ve dağılımı ile ilişkilidir. Ayrıca güneş ışığı, hormonlar (MSH, ACTH, prostaglandinler, lipotropinler ve seks steroid hormonları) ve genetik özellikler, yapılan pigment miktarını etkiler.³

Melanin, derideki melanositler tarafından üretilen endojen bir pigmenttir. Melanin sentezi melanozomlarda gerçekleşir. Gelişimin erken evrelerinde melanozomlar membranla çevrili veziküller halindedir ve golgi-ilişkili endoplazmik retikulumda yerleşmiştir.



Şekil 4 Melanin sentezi

Melanin öncü maddesi, esansiyel bir aminoasit olan fenilalanininden oluşan, başlıca karaciğerde hidroksilasyonla meydana gelen tirozindir⁴. Tirozin, melaninin bütün tipleri için ana maddedir. Tirozinaz, L-tirozinin DOPA'ya dönüşümünü katalize eder. Aynı zamanda tirozinaz aktivitesi DOPA yoluyla olur ve melanozumun bir transmembran proteini olan tirozin-bağımlı-protein 1 (TRP1) ile stabilize edilir (Şekil 4). Tirozin geni mutasyona uğradığında melanin üretilmez⁵. Melanosit homeostazı deride basic fibroblast growth faktör (BFGF), endotelin-1 (ET-1), melanosit stimüle edici hormon (MSH), stem cellfactor (SCF), hepatosit büyüme faktörü (HGF), Wnt gibi çeşitli faktörlerin üretiminin düzenlemesiyle kontrol edilir.

2.3. Melanositik tümörler

Melanositik tümörler melanositler, nevus hücreleri veya melanom hücrelerinin bir veya fazlasının proliferasyonundan oluşmaktadır. Benign tümörleri nevus olarak adlandırılırken, malign tümörleri melanom olarak adlandırılır. Derinin melanositik tümörleri Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2018 sınıflamasına göre aşağıdaki gibi sınıflandırılmaktadır.

Tablo 1. Melanositik tümörlerin sınıflandırılması (DSÖ 2018)

Aralıklı olarak güneşe maruz kalan deride melanositik tümörler:

- Düşük KGH melanomları (yüzeyel yayılan melanom)
- Basit lentigo ve lentijenöz melanositik nevüs
- Juncktonal Nevüs
- Kompound nevüs
- Dermal nevüs
- Displastik nevüs
- Spilus nevüs
- Özel alan Nevüsleri
- Halo nevüs
- Meyerson nevüs
- Rekürent nevüs
- Derin Penetran nevüs
- Pigmente epiteloid melanositom
- Kombine nevüs

Kronik olarak güneşe maruz kalan deride melanositik tümörler:

- Lentigno malign melanom
- Desmoplastik melanom

Spitz tümörler:

- Malign Spitz tümör (Spitz Melanoma)
- Spitz nevüs

Akral deride melanositik tümörler:

- Akral Melanom
- Akral nevüs

Genital ve mukozal melanositik tümörler:

- Mukozal melanomlar (genital, oral, sinonazal)
- Mukozal lentijenöz melanom
- Mukozal nodüler melanom
- Genital nevüs

Mavi Nevüsten gelişen melanositik tümörler:

- Mavi nevüsten gelişen melanom
- Mavi nevüs
- Sellüler mavi nevüs
- Moğol noktası
- Nevüs İto
- Nevüs Ota

Konjenital nevüsten gelişen melanositik tümörler:

- Büyük konjenital nevüsten gelişen melanom
- Konjenital melanositik nevüs
- Konjenital melanositik nevüste proliferatif nodüller

Oküler melanositik tümörler:

- Uveal melanom -epiteloid hücreli melanom -iğsi hücreli melanom tip A -iğsi hücreli melanom tip B
- Konjunktival Melanom
- İn Situ melanom/atipi ile birlikte konjunktival primer melanozis
- Konjunktival Nevüs

Nodüler, nevoid ve metastatik melanomlar:

- Nodüler melanom
- Nevoid melanom
- Metastatik melanomlar

2.3.1. Aralıklı Olarak Güneşe Maruz Kalan Deride Benign Melanositik Tümörler

2.3.1.1. Basit Lentigo ve Lentiginöz Melanositik Nevüs

Basit lentigo ve lentiginöz melanositik nevüs tipik olarak pigmentli maküllerden oluşan melanositik nevüslerin gelişiminin erken aşamalarını temsil edebilir. Basit lentigoda bazal tabakada artan sayıda melanosit görülür, ancak bu tür hücrelerin bağlantı yuvaları belirgin değildir²¹. Aksine, lentiginöz melanositik nevüs, epidermisin tabanında küçük melanositik yuvaların yanı sıra lentiginöz tek hücreli melanositik

proliferasyonu içerir. Lentiginöz melanositik nevüs ayrıca papiller dermiste⁷ küçük lezyonlu melanosit grupları içerir.

Tipik olarak, lezyonlar ilk olarak 2 yaş civarında ortaya çıkar ve daha sonra sürekli olarak progresyon gösterir. Risk faktörleri arasında: açık ten (genellikle kızıl saçlı, mavi gözlü ve bronzlaşamama), güneşe maruz kalmayla deri yanması^{6,7}. Lezyonlar 3-15 mm çapında, düzensiz veya pürüzsüz kenarlı, yuvarlak veya oval maküllerdir. Ağrılı veya kaşıntılı değildirler ve güneşe maruz kaldıklarında kararmazlar^{6,7}.

Melanositler, küçük, oval-yuvarlak, monomorfik nükleuslara sahiptir. Basit lentigo görünümüne sahip bir lezyonda bir veya daha fazla küçük melanosit yuvası gözlemlendiğinde, lezyona lentiginöz melanositik nevüs adı verilir.

2.3.1.2. Junctional, Compound ve Dermal Nevüs

Junctional, compound ve dermal nevüs, nevüs hücrelerinin benign lokalize neoplastik proliferasyonlardır. Tüm melanositik tümörler gibi, bu lezyonlar da melanosit yuvalarının varlığı ile tanımlanır. Akkiz nevüsler çocuklukta ortaya çıkar ve maksimum sayıya ergenlik döneminde ulaşır, daha sonra seri çalışmalarda sayıları azalmaktadır⁸. Bu nevüsler lokalize, genellikle simetrik ve uniform, tipik olarak <5 mm çapında pigmente lezyonlardır.

Junctional nevüste yuvalar mevcut olup genellikle tek hücrelerle bir arada bulunmaktadır. Compound nevüste yuvalar dermiste de bulunur. Dermal nevüste junctional komponent yoktur ve genellikle pigment kaybı mevcuttur. Dermisteki hücreler, büyük epitelioid tip A nevus hücrelerinden (genellikle üst dermiste yuvalar şeklinde yer alır) küçük lenfosit benzeri tip B hücrelere, bu küçük lenfosit benzeri tip B hücrelerden de iğsi tip C hücrelere (genellikle Schwan hücrelerine benzer differansiasyon; iğsi fiber bantlar, serpentin nükleus, duysal sinir ve organları taklit eden yapılanmalar ve daha az yuvalanma eğilimi) doğru gelişebilirler. Matürasyondaki hücresel değişiklikler epidermis ve deri ekleri gibi epitelyal yapılardan salınan faktörlerle indüklenir. Bu mekanizmada WNT yolağı aktivasyonu mevcut olup, pigmentasyon ve hücre boyutu artışı indükler, bu pigmentasyon ve hücre boyutu artışı epitelde yüzeyel tabakadan derin tabakaya indikçe giderek azalmaktadır^{9,10}.

2.3.1.3. Displastik Nevüs

Displastik nevüs, klinik olarak atipik olan, histolojik olarak yapısal bozukluk ve sitolojik atipi ile karakterize edilen ve her zaman junctional komponent içeren melanositik nevüslerin bir alt kümesidir. Klinik ve mikroskopik morfolojilerinin yanı sıra genomik yönleri açısından, displastik nevüsler, yaygın kazanılmış nevüsler ile radyal büyüme fazlı melanom arasında bir ara konumdadır¹¹. Lezyonlar adölesan döneminde gelişir. Prevalans, daha büyük yaş gruplarında, belki de kısmen bir kohort etkisi olarak ve ayrıca involüsyon¹² nedeniyle azalmaktadır. Diğer melanositik tümörler gibi¹³ (melanomlar dahil), displastik nevüs: genetik, çevresel ve fenotipik faktörler, özellikle güneşe duyarlılık ve maruz kalma ile ilgili faktörler nedeniyle ortaya çıkar. Kronik ultraviyole (UV) radyasyona maruz kalma ve sonucunda ortaya çıkan kümülatif güneş hasarının (KGH) nevüs üzerinde etkili olması, klinik ve histolojik atipinin özelliklerini destekleyebilir. Klinik olarak şu özelliklerden en az üçünün olması gerekir: düzensiz sınır, 5 mm boyutu, renk çeşitliliği, düzensiz çevresel kontur ve eritem¹⁴.

Displastik nevüsün histopatolojik tanı kriterleri, Uluslararası Melanom Patolojisi Çalışma Grubu (IMPSG)^{14,15} tarafından geliştirilmiş ve doğrulanmıştır. Buna göre; fıkse dokularda >4mm genişlik, yapısal bozukluk (düzensiz ve/veya diskoheziv intraepidermal melanosit adaları ve yuvalanmamış junctional melanosit yoğunluğunda artış), sitolojik atipi olmalıdır.

2.3.1.4. Spilus Nevüs

Nevus spilus, epidermis ve yüzeysel dermisteki benign nevoid melanositlerden oluşan, değişken sayıda koyu pigmentli makül ve papül içeren hiperpigmente deri yaması gibi oluşan melanositik bir nevüştür¹⁶. Herhangi bir anatomik bölgede ortaya çıkabilir. Nevüs spilus, içinde değişken sayıda siyah, kahverengi veya kırmızımsı-kahverengi makül ve papül bulunan açık ila orta kahverengi hiperpigmentasyon yaması olarak ortaya çıkar. Doğumda açık renkli cafe-au-lait makülleri olarak ortaya çıkar ve daha sonra aylar, yıllar veya bazen on yıllar boyunca koyu pigmentli maküller ve papüllerle hiperpigmente olurlar. Boyutları yama tarzı büyüme şeklinde 1 cm ile <60 cm arasında değişebilir.

2.3.1.5. Özel Alan Nevüsleri

Özel alan nevüsleri, belirli anatomik bölgelerde (örneğin meme, aksilla ve diğer fleksural bölgeler, saçlı deri, kulak, göbek, genital cilt ve akral cilt) yerleşmiş melanositik nevüslerdir ve benign olmalarına rağmen atipik histopatolojik özellikler gösterebilirler. Bu nevusleri melanomdan ayırt etmek zordur, bu da yanlış tanıya ve/veya gereksiz yere büyük eksizyonlara yol açabilir¹⁷. Embriyolojik, hormonal ve fiziksel etkilerin: örneğin, ultraviyole (UV) radyasyona maruz kalma ve travmanın belirli anatomik bölgelerle ilişkili olduğu özel bölge nevuslarının atipik mikroskobik bulgularının oluşumu üzerindeki etkisi, henüz çözülmemiştir.

Atipik histopatolojik özelliklerle ortaya çıkan özel bölge nevüsleri, genellikle > 6 mm ve düzensiz sınırları olan lezyonların büyük boyutları dışında klinik olarak zararsızdır¹⁸. Özellikle, meme nevüslerinin diğer bölgelerdeki nevuslardan önemli ölçüde daha fazla atipik özellikler sergilediği ve yuvalama düzensizliği, belirgin intraepidermal melanositler, melanositik atipi ve dermal fibroplazi gösterme eğiliminde olduğu bildirilmektedir¹⁹. Kafa derisinin nevüsleri ayrıca, lentiginöz büyüme, büyük pleomorfik diskohezif yuvalar, büyük nükleuslu ve bol soluk sitoplazmalı rastgele melanositler, yuvaların lateral tarafı boyunca yerleşimi dahil olmak üzere özel bölge nevüsüyle örtüşen yapısal bozukluklar sergileyebilir. Displastik nevüs ve yüzeysel konjenital nevuslarla örtüşen özellikler de gözlenmiştir²⁰.

2.3.1.6. Halo Nevüs

Halo nevüs, histopatolojik olarak sıklıkla canlı lenfositik infiltrat ile ilişkili, çevresel depigmentasyonlu bir nevüstdür. Halo nevüs yaygın olarak çocuklarda ve genç erişkinlerde görülür. Genel popülasyonda insidansının %1 olduğu tahmin edilmektedir²¹. Antijen sunan hücreler ve CD8+ T hücreleri, nevüs hücrelerinin yok edilmesinde sitotoksik mekanizmalara işaret eden inflamatuvar infiltratlarında tanımlanmıştır²². Etkilenen hastalar aynı zamanda periferik kanda²³ aktive lenfositlerin yanı sıra T-hücre klonal genişleme²⁴ ve reaktif IgM antikorları²⁵ gösterirler.

Nevüs çevresinde halonun ortaya çıkmasıyla başlayan, ardından nevüsün solması ve kaybolması ile devam eden karakteristik bir zaman dizisini ortaya koymaktadır. Erken halo nevüs, papiller dermiste ve genellikle epidermiste yer alan nevüs hücrelerinden oluşan küçük sınırlı bir lezyon olarak ortaya çıkar. Bu lezyonlar

simetrik olup lezyonun bir tarafından diğerine uniform görünümünde yukarıdan aşağıya doğru küçülme (yani daha olgun) eğiliminde olan hücrelerden oluşur. Lenfositik infiltrat, nevüs hücrelerini kısmen veya tamamen saklar. Melanin yüklü histiyositler ve mast hücreleri eşlik edebilir.

2.3.1.7. Meyerson Nevüs

Meyerson nevus, histolojik olarak spongiosis ile karakterize, ekzematöz dermatitli benign bir nevustur. Ekzematöz reaksiyon nevüs içindeki faktörler tarafından tetiklenir, çünkü nevüsün eksizyonunun eşlik eden iltihabın gerilemesine yol açtığı gösterilmiştir²⁶. Eritem ve pullanma simetrik olarak çevreler ve merkezi nevüsün sınırlarının ötesine uzanır, pullanma bir hale oluşturur. Kaşıntılı lezyonlardır. Bazı durumlarda, topikal kortikosteroid tedavisi ile inflamasyon azalabilir; diğer durumlarda, iltihabın azalması için eksizyon gereklidir. Serumlu parakeratoz, spongioslu epidermal akantozun üzerine gelir. Ağırlıklı olarak CD4-pozitif²⁷ olan yüzeysel bir perivasküler lenfositik infiltrat vardır. Eozinofiller mevcut olabilir.

2.3.1.8. Rekürren Nevüs

Rekürren nevüs, eksik cerrahi eksizyon, biyopsi veya travmadan sonra tekrarlayan nevüstür. En sık kadınlarda sırtta bulunurlar, ancak herhangi bir yerde ortaya çıkabilirler. Compound veya intradermal nevüsün derin komponentinin yüzeysel olarak çıkarılmasından sonra da kalabilmesi nedeniyle, tekrarlayan en yaygın nevüs türleridir²⁸. Çoğu uzman, nevüs hücrelerinin (eksik çıkarılma nedeniyle) her zaman mevcut olduğuna, ancak muayenede nevüs tekrarlayana kadar klinik olarak belirgin olmadığını söylemekteler. Bu nedenle bazı klinisyenler "kalıcı nevüs" terimini tercih etmektedirler.

Rekürren nevüs, klinik muayenede skar içinde pigmentasyon bulunmasıyla tanınabilir. Morfolojik görünüm, tek tip simetrik ten rengi maküllerden, asimetrik hiper ve hipopigmente maküllere kadar değişebilir, bu da melanom endişesini uyandırır. Rekürren nevüs hem klinik hem de histolojik olarak melanomu andırabilir. Histopatolojik özellik, sklerotik kollajen demetlere gömülü paralel fibroblastlar, dikey olarak yönlendirilmiş kan damarları ve rete krest paterninin zayıflaması ile üstte yatan epidermis ile karakterize edilen dermal skardır. Klasik tanım: junctional epidermal

komponent, skar komponenti ve altta yatan benign dermal komponentten oluşan trizonal bir lezyondur²⁹. Junctional komponent, dermoepidermal junction boyunca yer alan tek melanositlerden yuvaların baskınlığına, melanomaya benzeyen pleomorfik hücrelerin (psödomelanom olarak adlandırılır) ara sıra pagetoid yayılmasına kadar değişebilir^{30,28}. Ayrıca skar dokusunun yüzeysel kısmında birkaç atipik hücre olabilir. Sitolojik atipi genellikle hafiftir, ancak bazen orta şiddetlidir. Mitotik figürler bazen görülebilir.

2.3.1.9. Derin Penetran Nevüs

Derin penetran nevüs (DPN), pigmentli iğsi ve/veya epiteloid melanositlerden oluşan kazanılmış melanositik neoplazmdır. DPN'ler yaygın olarak baş ve boyun, üst gövde ve proksimal ekstremitelerde görülür³¹. Nadir vakalardır. Her yaşta ortaya çıkar ve kadınlarda sıktır. Lezyonlar sıklıkla simetrik, iyi sınırlı, koyu kahverengi, mavimsi-kahverengi veya mavimsi-siyah papüller şeklinde, bazen de renk çeşitliliği ile kendini gösterir. Tipik olarak çapı < 5 mm'dir (aralık: 2-10 mm)^{32,33,31}.

Yaygın hücresel yüzeysel dermal komponent, sıklıkla lezyon yüzeyinin yakınında bulunan ve çoğu durumda orta ila derin retiküler dermise ve bazı durumlarda subkutise uzanan genişlemiş, pigmentli melanositlerin belirgin fasiküllerine ve genellikle nörovasküler ve adneksiyal yapılarla ilişkilidir ve bombeli konturlara sahip olabilirler. Genellikle epitelioid hücreler, iğsi hücreler ve melanofajların karışımı vardır. Psödonükleer inklüzyonlar yaygın olup, mitoz yoktur veya nadir görülebilir (örn. 1-2 mitoz/mm²). Atipik DPN'ler (melanositomlar), büyük boyut, asimetri, anormal yapı (örneğin, melanositlerin tabaka benzeri düzenlemeleri), artmış mitotik oranlar ve şiddetli sitolojik atipi gibi atipik özelliklere sahiptir³³.

2.3.1.10. Pigmente Epiteloid Melanositom

Pigmente epiteloid melanositom (PEM), bölgesel lenf düğümleriyle sınırlı metastatik potansiyele sahip, yoğun pigmentli epitelioid ve dendritik hücrelerden oluşan melanositik bir neoplazmdır. PEM genellikle çocuklarda ve genç erişkinlerde görülür, ancak her yaşta ortaya çıkabilir. En sık lokalizasyon ekstremiteler, baş- boyun ve gövdeyi içerir. Bu lezyonlar yavaş büyüyen pigmentli nodül veya papül olarak ortaya çıkar.

PEM, komşuluğunda bir kazanılmış nevus ile birlikte kombine nevüsün bir komponenti olabilir⁵³. Genellikle koyu pigmentli, ağırlıklı olarak dermal bir tümördür. PEM, melanofajlarla karışmış değişen oranlarda pigmentli dendritik ve epiteloid melanositlerden oluşur. Dendritik hücreler uzun sitoplazmik projeksiyonlara sahiptir. Mavi nevüsün aksine, dendritik hücrelerin çekirdekleri belirgin veziküle nükleusludurlar. Tanısal epiteloid hücreler yuvarlak, poligonal veya uzundur ve boyutları orta ila büyük arasında değişir. Mitotik aktivite düşüktür. Büyük PEM'ler ülserasyon veya tümör nekrozu ile ilişkilendirilebilir.

2.3.1.11. Kombine Nevüs

Kombine nevüs, aynı lezyonda iki (veya daha fazla) melanositik nevüs komponentini içerir. Herhangi bir nevüs varyantının herhangi bir kombinasyonu olabilir, ancak en sık olan kombinasyonlar: mavi nevüs, derin penetran nevüs (DPN) veya Spitz nevus komponent kombinasyonlarıdır. Kombine nevüs her yaşta gelişebilir, ancak tipik olarak genç yaşta bulunur ve ortalama yaş 30' dur³⁴. Bazı kombine nevüsler, tümör mikroçevresi veya kromatin modifikasyonu veya hücre farklılaşması ile ilgili genlerdeki değişiklikler tarafından tetiklenebilen ayrı hücre farklılaşması ile gelişebilir. Bazı kombine nevüsler, genomik aberasyonu sıralı kazanımıyla gelişir; Örneğin, kombine BAP1 ile inaktive kazanılmış nevüslerde tüm melanositler genellikle BRAF p.V600E mutasyonlarını barındırır, ancak yalnızca epiteloid melanositler, epiteloid komponentin ortak nevüs komponentinden ilerlemeyi temsil ettiğini gösteren bir BAP1 ekspresyonu kaybı gösterir³⁵. Kombine nevüsler genellikle baş ve boyun bölgesinde yerleşir (vakaların yaklaşık %25'ini oluşturur), ancak herhangi bir anatomik bölgede ortaya çıkabilirler.

Genel olarak, kombine nevüsler iyi sınırlı, çapı <6 mm olan asimmetrik papüler lezyonlardır. Mavi nevüs veya DPN komponenti ile kombine nevüs genellikle kahverengi, kırmızımsı veya ten rengi lezyonlar içinde küçük mavi veya mavimsi-siyah noktalar sergiler. Hastalar uzun süredir devam eden nevüsteki renk değişiklikleri veya büyüme artışı gibi ani bir değişiklik bildirirler ve bu durum melanom açısından endişe yaratabilir^{36,34}. DPN'li banal nevüs, soluk vakuollü sitoplazmalı ve genellikle büyük, düzensiz çekirdekli büyük, oval veya poligonal, hafif pigmentli hücreler ile karakterizedir. Bu hücreler genellikle ortak nevüs bileşeni ve serpiştirilmiş melanofajlar

içinde bulunur. Spitz nevüslü banal nevüs, atipik çekirdekli büyük içsi veya epitelooid melanositler içerir. Spitzoid komponent, tipik olarak, ortak nevüs hücreleri arasında dağılmak yerine sınırlı bir alan içinde yer alır.

2.3.2. Spitz Tümörler

2.3.2.1. Spitz Nevüs

Spitzoid melanositik neoplazmlar, belirgin yapıya sahip büyük epitelooid ve/veya içsi hücrelerden oluşur³⁷. "Spitz nevüs" terimi, atipik özellikleri olmayan ve neoplastik ilerleme riski çok düşük olan lezyonlar için tanımlanmıştır. AST, bir veya daha fazla atipik özelliğin varlığı ve sıklıkla belirsiz malign potansiyeli ile prototip Spitz nevüsten ayırt edilir.

Lezyonlar her yaşta ortaya çıkabilir, ancak daha çok gençlerde görülür. Konjenital Spitz nevüsleri son derece nadirdir³⁸. Spitz nevüsün etiyolojisi ve patogenezi bilinmemektedir. Spitz nevüs herhangi bir anatomik bölgede ortaya çıkabilir, ancak en sık alt ekstremitelerde görülür. Genellikle Spitz nevüs <6 mm çapındadır³⁹. Tipik olarak ten rengi, pembe veya kırmızımsı maküler, plak benzeri veya kubbe şeklinde, simetrik ve iyi sınırlı ve genellikle pürüzsüz bir yüzeye sahip lezyonlar olarak bulunurlar.

Spitz nevüsün birçok varyantı tanımlanmıştır; en yaygın olanları pigmentli, desmoplastik ve halo Spitz nevi⁴⁰ içerir. Genellikle, kama şeklinde konfigürasyonda epidermisten retiküler dermise uzanan büyük epitelooid hücrelerin, içsi hücrelerin veya her iki komponenti de içerir^{41,40,39}. Birbirine çok yakın melanositlerin junktional yuvaları genellikle çevredeki epidermisten ayrılma gösterir. Perivasküler lenfoid infiltratlar mevcut olabilir. Buna aksine, AST'ler genellikle daha büyüktür (çoğunlukla >5-10 mm çapında) dermise ve deri altına derine uzanabilir. Genellikle asimetrikler ve iyi sınırlı değildirler.

2.3.2.2. Pigmente İçsi Hücreli Nevüs (Reed Nevüs)

Reed nevüs olarak da adlandırılan pigmentli içsi hücreli nevüs (PSCN), Spitz nevüsün^{42,43} farklı bir çeşididir. Atipik pigmente içsi hücre tümörü (APSCT), bir veya daha fazla atipik özelliği olan bir PSCN'dir⁴⁴. Pleksiform içsi hücreli nevüsü (PLEXSCN), retiküler dermisteki fasiküler-pleksiform yapısı ile tanımlanır^{44,45,47}. Bu üç

lezyon, melanomla son derece sık karışması nedeniyle büyük önem taşımaktadır. PSCN, APSCT ve PLEXSCN, Spitz nevüsten daha az yaygındır. PSCN'ler herhangi bir yaşta ortaya çıkabilir, ancak tercihen gençleri etkiler (ortalama 25 yaş, (3-66))^{45,46}. Kadınlar erkeklerden daha sık etkilenir^{45,46}. Bu tümörler genellikle ekstremiteleri tutar.

PSCN'ler genellikle iyi sınırlı, simetrik, düzgün sınırlı papüller veya ortalama çapları yaklaşık 3 mm (aralık: 1.5-10 mm) olan nodüllerdir^{45,46}. Genellikle tek tip koyu kahverengi, mavimsi-siyah veya siyahtırlar. APSCT'ler genellikle daha büyük ve asimetriktir ve düzensiz sınırlar gösterebilirler⁴⁴. PLEXSCN'ler, koyu mavi veya mavimsi-siyah renkli^{44,45,47} olan küçük, iyi tanımlanmış papüllerdir.

PSCN'ler tek tip, ince pigmentli işsi hücrelerin kompakt, dikey olarak yönlenmiş, benzer boyutlu fasikülleri, junctional komponenti oluşturur. Junctional yuvaların etrafında yarık oluşur. Pagetoid melanositoz nispeten sıktır ancak genellikle epiderminin alt kısmı ile sınırlıdır. PSCN'ler papiller dermisi ve deri eklerini içerebilir. Nukleuslar ince kromatin ve göze çarpmayan küçük nükleoller sergiler.

APSCT'ler aşağıdaki özelliklerden herhangi biri ile karakterize edilir: genellikle çap >6 mm; düzensiz sınırlı; asimetrik; epiderminin silinmesi; ülserasyon; epidermal bazal tabaka boyunca periferik olarak uzanan belirgin tek hücreli melanositik hiperplazi; ve artan derecede pagetoid melanositoz, mitotik aktivite ve sitolojik atipi⁴⁴.

PLEXSCN'ler, küçük çaplı (ortalama: 3 mm), keskin sınırlı, simetrik ve retiküler dermiste (nöro-vasküler pleksusa karşılık gelen) fasiküler-pleksiform (şamdan benzeri) bir yapı ile karakterize edilen pigmentli işsi hücreli proliferasyonlardır^{44,45,47}. Düşük dereceli sitolojik atipi ve mitotik aktivite (0-2 mitoz/mm²) mevcut olabilir.

2.3.3. Akral Deride Benign Melanositik Tümörler

2.3.3.1. Akral Nevüs

Akral nevüs avuç içi, ayak tabanı ve tırnaklarda oluşan melanositik bir nevüstdür. Kadınlarda erkeklerden daha fazla görülür. Akral nevüs, yapısal olarak pigmentasyonu yüksek ve deride çok sayıda melanositik nevüs bulunan kişilerde daha sık saptanır^{48,49}.

Akral melanom ile karşılaştırıldığında, akral nevüs nispeten küçük ve sınırlıdır. Nevüs hücreleri, tek hücreler olarak değişken büyüklükte ve yuvalar halinde görülür. Rastgele sitolojik atipi¹⁷ olabilir. Akral nevüs genellikle junctionaldır; compound

olduğunda, dermal nevüs hücreleri artan dermal derinlik ile daha küçük hücrelere olgunlaşma gösterir.

2.3.4. Mavi Nevüsten Gelişen Melanositik Benign Tümörler

2.3.4.1. Mavi Nevüs ve Sellüler Mavi Nevüs

Mavi nevus, dendritik, iğsi ve/veya melanin pigmenti ve stromal skleroz ile bağlantılı oval hücrelerden oluşan dermal melanositik bir tümördür; klinik olarak mavi renkli bir görünüme sahiptir. İki ana alt tipi vardır: dendritik mavi nevüs (DMN) ve hücreli mavi nevüs (CMN). DMN'ler yaygın olarak dorsal distal ekstremiteleri ve yüzde görülürken, CMN'ler en çok kafa derisi, sırt ve kalçalarda görülür.

DMN'ler genellikle iyi sınırlı, hafif kabarık, <1 cm çapında⁵⁰ papüller lezyonlardır. CMN'ler, kadınları daha sık etkiler. Genellikle birkaç milimetreden birkaç santimetreye kadar değişen pigmentli nodüller olarak bulunur. Mavi nevüs genellikle hem DMN hem de CMN alanları içerir. DMN'ler genellikle sklerotik stromal kolajen⁵¹ ile ilişkili olup ağırlıklı olarak dendritik melanositlerden oluşan sınırları olmayan dermal lezyonlardır. Sklerotik stromal kollajen özellikleri belirgin olduğunda, "sklerozan mavi nevüs" terimi kullanılabilir. Melanositler, dendritik süreçler dahil olmak üzere sitoplazmada değişken miktarlarda melanin pigmenti içerir.

CMN'ler, üstte sağlam epidermise sahip, değişken şekilde pigmentli, iyi sınırlı nodüler lezyonlardır. Pigmentin çoğunluğu makrofajlardadır (melanofajlar); melanositler genellikle sadece hafif pigmentlidir. CMN'ler çeşitli paternler gösterebilir, ancak ortak bir özellik lezyonun subkutan yağ dokusuna vertikal olarak yönelmiş olmasıdır⁵². Hipersellülerite, pleomorfizm, nükleer atipi ve hiperkromazi yoktur.

