

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**MALİGN MELANOMLARDA
MATRİKS METALLOPROTEİNAZLARIN VE
İNHİBİTÖRLERİNİN EKSPRESYONU**

UZMANLIK TEZİ
DR. MUSTAFA GÜRELİ

TEZ DANIŞMANI
YRD.DOÇ.DR. ÖZLEM ERDEM

ANKARA - 2007

İÇİNDEKİLER

	Sayfa no
I. GİRİŞ.....	1-2
II. GENEL BİLGİLER.....	3-16
III. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	17-20
IV. BULGULAR.....	21-32
V. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	33-40
VI. ÖZET.....	41-42
VII. SUMMARY.....	43-44
VIII. KAYNAKLAR.....	45-56

I-GİRİŞ

Malign melanoma bir çok ülkede hala ana sağlık problemlerinden biri olmaya devam etmektedir. 1960'ların ortasından beri melanoma insidansı özellikle Avrupa kökenli yaşlı hastalar başta olmak üzere yılda % 3-8 oranında artmaktadır (93). Melanomlar metastatik yayılım ve tümör invazyonunun araştırılması için en karakteristik solid tümörlerdir. Bu tümörlerin korkutuculuğu metastaz kapasitelerinin lokal büyümeye oranla daha yüksek olmasından kaynaklanır. Hastalardaki ana mortalite nedenini teşkil eden metastaz, tümör hücrelerinin ana tümör kitlesinden ayrılması ile başlayan kompleks ve bir çok olayın basamak basamak gelişmesi sonucu oluşur. Metastaz gelişimindeki asıl basamak ise doku inhibitörleri ile regüle edilen matriks metalloproteinazlar (**MMP**) gibi proteolitik enzimler tarafından bazal membranların ve ekstraselüler matriksin (**ESM**) degradasyonudur (51). ESM'in parçalanmasında sayısız proteazın rolü olduğu bilinmekte olup bunların içinde MMP ailesi önemli yer tutmaktadır. Son yıllarda MMP ailesinin üyelerinde hızlı bir artış görülmüştür. Günümüzde 27 farklı insan MMP'ı klonlanmış ve tanımlanmıştır (32). MMP'ların yara iyileşmesi, ovulasyon, blastokist implantasyonu, kemik gelişimi ve anjiogenez gibi bir çok fizyolojik olayda önemli rol aldığı bilinmektedir. Ayrıca özofagus, mide , kolon, prostat, akciğer ve meme karsinomu gibi bir çok tümörde invazyon basamaklarında rol oynamaktadırlar (33). Bütün MMP 'lar propeptid kısım içeren zimojenler olarak üretilirler (32,51). Aktiviteleri başlıca, gen transkripsiyonu, inaktif zimojenlerin aktivasyonu ve metalloproteinaz doku inhibitörlerinin oluşturduğu (tissue inhibitors of matrix metalloproteinases: **TIMP**) 3 basamakta kontrol edilir (11,33,88). MMP'lar adezyon molekülleri, büyüme faktörleri, anjiogenez ve apoptozis mediatörleri gibi çok geniş bir nonmatriks protein ailesi ile etkileşim içindedirler. Özellikle MMP ailesi içinde tip IV kollajeni parçalayabilme kabiliyetleri nedeniyle jelatinazlar (MMP-2, MMP-9) önemli bir grubu teşkil ederler.

Malign melanomlarda MMP'lar ve doku inhibitörlerinin ekspresyonu ve hastalığın progresyonu ile ilişkisini konu alan bir çok çalışma yapılmıştır. Clark seviyesi, Breslow değerleri ve mitoz gibi önemli histopatolojik özellikler ile MMP ve TIMP'lerinin ekspresyonu arasındaki ilişki çok az çalışmada konu edilmiştir.