2.3.4.2. Moğol Lekesi

Moğol lekesi, sırtta ve kalçalarda meydana gelen dermal melanositozudur. Moğol lekesi yarık dudak, polidaktili, lizozomal depo hastalığı, doğuştan gelen metabolizmal hastalıklar ve Sjögren-Larsson sendromu^{53,54,55,56} ile ilişkilendirilebilir. Fakomatozis pigmentovasküleris: geniş, anormal, kalıcı Moğol lekelerinin nevüs flammeus^{57,58} gibi vasküler anomalilerle birlikteliğidir. Moğol lekeleri, dermiste rastgele dağılmış,

epidermise paralel olma eğiliminde olan tek pigmentli dendritik melanositlerden oluşur⁵⁹.

2.3.4.3. İto Nevüs ve Ota Nevüs

İlk olarak 1954'te Minor İto tarafından tanımlanan İto nevüsü ve 1939'da Masao Ota tarafından tanımlanan Ota nevüsü, omuzlarda ve kollarda (İto nevüs) ve yüzde (Ota nevüs) görülen dermal melanositozlardır. İto nevüsü, Ota nevüsünden daha yaygındır. Her ikisi de Asya'lılarda görülür. Ota nevüsü kadınlarda daha siktir. Bu nevüsler mavimsi yamalar şeklinde görülürler. Ota nevüsünün^{60,61} üçte ikisinde oküler belirtiler ortaya çıkar. Tek pigmentli dendritik melanositler üst dermiste rastgele dağılmıştır^{65,62,63,64}.

2.3.5. Konjenital Nevüsten Gelişen Benign Melanositik Tümörler

2.3.5.1. Konjenital Melanositik Nevüs

Konjenital melanositik nevüs, doğumda mevcut olan veya yaşamın ilk yılında ortaya çıkan benign melanositik neoplazidir. Konjenital melanositik nevüs vücudun herhangi bir yerinde oluşabilir. Erişkinlerde, konjenital melanositik nevuslar küçük (<1,5 cm), orta (1.5-20 cm ve tipik olarak cerrahi rezeksiyona uygundur) veya dev (> 20 cm veya çıkarılamaz) olarak sınıflandırılır.

Küçük konjenital melanositik nevüsler tipik olarak simetrik, oval veya yuvarlak, kahverengiden siyaha, iyi sınırlı maküller veya dokuda homojen olan ve sıklıkla belirgin terminal kıllara sahip plaklar şeklinde bulunur. Çap olarak daha büyük olmaları ve retiküler dermisi veya subkutisi tutmaları, kollajen demetleri arasında nevüs hücrelerinin yayılması ve dermal uzantılara ve nörovasküler demetlere yakın (veya içinde) nevüs hücreleri ile ortak kazanılmış nevüslerden farklıdır. Dermisteki hücreler, genellikle üst dermisteki yuvalarda düzenlenmiş büyük epitelioid tip A nevüs hücrelerinden küçük lenfosit benzeri B tipi hücrelere, genellikle dalgalı lif demetleri, kıvrımlı, Schwannian farklılaşması belirtileri gösteren iğsi tip C hücrelerine dönüşebilir.

2.3.5.2. Konjenital Melanositik Nevüste Proliferatif Nodüller

Konjenital melanositik nevüsteki proliferatif nodüller, konjenital melanositik nevüsün dermal bileşeni içinde gelişen yeni nevüs olarak kabul edilebilir. Nadir görülen vakalardır. Doğumda mevcut olabilir veya sonraki yaşlarda gelişebilirler. Sonunda küçülür ve gerilerler. Proliferatif nodüller bazen ülserleşir ve arka planda konjenital melanositik nevüs ile güçlü bir tezat oluşturur. Epiteloid, iğsi veya melanoblastlardan oluşur. Çok genç hastalarda (<1 yaş) çarpıcı sitolojik atipi ve yüksek selülarite olabilir. Atipik proliferatif nodüller olarak adlandırılan lezyon alt grubu, dikkat çekici atipiye, keskin sınırlılığa sahiptir, bunlar da çocuklarda görülür.

2.4. Malign Melanositik Tümörler

2.4.1. Tanım ve İnsidans

Malign melanom melanositlerden köken alan en agresif tümörlerden biridir. İnsidansı yaşla birlikte artmakta olup 20- 45 yaş civarında pik yapar. En sık tutulan bölgeler gövde (%43,5), ekstremiteler (%33,9), akral bölgeler (%11,9) ve baş-boyun (%10,7) bölgesidir.

2.4.2. Etiyopatogenezi ve moleküler sınıflandırma

Melanomların çoğu sporadik ve küçük bir kısmı aileseldir. Ailesel ve sporadik vakalarda yapılan moleküler genetik analizler, melanomun patogenezi hakkında önemli veriler elde edilmesini sağlamıştır.

Derinin diğer malign tümörlerinde olduğu gibi, güneş ışınlarının melanom gelişiminde önemli rolü vardır. Yakın geçmişte yapılan ‘ileri dizileme’ çalışmaları, tümör genomlarının binlerce edinsel mutasyon içerdiğini, bunların çoğunun ultraviyole ilişkili DNA hasarının imzasını taşıdığı doğrulanmıştır. Bununla birlikte güneş ışınları tek predispozan faktör değildir, herediter eğilim de rol oynar.

Başka tümörlerde olduğu gibi, melanositlerin transformasyonu, proto-onkogenlerde aktive edici mutasyonlar ve tümör süpresör genlerde fonksiyon kaybına yol açan mutasyonların rol oynadığı çok adımlı bir süreçtir. 9p21’de lokalize CDKN2A geninde germ-line mutasyonlar, nadir familial melanom hastalarının yaklaşık %40 ‘ı gibi bir kısmında bulunur. Melanomların önemli bir kısmında NRAS veya BRAF proto-

onkogeninde sporadik aktive edici mutasyon görülür.⁶⁶ Bu mutasyonlar, ekstrasellüler sinyal regulated protein kinase (ERK) yolağını aktive ederek hücre proliferasyonunu ve yaşam süresini artırır. PTEN geninde fonksiyon kaybı da sık olarak görülür. Özellikle akral ve mukozal lokasyonlarda görülenler olmak üzere bazı melanomlarda bir reseptör tirozin kinaz olan c-KIT aktive edici mutasyonlar görülür. Mutant BRAF ve c-KIT'i seçici olarak inhibe eden bazı ilaçlar, sırasıyla BRAF ve c-KIT mutasyonları içeren metastatik tümörlerde dramatik tedavi yanıtları elde edilmesi sağlanmıştır.⁶⁷

Büyük ölçülü ve yüksek çözünürlüklü genomiklerin ortaya çıkmasına rağmen, melanom teşhisi için histopatolojik değerlendirme altın standart olarak devam etmekte ve klinik özelliklerle birlikte sınıflandırma için de primer araç olma özelliğini sürdürmektedir. Klinikopatolojik sınıflandırma, McGovern⁶⁸ ve Clark⁶⁹ tarafından eşzamanlı olarak önerilmiş ve melanomların epidermiste ve yüzeysel dermiste yama ve plak benzeri lezyonların yayılmasıyla başlayarak tümör progresyon aşamaları boyunca geliştiği kabul edilmiştir. Bu tür lezyonların radyal büyüme fazında (RBF) olduğu kabul edilir. RBF melanomlar, tümör oluşumuyla (VBF- vertikal büyüme fazı) dermiste daha derin invazyon yapmadığı sürece iyi prognoza sahiptir.

Zamanla, melanomlar spesifik prekürsör lezyonlarla ilişkilendirilmiştir^{70,71}. Başlangıçta, RBF ve varyantlarının varlığına göre üç ana melanom kategorisi tanımlanmıştır: nodüler melanom (RBF'siz VBF melanomu)⁶⁸, yüzeysel yayılan melanom (aynı zamanda pagetoid melanom olarak da adlandırılır) ve lentigo maligna melanom. Bu kategoriler arasındaki ayrımlar daha sonra epidemiyolojik ve genomik gözlemlerle desteklenerek melanom gelişiminde alternatif yollar kavramına yol açmıştır^{72,73,74,75}.

Tanımlanan iki ana yoldan biri (güneş hasarına duyarlı derili popülasyonlardaki melanomların çoğunu açıklar), düşük kümülatif güneş hasarı (KGH) ile ilişkilidir. Bu güneş hasarının derecesi biyopsideki solar elastoz derecesi ile değerlendirilir. Bu yoldan gelişen melanomlar yüzeysel yayılan melanom ve nodüler melanomun bir grubunu kapsar.

İkinci ana yol ise yüksek KGH ile ilişkilidir. Bu yoldan gelişen melanomlar ise lentigo malign melanom ve nodüler melanomun diğer alt grubudur.

Diğer melanomlar (akral deri, mukoza) güneş hasarının olmadığı çeşitli yollardan gelişir (Tablo 2).

Genomik patogenez ile ilgili önemli gözlemleri melanomda yaygın olarak mutasyona uğramış onkojen olarak BRAF'ın keşfi izledi ⁷⁶. BRAFp.V600 mutasyonları (özellikle p.V600E mutasyonları), düşük derecede KGH (düşük KGH melanomları) olan deride gelişen melanomlarda en sık bulunan onkojenik değişiklik iken NF1, NRAS, diğer BRAF (non-p.V600E), ve belki de KIT mutasyonları (hepsi birbirini dışlayan) yüksek derecede KGH (yüksek KGH melanomları) olan derideki melanomlarda baskındır ^{77,78,79}. TERT promoteri, genellikle melanom evriminin erken bir aşamasında mutasyona uğrar ⁸⁰. Diğer onkojenler, özellikle güneş görmeyen deride meydana gelen melanomlarda daha nadir saptanır. CDKN2A (p16 kodlayan) gibi tümör baskılayıcı genler de melanom patogenezinde rol oynar ⁸⁰. Malign olmayan melanositik tümörler hem tamamen benign nevüsleri hem de benign tümörler ve melanomlar arasında intermedyer lezyonları içerir. Bu kategoriye dahil edilen benign lezyonlar neoplazmalardır. Çünkü bunlar, mutasyona uğramış onkojenlere sahip hücrelerin klonal proliferasyonlarıdır; birçok olguda potansiyel prekürsörlerdir aynı zamanda ilişkili melanomların taklitçileridir. Bu durum doğru ayırıcı tanı yapılmasını gerektirir.

Tablo 2. Melanomların yollarına göre sınıflandırılması

Güneş maruziyeti olan deride görülen melanomlar	Yolak 1: Düşük KGH melanomları / yüzeysel yayılan melanom
	Yolak 2: Yüksek KGH melanomu / lentigno maligna melanom
	Yolak 3: Desmoplastik melanom
Güneşten korunan bölgelerde ortaya çıkan veya UV radyasyonuna maruz kalma ile bilinen etiyolojik ilişkileri olmayan melanomlar.	Yolak 4: Malign Spitz tümör (Spitz melanoma)
	Yolak 5: Akral melanom
	Yolak 6: Mukozal melanom
	Yolak 7: Konjenital nevüsten gelişen melanom
	Yolak 8: Mavi nevüsten gelişen melanom
	Yolak 9: Uveal melanom

2.4.3. Melanositik Tümörlerin Genetik Yapısı

Diğer kanserler gibi, melanomlar da büyümeyi teşvik eden sinyal yollarını yapısal olarak aktive eden ve tümör baskılayıcı mekanizmaları ortadan kaldıran mutasyonların birikmesiyle ortaya çıkar. Bu genetik değişikliklere neden olan mutasyon mekanizmaları, melanomun tipine bağlı olarak önemli ölçüde değişmektedir. Kümülatif güneş hasarı (KGH) ile deride ortaya çıkan melanomlar, ultraviyolenin (UV) neden olduğu mutasyonların bir özelliği olan diprimidin bölgelerinde çoğunlukla sitozin ile timidin (C> T) geçişleri olmak üzere yüksek sayıda nokta mutasyonu barındırır. Deride yüksek KGH melanomları en yüksek mutasyon yükünü taşır ve genom başına yaklaşık 100.000 somatik mutasyonla (30 mutasyon/Mb ONA'ya eşdeğer) genel olarak en yüksek oranda mutasyona uğramış kanserler arasında yer alır. Düşük KGH melanomları yaklaşık 15 mutasyon/Mb'ye sahiptir. Tüysüz deri, tırnak aparatı veya mukoza membranlarında ortaya çıkan melanomlar, tipik olarak UV radyasyonu olmaksızın düşük mutasyon yüklerine sahiptirler. Bu melanomlar, yüksek seviyeli amplifikasyonlar dahil olmak üzere bol miktarda kopya sayısı değişiklikleri ile karakterize edilir⁹⁷.

Kutanöz melanomlarda, genetik değişiklikler KIT düzeyinde yukarı akış reseptörünün mutasyonları tarafından aktive edilen MAPK yolunu, reseptörlerin hemen aşağı akışında hareket eden RAS ailesi üyelerini, RAS'ın negatif düzenleyicilerini (örneğin NF1, RASA2 ve SPRED1) ve akış aşağısında hareket eden RAS efektörlerini (örneğin BRAF, MEK ve siklinD1) içerirler. Bu proteinleri kodlayan genlerdeki değişiklikler, tedavi edilmemiş melanomlarda birbirini karşılıklı olarak dışlama eğilimindedirler. Ancak hedefe yönelik tedaviden sonra melanomlarda birlikte ortaya çıkabilir ve tedaviye dirençte katkıda bulunabilirler. G1/S kontrol noktası aynı zamanda hücre döngüsü girişini kısıtlama yeteneğini geçersiz kılan ortak bir mutasyon hedefidir. CDKN2A'nın (p16'yı kodlayan) delesyon veya mutasyon yoluyla inaktivasyonu kutanöz melanomlarda çok yaygındır; melanom ilerlemesindeki alternatif olaylar arasında CDK4'ün (p16'nın hedef kinazını kodlayan) amplifikasyonu veya mutasyonu ve RB1 kaybı yer alır. Bu değişiklikler uveal melanomda nadirdir. CDKN2A ve CDK4 mutasyonları, yüksek penetrasyonlu melanomaya yatkınlık oluşturan germline değişiklikleri şeklinde de görülür⁸¹.

Melanomlarda tekrardan mutasyona uğrayan diğer sinyal yolları, SWI/SNF kromatin yeniden modelleme kompleksi^{82,83,84} (AR/02, AR/01A ve EZH2 gibi genleri

etkileyen) ile ilgili olanlar gibi kromatin modifikasyonlarında yer alan yolakları ve uveal melanomda sık görülen histon değiştirici BAP1'in etkisizleştirilmesini ierir⁸⁵.

Kutanöz melanomlarda en yaygın mutasyonlar TERT promotöründe⁹² bulunur; bunlar, telomeraz ekspresyonunun artmasına neden olarak, hücrelerin replikatif ömrünü uzatarak hücre ölümsüzleşmesine neden olur ve kritik telomer kısalmasına yanıt olarak replikatif yaşlanmadan kaçınmalarına izin verir. TERT promotörünün germline mutasyonlarını ve telomer bakımında yer alan proteinlerini kodlayan diğer genler (örneğin, POT1, ACD ve TERF2/P) daha uzun telomerlerle sonuçlanır⁸¹. Düşük KGH melanomlarında, BRAF p.V600E mutasyonları, MAPK yolunu aktive eden mutasyonların büyük çoğunluğunu oluşturur. Bunun aksine, yüksek KGH melanomları nadiren BRAF p.V600E mutasyonlarını barındırır, ancak diğer BRAF mutasyonlarına veya NF1'de fonksiyon kaybı mutasyonlarına, NRAS veya bazen KIT'nin aktive edici mutasyonlarına sahiptir.

Tamamen evrimleşmiş melanomlarda bulunan çoklu patojenik mutasyonlar, tipik bir sırayla ortaya çıkar. Benign nevüs tipik olarak tek bir MAPK mutasyonu barındırır, örneğin BRAF p.V600E mutasyonu (kazanılmış nevüslerde)⁸⁶; NRAS mutasyonu (doğuştan ve bazı kazanılmış nevüslerde)⁹³; HRAS mutasyonu⁹⁴; ALK, BRAF, ROS1, NTRK1, NTRK3, MET veya RET'in kinaz füzyonu^{87,88,89,90} (Spitz nevüsde); GNAQ veya GNA 11 mutasyonu (mavi nevüsde). Bu nedenle, mutasyonlar, en azından bazı vakalarda⁹¹ nevüs başlangıcı için yeterli gibi görünmektedir, ancak onları oluşturan hücrelerin çoğalması, "yaşlılık" terimi altında adlandırılan çeşitli mekanizmalar tarafından sınırlandırılmıştır. Bu kısmen dönüştürölmüş melanositlerin klonal genişlemesi, bunlardan birinin, nevüslerde sınırsız çoğalmayı sınırlayan bir veya daha fazla mekanizmayı geçersiz yapan ek bir patojenik mutasyon kazanma olasılığını artırır. Böyle bir mutasyon da daha sonra yeni mutasyonu kazanan hücrenin daha fazla klonal genişlemesine yol açar ve ek mutasyon riskini çoğaltır. Bu süreç, ortak kazanılmış nevüslerde (BRAF p.V600E mutasyonlarını barındıran) ortaya çıkan atipik spitzoid proliferasyonlarında örneklenmiştir; burada kazanılmış nevüsün BRAF mutant hücrelerinden birinde BAP1'in bialelik kaybı, ikinci bir nevüsün klonunun oluşumuyla sonuçlanır.

Nevüs hücrelerinin UV ışınlanması, sonuçta melanomaya yol açan sekonder ve daha sonraki mutasyonları üreten majör gütür⁹¹.

Melanositik neoplazmlar, sadece benign veya malign olabileceği anlamına gelmemektedir. Biyolojik olarak ilerleme aşamasının var olduğunu, benign ancak atipik/displastik olan komponent ve yüzeysel dermal lezyonların yanı sıra melanom in situ olduğunu göstermektedir. Bu kategoriye ayrıca BAP1 ile inaktive edilmiş nevüs, derin penetran nevüs ve papülonodüler tümörojenik dermal proliferasyonlar oluşturan pigmente epiteloid melanositoma gibi lezyonlar dahildir; bu lezyonlar için, çalışma grubu konsensüs toplantısı genel olarak "melanositomalar" terimini önermektedir. Anlamı belirsiz yüzeysel atipik melanositik proliferasyon (SAMPUS) ve belirsiz malign potansiyele sahip melanositik tümör (MELTUMP), histopatolojik korelasyonları ve lezyonların nüks ve ilerleme riskini belirlemek için ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

Tablo 3 Epidemiyolojik, klinik, patolojik ve genomik özellikler temelinde melanomların ve prekürsör lezyonların sınıflandırılması.

Yolaklar	I				II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Yolağın sonucu	Düşük-KGH melanomlar/SSM				Yüksek-KGH melanomları/LNM	Dezmoplastik mealnom	Malign Spitz tümörler/Spitz melanom	Akrall Melanom	Mukozal Melanom	KN zemininde melanom	BN zemininde melanom	Üveal Melanom
Benign neoplaziler	Nevüs				? IMP	? IMP	Spitz nevüs	? Akrall nevüs	? Melanozis	Konjenital nevüs	Blue Nevüs	? Nevüs
Intermediate /düşük-grade displaziler ve melanozomlar	düşük gradeli displazi	BIN	DPN		? IAMP/ Displazi	? IAMP/ Displazi	Atipik spitz tümörler (Melanositom)	IAMP/ Displazi	Atipik melanozis displazi/ IAMPUS	KN zemininde nodül (melanom)	(Atipik) CBN (melanositom)	?
Intermediate /yüksek-grade displaziler ve melanozomlar	Yüksek-KGH melanomlar/ MIS	BAP1-inaktive melanositom MELTUM P	Derin penetre melanositom MELTUM P	PEM/ MELTUM P	Lentigno maligna (MIS)	MIS	STUMP/MELTUMP	Akrall MIS	Mukozal MIS	KN zemininde MIS	Atipik CBN	?
Malign neoplaziler	Düşük-KGH melanomlar/ SSM (VGP)	BIN zemininde melanom (nadir)	DPN zemininde melanom (nadir)	PEM zemininde melanom (nadir)	LNM (VGP)	Dezmoplastik mealnom	Malign Spitz tümörler/Spitz melanom (tümörojenik)	Akrall Melanom (VGP)	Mukozal Lnetijinöz melanom (VGP)	KN zemininde melanom (tümörojenik)	BN zemininde melanom (tümörojenik)	Üveal Melanom
Yaygın mutasyonlar	BRAP p.V600E yada NRAS TERT, CDKN2A TPN3, PTEN	BRAF yada + BAP1	BRAF, MAP2K1 yada NRAS + CTNNB1 yada APC	BRAF+PR KAR1A yada PRKCA	NRAS, BRAF, (non-p.V600E); KIT or NF1 TERT , CDKN2A; TP53, PTEN;RAC1	NF1 ;ERBB2; MAP2K1; MAB3K; BRAF; EGFR; MET TERT;NFKBIE; NRAS; PIK3A;PTPN11	HRAS; ALK,ROS1,RET,NTRK1,N TRK3,BRAF or MET CDKN2A	KIT, NRAS, BRAF, HRAS, KRAS; NTRK3, ALK, or NF1 CDKN2A TERT CCND1	KIT,NRAS,KRAS, or BRAF NF1 CDKN2A SF3B1 CCND1,CDK4 MDM2	NRAS, BRAF, p.V600E (küçük lezyon) or BRAF	GNAQ, GNA11 or CYSLTR2 BAP1, EIF1AX,S F3B1	GNAQ, GNA11, CYSLTR2 or PLCB4 BAP1, EIF1AX,S F3B1

2.4.4. Melanomun Klinik Özellikleri

Melanomun erken tanı ve tedavisi için şüpheli lezyonların değerlendirilmesinde *National Institutes of Health* (NIH) tarafından ABCDE kriterleri önerilmektedir.

Bu kriterler şöyledir:

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

2.4.5. Primer Kutanöz Melanom Tanı Kriterleri

Melanomların histopatolojik tanısal özellikleri şöyledir:

- Asimetri
- Düzensiz sınırlar
- Melanositlerin epidermal yuvaları:
 - Birleşme eğilimi ve devamlılık göstermesi
 - Yuvaların farklı boyut ve şekillerde olması
 - Yuva aralıklarının düzensiz ve rastgele olması
- Pagetoid yayılım
- Dermal yuvalarda şekil ve boyut farklılıkları
- Dermal yuvaların birleşme-devamlılık göstermeleri
- Derin dermiste maturasyon kaybı
- Derinde >2 mitoz olması
- Hücrelerde neklear pleomorfizm, nükleol belirginliği

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

2.4.6.1. Prognostik Faktörler

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

Histopatolojik prognostik parametreler ise şunlardır:

Tümör kalınlığı (Breslow)

Ülserasyon

Mitoz oranı

Lenfovasküler invazyon

Tümör infiltre eden lenfositler

Melanom subtipi

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

Primer Tümör (T)

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

Bölgesel Lenf Nodülü (N)

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

Metastaz (M)

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

Tablo 4 Anatmik Evre

Klinik Evreleme				Patolojik Evreleme			
Evre 0	Tis	N0	M0	0	Tis	N0	M0
Evre IA	T1a	N0	M0	IA	T1a	N0	M0
Evre IB	T1b T2a			IB	T1b T2a		
Evre IIA	T2b T3a	N0	M0	IIA	T2b T3a	N0	M0
Evre IIB	T3b T4a			IIB	T3b T4a		
Evre IIC	T4b			IIC	T4b		
Evre III	Herhangi T	≥N1	M0	IIIA IIIB IIIC IIID	T1-2a T1-2a T0 T1-2a T1-2a T2b-3a T0 T0 T1a-3a T3b-4a T4b T4b	N1a N2a N1b-c N1b-c N2b N1a-2b N2b-c N3b-c N2c-3c Herhangi N N1a-2c N3a-c	M0 M0
Evre IV	Herhangi T	Herhangi N	M1	IV	Herhangi T	Herhangi N	M1

2.5. Kutanöz Melanom Sınıflandırılması

2.5.1. Güneş Maruziyeti Olan Deride Görülen Melanomlar

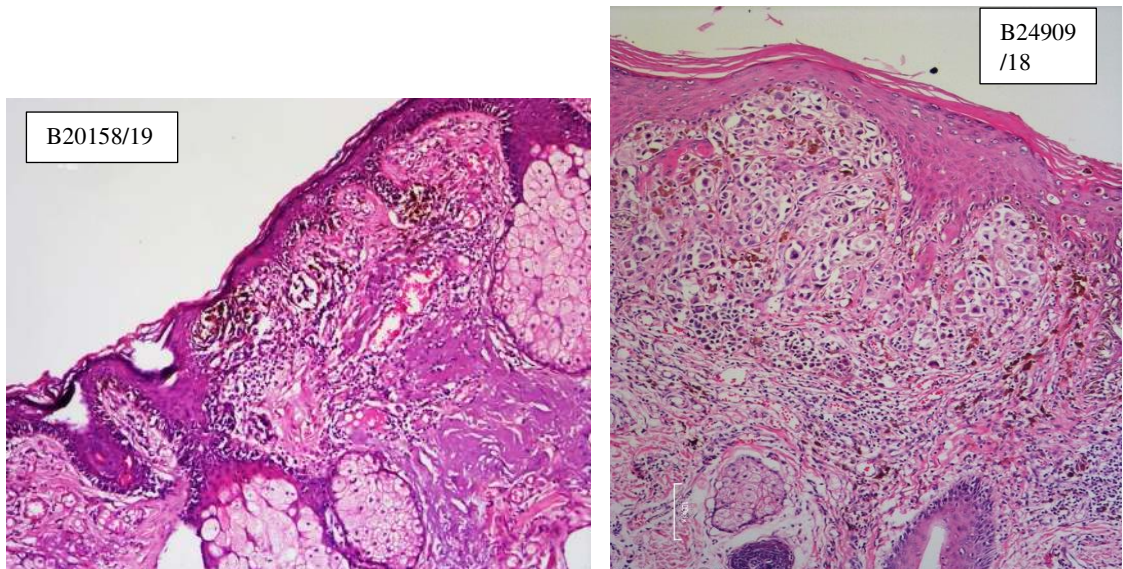
Epidemiyolojik olarak bu melanomlar güneşe duyarlı bireylerde güneş maruziyeti ile ilişkilidir. Klinik ve histiyolojik olarak da değişken derecelerde KGH ile ilişkili görülür.

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

Pagetoid melanoma olarak da bilinen bu RBF lezyonları, epidemiyolojik olarak etkilenen deride düşük ila orta derecede KGH ile nisbeten genç bir yaş grubunda aralıklı güneşe maruz kalma ile ilişkilendirilir. Nevüs ve displastik nevüsler bu lezyonların prekürsör öncüleri ve risk faktörleridir. Bronzlaşma yataklarının kullanımı da önemli risk faktörüdür ve genç yaşta ve erkeklerde daha sık görülür ve birden çok yüzeysel yayılan melanomlar ortaya çıkmasıyla ilişkilendirilir. Bu lezyonlar RBF modelleriyle tanımlanır; VBF mevcut olabilir veya olmayabilir. Genomik olarak BRAF p.V600 mutasyonları baskındır. Nodüler melanomların bir alt kümesi de bu kategoriye dahildir (muhtemelen RBF kısa ömürlü ve hızla büyüyen nodül tarafından ele geçirilmiştir).

Yüzeyel yayılan melanom (YYM), hafif veya belirgin olarak kabarık ve düzensiz görünümünde olup kahverengi, siyah, pembe, mavi, gri ve ten renklerinde olabilirler.

Histopatolojik olarak belirgin pigmentasyona sahip büyük neoplastik hücrelerin yuvalar şeklinde proliferasyonu ve pagetoid yayılımı vardır. Mitoz sıklıkla görülmez. Melanositler tek ve adalar şeklinde dağılmış olabilir. Epidermis düzensiz olup, kalınlaşmış veya incelmıştır. Dermiste düzenli lenfositik infiltrat vardır.



Resim 1: Yüzeyel Yayılan Malign Melanom (HE, x100)

2.5.1.2. Yüksek KGH melanomu

Risk faktörleri yaşlı bireyler, kronik güneş maruziyeti; çiller/lentiginöz ve Fitz Patrick cilt tipi I/II'dir.

2.5.1.2.1. Lentigo Maligna Melanom

Bazal epidermiste çoğunlukla atipik melanositlerin proliferasyonu ile lentigo maligna melanom (bazen LMM in situ olarak da adlandırılır) olarak adlandırılan lentiginöz in situ komponenti ile karakterize edilen bir yüksek KGH melanom türüdür. Yüzeysel yayılan melanomla karşılaştırıldığında, bu melanom formu biraz daha yaşlı bir popülasyonda izlenir ve genellikle kronik olarak güneşe maruz kalan, baş ve boyun bölgelerinde, erkeklerde daha sık görülür.

RBF yoluyla ortaya çıkan LMM yama veya plak şeklinde asimetric, sınır düzensizliği, renk çeşitliliği, çap genişlemesi izlenir. Klasik lezyonlarda pigmentasyon farklılık gösterebilir. Bazen de lezyonlar tamamen amelanotiktir ve inflamatuvar durumu simüle eden eritemli bir yama olarak bulunur. YYM ile karşılaştırıldığında, LMM epidermal incelme ve rete sırtlarının kaybı ile daha belirsiz sınır ve epidermiste daha az derecede atipik melanositlerin paget ilişkili proliferasyonu yerine bazal (lentiginöz) ile karakterize edilir. Melanositik lezyon; şiddetli akitinik hasar, epidermal atrofi, ve solar elastoizisle birliktedir.

2.5.1.2.2. Desmoplastik melanom

Bu nadir tümör, lentigno maligna tipi (KGH ile ilişkili) RBF'de veya daha az yaygın olarak başka bir lentiginöz tipte, ya da akral veya mukozal melanomda (KGH ile ilişkili olmayan) ortaya çıkabilen bir VBF varyantıdır. De novo da ortaya çıkabilir. KGH ile ilişkili lezyonlarda, çok güçlü UV radyasyon izi ile yüksek mutasyon yükü vardır; inaktive edici NF1 mutasyonları yaygındır⁹⁵ ve ekzom dizileme, tekrarlayan NFKBIE prometer mutasyonları ve MAPK (ERK) yolağında önemli ölçüde çeşitli aktive edici mutasyonları tanımlanmıştır⁸¹. Daha az yaygın olan KGH dışı desmoplastik melanomların bu özellikleri içermesi beklenmez.

Desmoplastik melanomlar, sıklıkla baş-boyun bölgesinde görülmektedir. Histopatolojik olarak, melanom hücreleri genellikle uzamış, amelanotik ve belirgin fibrotik stromaya sahiptirler. Bu nedenle melanom hücrelerini fibroblastlardan ayırt

etmek zordur. Sıklıkla retiküler dermisin tam katı boyunca, yağ dokuya uzanır ve tümörde veya periferinde lenfosit kümeleri ve seyrek plazma hücreleri görülür.

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

Bu melanomlar, KGH olan veya olmayan deride meydana gelebilir; güneşe maruz kalmayla tutarlı bir ilişkisi yoktur, bu da patogeneziyle nispeten az (veya hiç) ilgili görünmektedir.

2.5.2.1. Malign Spitz Tümör (Spitz Melanoma)

Malign Spitz tümörlerin benign Spitz nevüsleri ile ilişkisi belirsizdir ve bu simülanlardan tanısal olarak ayırt edilmesi genellikle zordur. Histolojik olarak lezyonlar büyük içsi ve / veya epiteloid melanositlerden oluşur⁴². Bu tümörler, diğer melanomların çoğundan daha genç yaş grubunda ortaya çıkar ve ölümcül davranış açısından benzer şekilde evrenmiş geleneksel melanomlara göre genellikle daha az agresiftirler. KGH genellikle yoktur veya minimumdur. HRAS mutasyonları ve ROS1, NTRK1, NTRK3, ALK, BRAF, MET ve RET'teki kinaz füzyonları ve ayrıca Spitz melanomun nadir, oldukça agresif veya öldürücü varyantlarındaki TERT promoter mutasyonları dahil olmak üzere genetik değişiklikler de belirgindir⁹⁶. Bazı varyantlar diğerlerinden daha az kararlıdır. Örneğin, HRAS mutasyonu ve kopya sayısı kazanımları benign Spitz nevüslerinde oldukça yaygındır, ancak Spitz melanomlarında çok sıra dışıdır; tersine, BRAF füzyonu hem Spitz nevüslerde hem de (daha az sıklıkla, ancak bazen) Spitz melanomlarda görülür^{95,97,89,90}. Atipik Spitz tümörlerinde homozigot 9p21 delesyonu, klinik olarak agresif davranış ve hastalığa bağlı ölüm ile ilişkili olabilir⁹⁸.

2.5.2.2. Akral Melanom

Risk faktörleri arasında güneşe maruz kalma ile belirgin bir etiyolojik ilişki yoktur^{99,100}. Diğer öncüllerle ilişkisi belirsizdir; benign akral nevüsler tipik olarak öncülerden ziyade simultanlardır. Akral melanomlar histolojik olarak RBF'de, genellikle lentiginöz proliferasyonla karakterize edilirken, VBF içsi hücrelerden oluşabilir ve desmoplastik olabilir. Dermo-epidermal bileşkede çoğunluğu tek tek

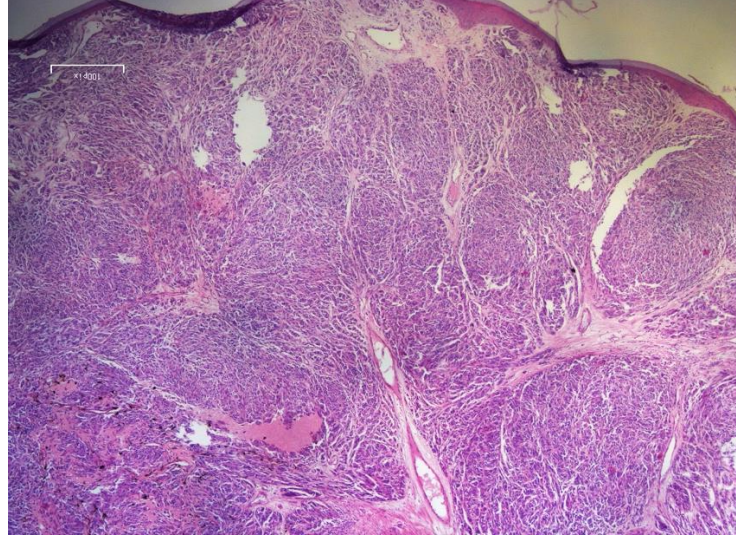
yerleşmiş olan tümöral hücrelerden oluşmaktadır. Düzensiz akantoz, dermiste bazofilik elastoizis bulunmaması ve belirgin dendritik karakterdeki tümör hücreleri dikkat çekicidir. Akral lentiginöz malign melanomlarda tanı sırasında evre genellikle yüksektir ve çoğunlukla mikrosatellit lezyonlar mevcuttur.

2.5.2.3. Konjenital Nevüste Ortaya Çıkan Melanom

Konjenital nevüsler için risk faktörleri büyük ölçüde bilinmemektedir, ancak güneşe maruz kalma ile belirgin bir etiyolojik ilişki yoktur. KGH tipik olarak yoktur. Konjenital nevüslerde meydana gelen proliferasyonlar benzerdir ve prekürsör olabilir. NRAS mutasyonu, çocukluk döneminde ^{101,102}, dev konjenital nevüslerde ¹⁰³ ve bunlardan ortaya çıkan melanomlarda predominant somatik olaydır. TERT promoter hipermetilasyonunu ve promoter mutasyonlarını aktive etmek de yaygındır ¹²⁸. Küçük ve orta boyutta konjenital nevüslerin genetik profili farklıdır ve BRAF mutasyonları taşıyan vakaların daha yüksek bir oranı vardır ^{101,103}. Küçük ve orta boyutta konjenital nevüslerden gelişen melanomlarda daha yaşlı bir yaş profili ve güneşe maruz kalmanın önemli bir rolü vardır.

2.5.2.4. Mavi Nevüste Ortaya Çıkan Melanom

Mavi nevüsler ve bunlardan ortaya çıkan melanomlar için risk faktörleri büyük ölçüde bilinmemektedir, ancak güneşe maruz kalma ile belirgin bir etiyolojik ilişki yoktur. KGH tipik olarak yoktur, varsa tesadüfi bir bulgu olarak kabul edilebilir. Mavi nevüs ve sellüler mavi nevüs, simultan ve potansiyel prekürsörlerdir. Genetik değişiklikleri, uveal melanomda görülenlerle kapsamlı bir şekilde örtüşmektedir ¹⁰⁴. Başlıca GNAQ ve GNAT1 genlerini etkileyen Gag sinyal yolundaki başlatıcı mutasyonlar, hem mavi nevüslerde hem de bunlarla ilişkili melanomlarda ortaktır.



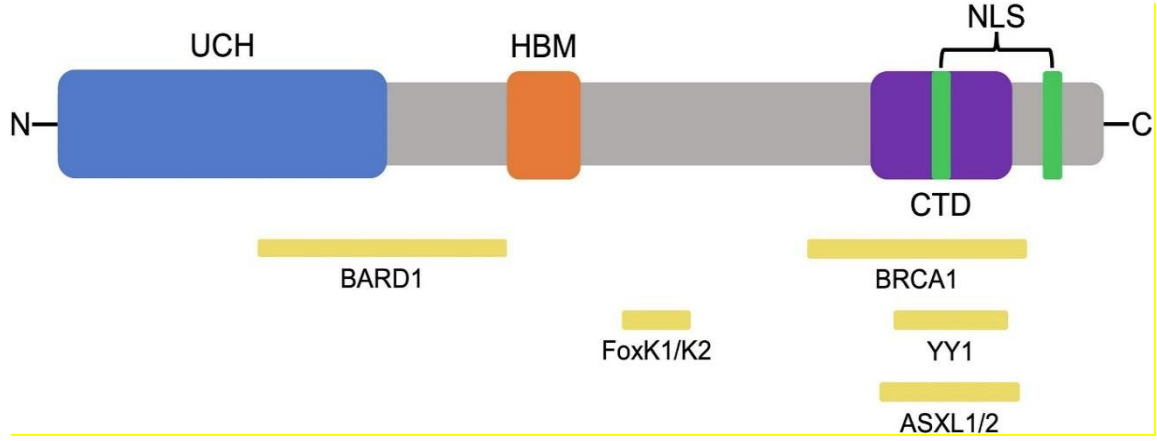
Resim 2. Nodüler Melanom (HE, x100)

2.6. BRCA1-İlişkili Protein 1 (BAP1) ve Kanser

BRCA1-ilişkili protein 1 (BAP1); 3p21.1 loküsünde yer alan BAP1 geni tarafından kodlanan, ubiquitini protein substratlarından uzaklaştıran bir ubiquitin karboksi terminal hidrolaz enzimi olarak 1998’ de tanımlanmıştır¹⁰⁵. Gen içerisinde 729 aminoasit kodlayan 17 exon yer alır ve bu da 90 kDA’ lık BAP1 proteinini oluşturur¹⁰⁶.

BAP1 proteininin primer katalitik domaini ubiquitin karboksi terminal hidrolaz (UCH) domainidir ve N-terminal bölgesinde yer alır (Şekil 5¹⁰⁶). Her ne kadar protein ubiquinizasyonu ilk tanımlandığında proteozom degradasyonu için proteinleri hedeflediği bilinse de, o zamandan bu güne dek kompleks multifonksiyonel hücre sinyalizasyon sisteminde görev aldığı gösterilmiştir (Şekil 5¹⁰⁶). Yani, BAP1 proteini, deubiquinitaz aktivitesi ile DNA hasar onarımı, hücre siklus kontrolü, kromatin modifikasyonu, programlanmış hücre ölümü ve immün yanıt gibi çeşitli hücre süreçlerinin düzenlenmesinde görev alır (Şekil 6).

BAP1 üzerindeki diğer domainler; HCF1 (host cell factor1), BRCA1, ASXL1/2, FoxK1/K2, ve YY1 için protein bağlanma yerleridir (Şekil 5¹⁰⁶). Son olarak, C-terminal uçta, Bap1 iki nükleer lokalizasyon sinyalleri (NLS) içerir ki; bu da primer fonksiyonları için nokta atışıdır.



Şekil 5 BRCA1-İlişkili Protein 1'in (BAP1) fonksiyonel alanları.

BAP1, 729 amino asitli bir proteindir. Ubiquitin karboksi hidrolaz (UCH) alanı (1-250); *BARD1* bağlayıcı bölge (182-365); *HCF1* bağlama (HBM) alanı (365-385); *FoxK1/K2* bağlama bölgesi (477-526); *BRC BRCA1* bağlanma bölgesi (596-721); C-terminal bağlanma alanı (CTD) ve *ASXL1/2* bağlanma alanı (635-693); Nükleer lokalizasyon sinyalleri (NLS) (656-661 ve 717-722); Yin Yang 1 (YY1) bağlama alanı (642-686).

2.6.1. BAP1 ve Kromatin modifikasyonundaki rolü

BAP1'in temel biyolojik rollerinden biri, kromatinin epigenetik modifikasyonunda yer almasıdır. 2010 yılında Scheuermann ve ark'ları ilk olarak *Drosophila*'da, bir BAP1 homologu olan Polycomb grubu (PCG) proteini Calypso'nun ek seks taraklarına (sex combs) (ASX, memelilerde ASXL1 / 2/3 homologu) bağlandığını ve Polycomb baskılayıcı deubiquitinaze (PR -DUB) kompleksini oluşturduğunu keşfetti¹⁰⁷. PR -DUB kompleksi, lizin 119 tortusunda (H2AK119ub1) monoubikitini H2A'dan çıkararak kromatini modüle etmek için BAP1'in katalitik aktivitesini kullanır¹⁰⁷. Memeli hücrelerinde korunan PR-DUB'un bu işlevinin, başka bir PcG proteini olan Polycomb baskılayıcı kompleks 1'in (PRC1) işlevine doğrudan karşı olduğu gösterilmiştir. PRC1, histon H2AK119'un monoubikinatı kolaylaştıran, kromatin modifikasyonuna ve gen sessizleştirilmesine yol açan bir E3-ligazıdır¹⁰⁸. Bu nedenle PR-DUB, H2A'dan monoubikuitini çıkararak, böylece kromatin mimarisini değiştirerek ve PRC1 aracılı gen sessizleştirilmesini önleyerek PRC1'e karşı antagonistik bir rol oynar¹⁰⁸. Polycomb grup proteinleri, embriyonik gelişim, kendini yenileme, pluripotens ve farklılaşma ile ilgili genleri hedef aldığı bilinen iyi bir transkripsiyonel düzenleyici ailesidir¹⁰⁹. Bu nedenle, BAP1 ve histon H2A'nın PR-DUB deubiquitinasyonundaki rolü, kromatin modifikasyonunu ve PcG hedef genlerinin transkripsiyonunu doğrudan düzenler. Daha geniş olarak, histon H2AK119 ubikinasyonunun, birçok süreçte yer alan genlerin transkripsiyonun başlatılmasını,

uzamasını ve sessizleştirilmesini etkileyen yüksek düzeyde düzenlenmiş bir modifikasyon olduğu bilinmektedir¹¹⁰. BAP1 aracılı deubikuitniasyon, H2A ubikuitniasyonun hassas dengesinin korunmasında, kromatin yapısının düzenlenmesinde ve birçoğu kanser yollarında rol oynayabilecek genlerin ekspresyonunu etkilemede yaygın bir rol oynar.

Şekil 6 BAP1'in işlevsel rollerinin özeti.

2.6.2. DNA hasar yanıtı ve BRCA1 ile ilişkisi

bilinmektedir¹¹⁰. BAP1'in, DNA hasar onarımının HR yolunu düzenleyen bir E3 ubikuitin ligazı olan BRCA1/BARD1 kompleksini bağladığı gösterilmiştir¹¹². BAP1, BARD1 üzerindeki RING parmak alanına bağlanarak ve onun E3 ligaz işlevini inhibe ederek BRCA1/BARD1 kompleksinin işlevini modüle eder. Aynı zamanda BRCA1/BARD1 ubikuitinasyon bölgelerinin deubikitinasyonunu sağlayarak antagonistik bir rol oynar¹¹². Daha da önemlisi, shRNA tarafından BAP1 inhibisyonu, hücrelerin iyonlaştırıcı radyasyona karşı aşırı duyarlılığı ile sonuçlanır, bu da BAP1 ile BRCA1/BARD1 kompleksi arasındaki etkileşimin aslında DNA hasarının onarımına aracılık etmek için gerekli olabileceğini düşündürmektedir¹¹². Diğer çalışmalar, BAP1'in DNA çift sarmal kırıklarının yakınında kromatine alındığını ve homolog rekombinasyon DNA onarımını kolaylaştırmak için bu hasarlı lokuslara HR faktörleri BRCA1 ve RAD51'i almak için gerekli olduğunu göstermiştir^{114,115}. Ayrıca, BRCA1/BARD1 kompleksinin yakın zamanda RAD51 aracılı homolog eşleşmenin tanıtılmasına doğrudan dahil olduğu gösterilmiştir¹¹³. Birlikte ele alındığında, bu kanıt BAP1'in RAD51 aracılı homolog rekombinasyon DNA onarımı sürecinde BRCA1, BARD1 ve RAD51'i koordine etmede kapsamlı bir rol oynadığını, genom stabilitesini koruyan ve kanserde disregülasyona duyarlı olan bir süreç olduğunu göstermektedir.

2.6.3. Hücre döngüsü kontrolü ve hücre çoğalması

BAP1, hücre döngüsü ve proliferasyonunu kontrol eden bir dizi işlemde yer alan bir transkripsiyonel düzenleyici olan Host Cell Factor 1'in (HCF1) bağlanmasında ve deubikuitinasyonunda rol oynar¹¹⁶. HCF1'in transkripsiyonu düzenlemede ve G1/S fazı boyunca hücre döngüsü ilerlemesini desteklemede yer aldığı bilinmektedir. Bunu, E2F ailesinin anahtar hücre döngüsü kontrol transkripsiyon faktörlerinin promotörlerinde kromatin yapısını modifiye etmek için metiltransferazlar, asetiltransferazlar ve deasetilazlar gibi histon modifiye edici enzimleri kullanarak yapar¹¹⁷. Çalışmalar, BAP1'in yıkılmasıyla hücrelerin G1 fazında durdurularak, hücrelerin hücre döngüsünün G1'den S fazına geçişi için BAP1 fonksiyonunun gerekli olduğunu göstermiştir¹¹⁸. Ek olarak, BAP1'in E2F1 transkripsiyon faktörleri tarafından hedeflenen gen promotörlerine bağlandığı ve bu lokalizasyonun HCF1'e bağlı olduğu gösterilmiştir¹¹⁸. Ayrıca, BAP1'in bu bölgelerde H2AK119'u deubikuitine ettiği, böylece transkripsiyonel aktivasyonu ve hücre döngüsünün G1/S fazı boyunca uygun ilerlemeyi teşvik ettiği ileri

sürülmektedir¹¹⁸. Bu kanıt, BAP1'in hücre döngüsünün HCF1 aracılı kontrolünün düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığını gösterir. BAP1'in ayrıca hücre proliferasyonu ile ilgili genlerin ekspresyonunu kontrol eden HCF1 ve YY1 ile üçlü bir kompleks oluşturduğu gösterilmiştir¹¹⁹. BAP1, sarmal-sarmal motifi aracılığıyla YY1'in çinko parmaklarına ve HBM alanı aracılığıyla HCF1'e bağlanır ve bu kompleks, promotörleri hedeflemek için toplanır, böylece mitokondriyal solunum zincirinin bir bileşeni olan COX7C gibi genlerin ekspresyonunu değiştirir. Daha yakın zamanlarda, başka bir çalışma, hücre çoğalmasının ve hücre döngüsü kontrolünün uygun şekilde kontrol edilmesinde rol oynayan bir transkripsiyon faktörü olan BAP1, HCF1 ve FoxK2 arasında farklı bir üçlü kompleks gösterdi¹²⁰. Bu çalışma, FoxK2'nin BAP1'i hedef genlerine alarak deubiquitinasyon ve gen susturmaya yol açtığını gösterdi. Özetle, BAP1'in HCF1 ve hücre döngüsü kontrolü ve proliferasyonunun düzenlenmesi için önemli olan diğer birkaç faktörü içeren bir dizi multiprotein kompleksinde yer aldığı görülmektedir.

2.6.4. BAP1 ve Hücre Ölümü Regülasyonu

Son çalışmalar, programlanmış hücre ölümü süreçlerini koordine etmede BAP1'in ortaya çıkan bir rolünü öne sürdü. 2017'de Bononi ve arkadaşları, tip-3 inositol-1,4,5-trifosfat reseptörünü (IP3R3) modüle etmede ve apoptozu teşvik etmede BAP1'in yeni bir işlevini sunmuştur¹²¹. BAP1'in, tamamen nükleer lokalize olduğuna dair önceki inançların aksine, endoplazmik retikuluma (ER) lokalize olduğunu gösterdiler. Daha sonra BAP1, ER'de IP3R3'ü bağlar ve deubiquitine eder, bu da sitozol ve mitokondriye Kalsiyum salınımına ve apoptotik yolların başlamasına yol açar. DNA hasarı uygulamak için iyonlaştırıcı veya UV radyasyonuna maruz bırakıldığında, azaltılmış BAP1 ekspresyonuna sahip BAP1+/- hücrelerinin, apoptoza karşı dirençli olduğu ve genotoksik stres altında artan hayatta kalma ve hücresel transformasyon gösterdiği bildirildi. 2018'deki bir başka çalışma, BAP1'in nöroblastom hücrelerinde protein 14-3-3 ile etkileşime girerek Bax'ın salınmasına ve Bcl-2 gibi hayatta kalma yanlısı faktörlerin azalmasına neden olarak intrinsik yol aracılığıyla apoptozu teşvik ettiğini gösterdi¹²². BAP1 ayrıca düzenlenmiş hücre ölümünün diğer formlarında da yer alır. Son zamanlarda, Zhang ve ark. BAP1'in, sistin azalmasından ve artan reaktif oksijen türlerinden kaynaklanan metabolik stres tarafından indüklenen, yakın zamanda

tanımlanmış bir düzenlenmiş hücre ölümü formu olan ferroptoz sürecinin düzenlenmesinde yer aldığını göstermiştir¹²³. BAP1'in sistin taşıyıcı SLC7A11'in promotöründe H2Aub'u deubikitinasyona uğrattığını gösterdiler. Bu epigenetik modifikasyon, SLC7A11 ekspresyonunun azalmasına, sistin alımının azalmasına, lipid peroksit birikiminin artmasına ve ferroptoz indüksiyonuna yol açar. Ayrıca, BAP1 kanser ilişkili mutantlar, SLC7A11'in azaltılmış baskısı ve ferroptozu teşvik edemediğini gösterir; bu da, BAP1 tümör baskılanmasına kısmen ferroptoz indüksiyonunun aracılık ettiğini gösterir. Toplamda, BAP1'i çok sayıda düzenlenmiş hücre ölümü formuna bağlayan bu son çalışmalar, BAP1'in kanserle ilişkili yollara dahil olduğuna dair ek mekanik kanıtlar sunar.

2.6.5. BAP1 Değişiklikleri ve İmmün Cevap

BAP1 üzerine gelişmekte olan bir araştırma, bir dizi immünolojik fenotip ile ilişkisine odaklandı ve BAP1'in bağışıklık cevabını düzenlemede bir rol oynayabileceğini düşündürdü. 2019, Shrestha ve ark'ları malign peritoneal mezotelyomalı 19 hastadan alınan genomik, transkriptomik ve proteomik verileri analiz etti ve BAP1 eksikliği olan tümörlerin, inflamatuvar bir tümör mikroçevresi, immün kontrol noktası aktivasyonu ve farklı kromatin yeniden şekillenmesi, DNA onarımı paternleri ile karakterize edilen benzersiz bir moleküler alt tip oluşturduğunu gösterdi¹²⁴. Ek olarak, BAP1 ile inaktive edilmiş plevral mezotelyoma tümörleri, aktive edilmiş dendritik hücrelerde önemli artışların yanı sıra hafifçe artmış PD-L1 (CD274) ekspresyonu gösterir, bu da BAP1 değişikliklerinin mezotelyomada immünojenik fenotipi desteklediğini düşündürür¹²⁵.

Uveal melanomda Gezin ve ark. (2017), BAP1 ekspresyon kaybının, önemli ölçüde artan CD3+ T-hücreleri ve CD8+ T-hücrelerinin infiltrasyonu ve ayrıca immün hücre çağıran kemokinlerin ekspresyonunun artması ile ilişkili olduğunu bulmuştur¹²⁶. Ancak, Figueiredo ve ark. yakın zamanda, tümör infiltre edici lenfositlerdeki bu artışlara rağmen, uveal melanomda BAP1 ekspresyonunun kaybının, immünosupresif bir mikroçevre ile ilişkili olduğuna dair kanıtlar bildirilmiştir¹²⁷. Azalmış BAP1 ekspresyonunun, anti-tümör immüniteyi azaltmak için immün hücreleri değiştirebilen bir dizi immün düzenleyici gen ağının upregülasyonu ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Bu nedenle, uveal melanomda lenfositlerin ve diğer immün hücrelerin

infiltrasyonuna rağmen, BAP1 kaybı potansiyel olarak sitotoksik etkileri azaltır ve tümörün immün kaçışını artırır.

Özetle, bu çalışmalar, BAP1 kaybının kanserde farklı immünolojik fenotiplerle ilişkili olduğuna dair ortaya çıkan kanıtlar sunmaktadır. BAP1'in immün regülasyondaki özel rolü belirtilmemiş olsa da, bu tümör fenotipleri, aşağıda daha ayrıntılı olarak tartışılan, ortaya çıkan kanser immünoterapileri bağlamında önemli olabilir.

2.6.6. BAP1 İlişkili Tümörler

Kanserde de rol oynayan birçok hücresel yolaklarda BAP1'in yaygın fonksiyonel rolü olması çeşitli tümörlerde de BAP1 gen değişikliğini ortaya koymuştur. Kanserlerde en sık ortaya çıkan mutasyonlar 3p21.1 BAP1 gen loküsünde kromozomal delesyon gibi inaktive edici mutasyonlar veya BAP1 geninin varyantları ile oluşan fonksiyon kaybı mutasyonlarıdır.

BAP1 değişimi hem germline hem de somatik mutasyonlar formunda oluşabilir. En sık görüldüğü kanserler uveal melanom, malign mezotelyoma, kutanöz melanom, renal hücreli karsinom, ve diğer bazı tümörlerdir.

2.6.6.1. BAP1 Germline Mutasyonu İlişkili Kanserler

BAP1 geninin germline mutasyonları, otozomal dominant bir paternle kalıtılır ve son zamanlarda üç bağımsız araştırma grubu tarafından, herediter kanser riskini artıran yeni bir tümör yatkınlık sendromu (BAP1-TPDS) oluşturduğu rapor edilmiştir^{128,129,36}. BAP1-TPDS'nin en sık ilişkili olduğu kanserler uveal melanom, malign mezotelyoma, kutanöz melanom ve renal hücreli karsinomdur¹³⁰. Genel olarak, BAP1-TPDS'li hastaların kabaca %85'i ortalama yaş olarak 50 olduğunda bir malignite gelişmesi beklenmektedir¹³¹. Bu kanserlere ek olarak, BAP1-TPDS yaygın olarak, BAP1-TPDS hastalarında erken yaşta görülen, son zamanlarda BAP1-inaktive melanositik tümör (BIMT) olarak adlandırılan benign deri lezyonu ile ilişkilidir. Bu benign tümör, nükleer BAP1 ekspresyonunun kaybıyla birlikte ortaya çıkan özgün histomorfolojiye sahiptir. BAP1-TPDS'nin en son kapsamlı çalışmaları, germline BAP1 mutasyonları olan 87 aileden toplam 215 hastayı içermektedir (Tablo 7)^{130,132}.

BAP1-TPDS'li hastaların %28'inde gözlenen baskın kanser türlerinden en sık bildirileni uveal melanomdur. Ortalama başlangıç yaşı 59'dur¹³⁰ ve tümörler genellikle daha agresiftir, daha yüksek metastaz oranına sahiptir ve genel sağkalım daha düşüktür¹³⁰. Malign mezotelyoma, tümörlerin %22'sini oluşturan BAP1-TPDS ile tanımlanan en yaygın ikinci kanserdir. Ortanca başlangıç yaşı 46'dır, bu da sporadik malign mezotelyomadan (74 yıl) önemli ölçüde daha erkendir¹³⁰. İlginç bir şekilde, BAP1-TPDS'li malign mezotelyoma için sağkalım oranının sporadik malign mezotelyomalı hastalara kıyasla 7 kat daha uzun olduğu bildirilmiştir¹³³. BAP1-TPDS tümörlerinin %18'inde kutanöz melanom bildirilmiştir. Ortalama başlangıç yaşı 43'tür¹³⁰. Renal hücreli karsinom, BAP1-TPDS'deki tümörlerin %9'unu oluşturur ve sporadik tümörlerden daha erken yaşta görülür¹³⁰ ve daha agresiftir, önemli ölçüde azalmış genel sağkalım (31.2 ay) gösterir^{130,132}. Son olarak, tanı için gerekli bir kriter olarak kabul edilen tüm vücut deri muayenesi yapıldığını bildiren 53 BAP1-TPDS hastasının %75'inde benign BAP1-inaktive melanositik tümörler (BIMTS) bildirilmiştir¹³⁰. Bu BIMTS, BAP1-TPDS hastalarında, ilişkili malignitelerden (50 yıl) önemli ölçüde daha erken yaşta (31 yaş) teşhis edilir¹³⁰. BAP1 germline mutasyonları ile en sık bildirilen bu tümörlere ek olarak, aileler içinde bazal hücreli karsinom, kolanjiokarsinom, meningioma gibi diğer BAP1 germline mutasyonlarla ilişkili tümörleri de tanımlayan devam eden çalışmalar vardır^{131,134}.

Tablo 5 BAP1 germline değişiklikleri ile ilişkili yaygın tümörler (BAP1-tümör yatkınlık sendromu (BAP1-TPDS))¹³⁰.

Tümör Tipi	Germline <i>BAP1</i> Değişiklikleri Olan Hastalar (Toplam, N = 215)		Medyan Başlangıç Yaşı (yıl)	
	Belirli sınıftaki tümörlerin sayısı, N	Spesifik sınıf tümörü olan hastaların yüzdesi	Germline <i>BAP1</i> Mutasyonlu Tümörler	Sporadik Tümörler
Uvea melanomu	60	%28	59	62
Malign mezotelyoma	48	%22	46	74
Deri melanomu	38	%18	43	61
Renal hücreli karsinom	20	%9	51	64
Bazal hücreli karsinom	14	%7	41	75
BAP1 ile inaktif edilmiş melanositik tümör (BIMT) *	40	%75	31	24

*BAP1-TPDS'li toplam 215 hastanın 53'üne BIMT tanısı için gerekli tüm vücut deri muayenesi yapılmış; bunlardan 40'ı (%75) bir veya daha fazla BIMT için pozitif tanı almıştır.

2.6.6.2. BAP1 Somatik Mutasyonu İlişkili Kanserler

Somatik BAP1 mutasyonları, germline mutasyonlu hastalarda görülenlere benzer tümör tiplerinde görülür. Son raporlar, primer uveal melanomun yaklaşık %30-40'ında somatik BAP1 mutasyonlarını tanımlamaktadır^{134,135}. Daha da önemlisi, metastatik uveal melanomlarının %84'ünde somatik BAP1 kaybı bulunur, bu da BAP1'in hastalığın ilerlemesinde önemli bir rolü olduğunu düşündürür⁸⁶. Bap1 somatik mutasyonu olan uveal melanomlar hem germline BAP1 mutasyonu hem de mutasyon-negatif üveal melanom ile karşılaştırdığında daha yüksek genel metastatik risk ve çok daha yakın zamanlı metastaz riski ile ilişkilidir¹³⁵. BAP1 değişikliklerinin malign mezotelyomada en yaygın somatik mutasyon olduğu gösterilmiştir ve tümörlerin %50'sinde görülürler^{136,137}. Germline BAP1 mutasyonlarındaki duruma benzer şekilde, somatik BAP1 mutasyonlu malign mezotelyoma hastaları ilginç bir şekilde BAP1 wild-tip hastalardan anlamlı olarak daha uzun sağkalım göstermektedir¹³⁸. Bu yaygın prognostik bulgu, malign mezotelyomada BAP1 değişikliklerinin özel bir koruyucu rolü olduğunu düşündürebilir. 'The Cancer Genome Atlas' genomik veritabanında toplam 445 renal hücreli karsinom vakasının 39'unda (%9) somatik BAP1 mutasyonları bulundu¹³⁹. Bu tümörler, BAP1 wild-tip renal hücreli karsinom ile karşılaştırıldığında daha kötü genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım ile ilişkilendirildi. Son olarak, somatik BAP1 mutasyonlarının kutanöz melanomun %5'inde mevcut olduğu tahmin edilmektedir³⁶. Değişken somatik BAP1 mutasyonları insidansı gösteren diğer kanserler, prostat (%0-6), over (%5), kolon (%2-3), meme (%0-1) ve akciğer (%0.4) tümörleridir¹⁴⁰. Özetle, somatik BAP1 mutasyonları ile ilişkili tümör tipleri, germline BAP1 mutasyonlarına sahip olanlara çok benzer paternler gösterir. Bu, tümörögenезin ortak mekanizmalarını ve bu sıklıkla ilişkili tümörlerde BAP1'i hedef alan tedavi stratejilerinin potansiyelini önerebilir.