Bu çalışmada 70 primer kutanöz malign melanom olgusu, histolojik tipi, mitoz sayısı, büyüme fazları, Clark ve Breslow değerleri, ülserasyon varlığı ve tümörü infiltre eden lenfositlerin varlığı açısından, retrospektif olarak incelenerek tekrar değerlendirildi. İmmünohistokimyasal olarak MMP-2, MMP-9, TIMP-1 ve TIMP-2 ekspresyonlarının yüzdesi ve boyanma şiddeti saptandı. Histopatolojik parametrelerle immünohistokimyasal parametreler karşılaştırılarak aralarındaki ilişki analiz edildi.

II-GENEL BİLGİLER

IIA-MALİGN MELANOM

Malign melanom, kısmen genç insanlarda sık görüldüğü (5,13,16,75) ve tedavi edilmezse ölüme neden olabileceği için en önemli kanserlerden biridir. İnsanlarda görülen tüm kanserlerin % 4.2'sini oluşturmaktadır (72). Son yıllarda beyaz ırkta malign melanomun insidansı ve mortalite oranları artış göstermektedir. Buna karşılık Afrikalılarda ve Asyalılarda insidansının düşmekte olduğu veya değişmediği bildirilmektedir. Melanomların sadece % 0.3'ü 14 yaşın altında görülmekte olup, ortalama tanı yaşı 57' dir. Genellikle erkek ve kadınlarda eşit sıklıkta görülürken 55 yaş üzerinde erkeklerde biraz daha sık olduğu saptanmıştır (77).

1-Etiyoloji

Malign melanom etiyolojisinde hem ailesel hemde çevresel faktörler rol oynamaktadır. Cilt tipi, nevüs sayısı, klinik olarak atipik nevüs olması ve ailede deri kanseri öyküsü en önemli melanom riski göstergeleridir. Özellikle birinci derece akrabalarda melanom öyküsü olmasının melanom riskini 8-12 kat arttırdığı bildirilmektedir (77). Ultraviole radyasyona (UVR) aralıklı olarak maruz kalmak ve özellikle endojen faktörlerin (cilt tipi I ve II, immünyetmezlik durumları ve genetik yatkınlık gibi) varlığı da melanom için zemin hazırlamaktadır. Özellikle çocukluk çağı boyunca aralıklarla UVR'a maruz kalmak etiyolojide rol oynayan temel risk faktörlerinden biri olarak kabul edilmektedir (4,44,59,61,86,100). CDKN2A gibi tümör baskılayıcı gen mutasyonları ailesel melanomlarla ilişkili olmakla birlikte melanomların sadece %1'den azında saptanır (3).

2-Klinik Özellikler

Beyaz ırkta erkeklerde en sık baş-boyun bölgesinde, sırtta, üst ekstremitede ve kadınlarda baş-boyun bölgesinde, bacaklarda , üst ekstremitede ve sırtta görülür. Asyalı ve Afrikalılarda ayak tabanı, müköz membranlar, el içi ve tırnak yatağı en sık geliştiği yerlerdir (77).

Melanom klasifikasyon şemalarının çoğu klinik olarak 4 major tipi tanımlamaktadır.

a)Lentigo maligna melanoma

Lentigo maligna zemininde gelişen invaziv tümörlerdir. Baş boyun bölgesinde ve daha yaşlı hastalarda sıklıkla görülür. Prognozu kısmen iyidir (36).

b)Yüzeyel yayılan melanoma

Beyaz ırkta en sık görülen tiptir. Gençlerde daha sık olup kısmen daha iyi prognoza sahiptir. Daha çok aralıklı olarak güneşe maruz kalan bölgelerde görülür (36).

c)Nodüler melanoma

Sıklıkla hızlı büyüyen kanayan ve ülser olan pigmentte nodül olarak bulgu verir. En agresif tiptir. Aralıklı olarak güneşe maruz kalan bölgelerde gelişir (36).

d)Akral lentiginöz melanoma

El içi, ayak tabanı veya tırnak altında gelişen pigmentte lezyonlardır (36).