2.6.7. BAP1 ve kanser tedavisi

HDAC inhibitörleri: Histon deasetilaz (HDAC) inhibitörlerinin, uveal melanom hücrelerinde BAP1 kaybının aracılık ettiği aşırı H2A ubiquitinasyonuna karşı olduğu, tümör canlılığını ve büyümesini engellediği gösterilmiştir¹⁴¹. Benzer şekilde, BAP1 kaybı olan mezotelyoma hücreleri, HDAC inhibitörlerine karşı artan duyarlılık gösterir¹⁴². İlginç bir şekilde, malign peritoneal mezotelyoma hastalarında bir HDAC

inhibitörü olan vorinostat ile yapılan Faz 3 klinik deneyi, plaseboya kıyasla genel sağkalımda sadece minimal iyileşme gösterdi¹⁴³. Bu bulgular, HDAC inhibitörlerinin gelecekteki klinik çalışmalarının, BAP1 genomik değişiklikleri olan hastaların hedeflenen seçiminden fayda sağlayabileceğini göstermektedir.

EZH2'yi Hedefleme: Bir başka potansiyel terapötik strateji, BAP1 eksikliği olan tümörlerde upregüle edilen ve kötü prognozla ilişkili, güçlendirici olan EZH2'yi (zeste 2 polcomb baskılayıcı kompleks 2'nin güçlendiricisi) hedeflemektir^{144,145}. EZH2 inhibitörleri, bir dizi kanser klinik çalışmasında hedefe yönelik tedavi stratejisi olarak önerilmiştir. EZH2 inhibitörü tazemetostat'ın klinik faz 2 denemesi, özellikle inaktive edici BAP1 değişikliklerini barındıran malign mezotelyoma hastalarında yakın zamanda gerçekleştirilmiştir. Çalışma, 61 hastadan 2'sinin doğrulanmış kısmi yanıtı sahip olduğunu ve çoğunluğunun bir düzeyde hastalık kontrolü sergilediğini bildirmektedir¹⁴⁶. Bu sonuçlar, BAP1 mutasyonlu kanserlerde EZH2 inhibitörlerinin potansiyel hedefli kullanımına yönelik desteği göstermektedir.

DNA Hasar Onarımını Hedefleme: BAP1'in BRCA1 ile ilişkili bir protein olarak rolü ve homolog rekombinasyon DNA hasarı onarımını düzenlemedeki rolü, bu yolun hedeflenmesinin terapötik değere sahip olabileceğini düşündürmektedir¹¹⁵. Platinler ve PARP inhibitörleri gibi terapiler, BRCA ile ilişkili DNA hasarı onarım anormallikleri olan hastalarda daha etkili olabilir.

2.7. 5- hidroksimetilsitozin (5-hmC) ve Melanomdaki Rolü

DNA metilasyonu; hücre farklılaşması, embriyonik gelişim, çevresel adaptasyonda ve gen transkripsiyonu, imprinti, X-kromozom inaktivasyonunun regüle edilmesinde ve ekzojen genetik materyalin invazyonuna karşı defansta önemli rol oynar¹⁴⁷. DNA demetilasyonu, DNA replikasyonu sırasında oluşan metilasyon onarım eksikliği nedeniyle pasif olarak meydana gelebilir. Ek olarak, son çalışmalarda ten-eleven translocation (TET) protein ailesince başlatılan aktif DNA demetilasyonu yolu tanımlanmıştır. TET proteinleri 5- metilsitozini (5mC) üç ardışık oksidasyon reaksiyon ile 5-hidroksimetilsitozin (5-hmC), 5-formilsitozin (5-fC), ve 5-karboksilsitozine (5-caC) dönüştürür (Şekil 7 ¹⁴⁷). 5-fC ve 5-caC ürünleri timin DNAGlikozilaz (TDG) tarafından tanınır. TDG, baz eksizyon onarım yolunu aktive eder, bu yol ile modifiye sitozinin yerini unmodifiye sitozin alır. TDG'deki azalma, fare embriyonik kök

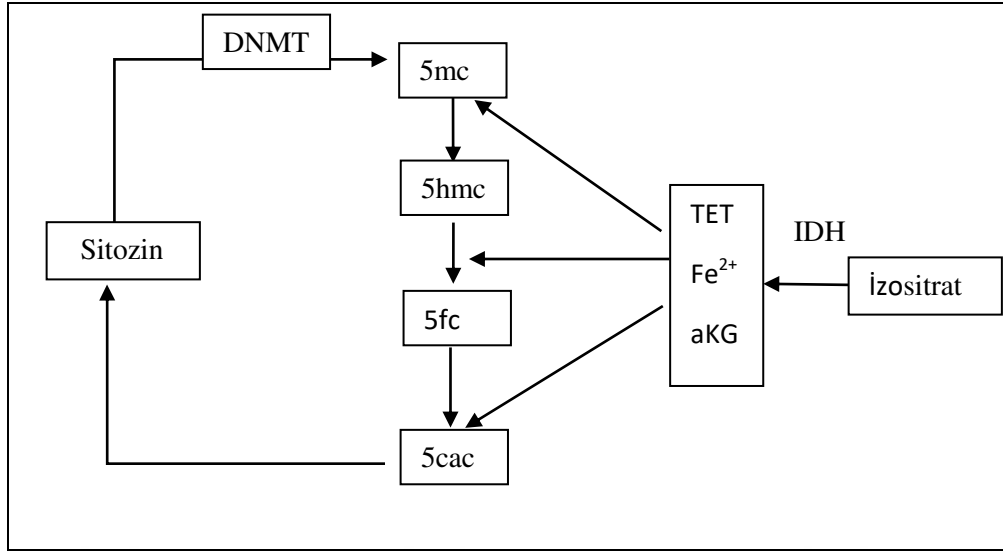
hücrelerde saptanabilir düzeyde 5-caC akümülyasyonuna yol açar. Böylece, DNA metilasyonu 5-mC'nin TET aracılı oksidasyonu ile kaldırılır, bunu 5-caC'nin TDG-aracılı eliminasyonu takip eder¹⁴⁸. Metilasyon ve demetilasyon arasındaki denge çeşitli faktörler ile kontrol edilir. Kanserde bu denge sıklıkla deregüledir, bu da metilasyonda bozulmaya neden olur. Metilasyondaki bu değişiklikler tümör süpressör genlerin baskılanması veya onkogenlerin aktivasyonu ile sonuçlanır. Tersine, bazı kanserlerde hidroksimetilasyon düzeyleri de aynı zamanda değişmiştir^{149,150}.

2.7.1. DNA Hidroksimetilasyonu ve Regülasyonu

5-hmC ilk olarak bakteriyofajların DNA'sında tanımlanmıştır¹⁵¹. Son araştırmalar, TET ailesinin proteinlerinin 5-mC'ye doğru katalitik aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir. Her ne kadar 5-hmC metilasyonda bir ara ürün olsa da çok sayıdaki çalışmalar farklı fonksiyonları olduğunu göstermektedir.

DNA hidroksimetilasyonu çeşitli faktörler ile regüle edilir. 5-hmC ürünlerinin oluşumundan TET1, TET2, TET3'ten oluşan TET protein ailesi sorumludur. TET protein a-ketoglutarat (a-KG) bağımlı süper ailesine ve Fe⁺² bağımlı dioksigenaza aittir. Bu nedenle ko-substrat aKG'a kofaktör olarak Fe⁺² ve askorbatlara ihtiyaçları vardır.

Ko-substrat aKG, izositratın aKG'ye oksidatif dekarboksilasyonunu katalize eden izositrat dehidrojenaz (IDH) ailesinin proteinleri tarafından üretilir (Şekil 7). TET1 ve TET3'ün N-terminal alanları, DNA'nın tanınması ve bağlanmasından sorumlu bir CXXC çinko şelatlama alanı içerir. Son zamanlarda Ko ve ark.¹⁵² CXXC4'ün ve CXXC5 (veya RINF) olarak adlandırılan başka bir CXXC proteininin, 5-hmC seviyelerinde eşzamanlı bir azalma ile TET2 protein seviyelerini doza bağılı bir şekilde aşağı regüle edebileceğini gösterdi. CXXC4'ün metillenmemiş DNA'ya bağlandığını ve TET2'yi işlevini yerine getirdiği genomik DNA'ya topladığını gösterdiler. Aynı zamanda, DNA'ya bağılı CXXC4, TET2'nin kaspaz bağımlı bozunmasını tetikler. 5-hmC seviyeleri ayrıca mikroRNA'lar (miRNA'lar) tarafından düzenlenir. Son çalışmalar, TET proteinlerini ve demetilasyon yolağının^{153,154} diğer bileşenlerini hedefleyen miR-22, miR-26 ve miR-29 dahil olmak üzere birkaç miRNA'yı tanımlamışlardır. Sonuç olarak 5-hmC ürünü çeşitli düzeylerde regüle edilmektedir.



Şekil 7. 5-hidroksimetilsitozinin (5-hmC) tanıtımı ve düzenlenmesi. İzositrat dehidrojenazın (IDH) mutasyonu ve TET2 ve sodyuma bağımlı C vitamini taşıyıcılarının (SVCT'ler) azalması, 5-hmC seviyesindeki bir düşüşle ilişkili olabilir.

2.7.2. DNA Hidroksimetilasyonu ve Melanom İlişkisi

5-hmC düzeyleri insanlarda akciğer, karaciğer, meme, pankreas, kolon, prostat, beyin ve kemik iliği kanserlerinde önemli ölçüde azalmıştır. Melanomda 5-hmC kaybı ilk olarak Jin ve ark'ları tarafından gösterilmiştir¹⁵⁵. Lian ve meslektaşları, immünofloresan ve immünohistokimya kullanarak epidermal bazal hücre katmanındaki melanotik çekirdeklerin 5-hmC boyamasını analiz ettikleri çalışmalarında benign nevüslerde (n=30) kuvvetli pozitif boyama, ancak hem primer (n=15) hem de metastatik melanomlarda (n=10) zayıf boyanma veya tamamen kayıp saptamışlar; ek olarak nevüslerin ve melanomun genomik DNA'sında da benzer bulgular bildirmişlerdir. Ayrıca, 5-hmC boyanmasının, primer melanomda Breslow kalınlığı ve bölünme oranı ile negatif korelasyon gösterdiği ve pozitif 5-hmC boyanması, daha yüksek uzun vadeli sağkalım oranları ile ilişkilendirildiği bildirilmiştir. Böylece 5-hmC kaybı melanomun tanı ve prognozunda kullanılabileceği öne sürülmüştür¹⁵⁶.

5hmC'nin melanoma progresyon ve prognozdeki önemine yönelik yapılan sayılı çalışmalar sonucunda; nevus ile karşılaştırıldığında melanomun tüm evrelerinde, metastatik melanomlarda, akral melanomlarda, mukozal melanomlarda ve sentinel lenf nodüllerinde 5 hmC düzeyinde değişiklikler saptanmıştır. Çoğu melanomda 5hmC düzeyi düşüş göstermektedir. 5hmC düzeyindeki bu değişiklikler TET aktivitesi

5hmC düzeylerindeki değişikliklerim melanomum nedeni veya eşlik eden bulgusu olduğu sorusu henüz net olarak yanıt bulmamıştır. Yanısıra diğer ara ürünlere (5-fC, 5-aC) yönelik çalışmalar da henüz yeterli sayıda mevcut değildir. Sonuç olarak demetilasyon süreci çok daha kompleks ve basamaklı görünmektedir.

Histon modifikasyonları, kromatin yapısı ve gen ekspresyonunda önemli epigenetik mekanizmalardır.

The diagram is divided into three panels: A, B, and C.

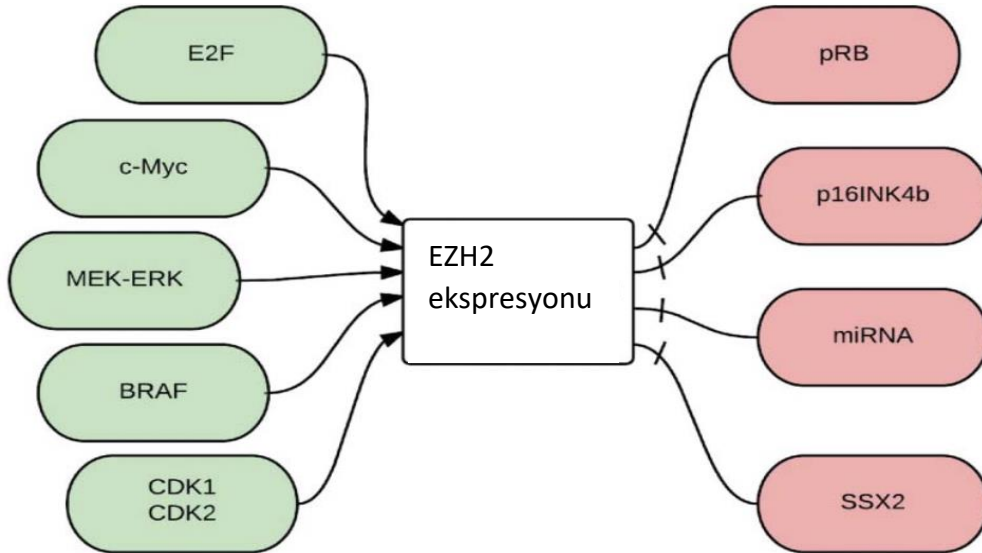
- Panel A:** Shows a nucleosome core particle composed of DNA wrapped around a histone core of H3 and H4. An orange circle labeled "HDAC" is shown with an arrow pointing to the nucleosome, indicating the removal of acetyl groups (Ac). The nucleosome is labeled with "H3K27me3" and "H3K27me3".
- Panel B:** A Venn diagram illustrating the overlap of proteins in the PRC2 complex. The proteins shown are EED (yellow), SUZ12 (purple), EZH2 (green), SET (red), RbAp46/48 (pink), and AEBP2 (blue). The PRC2 complex is indicated by a bracket above the diagram.
- Panel C:** Shows a DNA strand with CpG islands (CpG adaları) marked by blue wavy lines. A red circle labeled "DNMT" (DNA methyltransferase) is shown with arrows pointing to the CpG islands, indicating the addition of methyl groups (Me). The methyl groups are represented by circles labeled "Me".

(A) Histon 3 üzerindeki lizin amino asidi 27 önceden asetillenmişse, histon deasetilaz (HDAC) enzimi asetil grubunu önce bir N-asetil lizin amino asitinden çıkaracaktır; (B) EZH2 (PCR2 kompleksinin 5 alt biriminden biriminden biri), Lizin 27'de Histon 3'e metil grupları ekler. H3K27'nin (H3K273m) üçlü metilasyonu, transkripsiyonun bastırılmasına ve genlerin susturulmasına yol açar; (C) DNA metiltransferazlar (DNMT), CpG adalarındaki CG dinükleotidleri veya CNG trinükleotidleri (N, C, A, G veya T olabilir) içindeki sitozinlere, transkripsiyonel baskılamaya yol açan bir metil grubu ekler. Ac: asetilasyon; M: metilasyon; CG: sitozin-guanin.

H3K27me1 gen aktivasyonu ile ilişkili iken, H3K27me2 ve H3K27me3 gen sessizleştirilmesi ile ilişkilidir. Bu histon metiltransferazın melanom dahil birçok kanserde aşırı ekspresyonu saptanmıştır. Bu şekilde tümör süpressör genlerinin abnormal baskılamasına neden olur. Histon metiltransferazların aberran aktivitelerinin tanımlanması özellikle metiltransferaz komplekslerini hedef alan çeşitli ilaçların keşfi ile ilişkilidir.

EZH2 proteini; gen ekspresyonunun epigenetik regülasyonunda özellikle ilgi odağı olmuştur. EZH2 erken gelişimde esansiyeldir ve normal yetişkin dokularda azalmıştır. Çeşitli çalışmalar ile EZH2'nin embriyonik kök hücrelerdeki differansiasyon genlerini baskıladığı ve böylece pluripotensiyel özelliğini koruduğunu, fakat hücre bölünmesi için gerekli genlerin ekspresyonuna izin verdiğine dikkat çekilmiştir.

EZH2 aktivitesi regülasyonu post-translasyonel modifikasyonlar; microRNA'lar ve transkripsiyon faktörleri gibi çeşitli yollar ile sağlanır (Şekil 9). Melanom biyolojisinde temel olan bazı yolaklarda da EZH2 aktivitesini içermektedir. Bu yolaklar MAPkinaz, AKT ve EZF1'dir. Ayrıca en sık melanom mutasyonu olan BRAF V600E'nin MAP kinaz yolağını aktive etmesinde de EZH2 ekspresyonu artışı saptanmıştır. (Hou et al 2012). Böylece EZH2 ve BRAF inhibitör içeren kombine tedavi ile sinerjik olarak tümör hücre ölümü etkisi olasılığı doğmaktadır.



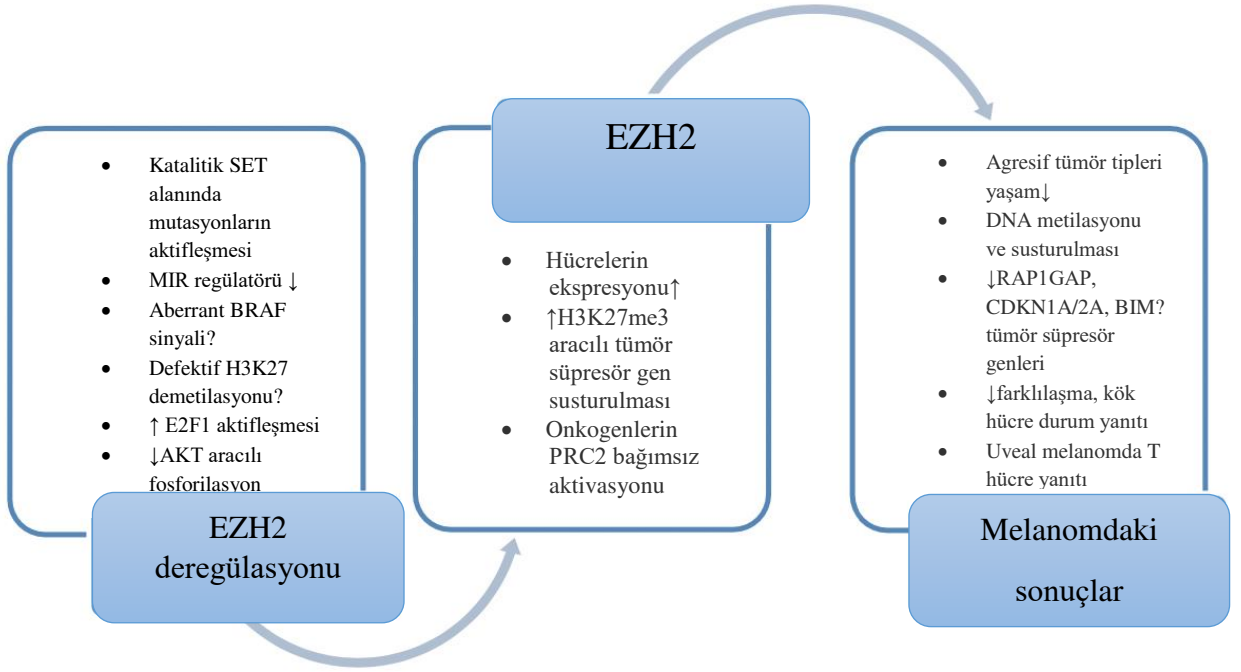
Şekil 9: EZH2 ekspresyonunun regülasyonu

E2F: daha yüksek ökaryotlarda bir transkripsiyon faktörleri ailesini kodlayan bir gen grubudur, cMyc bir transkripsiyon faktörü kodlayan bir düzenleyici gendir, MEK-ERK, Ras- olarak da bilinen bir yoldur. Raf-MEK-ERK yolu, BRAF, B-Raf, Cdk1 ve 2: Sikline bağımlı kinazlar 1 ve 2, pRB: fosforile retinoblastoma geni, p16INK4B olarak adlandırılan bir protein yapan bir insan genidir, p16INK4B bir tümör baskılayıcı gen, miRNA: mikro RNA, SSX2: sinovyal sarkom X geni.

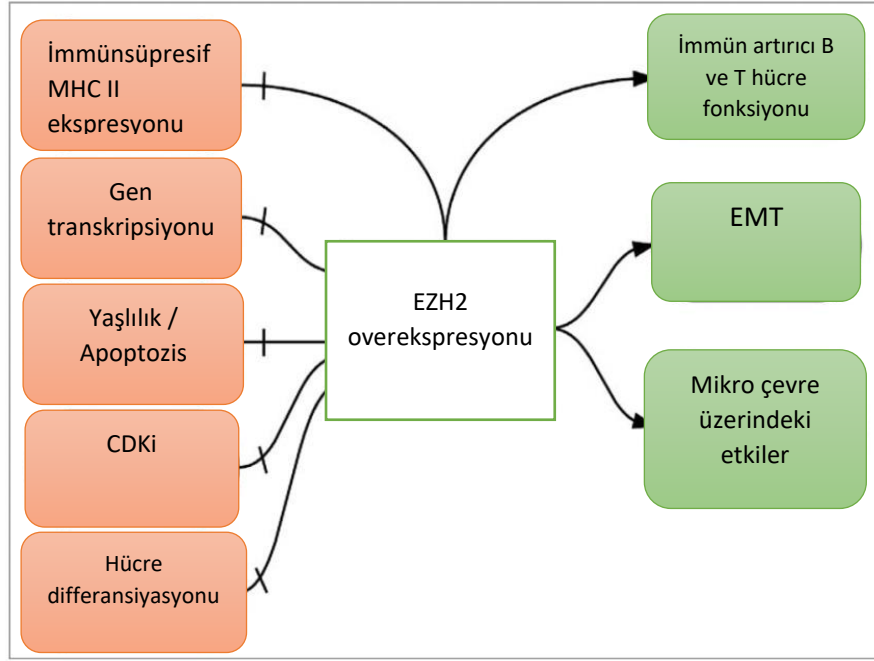
2.8.1. EZH2 Ekspresyonu ve Melanom Progresyonu

Günümüzde EZH2'nin melanom patogenezindeki önemli rolünü gösteren kanıtlar vardır. EZH2 deregülasyonu ile ilgili öngörülen mekanizmalar ve bunların melanomdaki sonuçlarını özetleyen tablo aşağıdadır (Tablo 6):

Tablo 6 Melanomda EZH2 deregülasyon metodlarının özeti.



Polycomb baskılayıcı kompleks 2'nin (PRC2) ana bileşeni olan zeste homolog 2'nin (EZH2) histon metiltransferaz arttırıcısının melanom ilerlemesi ve metastazda rol oynadığına dair artan kanıtlar vardır (Şekil 10).



Şekil 10 Melanomda EZH2 overekspresyonunun biyolojisi.

İmmün sistem: EZH2 aşırı ekspresyonu, hem B hem de T hücrelerinin işlevini artırarak immün sistemi üzerinde olumlu bir etkiye sahiptir, ancak MHC II ekspresyonunu baskılayarak olumsuz bir etkiye sahip olur ve dolayısıyla melanom hücreleri immün sürvelansın kaçmasına yardımcı olur; Gen transkripsiyonu: EZH2, tümör süpresör genleri susturur; Yaşlanma ve apoptoz: EZH2 apoptotik genleri susturur ve melanom hücrelerinin yaşlanmadan kaçmasına yardımcı olur; CdkI: INK4 proteinleri olarak da adlandırılan sikline bağımlı kinaz inhibitörlerinin (CdkI) EZH2 aracılı susturulması, apoptoz ve yaşlanmanın inhibisyonu ve melanom hücre proliferasyonunun uyarılması ile sonuçlanır; Hücre farklılaşması: EZH2, sinir benzeri kök hücrelere farklılaşma sürecini geliştirir; Epitelyal-Mezenkimal Geçiş (EMT) ve Mikroçevre: EZH2, EMT'yi düzenler ve melanositlerde morfolojik değişikliklere (artan hareketlilik, dallanma, agresif büyüme ve hücre göçü) neden olur ve bu da melanom hücreleri ile mikro çevre arasındaki etkileşimleri şekillendirmeye yardımcı olur.

Günümüzde EZH2 inhibitörü olarak çeşitli moleküller üretilmiştir. Bunlara örnek olarak DZNep, EI1, EPZ005678, EPZ-6438, GSK-126, GSK-343, GSK-503 molekülleri, deneysel ve bazıları klinik çalışma fazına geçmiştir. Özellikle lenfomada ve bazı solid tümörlerde (meme, prostat) etkinlikleri gösterilmiş olmakla birlikte melanomda da özellikle Y646EZH2 mutasyonu içerenlerde küçük molekül EZH2 inhibitörleri etkili olabilir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Olgu Seçimi

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivinde, 2010-2020 yılları arasında Malign Melanom tanısı almış toplam 114 olgu ve intradermal nevüs tanısı almış 49 olgu çalışmaya dahil edildi. Tüm vakaların hematoksilen ve eozin (H&E) kesitleri arşivden çıkarılarak, immünohistokimyasal inceleme için uygun bloklar ve kontrol blokları seçildi. Kontrol grupları ve vakalara ait formalinle fikse parafine gömülmüş bloklardan hazırlanan kesitler kullanılarak antikorların çalıştığı uygun dilüsyon oranı belirlendi.

Olguların demografik verilerine ÇÜTF Patoloji Anabilim Dalı'ndaki kayıtları incelenerek ve hastane bilgi sistemi kullanılarak ulaşıldı. Ulaşılan veriler ışığında hastaların tanı anındaki yaşları ve cinsiyetleri not edildi. Olgulara ait histopatolojik tanıları Clark düzeyleri, Breslow derinlikleri, ülserasyon varlığı, lenfositik yanıt durumu, satellit/ transit nodül varlığı, uzak metastaz varlığına ait veriler dökümanite edildi. Olguların hayatta veya ex olma durumları hastane bilgi sisteminden veya telefonla ulaşılarak kaydedildi.

3.2. Etik Kurul

TTU-2020-12821 protokol numaralı projemiz, 14 Şubat 2020 tarihli toplantının 20 no'lu kararı ile belirtilen yazı ile Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylandı.

3.3. Yöntem

Olgulara ait H&E boyalı lamalar ışık mikroskopunda yeniden değerlendirilerek Nodüler Melanom, İnvaziv melanom, Yüzeysel Yayılan melanom, Akral melanom histolojik alt tiplere kategorize edildi. İnvaziv melanomlar prognostik parametreler yönünden yeniden değerlendirilerek Breslow derinliği, Clark düzeyleri, ülserasyon varlığı, tümör çapı, konak cevabı verileri kaydedildi. Çalışmaya dahil edilen benign gruba (n=49) ve melanom grubuna (n=114) immünohistokimyasal olarak BAP1 (C-4, Santa Cruz), EZH2 (RM236, Abcam), 5hmC (IHC570, GenomeMe) antikorları uygulandı (Tablo 7).

Tablo 7 İHK yöntemi ile çalışılan antikorların marka ve dilüsyonları

Primer AB	Klon	Marka	Dilüsyon Miktarı
BAP1	(C-4) 200 µg	SANTA CRUZ	1:50-1:500
5-hmc	antibody [RM236] 50 ug	Abcam	
EZH2	(IHC570) 0.1 ml	GenomeMe	1:50-1:200

İmmünohistokimyasal çalışma için melanom (n=114) ve benign gruba (n=49) ait formalin ile fikse parafine gömülü dokularından 5 mikronluk kesitler pozitif şarjlı lamlara alındı. Kesitler 60 derecelik etüvde bir saat bekledikten sonra 15 dakika ksilol ile deparafinize edildi. Derecesi giderek azalan alkollerden geçirilerek dehidrate edilip distile suda yıkandı. BenchMark XT marka otomatik boyama cihazında BAP1, 5-hmC, EZH2 antikorları üreticinin talimatına uygun prosedürde uygulanarak boyama gerçekleştirildi. Otomatik boyama cihazında boyanan preparatlar sıvı bazlı kapama maddesi ile kapatıldı.

Antikorlara eksternal pozitif kontrol olarak; BAP1 için testis dokusu, 5-hmC için beyin dokusu, EZH2 için tonsil dokusu kullanıldı. Hazırlanan preparatlar Olympus BX46 model ışık mikroskop ile farklı büyütmelerde iki patolog tarafından değerlendirildi.

3.4. İmmünohistokimyasal Değerlendirme

BAP1, 5-hmC ve EZH2 için nükleer boyanma boyanma pozitif kabul edildi.

EZH2 için semikantitatif H-skor değerlendirmesi yapıldı. Bu yöntem ile boyama şiddetine göre +1, +2, +3 olarak ve her boyama şiddetine ait tümör hücre oranı yüzde olarak çarpılarak, toplamı 300'ü geçmeyecek şekilde toplam skor elde edildi. Her belirteç için ortalama küçük endoskopik biyopsi örneklerinin tüm alanları, rezeksiyon örneklerinin ise 10 büyük büyütme alanı değerlendirildi.

5hmC için tümör hücre nükleuslarında yüzde (%) olarak boyanma oranları kaydedildi.

3.5. Verilerin İstatistiksel Analizi

Nicel değişkenler ortalama±standart sapma veya medyan (1. Çeyrek-3. Çeyrek) şeklinde, kategorik değişkenler ise sayı (yüzde) şeklinde özetlenmiştir. Nicel değişkenler için iki grup ortalamalarının karşılaştırması bağımsız gruplarda t testi veya Mann-Whitney U testi ile yapılmıştır. İki grup ortalamasının karşılaştırması ise Kruskal Wallis H testi ile yapılmıştır. Kategorik değişkenler arası ilişkiler ki-kare testi ile nicel değişkenler arası ilişkiler ise Spearman korelasyon katsayıları ile incelenmiştir. Sürekli sayısal ölçümlere ilişkin markerların hasta ve sağlıklı grup ayırma performanslarını incelemek için ROC analiz uygulanmıştır, farklı kesim noktaları için duyarlılık ve seçicilik ölçüleri hesaplanmış, duyarlılık-(1-seçicilik) grafikleri oluşturulmuş, eğri altındaki alan hesaplanmış ve Youden indeksi hesaplanmıştır. İki kategorili ölçüm düzeyindeki markerların hasta sağlıklı grup ayırma performansları ise çapraz tablolara yardımı ile duyarlılık, seçicilik, pozitif kestirim değerleri (PKD) ve negatif kestirim değerleri (NKD) ile değerlendirilmiştir. Son olarak izlem süresi için ölen ve sağ kalan hastalar için sağkalım analizi yapılmıştır. Sağkalım analizinde diğer risk faktörlerinin de dahi edildiği Cox Regresyon çözümlemesi yapılmıştır. İstatistiksel analizler için anlamlılık düzeyi %0.05 olarak kabul edilmiş ve SPSS (25. versiyon) istatistik yazılımı ile yapılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Klinikopatolojik Bulgular

Çalışmaya dahil edilen primer melanom tanısı almış 114 olgunun 68'i (%59,65) erkek, 46'sı (%40,35) kadın olup, yaş ortalaması 60,3 idi. Olguların 1'i (%0,87) Akral lentijenöz tip malign melanom, 12'si (%10,52) yüzeysel yayılan malign melanom, 38'i (%33,33) nodüler malign melanom, 63'ü (%55,26) invaziv melanom tanısı almıştır. Lokalizasyon dağılımı, sıklık sırasına göre 47 (%41,22) alt ekstremité, 38 (%33,33) baş-boyun, 15 (%13,15) gövde, 14 (%12,28) üst ekstremité şeklinde idi. Çalışmaya dahil edilen melanom grubuna ait demografik ve histopatolojik özellikler Ek-1' de verilmiştir.

Anatomik (Clark) düzeylerine göre olgularımızın 5'i (%4,39) Clark Level 1, 17'si (%14,91) Clark Level 2 (papiller dermiste melanom var ancak doldurmuyor ve genişletmiyor), 24'ü (%21,05) Clark Level 3 (melanom papiller dermisi dolduyor ve genişletiyor), 42'si (%36,84) Clark Level 4 (melanom retiküler dermise invaze), 26'sı (%22,81) Clark Level 5 (melanom subkutise invaze) idi.

Breslow (mm) kalınlığı minimum 0,2 mm, maksimum 35,0 mm, ortalama 6,3 mm idi. Tümör çapı en az 1,0 mm, en çok 80,0 mm olarak saptanmış olup ortalama 18,2 mm idi. Konak cevabı 12 (%10,53) olguda görülmedi. 76 (%66,67) olguda 'var-belirgin değil', 26 (%22,81) olguda 'var-belirgin' olarak değerlendirildi. 72 (%63,16) olguda lenf nodu tutulumu olmayıp 42 (%36,84) olguda pozitif idi. 38 olguda (%33,3) uzak organ metastazı saptandı; bunların 17'si (%14,91) akciğer, altısı (%5,3) beyin, beşi (%4,38) karaciğer, üçü (%2,63) inguinal bölge, biri (%0,87) kemik, biri (%0,87) kolon, beşi (%4,38) ise hem akciğer hem de karaciğere idi. Kutanöz metastazlar 17 olguda (%14,91) satellit nodül, dokuz olguda ise (%8,89) transit nodül idi. Ortalama takip süresi 38,1 ay (minimun 1 ay, maksimum 120 ay) olup; olguların 56'sı (%49,1) hayatta, 58'i (%50,9) ex idi (Tablo 8).

Tablo 8 Melanom olgularına ait klinikopatolojik bulguların dağılımı

	n	Yüzde
Cinsiyet		
Kadın	46	40,35
Erkek	68	59,65
Clark's (Level)		
1	5	4,39
2	17	14,91
3	24	21,05
4	42	36,84
5	26	22,81
Ülserasyon		
Yok	50	43,86
Var	64	56,14
Konak Cevabı		
Yok	12	10,53
Var-	76	66,67
Belirgin değil		
Var-Belirgin	26	22,81
LN Tutulumu		
Yok	72	63,16
Var	42	36,84
Satellit		
Yok	97	85,09
Var	17	14,91
Transit		
Yok	105	92,11
Var	9	7,89
Uzak Metastaz		
Yok	76	66,67
Var	38	33,33
Status		
Sağ	56	49,12
Ex	58	50,88

4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular ve İstatiksel Değerlendirilmesi

4.2.1. BAP1 bulguları

Benign gruba ait 49 intradermal nevüs olgularının tamamında (%100) nükleer (+) boyanma saptandı (Resim 3) Malign gruba ait 114 olgudan 63'ünde (%55,26) nükleer (+), 51 olguda ise (%44,74) nükleer boyanma kaybı (negatif) saptandı (Resim 4, 5, 6). Bu sonuçlar benign ve malign gruplar arası ayırmama etkinliği yönünden değerlendirildiğinde; melanom olgularının %44,7'si (duyarlılık), nevüs olgularının %100'ü (seçicilik) doğru olarak ayırımsanabilmektedir. BAP1 kaybı olan 51 olgunun tamamı malign olgulardır (pozitif kestirim değeri (PKD) =100) (Tablo 9).

Tablo 9. BAP1 için tanı performans ölçüleri

		Grup	
		Nevüs	Melanom
Bap1	Negatif (Hasta)	0	51
	Pozitif (Sağlıklı)	49	63
Duyarlık	0,447	PKD	1,000
Seçicilik	1,000	NKD	0,438

BAP1 boyaması ile yaş, cinsiyet, tümör çapı, Clark düzeyi, Breslow derinliği, konak cevabı varlığı, satellit, transit, nodül varlığı, uzak metastaz varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (Tablo 10-16).

Tablo 10. Bap1 ile cinsiyet ilişkisi

		Cinsiyet		Ki-kare	p
		Kadın	Erkek		
Bap1	Negatif	19 (37,3)	32 (62,7)	0,368	0,570
	Pozitif	27 (42,9)	36 (57,1)		

*Kikare Testi

Tablo 11. Bap1 ile Clark's Level ilişkisi

		Clark's Level					Ki-kare	p
		1	2	3	4	5		
Bap1	Negatif	4 (7,8)	11 (21,6)	11 (21,6)	14 (27,5)	11 (21,6)	7,540	0,109
	Pozitif	1 (1,6)	6 (9,5)	13 (20,6)	28 (44,4)	15 (23,8)		

*Kikare Testi

Tablo 12 Bap1 ile konak cevabı ilişkisi

		Konak Cevabı			Ki-kare	P
		Yok	Var-Belirgin değil	Var-Belirgin		
Bap1	Negatif	3 (5,9)	34 (66,7)	14 (27,5)	2,763	0,249
	Pozitif	9 (14,3)	42 (66,7)	12 (19)		

*Kikare Testi

Tablo 13 Bap1 ile satellit nodül ilişkisi

		Satellit		Ki-kare	P
		Yok	Var		
Bap1	Negatif	42 (82,4)	9 (17,6)	,544	0,598
	Pozitif	55 (87,3)	8 (12,7)		

*Kikare Testi

Tablo 14 Bap1 ile transit nodül ilişkisi

		Transit		Ki-kare	P
		Yok	Var		
Bap1	Negatif	45 (88,2)	6 (11,8)	1,901	0,295
	Pozitif	60 (95,2)	3 (4,8)		

*Kikare Testi

Tablo 15 Bap1 ile uzak metastaz ilişkisi

		Uzak Metastaz		Ki-kare	P
		Yok	Var		
Bap1	Negatif	38 (74,5)	13 (25,5)	2,555	0,162
	Pozitif	38 (60,3)	25 (39,7)		

*Kikare Testi

Tablo 16 Bap1 ile nicel ölçümler ilişkisi

	Bap1		t	P
	Negatif (n=51)	Pozitif (n=63)		
Yaş	59,35±15,44	61,08±13,23	-0,643	0,522
Breslow (mm)	5,12±6,08	7,29±6,56	-1,817	0,072
Tümör Çapı (mm)	19,68±18,32	17,05±14,12	0,865	0,389
Süre (ay)	45,2±31,79	32,37±28,03	2,288	0,024
EZH2	6,2±12,32	32,3±32,18	-5,925	<0,001
5-hmc	0,55±0,34	0,7±0,27	-2,594	0,011

*Bağımsız iki örneklem t testi

Yanı sıra; BAP1 boyaması ile ülserasyon, lenf nodülü tutulumu, sağkalım oranı ve sağkalım süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı.

BAP1 belirteci ile ülserasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı. ($p<0,001$). BAP1 kaybı (-) olan olguların %68,6'sında ülserasyon yok iken, BAP1 korunmuş (+) olguların %76,2'sinde ülserasyon varlığı saptandı ($p<0,01$) (Tablo 17).

Tablo 17. Bap1 ile ülserasyon ilişkisi

		Ülserasyon		Ki-kare	p
		Yok	Var		
Bap1	Negatif	35 (68,6)	16 (31,4)	22,992	<0,001
	Pozitif	15 (23,8)	48 (76,2)		

*Kikare Testi

BAP1 belirteci ile LN tutulumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki vardı ($p=0,032$). Ayrıca BAP1 kaybı (-) olan olguların %74,5'inde LN tutulumu yok iken, BAP1 korunmuş (+) olguların %54'ünde LN tutulumu olmadığı gözlemlendi ($p=0,032$).

Tablo 18 Bap1 ile LN tutulumu ilişkisi

		LN Tutulumu		Ki-kare	P
		Yok	Var		
Bap1	Negatif	38 (74,5)	13 (25,5)	5,111	0,032
	Pozitif	34 (54)	29 (46)		

*Kikare Testi

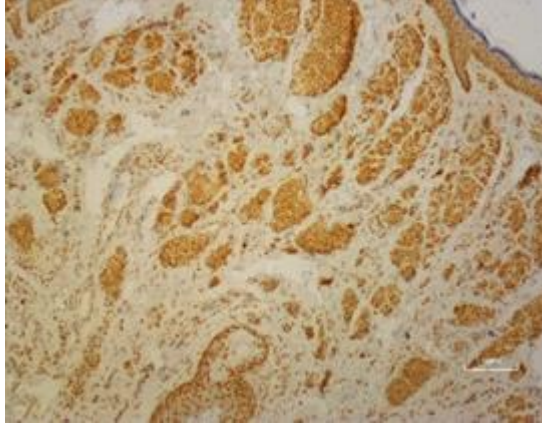
BAP1 belirteci ile status arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki vardır ($p=0,038$). Ek olarak, BAP1 kaybı (-) olan olguların %60,8'i hayatta iken, BAP1 korunmuş (+) olguların yalnızca %39,7'nin hayatta olduğu gözlemlendi ($p=0,038$).

Tablo 19. Bap1 ile status ilişkisi

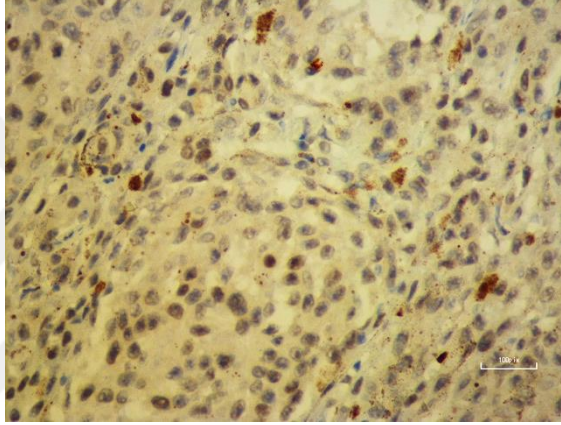
		Status		Ki-kare	P
		Hayatta	Ex		
Bap1	Negatif	31 (60,8)	20 (39,2)	5,022	0,038
	Pozitif	25 (39,7)	38 (60,3)		

*Kikare Testi

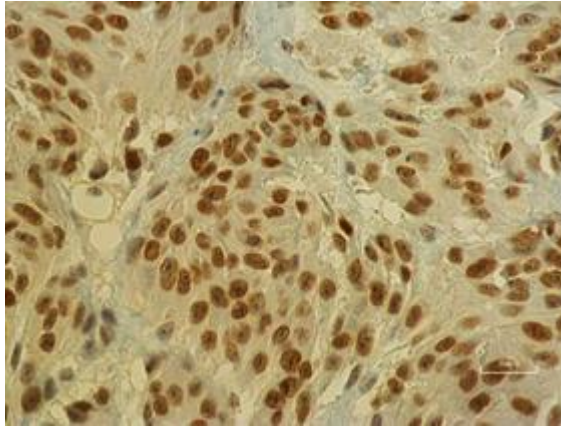
Buna paralel olarak; BAP1 kaybı (-) olan olguların yaşam süresi ortalaması 45,2 ay; BAP1 korunmuş (+) olan olguların ise daha kısa (32,37 ay) olduğu gözlemlendi ($p=0,024$).



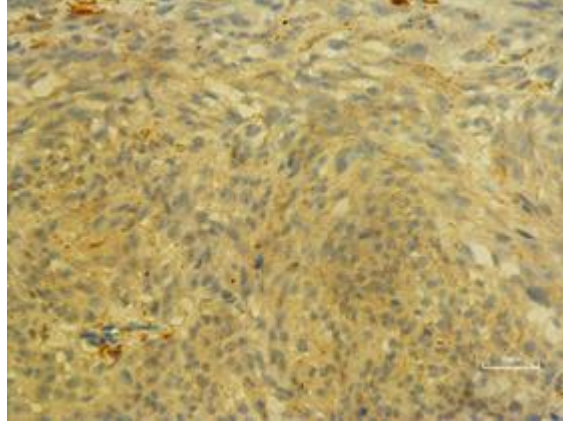
Resim 3 İntradermal nevüste nükleer *BAP1* pozitifliği (İHK, x100)



Resim 4 İnvaziv melanomda *BAP1* negatifliği (-) İHK, x400 (B23518/18)



Resim 5 İnvaziv melanomda nükleer BAP1 pozitifliği (İHK, x400) (B22129/18)



Resim 6 İnvaziv melanomda nükleer BAP1 negatifliği (İHK, x400) (B10835/16)

4.2.2. 5hmC Bulguları

Benign gruba ait 49 intradermal nevüs olgusunda 5hmC ile tüm olgularda nükleer (+) boyanma saptanmış, melanom grubunda ise 51 olguda ise (%44,74) nükleer boyanma kaybı (negatif) saptanmıştır (Resim 7-10). Melanom grubunda ortalama %63 oranında (minimum %0, maksimum %100) nükleer (+) boyanma saptanmıştır. %100 boyanan olgu sayısı 16, %0 boyanan olgu sayısı 10' dur. 5hmC belirtecinin benign ve malign gruplarını ayırmada etkinliğini araştırma için yapılan ROC analizi sonucuna göre duyarlılık ve yanlış negatif (seçicilik) grafiğinde dizilen eğri grafiğinin altında kalan 0,930 (%95 GA: 0,890 – 0,969) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$) (Tablo 20).

Tablo 20 5-hmC için ROC Analizi

Eğri			%95 Güven Aralığı	
Altındaki	Std.			
Alan	Hata	p	Alt Limit	Üst Limit
0,930	0,020	<0,001	0,890	0,969

H0: Eğri altındaki alan=0,5

Ayrımsama için duyarlılık ve seçicilik toplamının en yüksek elde edildiği (Youden İndeksi) 0,975 değeri kesim noktası kabul edildiğinde malignlerin %86'sı (seçicilik), benignlerin ise %100'ü (duyarlılık) doğru olarak ayrımsanabilmektedir. Yani %97,5 ve üzeri oranda (+) boyanan olgular nevüs tanısı lehine olabilir (duyarlılık %100,

seçicilik %86). Bu sonuç 5hmC belirtecinin tanı değil, tarama amaçlı kullanabileceğini göstermektedir (Tablo 21).

Tablo 21 5hmC için ROC analizinde elde edilen farklı kesim noktaları için performans ölçüleri

Kesim noktası	Duyarlık	Seçicilik	Youden İndeksi
<0	0,000	1,000	1,000
0,0500	0,088	1,000	1,088
0,1250	0,114	1,000	1,114
0,1750	0,123	1,000	1,123
0,2250	0,149	1,000	1,149
0,2750	0,158	1,000	1,158
0,3500	0,202	1,000	1,202
0,4500	0,281	1,000	1,281
0,5500	0,316	1,000	1,316
0,6250	0,430	1,000	1,430
0,6750	0,447	1,000	1,447
0,7250	0,544	1,000	1,544
0,7750	0,561	1,000	1,561
0,8500	0,702	1,000	1,702
0,9250	0,842	1,000	1,842
0,9750	0,860	1,000	1,860
>1	1,000	0,000	1,000

Kesim noktası altındaki veya eşit değerler hasta olarak değerlendirilir.

5hmC belirteci ile yaş, cinsiyet, ülserasyon, lenf nodülü tutulumu, tümör çapı, Clark düzeyi, Breslow derinliği, konak cevabı varlığı, satellit nodülü, sağkalım süresi, uzak metastaz varlığı, sağkalım oranı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Tablo 22-29).

Tablo 22. 5-hmC yönüyle cinsiyet ortalamalarının karşılaştırılması

	Cinsiyet		t	P
	Erkek (n=68)	Kadın (n=46)		
5-hmC	0,6±0,32	0,68±0,3	-1,278	0,204

*Bağımsız iki örneklem t testi

Tablo 23. 5-hmc yönüyle ülserasyon grup (var-yok) ortalamalarının karşılaştırılması

	Ülserasyon		t	p
	Yok (n=50)	Var (n=64)		
5-hmC	0,63±0,3	0,63±0,32	0,005	0,996

*Bağımsız iki örneklem t testi

Tablo 24. 5-hmc yönüyle LN tutulumu grup (var-yok) ortalamalarının karşılaştırılması

	LN Tutulumu		t	p
	Yok (n=72)	Var (n=42)		
5-hmC	0,61±0,31	0,66±0,31	-0,714	0,477

*Bağımsız iki örneklem t testi

Tablo 25. 5-hmC yönüyle satellit grup (var-yok) ortalamalarının karşılaştırılması

	Satellit		Z	p
	Yok	Var		
5-hmC	0,7 (0,4-0,9)	0,7 (0,4-0,9)	-0,240	0,810

*Mann Whitney U testi

Tablo 26. 5-hmC yönüyle uzak metastaz grup (var-yok) ortalamalarının karşılaştırılması

	Uzak Metastaz		t	p
	Yok (n=76)	Var (n=38)		
5-hmc	0,64±0,31	0,61±0,33	0,435	0,665

*Bağımsız iki örneklem t testi

Tablo 27. 5-hmC yönüyle status ve grup ortalamalarının karşılaştırılması

	Status		t	P
	Sağ (n=56)	Ex (n=58)		
5-hmc	0,63±0,31	0,63±0,32	0,078	0,938

*Bağımsız iki örneklem t testi

Tablo 28. 5-hmC yönüyle Clark's Level karşılaştırılması

	Clark's Level					Kruskal-	
	1	2	3	4	5	Wallis H	p
5-hmC	0,6 (0,4-0,6)	0,75 (0,7-0,8)	0,75 (0,45-0,9)	0,7 (0,4-0,9)	0,65 (0,3-0,9)	2,402	0,662

*Kruskal Wallis H testi

Tablo 29. 5-hmC yönüyle konak cevap grup ortalamalarının karşılaştırılması

	Konak Cevabı			Kruskal-	p
	Yok	Var-Belirgin değil	Var-Belirgin		
5-hmC	0,675 (0,4-0,9)	0,7 (0,4-0,9)	0,65 (0,5-0,9)	0,268	0,875

*Kruskal Wallis H testi

Tablo 30. 5-hmC ile nicel değişkenler arası ilişkiler (Spearman korelasyon katsayısı)

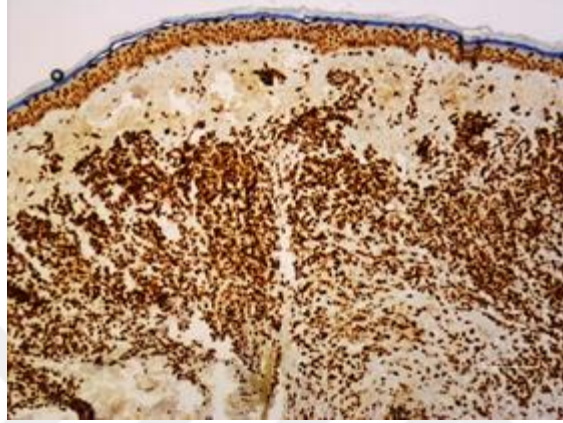
	5-hmc
Yaş	-0,068
Breslow (mm)	-0,095
Tümör Çapı (mm)	-0,055
Ay	-0,096
5-hmC	1,000

Transit nodül olan melanom olgularında 5hmC düzeyi ortalama %40 iken, transit olmayan olgularda %70 olarak saptandı (p=0,034). Bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı idi.

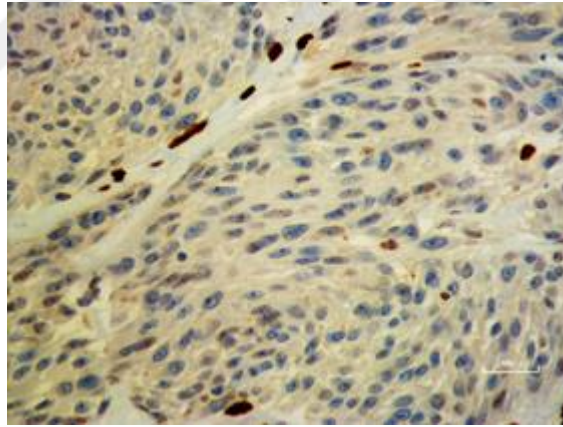
Tablo 31. 5-hmC yönüyle transit grup (var-yok) ortalamalarının karşılaştırılması

	Transit		Z	p
	Yok	Var		
5-hmc	0,7 (0,4-0,9)	0,4 (0,4-0,6)	-2,120	0,034

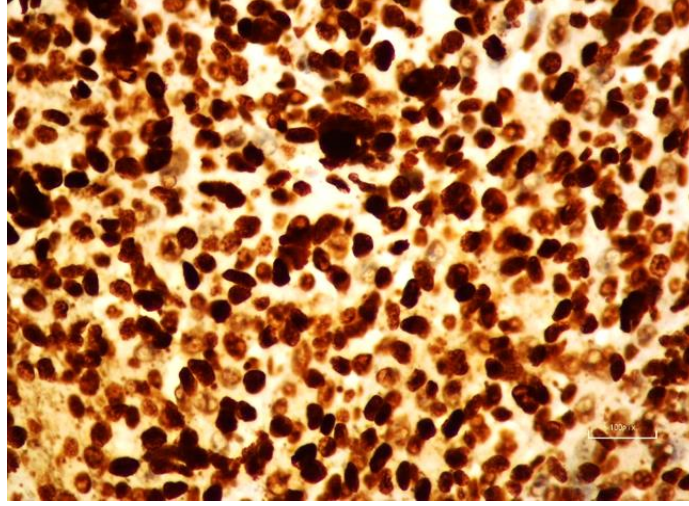
*Mann Whitney U testi



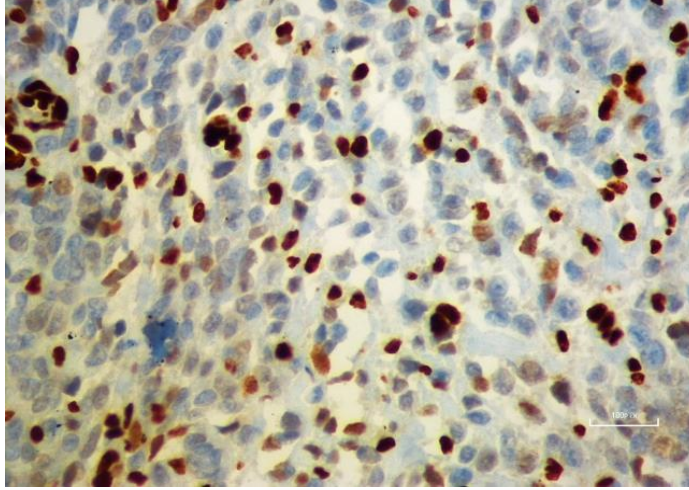
Resim 7 İntradermal nevüste 5hmC ile %100 nükleer pozitif boyanma (İHK, x100).



Resim 8. İnvaziv melanomda 5hmC ile tümör hücrelerinin tümünde nükleer kayıp (İHK, x400) (B22129/18)



Resim 9 Resim 11. İnvaziv melanomda 5hmC ile %100 nükleer pozitif boyanma (İHK, x400). (B10835/16)



Resim 10 İnvaziv melanomda 5hmC ile %15 nükleer pozitif boyanma (İHK, x400) (B615/15)

4.2.3. EZH2 Bulguları

Semikantitatif H-skor ile değerlendirilen EZH2 belirteci benign gruba ait 49 nevüs olgusunun tamamında skor '0' idi (Resim 12). Melanom olgularında ise ortalama skor 20,6 (minimum %0,0; maksimum 152,0) olarak saptandı (Resim 11, Resim 14). Melanom grubunda 40 olguda (%35,1) skor '0' idi (Resim 13).

EZH2 belirtecini benign ve malign gruplarını ayırmada etkinliğini araştırma için yapılan ROC analizi sonucuna göre duyarlılık ve yanlış negatif (1-seçicilik) grafiğinde çizilen eğrinin altında kalan 0,820 (%95 GA: 0,758-0,882) olarak istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$). Ayırmama için duyarlılık ve

seçicilik toplamının en yüksek elde edildiği (Youden İndeksi) 1 değeri kesim noktası kabul edildiğinde melanomların %64' (duyarlılık), nevüslerin ise %100' doğru olarak ayırmsanabilmektedir. Yani EZH2 skorunun 1 ve üzeri olması melanom tanısı lehinedir (duyarlılık %64, seçicilik %100) (Tablo 32 ve 33). Yani EZH2 skorunun 1 ve üzeri olması melanom tanısı lehinedir (duyarlılık %64, seçicilik %100).

Tablo 32. EZH2 için ROC Analizi

Eğri Altındaki Alan	Std. Hata	p	%95 Güven Aralığı	
			Alt Limit	st Limit
0,820	0,032	<0,001	0,758	0,882

H0: Eğri altındaki alan=0,5

Tablo 33. EHZ2 için ROC analizinde elde edilen farklı kesim noktaları için performans ölçüleri

Kesim noktası	Duyarlık	Seçicilik	Youden İndeksi
-1,00	1,000	0,000	1,000
1,00	0,640	1,000	1,640
2,50	0,632	1,000	1,632
3,50	0,623	1,000	1,623
4,50	0,605	1,000	1,605
6,00	0,561	1,000	1,561
7,50	0,553	1,000	1,553
9,00	0,544	1,000	1,544
11,50	0,412	1,000	1,412
14,00	0,404	1,000	1,404
16,00	0,368	1,000	1,368
18,00	0,360	1,000	1,360
19,50	0,351	1,000	1,351
22,50	0,307	1,000	1,307
25,50	0,281	1,000	1,281
27,50	0,272	1,000	1,272
29,50	0,263	1,000	1,263
30,50	0,228	1,000	1,228
31,50	0,219	1,000	1,219
36,00	0,211	1,000	1,211
42,50	0,167	1,000	1,167
47,50	0,158	1,000	1,158
52,00	0,140	1,000	1,140
57,00	0,132	1,000	1,132
63,00	0,114	1,000	1,114
68,00	0,105	1,000	1,105
72,50	0,088	1,000	1,088
75,50	0,079	1,000	1,079
78,00	0,070	1,000	1,070
81,50	0,053	1,000	1,053
84,00	0,044	1,000	1,044
87,50	0,035	1,000	1,035
121,00	0,009	1,000	1,009
153,00	0,000	1,000	1,000

Kesim noktası üstündeki veya eşit değerler hasta olarak değerlendirilir.

EZH2 boyaması ile yaş, cinsiyet, tümör çapı, Clark düzeyi, konak cevabı varlığı, satellit nodülü, ortalama sağkalım süresi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Tablo 34. EZH2 yönüyle cinsiyet ortalamalarının karşılaştırılması

	Cinsiyet		t	P
	Erkek (n=68)	Kadın (n=46)		
EZH2	21,21±30,84	19,76±24,6	0,266	0,791

*Bağımsız iki örneklem t testi

Tablo 35. EZH2 yönüyle satellit grup (var-yok) ortalamalarının karşılaştırılması

	Satellit		Z	p
	Yok	Var		
EZH2	10 (0-30)	10 (0-40)	-0,086	0,932

*Mann Whitney U testi

Tablo 36. EZH2 yönüyle Clark's Level ortalamalarının karşılaştırılması

	Clark's Level					Kruskal-	
	1	2	3	4	5	Wallis H	p
EZH2	0 (0-0)	7 (0-10)	10 (0-35)	16 (0-30)	3,5 (0-40)	7,838	0,098

*Kruskal Wallis H testi

Tablo 37. EZH2 yönüyle konak cevap grup ortalamalarının karşılaştırılması

	Konak Cevabı			Kruskal-	
	Yok	Var-Belirgin değil	Var-Belirgin	Wallis H	p
EZH2	7,5 (0-28,5)	10 (0-30,5)	7,5 (0-20)	0,672	0,715

*Kruskal Wallis H testi

Tablo 38. EZH2 ile nicel değişkenler arası ilişkiler (Spearman korelasyon katsayısı)

	EZH2
Yaş	-0,004
Breslow (mm)	,171*
Tümör Çapı (mm)	-0,121
Ay	-0,116
5-hmc	,341**

*p<0.05 level (Tek kuyruk). **p< 0.01 (Tek kuyruk).