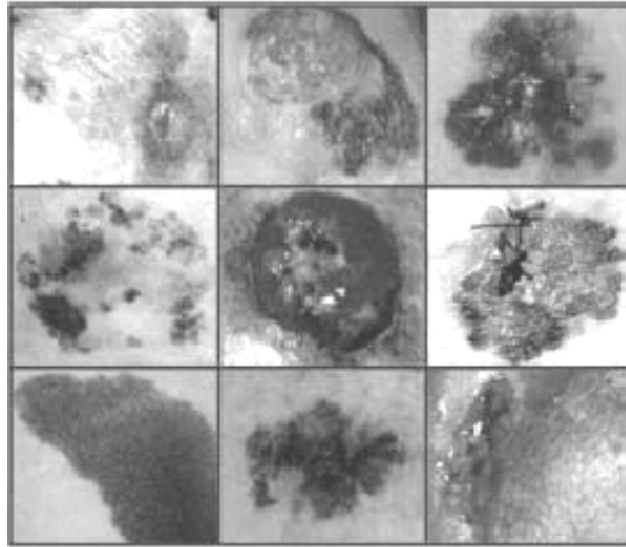
Orjin

Melanomlar prekürsör bir lezyon olmaksızın denovo olarak gelişebilir. Ancak yaklaşık %20-30 oranında önceden var olan melanositik bir nevüsten geliştiği tahmin edilmektedir (57,73). Her tip melanositik nevüsten melanom gelişebilmekle birlikte, en sık

konjenital melanositik nevüslerde melanom geliştiği bilinmektedir. Önceden var olan skar alanında melanomlar gelişebilir. Önceden biyopsi yapılmış veya dar eksizyon yapılmış alanlarda rekürrens primer tümörün yetersiz eksizyonunu gösterirken, histolojik olarak negatif marjinle çıkarılmış tümörlerde biyopsi yerinde rekürrens olması lokal metastatik hastalığı düşündürür (47).

A B C D (Asimetri, **B**order, **C**olor, **D**iameter) kuralı melanomların klinik tanısı için oldukça kullanışlı kriterlerdir (69). Genel olarak benign melanositik lezyonlar yuvarlak ve simetrik özelliğe sahipken, melanomlar asimetriktir. Benign melanositik lezyonların sınırları düzenli olmasına karşın melanomlar düzensiz sınırlıdır. Uniform, homojen renge sahip benign lezyonların tersine melanomlar daha heterojen renktedir. Sarı-kahverengiden siyaha kadar değişik renklerde olabilecekleri gibi kırmızı, beyaz veya mavi renkte alanlarda içerebilirler. Melanomlar genellikle 5-6 mm' den büyük çaplıdırlar. Bir çoğu 10 mm'den büyüktür (Resim 1) (77). Şüpheli lezyonlar tam kat biyopsi ile eksize edilmelidir (77). İnsizyonel veya punch biyopsiler eksizyonun tam anlamı ile uygulanamayacağı veya pratik olarak mümkün olmadığı durumlarda yapılmalıdır. Shave biyopsi ise lezyon derinliğinin tedavi ve prognozdaki önemi nedeniyle melanositik lezyonlarda asla kullanılmamalıdır.

Resim 1: Malign melanom için örnek lezyonlar



3-Sınıflama

Clark ve arkadaşlarının tasarladığı melanom klasifikasyonu (Tablo 1), melanomların büyük kısmının, yıllar içinde skuamöz epitel içindeki melanositlerin progresif proliferasyonu ile oluşması temeline dayanır (23,25). Radial büyüme fazında (**RBF**) proliferen olan atipik melanositler, epidermiste sınırlı veya aynı zamanda papiller dermiste mikro invazyon şeklinde infiltrasyon yapmıştır (20,22,23,24,25,38). Dermiste, epidermisteki en büyük melanositik hücre kümesinden daha büyük çapta tümör olması ya da dermiste mitoz olması durumunda vertikal büyüme fazı (**VBF**) olarak değerlendirilir. Tüm melanomların yaklaşık %90'ı vertikal büyüme fazındadır ve aynı zamanda intraepidermal komponent içerir. İntraepidermal komponent içermeyen %10 olgunun, intraepidermal komponentin hızlı progresyonu ile veya teorik olarak dermisteki melanositik hücrelerden veya deri eklerinden de nevo geliştiği düşünülmektedir (20,23,24).