EZH2 boyanması ile ülserasyon varlığı, Breslow derinliği, transit nodül varlığı, uzak metastaz varlığı, sağkalım oranları arasında istatistiksel olarak, LN tutulumu ile ise klinik olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur.

Ülserasyon içeren melanom olgularında (n=64) EZH2 skor ortalaması (26,25±31,34) ülserasyon içermeyenlerin (n=50) EZH2 skor ortalamasından daha yüksek (13,42±22,37) saptandı (p=0,012).

Tablo 39. EZH2 yönüyle ülserasyon grup (var-yok) ortalamalarının karşılaştırılması

	Ülserasyon		t	p
	Yok (n=50)	Var (n=64)		
EZH2	13,42±22,37	26,25±31,34	-2,548	0,012

*Bağımsız iki örneklem t testi

Benzer şekilde lenf nodü tutulumu olan (n=42) melanom olgularının EZH2 skor ortalaması (27,71±31,37) iken, lenf nodülü tutulumu olmayanların (n=72) ortalaması (16,49±25,82) olarak saptandı (p=0,053). Bu fark istatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen klinik olarak anlamlıdır.

Tablo 40. EHZ2 yönüyle LN tutulumu grup (var-yok) ortalamalarının karşılaştırılması

	LN Tutulumu		t	p
	Yok (n=72)	Var (n=42)		
EZH2	16,49±25,82	27,71±31,37	-1,964	0,053

*Bağımsız iki örneklem t testi

Transit nodül olmayan grubun 1. çeyrek-3.çeyrek (ortada yer alan %50'sinin dağılım aralığı) istatistikleri 0-30 iken transit olan grubun ilgili istatistikleri 0-0 olarak bulunmuştur (p=0,037)

Tablo 41. EHZ2 yönüyle transit grup (var-yok) ortalamalarının karşılaştırılması

	Transit		Z	p
	Yok	Var		
EZH2	10 (0-30)	0 (0-0)	-2,091	0,037

*Mann Whitney U testi

Uzak metastaz olan (n=38) melanom grubunun EZH2 skor ortalaması 31,16 (±36,92) iken, olmayan (n=76) grubunun ortalaması ise 15,36 (±21,37) olarak saptandı (p=0,018).

Tablo 42. EHZ2 yönüyle uzak metastaz grup (var-yok) ortalamalarının karşılaştırılması

	Uzak Metastaz		t	p
	Yok (n=76)	Var (n=38)		
EZH2	15,36±21,37	31,16±36,92	-2,442	0,018

*Bağımsız iki örneklem t testi

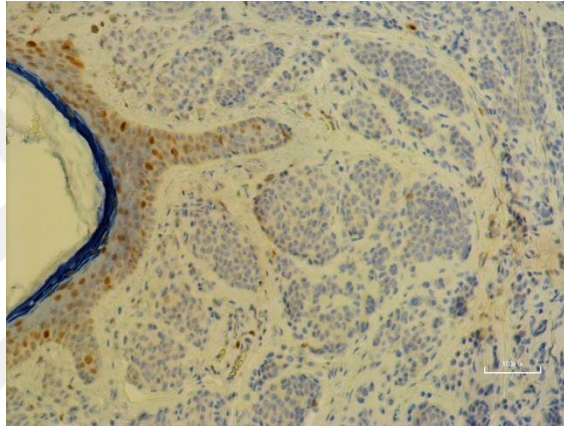
Ayrıca EHZ2 skor ortalaması hayatta olan (n=56) melanom grubunda 10,8 iken ex olanlarda (n=58) skor ortalaması 30,1 idi (p<0,001).

Tablo 43. EZH2 yönüyle sağkalım oranları grup (var-yok) ortalamalarının karşılaştırılması

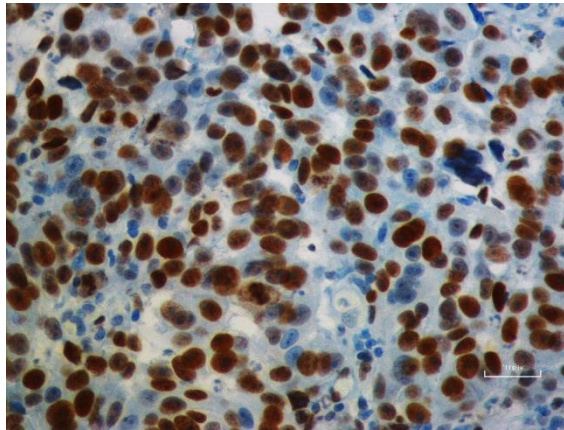
	Sağkalım		t	P
	Hayatta (n=56)	Ex (n=58)		
EZH2	10,8±15,14	30,1±34,49	-3,891	<0,001

*Bağımsız iki örneklem t testi

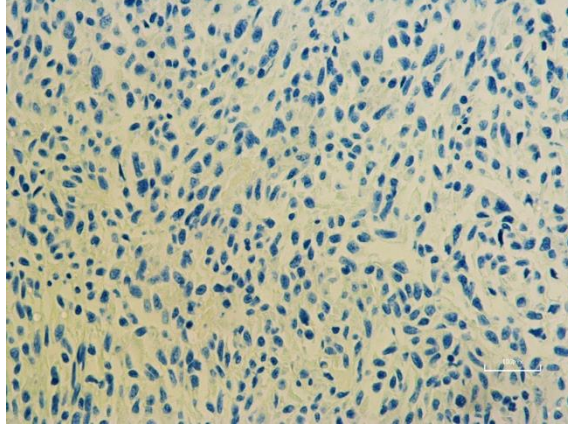
Nicel değişikliklerden sadece Breslow derinliği ve EZH2 arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif yönlü çok düşük ilişki bulunmuştur (spearman korelasyon katsayısı = ,171).



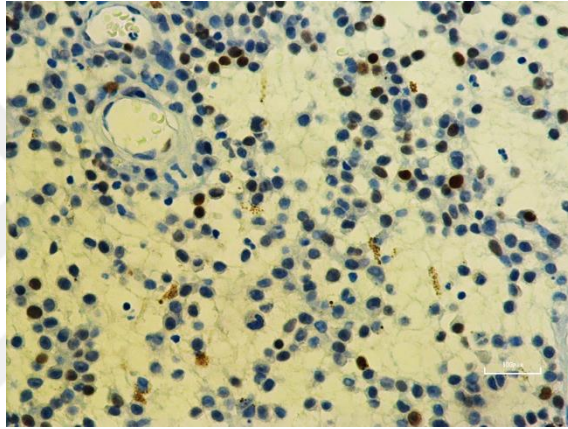
Resim 11 İntradermal nevüste EZH2 ile Skor= 0 (İHK, x200).



Resim 12. İnvaziv melanom EZH2 skor= 152 (İHK, x400) (B18200/10).



Resim 13 İnvaziv melanom EZH2 skor= 0 (İHK, x400) (B7247/19).



Resim 14 İnvaziv melanom EZH2 skor= 15 (İHK, x200) (B21551/15).

4.2.4. Sağkalım Analizleri

Sağkalım analizi için yaş, Breslow derinliği, tümör çapı, EZH2 ve 5hmC sürekli sayısal değişkenleri ile ve cinsiyet, ülserasyon, konak cevabı, LN tutulumu, satellit, transit, uzak metastaz, Clark düzeyi, BAP1 kategorik değişkenleri risk faktörleri olarak tanımlanarak Cox regresyon çözümlemesi yapıldı.

Clark düzey değişkeni için level 1’de sadece 5 hasta olduğundan modele dahil edilmedi ve level 2 grubu referans (karşılaştırma) grubu olarak tanımlandı.

Regresyon çözümlemesi sürecinde geriye doğru adımsal (Backward LR) eleme yöntemi uygulanmıştır. Özetle en yüksek p değerine sahip (modele katkısı olmayan) değişkenler sırasıyla elenerek nihai modele ulaşılmıştır. Onuncu adım sonrası ulaşılan nihai modele ilişkin Cox regresyon çözümlerine ilişkin sonuçlar aşağıdaki tabloda özetlenmiştir (Tablo 44).

Tablo 44. Cox Regresyon çözümleme sonuçları

	B	Std. Hata	Wald	sd	p	OR	OR için %95 GA	
							Alt Lmt	Üst Lmt
Ülserasyon	0,633	0,314	4,059	1	0,044	1,884	1,017	3,487
Satellit	0,950	0,386	6,063	1	0,014	2,586	1,214	5,507
Transit	1,135	0,603	3,539	1	0,060	3,111	0,954	10,151
Uzak Metastaz	1,048	0,304	11,846	1	0,001	2,851	1,570	5,178
Clark's Level (2)			9,227	3	0,026			
Clark's Level (3)	1,073	0,592	3,284	1	0,070	2,924	0,916	9,332
Clark's Level (4)	1,151	0,586	3,850	1	0,050	3,161	1,001	9,976
Clark's Level (5)	1,753	0,596	8,649	1	0,003	5,770	1,794	18,555
EZH2 (/10)	0,093	0,041	5,263	1	0,022	1,098	1,014	1,188

OR: Odds Ratio (Odds Oranı), GA: Güven Aralığı, sd: serbestlik derecesi

Elde edilen bulgulara göre; ölüm riskini ülserasyon varlığı 1,884 kat, satellit varlığı 2,586 kat, uzak metastaz varlığı 2,851 kat, transit varlığı 3,111 kat arttırmaktadır.

Clark Level 3 düzeyi Clark Level 2 düzeyine göre ölüm riski arasında istatistiksel olarak anlamı fark yoktur. Ancak Level 2'ye göre Level 4'ün ölüm riski 3,161 kat, Level 5'in ölüm riski 5,770 kat daha yüksektir.

Ayrıca EZH2 skorunda her 10 birimlik artış, ölüm riskini 1,098 kat (yaklaşık %10) artırmaktadır.

Sağkalım tablosu incelendiğinde ortanca ölüm süresinin yaklaşık 55 ay olduğu görülmektedir. Yığılımı hazard (ölüm) riskinin de %67,6 olduğu görülmektedir.

Tablo 45. Sağkalım Tablosu

Süre (Ay)	Başlangıç Hazard Riski	Düzye de	Yığılımlı	Risk Faktörleri Ortalamalarında		
				Yaşam Olasılığı	Std. Hata	Yığılımlı Riski
1	0,000			0,989	0,008	0,011
3	0,001			0,983	0,010	0,017
4	0,001			0,972	0,013	0,029
5	0,001			0,966	0,014	0,035
8	0,002			0,948	0,018	0,053
9	0,003			0,929	0,022	0,073
10	0,003			0,923	0,023	0,080
11	0,004			0,909	0,025	0,095
12	0,004			0,902	0,026	0,103
13	0,005			0,881	0,030	0,127
15	0,005			0,874	0,031	0,135
16	0,007			0,849	0,034	0,164
17	0,007			0,840	0,035	0,174
19	0,008			0,814	0,038	0,206
20	0,010			0,787	0,042	0,239
21	0,010			0,777	0,043	0,252
22	0,011			0,767	0,044	0,265
23	0,012			0,746	0,046	0,293
24	0,012			0,735	0,047	0,308
25	0,013			0,724	0,048	0,323
29	0,015			0,690	0,051	0,371
30	0,016			0,677	0,052	0,391
31	0,016			0,664	0,053	0,410
33	0,020			0,604	0,057	0,505
36	0,021			0,588	0,058	0,531
47	0,022			0,570	0,059	0,562
50	0,024			0,551	0,060	0,597
54	0,025			0,530	0,062	0,635
55	0,027			0,508	0,063	0,676
56	0,031			0,464	0,064	0,769
61	0,033			0,439	0,065	0,823
63	0,035			0,413	0,066	0,883
67	0,038			0,384	0,067	0,957
85	0,042			0,349	0,069	1,054
91	0,047			0,308	0,072	1,177
102	0,062			0,208	0,074	1,571

5. TARTIŞMA

Kutanöz melanom tüm deri malign tümörlerinin yalnızca %4'ünü oluşturmalarına rağmen başlıca ölüm nedeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle melanomdaki prognostik parametrelerin ve patogenezinin tanımlanması hastaların tedavisini ve prognozunu belirlemek açısından önemlidir. En önemli prognostik parametre klinik evre olsa da diğer prognostik parametreler- histolojik tip, Breslow kalınlığı, mitotik aktivite, konak lenfosit yanıtı, regresyon varlığı, satellit/transit nodüller, Clark's düzeyi, anatomik bölge, ülserasyon, lenf nodülü tutulumu, uzak organ metastazı da prognozu tanımlayan klinikopatolojik özelliklerdir¹⁵⁷.

Çalışmamızda sağkalım analizi sonucunda ölüm riskini arttıran histopatolojik özellikler; ülserasyon varlığı, satellit/transit nodül varlığı, uzak metastaz varlığı, Clark düzeyinin >3 olması olarak saptandı.

Melanomun halen dünyada en ölümcül deri kanseri olması ve son dekatlarda artarak tanımlanan moleküler ve epigenetik yolaklardan yola çıkarak, bu yolakları hedef alan kişiye özel tedavi seçenekleri oluşturulma çabası hız kazanmaktadır. Biz de çalışmamızda melanomun patogenezinde rol aldığı çok yakın zamanlarda küçük hasta gruplarında tanımlanmış olan; BAP1 tümör süpressör gen mutasyonu, epigenetik yolakta görev alan 5hmC ve EZH2 proteinlerinin ekspresyonunun klinikopatolojik parametreler ile ilişkileri ve prognostik önemlerini araştırmayı amaçladık.

BAP1 tümör süpressör geni mutasyonu çeşitli kanserlerde farklı sıklıklarda tanımlanmıştır. Germline veya somatik formda olabilen bu mutasyon ilişkili tümörler benzer olup, başlıcaları uveal melanom, malign plevral mezotelyoma, şeffaf hücreli renal hücreli karsinom, intrahepatik kolanjiokarsinom, hepatosellüler karsinom ve timik epitelyal tümörlerdir. Germline BAP1 mutasyonu olan (BAP1-tümör yatkınlık sendromu) 215 olgu içeren bir çalışmada %18 oranında kutanöz melanom bildirilmiştir¹⁵⁸. Somatik mutasyonların kutanöz melanomlardaki sıklığına yönelik çalışma sayısı oldukça kısıtlı olup; literatürde bulabildiğimiz 4 olguluk olgu sunumu dışında; 40 ve 135 olgu içeren iki ayrı çalışmada sırasıyla %2,5 ve %5 oranında BAP1 kaybı bildirilmiştir. Ayrıca pilot çalışma olarak sunulan bir araştırmada 158 primer kutanöz melanom olgusunda BAP1 kaybı oranı %5,6, özellikle desmoplastik melanom alt grubunda %21,7 olarak bildirilmiştir (Murali ve ark). Çalışmamızda bu oran %44,7

olup aradaki farkın literatürdeki çalışma sayısının azlığı ve/veya bizim olgularımızın somatik/germline olarak ayrılmamış olması yanısıra tek popülasyonu temsil ediyor olması ile ilgili olabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda BAP1 kaybı olan olgularda ülserasyon varlığı BAP1 korunmuş olgulara kıyasla daha az oranda idi ($p < 0.01$). Yanısıra, BAP1 kaybı olan olgularda lenf nodülü tutulumu daha az bulunmuştur ($p = 0.032$). Sağkalım oranları ve sağkalım süreleri de Bap1 kaybı olanlarda BAP1 korunmuş olgulara göre daha fazla idi ($p = 0.024$). Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı olup; diğer klinikopatolojik parametreler (yaş, cinsiyet, tümör çapı, Breslow derinliği, Clark düzeyi, konak cevabı, satellit/transit nodül varlığı, uzak metastaz) ile BAP1 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı.

Feng Liu-Smith ve ark' ın BAP1'in uveal melanom ve kutanöz melanomda sağ kalımdaki rolünü araştırdıkları çalışmalarında; BAP1 ekspresyon kaybının her iki melanomda cinsiyet, yaş ve evre, ayrıca kutanöz melanomda ülserasyon veya Breslow derinliği ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki elde etmemişlerdir¹⁵⁹. Aynı çalışmada düşük BAP1 mRNA varlığı, uveal melanomun aksine ve bizim çalışmamız ile benzer şekilde, kutanöz melanom hastalarında daha iyi bir sağkalım ile anlamlı bir ilişkili olduğunu göstermişlerdir¹⁵⁹. *Raj Kumar ve ark* BAP1 ekspresyonunun ince melanomlarda arttığını (< 1 mm) ve kalın melanomlarda (> 4 mm) nevüs ve normal doku ile karşılaştırıldığında azaldığını göstermişler; ancak istatistiksel olarak anlamlı bulmamışlardır. Bizim sonuçlarımız ile ters olarak; bu çalışmada ülserasyon ($p = 0.002$) içeren primer melanomlarda düşük BAP1 ekspresyonu gözlemlenmiştir. Ayrıca, düşük BAP1 ekspresyonuna sahip primer melanomlar, yüksek BAP1 seviyelerine sahip olanlara kıyasla daha kötü bir prognoz sergilemişlerdir¹⁶⁰. BAP1'in prognostik önemine yönelik validasyon için daha geniş melanom cohortu içeren çalışmalar gerekmektedir.

BAP1'in multifonksiyonel tümör süpressör görevleri göz önünde tutulduğunda; bazı terapötik stratejilerin direk BAP1'in kanserdeki rolünü hedef aldığını görmekteyiz. Bu terapötikler HDAC inhibitörleri (BAP1 aracılı artmış H2A ubiquinasyonuna yönelik), EZH2 inhibitörleri (BAP1 hasarlı tümörlerde EZH2 aşırı ekspresyonu tanımlanmıştır), Platinumlar ve PARP inhibitörleri gibi DNA hasar onarımını hedef alan ilaçlardan (BAP1'in SWI/SWF kompleksi ile olan önemli ilişkisi nedeniyle)

oluşmaktadır. Özellikle moleküler kompleks yapıya sahip kanserlerde kombine tedavi yaklaşımında BAP1 durumunun değerlendirilmesi yardımcı ve gerekli olabilir.¹¹⁰

Son dekatlarda, birçok kanserde olduğu gibi melanomda da epigenetik regülasyonun önemine yönelik araştırmalar artmaktadır. Melanomda sık görülen BRAF, NRAS ve C-kit gen mutasyonlarına ek olarak melanom oluşumunda epigenetik aberrasyonlar da rol oynamaktadır (Rodic, 2015). Kutanöz melanomda melanomun progresyonu ve metastazında rol alan DNA onarım, hücre siklus düzenleyici genlerin DNA hipermetilasyonu ile sessizleştirildiği gösterilmiştir^{161,162}. Diğer taraftan demetilasyon ile de belli genlerin (bu genler gelişimin erken döneminde tipik olarak sessizleşirler) yeniden ekspresyonu oluşur¹⁶³. 5-hmC proteini demetilasyon yolağında en abondan intermedyer üründür. Yakın zamanda *Lian ve ark* 5hmC kaybını melanomun “epigenetik ayırıcı özelliği” olarak tanımlamıştır¹⁶³. 5-hmC’nin melanositik lezyonların maligniteye doğru progresyonu ile kaybının arttığının gösterilmesi ile tanısal rolüne yönelik de *Rodic ve ark* anlamlı sonuçlar sunmuşlardır¹⁶⁴. Bu çalışmanın sonuçlarına göre; benign nevus olgularında bizim çalışmamız ile aynı olmak üzere %100 boyanma göstermişlerdir. Melanom olgularında ise %55 immünreaktivite bildirmiş olup, bizim çalışmamızda bu oran %91,2 idi. Benign nevuste boyanma oranı bizim sonuçlarımız ile benzer olarak melanomda nevusten daha düşük idi ve bu istatistiksel olarak anlamlı idi. Aynı çalışmada primer ve metastatik melanom grupları arasında anlamlı bir 5hmC boyanma farkı bulunmamıştır.

İstatistiksel olarak %97,5 ve üzerinde boyanma gösteren olgular nevus lehine anlamlı bulunmuş olup (duyarlılık %100, seçicilik %86); bu sonuçlar 5hmC belirtecinin tanıdan çok tarama amaçlı kullanılabileceğini düşündürmektedir. *Rodic ve ark* kesim noktası değeri olarak 17 skorunu %92,74 duyarlılık ve %97,78 seçicilik olarak saptamışlardır¹⁶⁴.

Uchiyama ve ark, 5-hmC ekspresyonunu 35 melanom olgusunda incelenmişler ve immünohistokimyasal yöntemle 5-hmC pozitif hücrelerin oranının, melanom olgularının benign lezyonlarda olduğundan önemli ölçüde daha düşük olduğunu göstermişlerdir.¹⁶⁵

Lee ve ark, klasik melanom olgularından farklı melanositik tümör tanıları içeren çalışmalarında benign melanositik neoplazmlarda (epiteloid değişikliği olan dört mavi nevusdan dördünde; 12 kombine nevusdan 12'sinde; beş derin penetran nevusün

tamamında güçlü 5hmC nükleer reaktivite bildirmişlerdir¹⁶⁶. Ayrıca sekiz pigmente mavi nevüs benzeri melanomların (BNLM) ve sekiz pigmente epitelioid melanositomun (PEM) yedisinde anlamlı 5hmC kaybı göstermiştir. Yedi atipik derin penetran nevüs vakasından beşinde ve belirsiz malign potansiyele (MELTUMP) sahip 10 melanositik tümörden sekizinde, düşük ila orta düzeyde 5hmC immünoreaktivite saptamışlardır ($p < 0.0001$)¹⁶⁶.

Literatürdeki çalışmalar göstermektedir ki 5hmC kaybı melanomda erken değişimdir. Bunun kanıtı olarak gerek in situ komponentte, gerekse de invaziv ve metastatik melanomların büyük çoğunluğunda 5hmC kaybının görülmesi gösterilebilir^{164,163,167,165}). Burdan yola çıkarak aynı lezyonda benign ve şüpheli odaktaki boyanma farkı ile transformasyona giden melanositik lezyon tanısına yardımcı olarak kullanılabilir. Ancak duyarlılık ve seçicilik oranı 5hmC'nin tek başına immünohistokimyasal tanısal method olarak kullanılamayacağını göstermektedir.

Prognostik ve sağkalım ilişkisi yönünden değerlendirildiğinde bizim sonuçlarımızda istatistiksel olarak anlamlı olan tek parametre transit nodül içeren melanom olgularında 5hmC kaybının transit içermeyenlerden daha fazla olmasıydı ($p=0.034$). Literatürde metastatik melanomlarda boyanma kaybı bildirilmekle birlikte, transit nodül ilişkisine veri bulamadık.

Diğer parametreler (ülserasyon, yaş, cinsiyet, lenf nodülü tutulumu, uzak metastaz, Clark düzeyi, tümör çapı, konak cevabı sağkalım oranı ve süresi) ile 5hmC boyanması arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki saptamadık. Ancak literatüre baktığımızda; 5hmC boyanması ile Breslow kalınlığı ve mitotik aktivite arasında negatif korelasyon bildirilmiş, 5hmC boyanması daha uzun sağkalım ile ilişkili raporlanmıştır. Buna göre 5 hmC kaybının tanısal ve prognostik kullanılabileceği iddia edilmiştir¹⁶³.

5hmC'nin prognostik parametreler ve sağkalımdaki önemine yönelik detaylı bir araştırmada; 5hmC skoru anlamlı bir şekilde AJCC evresi, tanı anındaki yaş, primer tümör odağı, Breslow derinliği ve ülserasyon ile ilişkili bulunmuş, mikroskobik satellitler ve cinsiyet ile ilişkisi bulunmamıştır¹⁶⁸. Sağkalım analizinde 5hmC skorlaması metastazsız sağkalım, melanom özgü sağkalım ve genel sağkalımda bağımsız anlamlı prediktör ($p < 0.0001$) olarak raporlanmıştır¹⁶⁸. Bizim çalışmamızda sağkalım analizinde 5hmC ve ölüm riski arasında ilişki bulunmamıştır.

Diğer bir epigenetik görev alan EZH2' nin önemi melanomda ve diğer kanser türlerinde EZH2 inhibitörlerinin geliştirilmesi ile artmıştır. İmmünohistokimyasal çalışmalar ile de melanositik lezyonlarda nevusten melanoma doğru gittikçe EZH2 artışı gösterilmiştir (Asangani 2012, Mc Hugh 2007) ^{169,170}. *McHugh ve ark* 11 kompond nevüs, 13 displastik nevüs, 13 Spitz nevüs, 9 *in situ* melanom, 10 metastatik olmayan invaziv melanom ve 19 lenf nodüllerine metastatik melanom içeren çalışmalarında kompond nevüslere ve displastik nevüslere göre invaziv melanomda önemli ölçüde artmış EZH2 ekspresyonu saptamışlar, ancak *in situ* melanomda EZH2 ekspresyonu saptamamışlardır. Bu bulgular ile ilgili olarak, EZH2 protein seviyelerinin melanositlerin malign transformasyonu ile arttığını ve EZH2' nin melanom ilerlemesi sırasında metastatik sürece dahil olabileceğini bildirmişlerdir¹⁷⁰. Benzer bir çalışmada artmış EZH2 düzeyleri proliferasyon artışı (ki67), kalın primer melanomlar ve artmış vasküler invazyon, p16 boyanma kaybı ve güçlü siklinD1 ekspresyonu ile ilişkili bulunmuştur (Bachmann 2006)¹⁷². *P. Kampilaşkos ve ark* da benzer şekilde nevüs olgularına göre melanom olgularında immünohistokimyasal olarak önemli ölçüde artmış EZH2 ekspresyonu gözlemlemişlerdir ($p=0.02$). Aynı çalışmada diğer klinikopatolojik parametreler (Clark düzeyi, Breslow derinliği, primer veya metastatik olgular) ile EZH2'nin ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir¹⁷¹.

Bizim çalışmamızda da ülserasyon varlığı, Breslow derinliği, transit nodül varlığı, uzak metastaz varlığı ile yüksek EZH2 skoru arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı (her birinde $p<0.05$). Bunun yanı sıra lenf nodülü tutulumu ile yüksek EZH2 skoru arasında da klinik olarak anlamlı bir ilişki vardı ($p=0.053$).

Bu sonuçlar EZH2'nin melanom progresyonundaki rolünü kanıtlar niteliktedir.

Beş yıllık sağkalım oranı EZH2 skoru yüksek olgularda %48 iken, EZH2 skoru düşük hastalarda %71 olarak raporlanmıştır (Bachman 2006) ¹⁷². Bizim çalışmamızda da benzer şekilde; ex olan hastalarda EZH2 skoru hayatta olan hastalara oranla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha yüksek idi ($p<0.001$).

Ek olarak literatürdeki çalışmalardan farklı olarak bizim çalışmamızda EZH2 skoru ile ölüm riski artışı arasında ilişki saptandı. Buna göre EZH2 skorundaki her 10 birimlik artış ölüm riskini 1.098 kat (yaklaşık %10) arttırmaktadır.

Deneyisel çalışmalarda farelerde melanomda EZH2' nin baskılanması ile proliferasyonun düştüğü, tümörde yaşlanma benzeri fenotip oluştuğu ve xenograftların büyümesinin inhibe olduğu gösterilmiştir (Fan 2011). Aynı çalışmada EZH2 depleksiyonunun p53'ten bağımsız olarak p21/CDKN1A reaktivasyonuna ve hücre siklusünün durmasına yol açtığı gösterilmiştir (Fan 2011)¹⁷³. Ek olarak uveal melanomda EZH2 aşırı ekspresyonunun etkin T-hücre aracılı immün yanıtı kırdığı tanımlanmıştır (Holling 2007). Son zamanlarda melanomda immün kontrol nokta inhibitörlerinin melanomdaki başarısı düşünüldüğünde, bu ilaçlara kombine olarak epigenetik EZH2 inhibisyonunun da eklenmesi uveal melanomda T hücre aracılı ölümü arttırabilir (Holling 2007)¹⁷⁴.

Sonuç olarak; BAP1 ve 5 hmC kaybı ve EZH2 ekspresyon artışı melanomda anlamlı rol almaktadırlar. BAP1 kaybı iyi prognoz ve uzun sağkalım ile ilişkilidir. 5hmC kaybı melanoma progresyonda rol oynamaktadır. EZH2 artmış ekspresyonu melanoma progresyonda görev almakla birlikte kötü prognostik parametredir ve ölüm riskini arttırmaktadır. Bu belirteçler patogenetik ve prognostik rolleri ile birlikte; halen en ölümcül kanserlerden olan melanomun gerek hedefe yönelik gerek kombine tedavi planlamasında umut vaat etmektedir.

6. SONUÇLAR

1. Çalışmamıza 49 intradermal nevus, 114 melanom olgusu dahil edilmiş olup melanom olgularının biri (%0,87) Akral lentijenöz tip malign melanom, 12'si (%10,52) yüzeysel yayılan malign melanom, 38'i (%33,33) nodüler melanom, 63'ü (%55,26) invaziv melanom tanısı almıştır.
2. Olgunun 68'i (%59,65) erkek, 46'sı (%40,35) kadındır.
3. Ortalama yaş 60,3 (21 – 86) tür.
4. Melanom olgularının lokalizasyonları sıklık sırasına göre 47 (%41,22) alt ekstremitte, 38 (%33,33) baş-boyun, 15 (%13,15) gövde, 14 (%12,28) üst ekstremitedir.
5. Olguların 64'ünde (%56,14) ülserasyon, 42'sinde (%36,84) LN tutulumu, 17'sinde (%14,91) satellit nodül, dokuzunda (%7,89) transit nodül, 38'inde (%33,33) uzak metastaz mevcuttur.
6. Çalışmaya dahil edilen 114 olgunun beşi (%4,39) Clark Level 1, yedisi (%14,91) Clark Level 2, 24'ü (%21,05) Clark Level 3, 42'si (%36,84) Clark Level 4, 26'sı (%22,81) Clark Level 5 düzeyindedir.
7. Breslow kalınlığı ortalama 6,3 mm (0,2 mm- 35,0 mm) dir.
8. Tümör çapı ortalama 18.2 mm (1,0 mm- maksimum 80,0 mm) dir.
9. Konak lenfositik yanıtı 12'sinde (%10,53) yok, 76'sında (%66,67) var-belirgin değil, 26'sında (%22,81) var-belirgindir.
10. Olguların 56'sı (%49,12) hayatta, 58'i (%50,88) eksitustur.
11. Ortalama takip süresi 38,1 ay (1- 120 ay) dır.
12. Ortanca ölüm süresi 55 aydır.
13. Çalışmaya dahil edilen 49 nevus olgusunun tamamında (%100) BAP1 pozitif (korunmuş)tir.
14. Melanom olgularının (n=114) 63'ünde (%55,26) Bap1 pozitif (korunmuş), 51'inde negatif (nükleer kayıp) saptanmıştır.
15. BAP1 boyanması ile yaş, cinsiyet, tümör çapı, Breslow derinliği, Clark düzeyi, konak lenfosit yanıtı, satellit nodül, transit nodül, uzak metastaz arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

16. BAP1 kaybı olanlarda BAP1 korunmuş olgulara kıyasla; ülserasyon daha az ($p<0.01$), lenf nodülü tutulumu daha az ($p=0.032$); sağkalım oranları daha fazla ($p=0.038$), ortalama yaşam süreleri daha uzun ($p=0.024$) saptanmıştır.
17. 5hmC nevus olgularının tamamında ($n=49$) %100 nükleer boyanma saptanmıştır.
18. Melanom olgularında ($n=114$) 5hmC ile ortalama %63 (0-100) oranında nükleer boyanma saptanmıştır. Melanoma progresyonda 5hmC kaybı rol oynamaktadır.
19. 5hmC oranı transit nodül olan hastalarda daha düşük saptanmıştır ($p=0.034$).
20. 5 hmC boyanması ile yaş, cinsiyet, tümör çapı, Breslow derinliği, Clark düzeyi, konak lenfosit yanıtı, satellit nodül, transit nodül, lenf nodülü, uzak metastaz, sağkalım oranı ve süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.
21. Çalışmaya dahil edilen 49 nevus olgusunda EZH2 H skoru 0'dır.
22. Melanom grubu 114 hastanın için ortalama EZH2 H skoru 20,6 (0-152) dır.
23. EZH2 belirteci ile yaş, cinsiyet, tümör çapı, Clark düzeyi, konak lenfosit yanıtı, satellit nodül ve sağkalım süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.
24. EZH2 skor ortalaması ile ülserasyon varlığı, Breslow derinliği, lenf nodu tutulumu, transit nodül varlığı, uzak metastaz olması ve eksitus olgu oranı arasında pozitif yönde istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır. EZH2 ekspresyonu kötü prognostik parametredir.
25. EZH2 H skorunda her 10 birimlik artış ölüm riskini yaklaşık %10 arttırmaktadır.
26. Ölüm riskini arttıran parametreler: ülserasyon (1,884 kat), satellit varlığı (2,586 kat), transit nodül varlığı (3,111 kat), uzak metastaz varlığı (2,851 kat), Clark level 4 (Clark level 2' ye göre 3,161 kat) ve Clark level 5 (Clark level 2' ye göre 5,770 kat) dir.

KAYNAKLAR

1. Sadler, T.W., J. LangmanveLippincott Williams & Wilkins., *Langman's medical embryology*. 2014, Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins,: Philadelphia. p. 362-364.
2. Mills SE. Histology for Pathologists, 4th ed. Chapter: Normal Skin, Lippincot Williams and Wilkins, 3-18 p., 2011.
3. Mills SE. Histology for Pathologists, Histology for Pathologists, 3th ed. Chapter: Normal Skin, Lippincott Willams and Wilkins, Philadelphia, 3-18, 2007.
4. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. Robbins and Cotran. Pathologic Basis of Disease 8th ed. Chapter 25: The Skin, Saunders Elsevier, Phladelphia, 1165-1202, 2020.
5. Nielsen K. Malignant melanoma-Risk factors an the CDKN2A mutation in relation to phenotypes and other cancers. 2009 Lund University, Faculty of Medicine, Doctoral Dissertation Series 2009: 111ISSN 1652-8220 ISBN 978-91-86253-99-8
6. Ngan V (2006) Lentigo simplex. DermNet New Zealand. Available from: <https://www.der-mnetnz.org/topics/lentigo-simplex>.
7. Skender-Kalnenas TM, English DR, Heenan PJ (1995). Benign melanocytic lesions: risk markers or precursors of cutaneous mel-anoma? J Am Acad Dermatol. 33(6):1000-7. PMID:7490345
8. Schiifer T, Merkl J, Klemm E, Wich-mann HE, Ring j (2006). The epidemiology of nevi and signs of skin aging in the adult general population: results of the KORA-sur-vey 2000. J Invest Dermatol. 126(7):1490-6. PMID:16645597
9. Pawlikowski JS, McBryan T, van Tuyn J, Drotar ME, Hewitt RN, Maier AB, et al. (2013). Wnt signaling potentiates nevogenesis. Proc Natl Acad Sci USA. 110(40):16009-14. PMID:24043806
10. Yeh l, Lang UE, Durieux E, Tee MK, Jor-apur A, Shain AH, et al. (2017). Combined acti-vation of MAP kinase pathway and 13-,catenin signaling cause deep penetrating nevi. Na! Commun. 8(1):644. PMID:28935960
11. Elder DE (2010). Dysplastic naevi: an update. Histopathology. 56(1):112-20. PMID:20055909
12. Halpem AC, Guerry D 4th, Elder DE, Trock B, Synnestvedt M, Humphreys T (1993). Natu-ra! history of dysplastic neyi. J Am Acad Derma-tol. 29(1):51-7. PMID:8315078
13. Bauer J, Curtin JA, Pinkel D, Bastian BC (2007). Congenital melanocytic nevi fre-quently harbor NRAS mutations but no BRAF mutations. J Invest Derrnatol. 127(1):179-82. PMID:16888631
14. Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, Pasquini P, Abeni D, Beyle P, et al. (2005). Meta-analysis of risk factors for cutaneous mel-anoma: 1. Common and atypical naevi. Eur J Cancer. 41(1):28-44. PMID:15617989
15. Shors AR, Kim S, White E, Argenyi Z, Barnhill RL, Duray P, et al. (2006). Dysplastic naevi with moderate to severe histological dys-plasia: a risk factor for melanoma. Br J Derma-tol. 155(5):988-93. PMID:17034530
16. Schaffer JV, Orlow SJ, Lazova R, Bolog-nia JL (2001). Speckled lentiginous nevus-classic congenital melanocytic nevus hybrid not the resul! of "collision". Arch Dennatol. 137(12):1655. PMID:11735724

17. Elder DE (2006). Precursors to melanoma and their mimics: nevi of special sites. *Mod Pathol.* 19 Suppl 2:S4-20. PMID:16446715
18. Hofmann-Welienhof R (2013). Special criteria for special locations 2: scalp, mucosal, and milk line. *Dermatol Clin.* 31(4):625-36, ix. PMID:24075550
19. Rongioletti F, Ursa C, Batolo D, Chimenti S, Fanti PA, Filotico R, et al. (2004). Melano-cytic nevi of the breast: a histologic case-control study. *J Cutan Pathol.* 31(2):137-40, PMID:14690457
20. Fisher KR, Maize JC Jr, Maize JC Sr (2013). Histologic features of scalp melano-cytic nevi. *J Am Acad Dermatol.* 68(3):466-72. PMID:23267721
21. Herd RM, Hunter JA (1998). Familial halo naevi. *Clin Exp Dermatol.* 23(2):68-9. PMID:9692308
22. Zeff RA, Freitag A, Grin CM, Grant-Kels JM (1997). The immune response in halo nevi. *J Am Acad Dermatol.* 37(4):620-4. PMID:9344203
23. Baranda L, Torres-Alvarez B, Moncada B, Portales-Perez D, de la Fuente H, Layseca E, et al. (1999). Presence of activated lymphocytes in the peripheral blood of patients with halo nevi. *J Am Acad Dermatol.* 41(4):567-72. PMID: 10495377
24. Musette P, Bachelez H, Flageul B, Delarbre C, Kourilsky P, Dubertret L, et al. (1999). Immune-mediated destruction of melanocytes in halo nevi is associated with the local expansion of a limited number of T cell clones. *J Immunol.* 162(3):1789-94. PMID:9973443
25. Tokura Y, Yamanaka K, Wakita H, Kurokawa S, Horiguchi D, Usui A, et al. (1994). Halo congenital nevus undergoing spontaneous regression. Involvement of T-cell immunity in involution and presence of circulating anti-nevus cell IgM antibodies. *Arch Dermatol.* 130(8):1036-41. PMID:8053701
26. Cox NH, Bloxham CA, Lawrence CM (1991). Halo eczema-resolution after excision of the central naevus alone. *Clin Exp Dermatol.* 16(1):66-7. PMID:2025942
27. Loh J, Kenny P (2010). Meyerson phenomenon. *J Cutan Med Surg.* 14(1):30-2. PMID:20128988
28. Park HK, Leonard OD, Arrington JH 3rd, Lund HZ (1987). Recurrent melanocytic nevi: clinical and histologic review of 175 cases. *J Am Acad Dermatol.* 17(2 Pt 1):285-92. PMID:3624565
29. Fox JC, Reed JA, Shea CR (2011). The recurrent nevus phenomenon: a history of challenge, controversy, and discovery. *Arch Pathol Lab Med.* 135(7):842-6. PMID:21732772
30. Sommer LL, Barcia SM, Clarke LE, Helm KF (2011). Persistent melanocytic nevi: a review and analysis of 205 cases. *J Cutan Pathol.* 38(6):503-7. PMID:21362017
31. Seab JA Jr, Graham JH, Helwig EB (1989). Deep penetrating nevus. *Am J Surg Pathol.* 13(1):39-44. PMID:2909196
32. Cooper PH (1992). Deep penetrating (plexiform spindle cell) nevus. A frequent participant in combined nevus. *J Cutan Pathol.* 19(3):172--80. PMID:1401342
33. Magro CM, Abraham RM, Guo R, Li S, Wang X, Proper S, et al. (2014). Deep penetrating nevus-like borderline tumors: a unique subset of ambiguous melanocytic tumors with malignant potential and normal cytogenetics. *Eur J Dermatol.* 24(5):594-602. PMID:2511878
34. Scolyer RA, Zhuang L, Palmer AA, Thompson JF, McCarthy SW (2004). Combined naevus: a benign lesion frequently misdiagnosed both clinically and pathologically as melanoma. *Pathology.* 36(5):419-27. PMID:15370111

35. Wiesner T, Obenaus AC, Murali R, Fried I, Griewank KG, Ulz P, et al. (2011). Germline mutations in BAP1 predispose to melanocytic tumors. *Nat Genet.* 43(10):1018-21. PMID:21874003
36. Massi G, LeBoit PE (2014). Combined nevus. in: *Histological diagnosis of nevi and melanoma*. 2nd ed. Berlin: Springer; pp. 285-300.
37. Bamhill RL, Cerroni L, Cook M, Elder DE, Kerl H, LeBoit PE, et al. (2010). State of the art, nomenclature, and points of consensus and controversy concerning benign melanocytic lesions: outcome of an international workshop. *Adv Anat Pathol.* 17(2):73-90. PMID:20179431
38. Zaenglein AL, Heintz P, Kamino H, Zisblatt M, Orlow SJ (2002). Congenital Spitz nevus clinically mimicking melanoma. *J Am Acad Dermatol.* 47(3):441-4. PMID:12196758
39. Weedon D, Little JH (1977). Spindle and epithelioid cell nevi in children and adults. A review of 211 cases of the Spitz nevus. *Cancer.*
40. Requena C, Requena L, Kutzner H, Sanchez Yus E (2009). Spitz nevus: a clinico-pathological study of 349 cases. *Am J Dermatopathol.* 31(2):107-16. PMID:19318795
41. Paniago-Pereira C, Maize JC, Ackerman AB (1978). Nevus of large spindle and/or epithelioid cells (Spitz's nevus). *Arch Dermatol.* 114(12):1811-23. PMID:367281
42. Reed RJ, Ichinose H, Clark WH Jr, Mihm MC Jr (1975). Common and uncommon melanocytic nevi and borderline melanomas. *Semin Oncol.* 2(2):119-47. PMID:1234372
43. Smith NP (1987). The pigmented spindle cell tumor of Reed: an underdiagnosed lesion. *Semin Diagn Pathol.* 4(1):75-87. PMID:3671907
44. Bamhill RL, Barnhill MA, Berwick M, Mihm MC Jr (1991). The histologic spectrum of pigmented spindle cell nevus: a review of 120 cases with emphasis on atypical variants. *Hum Pathol.* 22(1):52-8. PMID:1985078
45. Bamhill RL, Mihm MC Jr, Magro CM (1991). Plexiform spindle cell naevus: a distinctive variant of plexiform melanocytic naevus. *Histopathology.* 18(3):243-7. PMID:2045075
46. Sagebiel RW, Chinn EK, Egbert BM (1984). Pigmented spindle cell nevus. Clinical and histologic review of 90 cases. *Am J Surg Pathol.* 8(9):645-53. PMID:6476194
47. Sau P, Graham JH, Helwig EB (1993). Pigmented spindle cell nevus: a clinicopathologic analysis of ninety-five cases. *J Am Acad Dermatol.* 28(4):565-71. PMID:8463457
48. Hung T, Yang A, Mihm MC, Barnhill RL (2014). The plexiform spindle cell nevus nevi and atypical variants: report of 128 cases. *Hum Pathol.* 45(12):2369-78. PMID:25300464
49. Madankumar R, Gumaste PV, Martires K, Schaffer PR, Choudhary S, Falto-Aizpurua L, et al. (2016). Acral melanocytic lesions in the United States: prevalence, awareness, and dermoscopic patterns in skin-of-color and non-Hispanic white patients. *J Am Acad Dermatol.* 74(4):724-30.e1. PMID:26803347
50. Palicka GA, Rhodes AR (2010). Acral melanocytic nevi: prevalence and distribution of gross morphologic features in white and black adults. *Arch Dermatol.* 146(10):1085-94. PMID:20956637
51. Sugianto JZ, Ralston JS, Metcalf JS, McFadden CL, Smith MT (2016). Blue nevus and "malignant blue nevus:" A concise review. *Semin Diagn Pathol.* 33(4):219-24. PMID:27199078
52. Murali R, McCarthy SW, Scolyer RA (2009). Blue nevi and related lesions: a review highlighting atypical and newly described variants, distinguishing features and diagnostic pitfalls. *Adv Anat Pathol.* 16(6):365-82. PMID:19851128

53. Hung T, Argenyi Z, Erickson L, Guitart J, Horenstein MG, Lowe L, et al. (2016). Cellular blue nevi and melanocytic lesions: analysis of clinical, histological, and outcome data in 37 cases. *Am J Dermatopathol.* 38(7):499-503.
54. Gupta D, Thappa DM (2013). Mongolian spots: how important are they? *World J Clin Cases.* 1(8):230-2. PMID:24340274
55. Hanson M, Lupski JR, Hicks J, Metry D (2003). Association of dermal melanocytosis with lysosomal storage disease: clinical features and hypotheses regarding pathogenesis. *Arch Dermatol.* 139(7):916-20. PMID:12873889
56. Igawa HH, Ohura T, Sugihara T, Ishikawa T, Kumakiri M (1994). Clef lip Mongolian spot: Mongolian spot associated with clef lip. *J Am Acad Dermatol.* 30(4):566-9. PMID:8157782
57. Inamadar AC, Palit A (2007). Persistent, aberrant Mongolian spots in Sjögren-Larsson syndrome. *Pediatr Dermatol.* 24(1):98-9. PMID:17300667
58. Fernandez-Guarino M, Boixeda P, de Las Heras E, Aboin S, Garcia-Millan C, Olasolo PJ (2008). Phakomatosis pigmentovascularis: clinical findings in 15 patients and review of the literature. *J Am Acad Dermatol.* 58(1):88-93. PMID:18045734
59. Hail BD, Cadle RG, Morrill-Cornelius SM, Bay CA (2007). Phakomatosis pigmentovascularis: implications for severity with special reference to Mongolian spots associated with Sturge-Weber and Klippel-Trenaunay syndromes. *Am J Med Genet A.* 143A(24):3047-53. PMID:17937434
60. Dorsey es, Montgomery H (1954). Blue nevus and its distinction from Mongolian spot and the nevus of Ota. *J Invest Dermatol.* 22(3):225-36. PMID:13130904
61. Plateroti AM, Scavella V, Abdolrahimzadeh B, Plateroti R, Rahimi S (2017). An update on oculodermal melanocytosis and rare associated conditions. *Semin Ophthalmol.* 32(4):524-8
62. Que SK, Weston G, Suchecki J, Rickerts J (2015). Pigmentary disorders of the eyes and skin. *Clin Dermatol.* 33(2):147-58. PMID:25704935
63. Mishirna Y, Mevorah B (1961). Nevus Ota and nevus Ito in American Negroes. *J Invest Dermatol.* 36(2):133-54. PMID:13771275
64. Mukhopadhyay AK (2004). Nevus of Ota associated with nevus of Ito. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 70(2):112-3. PMID:17642580
65. Mukhopadhyay AK (2013). Unilateral nevus of Ota with bilateral nevus of Ito and palatal lesion: a case report with a proposed clinical modification of Tanino's classification. *Indian J Dermatol.* 58(4):286-9. PMID:23918999
66. Ibrahim N, Haluska FG: Molecular pathogenesis of cutaneous melanocytic neoplasms. *Annu Rev Pathol* 4:551, 2009. [The genetic pathways relevant to melanoma suggest future therapeutic interventions.]
67. Ribas A, Flaherty KT: BRAF targeted therapy changes the treatment paradigm in melanoma. *Nat Rev Clin Oncol* 8:426, 2011. [Impact of inhibitors of mutated BRAF kinase on treatment of melanoma.]
68. McGovern VJ (1970). The classification of melanoma and its relationship with prognosis. *Pathology.* 2(2):85-98. PMID:5520514
69. Clark WH Jr, From L, Bernardino EA, Mihm MC (1969). The histogenesis and biologic behavior of primary human malignant melanomas of the skin. *Cancer Res.* 29(3):705-27. PMID:5773814

70. Clark WH (1991). Tumour progression and the nature of cancer. *Br J Cancer*. 64(4):631- 44. PMID:1911211
71. Shahla A, Parvaneh V, Hossein HD (2004). Langerhans cells histiocytosis in one family. *Pediatr Hematol Oncol*. 21(4):313-20. PMID:15205093
72. Curtin JA, Fridlyand J, Kageshita T, Patel HN, Busam KJ, Kutzner H, et al. (2005). Distinct sets of genetic alterations in melanoma. *N Engl J Med*. 353(20):2135-47. PMID:16291983
73. Lee EY, Williamson R, Watt P, Hughes Me, Green Ae, Whiteman De (2006). Sun exposure and host phenotype as predictors of cutaneous melanoma associated with neval remnants or dermal elastosis. *Int J eancer*. 119(3):636-42. PMID:16572428
74. Maldonado JL, Fridlyand J, Patel H, Jain AN, Busam K, Kageshita T, et al. (2003). Deter-minants of BRAF mutations in primary mela-nomas. *J Nail Cancer insi*. 95(24):1878-90. PMID:14679157
75. Whiteman DC, Watt P, Purdie DM, Hughes MC, Hayward NK, Green AC (2003). Melanocytic nevi, solar keratoses, and diver-gent pathways to cutaneous melanoma. *J Natl Cancer insi*. 95(11):806-12. PMID:12783935
76. Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, et al. (2002). Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature*. 417(6892):949-54. PMID:12068308
77. Bastian BC (2014). The molecular pathol-ogy of melanoma: an integrated taxonomy of melanocytic neoplasia. *Annu Rev Pathol*. 9(1):239--71. PMID:24460190
78. Krauthammer M, Kong Y, Bacchiocchi A, Evans P, Pornputtapong N, Wu C, et al. (2015). Exome sequencing identifies recurrent muta-tions in NF1 and RASopathy genes in sun-ex-posed melanomas. *Nal Genel*. 47(9):996- 1002. PMID:26214590
79. Viros A, Fridlyand J, Bauer J, Lasith-iotakis K, Garbe C, Pinkel D, et al. (2008). Improving melanoma classification by integrat-ing genetic and morphologic features. *PLoS Med*. 5(6):e120. PMID:18532874
80. Shain AH, Garrido M, Botta T, Talevich E, Yeh I, Sanborn JZ, et al. (2015). Exome sequencing of desmoplastic melanoma identifies recurrent NFKBIE promoter mutations and diverse activating mutations in the MAPK pathway. *Nal Genel*. 47(10):1194-9.
81. Potrony M, Sadenas C, Aguilera P, Puig-Sutlle JA, Carrera C, Malveyh J, et al. (2015). Update in genetic susceptibility in melanoma. *Ann Transl Med*. 3(15):210. PMID:26488006
82. Tomczak, K., Czerwińska, P., & Wiznerowicz, M. (2015). The Cancer Genome Atlas (TCGA): an immeasurable source of knowledge. *Contemporary oncology*, 19(1A), A68.
83. Hadis E, Watson IR, Kryukov GV, Arold ST, Imielinski M, Theurillat JP, et al. (2012). A landscape of driver mutations in melanoma. *Celi*. 150(2):251--63. PMID:22817889
84. Shain AH, Pollack JR (2013). The spectrum of SWI/SNF mutations, ubiquitous in human cancers. *PLoS One*. 8(1):e55119. PMID:23355908
85. Harbour JW, Onken MD, Roberson ED, Duan S, Cao L, Worley LA, et al. (2010). Frequent mutation of BAP1 in metastasizing uveal melanomas. *Science*. 330(6009):1410-3. PMID:21051595
86. Pollock PM, Harper UL, Hansen KS, Yudt LM, Stark M, Robbins CM, et al. (2003). High frequency of BRAF mutations in nevi. *Nal Genel*. 33(1):19-20. PMID:12447372

87. Botton T, Yeh I, Nelson T, Vemula SS, Sparatta A, Garrido MC, et al. (2013). Recurrent BRAF kinase fusions in melanocytic tumors offer an opportunity for targeted therapy. *Pigment Cell Melanoma Res.* 26(6):845-51. PMID:23890088
88. Wiesner T, He J, Yelensky R, Esteve-Puig R, Botton T, Yeh I, et al. (2014). Kinase fusions are frequent in Spitz tumours and spitzoid melanomas. *Nat Commun.* 5:3116. PMID:24445538
89. Yeh I, Botton T, Talevich E, Shain AH, Sparatta AJ, de la Fouchardiere A, et al. (2015). Activating MET kinase rearrangements in melanoma and Spitz tumours. *Nat Commun.* 6:7174. PMID:26013381
90. Yeh I, Tee MK, Botton T, Shain AH, Sparatta AJ, Gagnon A, et al. (2016). NTRK3 kinase fusions in Spitz tumours. *J Pathol.* 240(3):282-90. PMID:27477320
91. Shain AH, Yeh I, Kovalyshyn I, Sriharan A, Talevich E, Gagnon A, et al. (2015). The genetic evolution of melanoma from precursor lesions. *N Engl J Med.* 373(20):1926-36. PMID:26559571
92. Huang FW, Hadis E, Xu MJ, Kryukov GV, Chin L, Garraway LA (2013). Highly recurrent TERT promoter mutations in human melanoma. *Science.* 339(6122):957-9. PMID:23348506
93. Carr J, Mackie RM (1994). Point mutations in the N-ras oncogene in malignant melanoma and congenital naevi. *Br J Dermatol.* 131(1):72-7. PMID:8043423
94. Bastian BC, LeBoit PE, Pinkel D (2000). Mutations and copy number increase of HRAS in Spitz nevi with distinctive histopathological features. *Am J Pathol.* 157(3):967-72. PMID:10980135
95. Wiesner T, Kiuru M, Scott SN, Arcila M, Halpem AC, Holimann T, et al. (2015). NF1 mutations are common in desmoplastic melanoma. *Am J Surg Pathol.* 39(10):1357-62.
96. Lee S, Barnhill RL, Dummer R, Dalton J, Wu J, Pappo A, et al. (2015). TERT promoter mutations are predictive of aggressive clinical behavior in patients with spitzoid melanocytic neoplasms. *Sci Rep.* 5:11200.
97. Kiuru M, Jungbluth A, Kutzner H, Wiesner T, Susam KJ (2016). Spitz tumors: comparison of histological features in relationship to immunohistochemical staining for ALK and NTRK1. *Int J Surg Pathol.* 24(3):200-6.
98. Garami P, Scolyer RA, Xu X, Elder DE, Abraham RM, Fulien D, et al. (2013). Risk assessment for atypical spitzoid melanocytic neoplasms using FISH to identify chromosomal copy number aberrations. *Am J Surg Pathol.* 37(5):676-84.
99. Jung HJ, Kweon SS, Lee JB, Lee SC, Yun SJ (2013). A clinicopathologic analysis of 177 acral melanomas in Koreans: relevance of spreading pattern and physical stress. *JAMA Dermatol.* 149(11):1281-8.
100. Nappi O, Pettinato G, Wick MR (1989). Adenoid (acantholytic) squamous cell carcinoma of the skin. *J Cutan Pathol.* 16(3):114-21. PMID:2768593
101. Charbel C, Fontaine RH, Malouf GG, Picard A, Kadlub N, El-Murr N, et al. (2014). NRAS mutation is the sole recurrent somatic mutation in large congenital melanocytic nevi. *J Invest Dermatol.* 134(4):1067-74.
102. Fan Y, Lee S, Wu G, Easton J, Yergeau D, Dummer R, et al. (2016). Telomerase expression by aberrant methylation of the TERT promoter in melanoma arising in giant congenital nevi. *J Invest Dermatol.* 136(1):339-42.
103. Van Raamsdonk CD, Griewank KG, Crosby MB, Garrido MC, Vemula S, Wiesner T, et al. (2010). Mutations in GNA11 in uveal melanoma. *N Engl J Med.* 363(23):2191-9.

104. Maize JC Jr, McCalmont TH, Carlson JA, Busam KJ, Kutzner H, Bastian BC (2005). Genomic analysis of blue nevi and related dermal melanocytic proliferations. *Am J Surg Pathol* 29(9):1214-20. PMID:16096412
105. Jensen DE, Proctor M, Marquis ST, Gardner HP, Ha SI, Chodosh LA, et al. BAP1: a novel ubiquitin hydrolase which binds to the BRCA1 RING finger and enhances BRCA1-mediated cell growth suppression. *Oncogene* 1998;16:1097–112
106. Wang A, Papneja A, Hycza M, Al-Habeeb A, Ghazarian D. Gene of the month: BAP1. *J Clin Pathol* 2016;69:750–3.
107. Scheuermann JC, de Ayala Alonso AG, Oktaba K, Ly-Hartig N, McGinty RK, Fraterman S, et al. Histone H2A deubiquitinase activity of the Polycomb repressive complex PR-DUB. *Nature* 2010;465:243–7
108. Campagne A, Lee M-K, Zielinski D, Michaud A, Le Corre S, Dingli F, et al. BAP1 complex promotes transcription by opposing PRC1-mediated H2A ubiquitylation. *Nat Commun* 2019;10:1–15.
109. Di Croce L, Helin K. Transcriptional regulation by Polycomb group proteins. *Nat Struct Mol Biol* 2013;20:1147–55.
110. Meas R, Mao P. Histone ubiquitylation and its roles in transcription and DNA damage response. *DNA Repair (Amst)* 2015;36:36–42
111. Wu J, Lu L-Y, Yu X. The role of BRCA1 in DNA damage response. *Protein Cell* 2010;1:117–23
112. Nishikawa H, Wu W, Koike A, Kojima R, Gomi H, Fukuda M, et al. BRCA1-associated protein 1 interferes with BRCA1/BARD1 RING heterodimer activity. *Cancer Res* 2009;69:111–9.
113. Zhao W, Steinfeld JB, Liang F, Chen X, Maranon DG, Jian Ma C, et al. BRCA1–BARD1 promotes RAD51-mediated homologous DNA pairing. *Nature* 2017;550:360–5.
114. Ismail IH, Davidson R, Gagné J-P, Xu ZZ, Poirier GG, Hendzel MJ. Germline mutations in BAP1 impair its function in DNA double-strand break repair. *Cancer Res* 2014;74:4282–94.
115. Yu H, Pak H, Hammond-Martel I, Ghram M, Rodrigue A, Daou S, et al. Tumor suppressor and deubiquitinase BAP1 promotes DNA double-strand break repair. *PNAS* 2014;111:285–90.
116. Machida YJ, Machida Y, Vashisht AA, Wohlschlegel JA, Dutta A. The deubiquitinating enzyme BAP1 regulates cell growth via interaction with HCF-1. *J Biol Chem* 2009;284:34179–88.
117. Tyagi S, Chabes AL, Wysocka J, Herr W. E2F activation of S phase promoters via association with HCF-1 and the MLL family of histone H3K4 methyltransferases. *Mol Cell* 2007;27:107–19.
118. Pan H, Jia R, Zhang L, Xu S, Wu Q, Song X, et al. BAP1 regulates cell cycle progression through E2F1 target genes and mediates transcriptional silencing via H2A monoubiquitination in uveal melanoma cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2015;60:176–84.
119. Yu H, Mashtalir N, Daou S, Hammond-Martel I, Ross J, Sui G, et al. The ubiquitin carboxyl hydrolase BAP1 forms a ternary complex with YY1 and HCF-1 and is a critical regulator of gene expression. *Mol Cell Biol* 2010;30:5071–85
120. Okino Y, Machida Y, Frankland-Searby S, Machida YJ. BRCA1-associated Protein 1 (BAP1) deubiquitinase antagonizes the ubiquitin-mediated activation of FoxK2 target genes. *J Biol Chem* 2015;290:1580–91.