Radial ve vertikal büyüme fazlarının tespiti, hastanın tedavisini ve prognozunu etkilediği için önemlidir. Radial büyüme fazındaki melanomların tedavisinde tek başına cerrahi uygulanır ve hasta kür olarak kabul edilir (9).

Tablo 1. Clark klasifikasyonu

Seviye I	Epidermis içinde sınırlı
Seviye II	Papiller dermise mikroinvazyon
Seviye III	Papiller dermisi doldurmuş
Seviye IV	Retiküler dermis invazyonu
Seviye V	Yağ doku invazyonu

SIK GÖRÜLEN TANISAL HİSTOPATOLOJİK ÖZELLİKLER

1-Epidermiste Yapısal Kriterler

a)Lezyonu büyüklüğü

Hem melanositik nevüsler hem de melanomlar tek hücre proliferasyonu şeklinde başlarlar. Melanomlar, 4mm'yi geçtiği zaman klinik olarak tanınır hale gelirler. Daha büyük çaptaki lezyonlar melanomu desteklemekle birlikte, literatürde 'küçük melanom' olarak adlandırılan 5 mm'den küçük melanomlar da tanımlanmıştır (12).

b)Simetri

Lezyonun bir tarafındaki melanosit dansitesini ve melanosit dağılım patternini diğer tarafı ile karşılaştırmak, sitolojik bulgular, tümöre karşı gelişmiş immün cevap, lezyonun adalar veya tek hücre proliferasyonu ile sonlanması lezyonun simetrisini değerlendirmede kullanılan kriterlerdir (36). Bu parametrelerden herhangi birinde asimetri olması melanom tanısını destekler. İrregüler pigment dağılımı ABCD kurallarından biridir ve melanom yönünden şüphe uyandırmaktadır (52).

Buna karşılık benign melanositik lezyonlar hücresel homojenite gösterirler. Melanositler uniformdur ve yapısal patternleri birbirine benzerdir. Benign melanositik lezyonlarda periferde hücre yuvalanmalarının kesin sınırlarla ayrımı kolayca yapılabilirken, melanomun intraepitelyal komponentinin nerede sonlandığı çoğu zaman oldukça zor olarak kestirilebilir.

Nodüler ve nevoid melanomlar simetrik, iyi sınırlı lezyonlardır ve homojen bir melanositik proliferasyonla karakterlidir (9).

2-Melanositlerin Epiteldeki Organizasyon Patternleri

Melanositlerin epidermiste oluşturduğu pattern kullanılan en önemli özelliklerden biridir. Melanositler epitelde 3 tip patternde bulunabilir. Bunlar pagetoid, lentiginöz ve yuvalanma patternleridir.

Pagetoid Pattern: Melanom tanısının konmasında en sık kullanılan kriterdir. Yüzeyel yayılan melanom için ise major bir tanı kriteridir. Memenin paget hastalığına benzerliğinden dolayı pagetoid yayılım terimi kullanılmaktadır. Melanom hücrelerinin skuamöz epitelin tüm tabakaları boyunca saçılmış tek hücreler veya küçük hücre yuvalanmaları şeklinde dağılımı olarak tanımlanır (39,46). Benign melanositik lezyonlarda da görülebilmesi nedeniyle tanı koyarken dikkatli olunmalıdır.

Lentiginöz Pattern: İntraepidermal lentiginöz pattern lentigo maligna' da, akral lentiginöz melanomda ve mukozal melanomlarda görülmektedir. Özellikle kronik olarak güneşe maruz kalan bölgelerde (21,25,28,30,53,54,70,91), akral deride (21,45,60,64) ve mukozal alanlarda (21) daha yaygındır.