121. Bononi A, Giorgi C, Patergnani S, Larson D, Verbruggen K, Tanji M, et al. BAP1 regulates IP3R3-mediated Ca²⁺ flux to mitochondria suppressing cell transformation. *Nature* 2017;546:549–53.
122. Sime W, Niu Q, Abassi Y, Masoumi KC, Zarrizi R, Køhler JB, et al. BAP1 induces cell death via interaction with 14–3–3 in neuroblastoma. *Cell Death Dis* 2018;9:1–16.
123. Zhang Y, Shi J, Liu X, Feng L, Gong Z, Koppula P, et al. BAP1 links metabolic regulation of ferroptosis to tumor suppression. *Nat Cell Biol* 2018;20:1181–92.
124. Shrestha R, Nabavi N, Lin Y-Y, Mo F, Anderson S, Volik S, et al. BAP1 haploinsufficiency predicts a distinct immunogenic class of malignant peritoneal mesothelioma. *Genome Med* 2019;11:8.
125. Ladanyi M, Sanchez Vega F, Zauderer M. Loss of BAP1 as a candidate predictive biomarker for immunotherapy of mesothelioma. *Genome Med* 2019;11:18.
126. Gezgin G, Dogrusöz M, van Essen TH, Kroes WGM, Luyten GPM, van der Velden PA, et al. Genetic evolution of uveal melanoma guides the development of an inflammatory microenvironment. *Cancer Immunol Immunother* 2017;66:903–12.
127. Figueiredo CR, Kalirai H, Sacco JJ, Azevedo RA, Duckworth A, Slupsky JR, et al. Loss of BAP1 expression is associated with an immunosuppressive microenvironment in uveal melanoma, with implications for immunotherapy development. *J Pathol* 2020;250:420–39.
128. Abdel-Rahman MH, Pilarski R, Cebulla CM, Massengill JB, Christopher BN, Boru G, et al. Germline BAP1 mutation predisposes to uveal melanoma, lung adenocarcinoma, meningioma, and other cancers. *J Med Genet* 2011;48:856–9.
129. Testa JR, Cheung M, Pei J, Below JE, Tan Y, Sementino E, et al. Germline BAP1 mutations predispose to malignant mesothelioma. *Nat Genet* 2011;43:1022–5.
130. Haugh AM, Njauw C-N, Bubley JA, Verzi AE, Zhang B, Kudalkar E, et al. Genotypic and phenotypic features of BAP1 cancer syndrome. *JAMA Dermatol* 2017;153:999–1006.
131. Walpole S, Pritchard AL, Cebulla CM, Pilarski R, Stautberg M, Davidorf FH, et al. Comprehensive study of the clinical phenotype of germline BAP1 variant-carrying families worldwide. *J Natl Cancer Inst* 2018;110:1328–41.
132. Rai K, Pilarski R, Cebulla CM, Abdel-Rahman MH. Comprehensive review of BAP1 tumor predisposition syndrome with report of two new cases. *Clin Genet* 2016; 89: 285–94.
133. Baumann F, Flores E, Napolitano A, Kanodia S, Taioli E, Pass H, et al. Mesothelioma patients with germline BAP1 mutations have 7-fold improved long-term survival. *Carcinogenesis* 2015;36:76–81.
134. Masoomian B, Shields JA, Shields CL. Overview of BAP1 cancer predisposition syndrome and the relationship to uveal melanoma. *J Curr Ophthalmol* 2018;30:102–9.
135. Ewens KG, Lalonde E, Richards-Yutz J, Shields CL, Ganguly A. Comparison of germline versus somatic BAP1 mutations for risk of metastasis in uveal melanoma. *BMC Cancer* 2018;18:1172.
136. Nasu M, Emi M, Pastorino S, Tanji M, Powers A, Luk H, et al. High incidence of somatic BAP1 alterations in sporadic malignant mesothelioma. *J Thoracic Oncol* 2015;10:565–76.
137. Kato S, Tomson BN, Buys TPH, Elkin SK, Carter JL, Kurzrock R. Genomic landscape of malignant mesotheliomas. *Mol Cancer Ther* 2016;15:2498–507.
138. Farzin M, Toon CW, Clarkson A, Sioson L, Watson N, Andrici J, et al. Loss of expression of BAP1 predicts longer survival in mesothelioma. *Pathology* 2015;47:302–7.

139. Jin S, Wu J, Zhu Y, Gu W, Wan F, Xiao W, et al. Comprehensive analysis of BAP1 somatic mutation in clear cell renal cell carcinoma to explore potential mechanisms in Silico. *J Cancer* 2018;9:4108–16.
140. Murali R, Wiesner T, Scolyer RA. Tumours associated with BAP1 mutations. *Pathology* 2013;45:116–26. H
141. Landreville S, Agapova OA, Matatall KA, Kneass ZT, Onken MD, Lee RS, et al. Histone deacetylase inhibitors induce growth arrest and differentiation in uveal melanoma. *Clin Cancer Res* 2012;18:408–16.
142. Sacco JJ, Kenyani J, Butt Z, Carter R, Chew HY, Cheeseman LP, et al. Loss of the deubiquitylase BAP1 alters class I histone deacetylase expression and sensitivity of mesothelioma cells to HDAC inhibitors. *Oncotarget* 2015;6:13757–71.
143. Krug LM, Kindler HL, Calvert H, Manegold C, Tsao AS, Fennell D, et al. Vorinostat in patients with advanced malignant pleural mesothelioma who have progressed on previous chemotherapy (VANTAGE-014): a phase 3, double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet Oncol* 2015;16:447–56
144. LaFave LM, Béguelin W, Koche R, Teater M, Spitzer B, Chramiec A, et al. Loss of BAP1 function leads to EZH2-dependent transformation. *Nat Med* 2015;21:1344–9.
145. Sun C, Zhao C, Li S, Wang J, Zhou Q, Sun J, et al. EZH2 Expression is increased in BAP1-mutant renal clear cell carcinoma and is related to poor prognosis. *J Cancer* 2018;9:3787–96. 26275.
146. Zauderer MG, Szlosarek P, Le Moulec S, Popat S, Taylor P, Planchard D, et al. Phase 2, multicenter study of the EZH2 inhibitor tazemetostat as monotherapy in adults with relapsed or refractory (R/R) malignant mesothelioma (MM) with BAP1 inactivation. *JCO* 2018;36.
147. Aran D, Toperoff G, Rosenberg M, Hellman A. Replication timing-related and gene body-specific methylation of active human genes. *Hum Mol Genet* 2011; 20:670–680.
148. Maiti A, Drohat AC. Thymine DNA glycosylase can rapidly excise 5-formylcytosine and 5-carboxylcytosine: potential implications for active demethylation of CpG sites. *J Biol Chem* 2011; 286:35334–35338.
149. Haffner MC, Chaux A, Meeker AK, Esopi DM, Gerber J, Pellakuru LG, et al. Global 5-hydroxymethylcytosine content is significantly reduced in tissue stem/progenitor cell compartments and in human cancers. *Oncotarget* 2011; 2:627–637.
150. Kroeze LI, Aslanyan MG, van Rooij A, Koorenhof-Scheele TN, Massop M, Carell T, et al. Characterization of acute myeloid leukemia based on levels of global hydroxymethylation. *Blood* 2014; 124:1110–1118.
151. Bachman M, Uribe-Lewis S, Yang X, Williams M, Murrell A, Balasubramanian S. 5-Hydroxymethylcytosine is a predominantly stable DNA modification. *Nat Chem* 2014; 6:1049–1055.
152. Cheng J, Guo S, Chen S, Mastriano SJ, Liu C, D'Alessio AC, et al. An extensive network of TET2-targeting microRNAs regulates malignant hematopoiesis. *Cell Rep* 2013; 5:471–481.
153. Zhang P, Huang B, Xu X, Sessa WC. Ten-eleven translocation (Tet) and thymine DNA glycosylase (TDG), components of the demethylation pathway, are direct targets of miRNA-29a. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 437:368–373.

154. Shi B, Liang J, Yang X, Wang Y, Zhao Y, Wu H, Sun L, Zhang Y, Chen Y, Li R, et al.. Integration of estrogen and Wnt signaling circuits by the polycomb group protein EZH2 in breast cancer cells. *Mol Cell Biol* 2007. July; 27(14):5105-19
155. Jin SG, Jiang Y, Qiu R, Rauch TA, Wang Y, Schackert G, et al. 5-Hydroxymethylcytosine is strongly depleted in human cancers but its levels do not correlate with IDH1 mutations. *Cancer Res* 2011; 71:7360–7365.
156. Lian CG, Xu Y, Ceol C, Wu F, Larson A, Dresser K, et al. Loss of 5-hydroxymethylcytosine is an epigenetic hallmark of melanoma. *Cell* 2012; 150:1135–1146.
157. Giblin AV, Thomas JM. Incidence, mortality and survival in cutaneous melanoma. *Journal of Plastic Surgery* 2007; 60(1):32-40.
158. Murali R, Wilmott JS, Jakrot V, et al. BAP1 expression in cutaneous melanoma: a pilot study. *Pathology* 2013;45:606–9
159. LIU-SMITH, Feng; LU, Yunxia. Opposite roles of BAP1 in overall survival of uveal melanoma and cutaneous melanoma. *Journal of clinical medicine*, 2020, 9.2: 411.
160. KUMAR, Raj, et al. BAP1 has a survival role in cutaneous melanoma. *Journal of Investigative Dermatology*, 2015, 135.4: 1089-1097
161. Howell PM, Liu SH, Ren SP, et al. Epigenetics in human melanoma. *Cancer Control*. 2009;16:200.
162. Schinke C, Mo YK, Yu YT, et al. Aberrant DNA methylation in malignant melanoma. *Melanoma Res*. 2010;20:253.
163. Fratta E, Coral S, Cove A, et al. The biology of cancer testis antigens: putative function, regulation and therapeutic potential. *Mol Oncol*. 2011;5:164.
164. RODIĆ, Nemanja, et al. Diagnostic utility of 5-hydroxymethylcytosine immunohistochemistry in melanocytic proliferations. *Journal of cutaneous pathology*, 2015, 42.11: 807-814.
165. Uchiyama R, Uhara H, Uchiyama A, Ogawa E, Takazawa Y, Ashida A, et al. 5-Hydroxymethylcytosine as a useful marker to differentiate between malignant melanomas and benign melanocytic nevi. *J Dermatol Sci* 2014; 73:161–163.
166. LEE, Jonathan J., et al. 5-Hydroxymethylcytosine is a nuclear biomarker to assess biological potential in histologically ambiguous heavily pigmented melanocytic neoplasms. *Journal of cutaneous pathology*, 2017, 44.3: 249-255.
167. Gambichler T, Sand M, Skrygan M. Loss of 5-hydroxymethylcytosine and ten-eleven translocation 2 protein expression in malignant melanoma. *Melanoma Res*. 2013;23:218.
168. Saldanha G, Joshi K, Lawes K, et al. 5-Hydroxymethylcytosine is an independent predictor of survival in malignant melanoma. *Mod Pathol*. 2017; **30**: 60- 68.
169. Asangani, I.A., Harms, P.W., Dodson, L. et al. (2012). Genetic and epigenetic loss of microRNA-31 leads to feed-forward expression of EZH2 in melanoma. *Oncotarget* 3 1011– 1025.
170. McHugh JB, Fullen DR, Ma L, Kleer CG, Su LD. Expression of polycomb group protein EZH2 in nevi and melanoma. *J Cutan Pathol* 2007. August; 34(8):597-600
171. Kampilafkos P, Melachrinou M, Kefalopoulou Z, Lakoumentas J, Sotiropoulou-Bonikou G. Epigenetic Modifications in Cutaneous Malignant Melanoma: EZH2, H3K4me2, and H3K27me3 Immunohistochemical Expression is Enhanced at the Invasion Front of the Tumor. *Am J Dermatopathol* 2015. February; 37(2):138-44

172. Bachmann, I. M., Halvorsen, O. J., Collett, K., Stefansson, I. M., Straume, O., Haukaas, S. A., ... & Akslen, L. A. (2006). EZH2 expression is associated with high proliferation rate and aggressive tumor subgroups in cutaneous melanoma and cancers of the endometrium, prostate, and breast. *Journal of clinical oncology*, 24(2), 268-273.
173. Fan, T., Jiang, S., Chung, N., Alikhan, A., Ni, C., Lee, C. C. R., & Hornyak, T. J. (2011). EZH2-dependent suppression of a cellular senescence phenotype in melanoma cells by inhibition of p21/CDKN1A expression. *Molecular cancer research*, 9(4), 418-429.
174. Holling, T. M., Bergevoet, M. W., Wilson, L., Van Eggermond, M. C., Schooten, E., Steenbergen, R. D., ... & Van den Elsen, P. J. (2007). A role for EZH2 in silencing of IFN- γ inducible MHC2TA transcription in uveal melanoma. *The Journal of Immunology*, 179(8), 5317-5325.



EKLER

Ek-1. Çalışmaya dahil edilen tüm olgulara ait klinikopatolojik ve İHK bulgular

Biyopsi No	Cinsiyet +Yaş	Patolojik tanı	Lokalizasyon	Breslow (mm)	Clark (Level)	Ülserasyon	Tümör Çapı (mm)	Konak Cevabı	LN Tutulumu	Satellit	Transit	Uzak Metastaz	Status/Takip süresi (ay)	EZH 2	5-hmC	BAP 1
B314/10	K, 46	Akral Lentiginöz Melanom	Sol el	5	5	Yok	9	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 120	0	%80	-
B801/10	E, 56	Yüzeyel Yayılan Melanom	Sırt	2	2	Yok	10	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 120	10	%80	-
B1437/10	K, 29	Yüzeyel Yayılan Melanom	Sağ malar	2	2	Yok	3	Var-belirgin değil	Yok	Var	Yok	Var	ex / 61	83	%100	+
B6312/10	E, 62	Nodüler Melanom	Sol üst göz kapağı	5	4	Var	10	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Yok	ex / 11	0	%80	+
B4195/10	K, 41	Nodüler Melanom	Sol ayak tabanı	10	5	Yok	13	Var-belirgin değil	Yok	Var	Var	Var	ex / 24	0	0	-
B7733/10	E, 57	Malign Melanom	Sol Kalkaneal laterali	4	4	Yok	4	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Yok	ex / 17	20	%90	-
B10543/10	E, 53	Malign Melanom	Sol kol	4	3	Var	10	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Yok	ex / 8	10	%90	+
B11563/10	K, 63	Malign Melanom	Sağ ayak plantar	4	2	Var	5	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 115	31	%70	+
B135523/10	E, 28	Malign Melanom	Sağ uyluk	15	5	Yok	15	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Yok	ex / 1	0	%70	-
B18001/10	E, 70	Malign Melanom	Sağ uyluk	3	4	Yok	6	Var-belirgin değil	Yok	Var	Yok	Yok	ex / 5	20	%30	-
B18200/10	E, 68	Malign Melanom	Sol parietal	4	3	Var	8	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Var	ex / 21	152	%10	+
B2454/11	K, 58	Malign Melanom	Ayak tabanı	2	3	Yok	11	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 106	10	%40	-
B2823/11	K, 84	Nodüler Melanom	Sap plantar	9	3	Var	4	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Yok	ex / 33	0	%60	+
B8266/11	E, 48	Malign Melanom	Skalp vertex	7	3	Var	11	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Yok	ex / 30	30	%80	+
B16086/11	E, 77	Nodüler Melanom	Sol ayak plantar	8	4	Var	22	Var-belirgin değil	Var	Yok	Yok	Var	ex / 9	90	%20	+
B20435/11	E, 45	Nodüler Melanom	Sol Ayak 1.parmak	10	4	Var	40	Var-belirgin değil	Var	Yok	Yok	Yok	ex / 16	80	%70	+
B20496/11	K, 61	Malign Melanom	Sağ ayak plantar	3	3	Var	80	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 99	0	%80	-
B27522/11	K, 74	Malign Melanom	Servikal bölge	35	5	Var	30	Var-belirgin değil	Var	Yok	Yok	Yok	sağ / 96	10	%30	+

B2107/12	E, 56	Nodüler Melanom	Sol nazolabial	6	4	Var	6	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Var	ex / 102	10	%80	+
B6597/12	E, 57	Malign Melanom	Sol kalkaneal	10	5	Yok	48	Var-belirgin değil	Var	Var	Var	Var	ex / 33	0	%60	-
B8447/12	K, 44	Nodüler Melanom	Sol kulak heliksi	3	5	Yok	8	Var-belirgin değil	Var	Yok	Yok	Yok	sağ / 92	10	%90	+
B9694/12	E, 61	Nodüler Melanom	Sol ayak tabanı	8	4	Var	12	Var-belirgin değil	Var	Yok	Yok	Yok	sağ / 92	0	%0	-
B7492/12	K, 76	Malign Melanom	Sol kulak heliksi	1	3	Yok	3	Var-Belirgin	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 93	10	%90	-
B11673/12	K, 84	Malign Melanom	Sağ infraorbital	6	5	Var	17	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Yok	ex / 19	0	%0	-
B12288/12	K, 75	Nodüler Melanom	Sağ kalkaneal	6	4	Var	12	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Yok	ex / 20	0	%60	+
B17354/12	E, 66	Nodüler Melanom	Sol ayak 3.parmak	3	5	Yok	4	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Var	Yok	sağ / 88	0	%60	-
B17085/12	K, 65	Nodüler Melanom	Sağ bacak	5	4	Yok	11	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 89	25	%80	+
B16484/12	E, 46	Malign Melanom	Sol el 2. Parmak	3	4	Var	3	yok	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 89	0	%0	-
B26906/12	E, 67	Nodüler Melanom	Sağ mandibula	15	5	Var	35	Var-belirgin değil	Var	Yok	Yok	Var	ex / 19	0	%40	+
B26651/12	E, 84	Nodüler Melanom	Sol preaurikula	6	4	Var	12	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Var	ex / 29	29	%80	+
B2288/13	E, 72	Nodüler Melanom	Sağ ayak	6	4	Var	20	Var-belirgin değil	Var	Yok	Yok	Yok	ex / 1	5	%60	+
B2571/13	E, 27	Nodüler Melanom	Sol bacak ön yüz	3	2	Yok	10	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 83	0	%70	-
B4305/13	K, 49	Nodüler Melanom	Abdominal bölge	2	2	Var	7	Var-belirgin değil	Var	Yok	Yok	Var	ex / 29	8	%100	+
B10033/13	E, 74	Nodüler Melanom	Sağ yanak	6	4	Yok	6	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Yok	ex / 91	10	%30	+
B1476/13	K, 43	Nodüler Melanom	Skalp verteks	12	5	Yok	30	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 84	50	%80	+
B11711/13	E, 35	Malign Melanom	Sağ kulak heliks	3	4	Yok	8	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 80	0	%90	-
B13387/13	E, 74	Malign Melanom	Periumblikal bölge	6	4	Var	50	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Var	ex / 56	10	%90	-
B13587/13	K, 21	Nodüler Melanom	Omuz	3	3	var	10	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Yok	ex / 85	40	%100	+
B17454/13	E, 45	Malign Melanom	Sol ayak dorsali	1	2	Yok	25	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 77	0	%70	-
B22976/13	K, 40	Nodüler Melanom	Sol kol	4	3	Yok	8	Var-belirgin değil	Var	Yok	Yok	Var	ex / 63	60	%60	+
B1157/14	E, 73	Malign Melanom	Sol kalkaneal	8	4	Var	30	Var-belirgin değil	Var	Var	Yok	Var	ex / 10	0	%80	-
B6858/14	E, 86	Malign Melanom	Sağ el 3.parmak	12	4	var	10	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Var	ex / 13	30	%80	-

B9264/14	E, 47	Malign Melanom	Sağ frontal	1	2	Yok	6	Var-Belirgin	Var	Yok	Yok	Var	ex / 55	45	%100	+
B13113/14	E, 74	Malign Melanom	Sapğ kulak	6	5	Var	7	Var-Belirgin	Yok	Yok	Yok	Yok	ex / 29	70	%95	+
B15855/14	E, 59	Malign Melanom	Sağ ön kol	3	4	Var	13	Var-belirgin değil	Var	Yok	Yok	Var	ex / 50	32	%25	+
B18809/14	E, 49	Nodüler Melanom	Skalp verteks	6	5	Var	11	Var-belirgin değil	Var	Var	Yok	Yok	ex / 19	0	%30	+
B18602/14	K, 54	Nodüler Melanom	Sağ kruris posterior	2	4	Yok	4	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Var	ex / 36	15	%10	-
B23298/14	E, 79	Nodüler Melanom	Sol el 2. Parmak	2	3	Yok	6	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Var	ex / 33	0	%0	-
B27063/14	K, 72	Malign Melanom	Ayak tabanı	8	4	Var	25	Var-belirgin değil	Var	Yok	Yok	Var	ex / 9	40	%95	+
B615/15	K, 55	Malign Melanom	Sol el 1. Parmak	7	4	Var	10	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Var	ex / 56	0	%15	+
B1697/15	E, 45	Malign Melanom	Sağ kalkaneal	1.5	2	Yok	10	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 71	10	%80	-
B2976/15	K, 44	Malign Melanom	Sağ kruris posterior	0.7	2	Yok	2	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 70	0	%0	-
B7894/15	K, 74	Nodüler Melanom	Sol kalkaneal bölge	7	5	Var	25	yok	Var	Var	Yok	Yok	ex / 4	40	%90	+
B7926/15	E, 82	Malign Melanom	Sağ tibia anterioru	19.5	5	Yok	29	Var-belirgin değil	Var	Var	Yok	Yok	ex / 47	75	%70	-
B4577/15	E, 69	Malign Melanom	Sağ posterior	5	3	Var	8	Var-belirgin değil	Var	Yok	Yok	Var	ex / 8	60	%60	+
B8515/15	E, 67	Malign Melanom	Sağ kulak heliks	24	4	Var	25	Var-belirgin değil	Var	Yok	Yok	Yok	ex / 13	30	%100	+
B9255/15	E, 74	Nodüler Melanom	Sol malar bölge	12	5	Var	22	Var-belirgin değil	Var	Yok	Yok	Yok	ex / 67	0	%0	-
B11328/15	K, 45	Malign Melanom	Sağ deltoid	3	3	Yok	20	Var-belirgin değil	Var	Yok	Yok	Var	ex / 19	0	%30	-
B12967/15	E, 76	Malign Melanom	Skalp verteks	5	4	Yok	31	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Var	ex / 25	0	%65	-
B15445/15	K, 45	Nodüler Melanom	Sağ preaurikular	4	2	Var	11	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Var	ex / 23	80	%75	+
B17704/15	E, 83	Malign Melanom	Sağ ayak plantar	10	5	Var	16	Var-belirgin değil	Var	Yok	Yok	Var	ex / 16	20	%60	+
B21530/15	K, 64	Malign Melanom	Sağ kalkaneal	10	4	Var	32	Var-belirgin değil	Var	Yok	Var	Var	sağ / 63	0	%70	-
B21551/15	K, 71	Malign Melanom	Sağ lomber	4	4	Var	15	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 63	15	%90	-
B146/16	E, 56	Nodüler Melanom	Alt dudak	4	3	Var	13	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Var	ex / 33	10	%50	+
B1316/16	K, 47	Malign Melanom	Abdominal bölge	2	3	Yok	6	Var-belirgin	Var	Var	Yok	Var	ex/20	0	%100	-
B3367/16	E, 57	Nodüler Melanom	Tırnak	16	3	Yok	8	Var-Belirgin değil	Var	Yok	Yok	Var	ex / 54	90	%90	+

B18180/16	K, 50	Nodüler Melanom	Sol kruris	10	5	Var	23	Yok	Var	Yok	Yok	Var	ex / 12	40	%90	+
B10835/16	K, 76	Nodüler Melanom	Sol malar bölge	7	5	Yok	10	Var-belirgin	Yok	Var	Yok	Yok	ex / 8	10	%90	-
B14268/16	K, 52	Nodüler Melanom	Sol malar bölge	2	3	Yok	5	Var-Belirgin	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 54	40	%80	
B16520/16	E, 69	Malign Melanom	Sağ ayak 1.parmak	20	5	Var	65	Yok	Yok	Yok	Var	Yok	ex / 4	0	%80	+
B18181/16	K, 72	Yüzeyel yayılan Melanom	Sağ ayak mediali	0.7	2	Yok	12	Var-Belirgin	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 52	0	%20	-
B19447/16	E, 61	Malign Melanom	Sağ ön kol	2	3	Yok	11	Var-belirgin değil	Var	Yok	Yok	Yok	ex / 22	0	%40	-
B3059/17	E, 54	Yüzeyel Yayılan Melanom	Sağ uyluk anterior	0,2	1	Yok	9	Var-Belirgin	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 46	0	%0	-
B12857/17	K, 32	Yüzeyel yayılan Melanom	Sol lomber	1	2	Yok	7	Var-Belirgin	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 43	0	%80	-
B14601/17	E, 68	Nodüler Melanom	Sağ frontoparyetal	7	5	Var	10	Var-belirgin değil	Yok	Var	Yok	Yok	ex / 9	66	%100	+
B16371/17	K, 71	Malign Melanom	Sol infraorbital deri	4.5	4	Var	11	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Yok	ex / 31	50	%50	+
B18224/17	E, 62	Malign Melanom	Sağ meme derisi	3	3	Yok	17	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 41	19	%100	-
B20576/17	K, 25	Yüzeyel Yayılan Melanom	Sol kruris distal	1	2	Yok	1	Var-Belirgin	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 39	10	%60	-
B20956/17	K, 66	Malign Melanom	Sol submandibuler	2	4	Var	12	Var-Belirgin	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 39	54	%100	+
B23131/17	E, 64	Malign Melanom	Frontal deri	2	4	Yok	8	Var-Belirgin	Var	Yok	Yok	Var	ex / 20	13	%60	-
B23129/17	E, 60	Malign Melanom	Sağ ayak plantar	19	5	Var	41	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 38	0	%0	-
B24618/17	E, 61	Malign Melanom	Sırt	4	3	Var	5	Var-Belirgin	Var	Var	Var	Yok	sağ / 38	0	%10	-
B26101/17	E, 68	Malign Melanom	Sağ ayak plantar	7.5	4	Var	35	Var-belirgin değil	Var	Yok	Yok	Yok	ex / 23	20	%90	-
B2593/18	E, 69	Malign Melanom	Sağ malar	2.5	4	Yok	9	Var-Belirgin	Var	Yok	Yok	Yok	sağ / 34	3	%40	+
B4521/18	E, 44	Malign Melanom	Sol ayak laterali malleol	14.5	4	Var	33	yok	Var	Var	Var	Var	ex / 11	76	%40	+
B8892/18	K, 56	Nodüler Melanom	Sağ malar	2	4	Yok	7	Var-Belirgin	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 32	10	%50	+
B9461/18	K, 65	Malign Melanom	Lomber	1	2	Yok	30	Var-belirgin değil	Var	Yok	Yok	Yok	sağ / 31	0	%100	-
B10492/18	E, 68	Malign Melanom	Sol ayak	7	4	Var	7	Var-belirgin değil	Var	Yok	Yok	Var	sağ / 31	70	%100	+
B11672/18	K, 55	Malign Melanom	Sağ Ayak 4.web aralığı	2	3	Var	16	Var-Belirgin	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 31	10	%50	-
B15894/18	E, 63	Malign Melanom	Sağ kalkaneal deri	7.5	4	Var	18	yok	Var	Var	Yok	Var	sağ / 29	15	%90	+

B19261/18	E, 52	Malign Melanom	Nazal dorsum deri	2	5	Var	2	Var-belirgin değil	Var	Yok	Yok	Var	ex / 3	85	%100	+
B22129/18	E, 66	Malign Melanom	Sol ayak medial malleol	28	4	Var	45	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 26	30	%0	+
B24909/18	E, 36	Yüzeyel Yayılan Melanom	Sırt	0.8	2	Yok	11	Var-Belirgin	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 25	5	%40	-
B29400/18	E, 77	Malign Melanom	Sol gluteal	5	4	Var	35	yok	Var	Yok	Yok	Yok	sağ / 24	0	%100	+
B1576/19	E, 51	Nodüler Melanom	Sol temporal	1.4	3	Yok	6	Var-Belirgin	Yok	Yok	Yok	Var	sağ / 23	4	%100	+
B1873/19	K, 49	Malign Melanom	Sol paraskapula	1.1	3	Var	7	Var-Belirgin	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 23	26	%90	+
B6006/19	E, 72	Nodüler Melanom	Sağ ayak 1.parmak	5	3	Var	14	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 21	0	%70	-
B6447/19	E, 64	Malign Melanom	Sağ deltoid	3	4	Var	11	Var-Belirgin	Var	Yok	Yok	Yok	sağ / 21	20	%60	+
B7247/19	E, 70	Malign Melanom	Sağ ayak dorsali	33	5	Var	55	Yok	Yok	Var	Var	Var	sağ / 20	0	%40	-
B9262/19	E, 81	Nodüler Melanom	Sağ ayak plantar	19	5	Var	34	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Var	ex / 15	2	%20	+
B12896/19	K, 60	Yüzeyel Yayılan Melanom	Üst dudak	0,45	1	Yok	16.5	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 19	0	%90	-
B13579/19	E, 74	Yüzeyel Yayılan Melanom	Sternal deri	0,3	1	Yok	80	Var-Belirgin	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 18	0	%60	-
B13790/19	E, 74	Nodüler Melanom	Skalp vertex	4	4	Var	10	Var-Belirgin	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 18	25	%80	+
B16133/19	K, 53	Malign Melanom	Sol deltoid	1.5	3	Yok	12	Var-Belirgin	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 17	5	%90	+
B17149/19	K, 73	Malign Melanom	Sol kalkaneal	7	4	Var	29	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 17	25	%70	+
B18097/19	E, 75	Yüzeyel Yayılan Melanom	Abdominal bölge	0.3	2	Yok	45	Var-Belirgin	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 16	4	%70	-
B20074/19	E, 79	Malign Melanom	Skalp	1.3	5	Var	58	Var-belirgin değil	Var	Var	Yok	Yok	sağ / 15	5	%100	+
B20159/19	E, 57	Yüzeyel Yayılan Melanom	Sağ pektoral deri	1	1	Yok	35	Var-Belirgin	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 15	0	%40	-
B20577/19	K, 63	Yüzeyel Yayılan Melanom	Sağ malar	2	1	Yok	20	Var-Belirgin	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 15	5	%60	+
B21645/19	E, 54	Malign Melanom	Sağ torakal post	9	5	Var	54	Yok	Var	Var	Var	Var	sağ / 15	15	40	+
B24992/19	K, 60	Malign Melanom	Uyluk	15	4	Var	40	Var-belirgin değil	Var	Yok	Yok	Yok	ex / 13	90	%100	+
B29519/19	K, 55	Malign Melanom	Uyluk	6	2	Var	6	Var-belirgin değil	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 13	7	%75	+
B2490/20	E, 56	Nodüler Melanom	Oksipital deri	5.5	4	Var	11	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	sağ / 13	17	%70	+
B3201/20	K, 65	Nodüler Melanom	Sol ön kol	6.5	4	Yok	8	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	sağ / 12	0	%65	+