Lentiginöz melanositik proliferasyonlar solar lentigodan aşikar melanoma insituya kadar giden histopatolojik olarak birbirinin devamı niteliğinde bir çok antiteyi içermektedir. Melanom patolojisindeki en sık karşılaşılan problem bu lezyonların melanoma insitu ile ayrımıdır. Bu noktada proliferasyonun bazal tabaka boyunca hemen hemen devamlı olması ve melanositlerin nükleuslarının komşu keratinosit nükleuslarına göre daha büyük olması durumunda melanom lehine düşünülmelidir (9).

Yuvalanma Patterni: Melanomlarda sık görülür ancak daima diğer iki proliferasyon patterni ile beraberdir.

3-Epidermis İçindeki Melanom Hücrelerinin Sitolojik Özellikleri

Hücre Tipi

Melanomlarda epiteloid hücreler, iğsi hücreler, küboidal hücreler, dentritik hücreler, nevüs benzeri hücreler, anaplastik dev hücreler, rabdoid hücreler ve taşlı yüzük hücreleri görülebilir (84,85). Ayrıca küçük hücreli ve şeffaf hücreli melanomlar da mevcuttur. Yüzeyel yayılan melanom ve nodüler melanomlarda hakim hücre tipi genellikle epiteloid hücrelerken, lentigo maligna melanomda iğsi hücreler sık olarak görülür. Aşırı güneşe maruz kalmış bölgelerde gelişen lentigo maligna melanomda dar sitoplazmalı koyu boyanmış köşeli nükleuslu hücreler de izlenebilir. Akral lentiginöz melanomlarda pleomorfizm belirgindir ve genellikle iğsi hücreler hakimdir (9,36).

4-Diğer özellikler

Regresyon

Melanomlar dikkate değer sıklıkta spontan regresyon gösteren tümörlerdir. Bazı metastatik melanomlarda bu nedenle primer odak saptanamamaktır. Regresyon en sık mikroinvaziv melanomlarda saptanır. İmmün aracılı bir fenomen olup sitotoksik lenfositlerin melanom hücrelerini eliminasyonuna dayanır. Komplet regresyon metastatik yayılıma neden olabildiğinden kötü prognoz kriteridir (41).

Doku Cevabı Ve Lenfositik İnfiltrasyon

İnvaziv melanomlarda görülen doku cevabı oldukça kompleks ve heterojen görünümündedir. Tümör kalınlığı arttıkça lenfositik infiltrasyonun ve diğer doku cevabı bulgularının ters orantılı olarak azaldığı saptanmıştır (62). Bu yüzden genellikle Breslow

kalınlığı 1-2 mm'nin altındaki melanomlarda papiller dermiste band tarzında izlenen lenfositik infiltrasyon, belirgin olarak değerlendirilir.

Mikroskopik Satellit Lezyonlar

Bir çok invaziv melanom olgusu retiküler dermiste veya deri altı yağ dokusunda ana tümör kitlesinden bağımsız küçük odaklar içerir. Bu tümör odakları en az 0.05 mm çaptadırlar ve mikroskopik satellit lezyon olarak adlandırılırlar (34).

Metastatik yayılım

Malign melanomun uzak metastazlarının çoğu, primer tümör eksizyonunu takiben birkaç yıl içinde saptanırlar. Ancak takiplerde 10 yıl hatta 25 yıl sonra malign melanom metastazı saptanması da nadir olmayarak görülebilir (31,83). Metastatik hastalık en sık bölgesel lenf nodlarına olur. Akciğer, karaciğer, santral sinir sistemi ve kemikler uzak organ metastazlarının sıklıkla saptandığı organlardır.

Melanositik Belirteçler

S100

İlk olarak santral sinir sisteminde izole edilen alfa ve beta subunitlerinin değişen kombinasyonlarının meydana getirdiği asidik, dimerik kalsiyum bağlayan protein ailesindendir (43). Aralarında melanositlerin de bulunduğu glial hücreler, Schwann hücreleri, kondrositler, adipositler, myoepitelyal hücreler ve bunlardan köken alan neoplastik hücreler gibi birçok hücre tipinde sitoplazmada ve nükleusta bulunan (71), melanositik lezyonlarda %95'in üzerinde boyanma gösteren, sensitivitesi yüksek, spesifitesi düşük (27,42,43,71,99) oldukça kullanışlı bir belirteçtir. Hem sitoplazmik hemde nükleer lokalizasyonu olmasına karşın sadece sitoplazmik boyanma izlenir (9,78).

HMB-45 (gp100)

Tirozinaz enzim sisteminde etkili olduğu düşünölen ve ilk olarak malign melanomun immatür melanozomları ile ilişkili olan bir onkofetal glikokonjugattan identifiye edilmiş bir monoklonal antikordur (78). Nevüslerin büyük kısmında dermal melanositlerinde HMB-45 ile boyanma görülmez (29). Normal bazal tabaka melanositlerinde özellikle yara iyileşmesi mevcutsa boyanma görölebilir. Melanositik lezyonların dermal komponentinde genellikle zayıf boyanır veya hiç boyanmaz (35). Spitz nevüs, junctional nevüs, displastik nevüs ve blue nevüste sıklıkla eksprese olur (101). Desmoplazmik veya nörotropik melanomlarda ise %95 olguda boyanma görülmez (9).

Melan-A (Mart-1)

Antikor A103 tarafından tanınan ve sitotoksik T hücreleri için hedef olan melanosit ilişkili bir belirteç olan Melan-A, HMB-45'in tersine melanozomlarla ilişkili değildir (10,14,15,19,56,76,78). Melanomlarda %95'in üzerinde sensitivitesi vardır. Spesifitesi HMB-45' ten biraz daha yüksektir. Normal derinin melanositleri, spitz nevüs, blue nevüs ve atipik nevüs dahil nevüslerin çoğunda membranöz ve sitoplazmik boyanma görülür (14,15). Metastatik melanomların %75'inde pozitifdir (9). Melanositlerin yanı sıra melanin üreten hücreler (periferik sinir kılıfı tümörleri ve anjiomyolipom tümör ailesi gibi) ve adrenal korteks hücreleri gibi steroid üreten hücrelerde de eksprese olur (78).

Tirozinaz

Melanin sentezinde anahtar rol oynayan enzimdir. Normal melanositlerde, nevüslerde ve melanomlarda eksprese olur. Melanositler için oldukça spesifik olup, sadece pigmente sinir kılıfı tümörleri ve anjiomyolipom gibi tümörlerde nadiren eksprese olur (9).

Diğer: Trozinaz bağımlı protein 1, mikroftalmi transkripsiyon faktör, P 75 ve NK1/C3 gibi henüz tanıda yaygın olarak kullanılmayan yeni belirteçler de mevcuttur.

IIB-MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR

Melanomlar metastatik yayılım ve tümör invazyonunun tanımlanması için en karakteristik solid tümörlerdir. Bu solid tümörlerin en önemli özelliği metastaz kapasitelerinin lokal büyümelerinden daha fazla olmasıdır. Bu nedenle malign melanomlu hastalardaki ana mortalite nedeni uzak metastazlardır. Metastaz oluşumu tümör hücrelerinin primer tümörden ayrılması ile başlayan kompleks ve çok basamaklı bir olaydır. Metastaz yapan tümör hücresi öncelikle ana tümör kitlesinden ayrılır, çevre dokuya ve bazal membrana invaze olur, bazal membranı ve ESM'i parçalayıp, lenfatiklere veya kan damarlarına girer, son olarak uzak organlarda adezyon yapıp damar dışına çıkar ve yerleşir. Metastaz gelişimindeki ana basamak, doku inhibitörleri ile aktiviteleri dengelenen MMP'lar gibi proteolitik enzimler tarafından oluşturulan ESM'in yeniden yapılandırılması ve bazal membran parçalanmasıdır (51). ESM'in ana komponentini esas olarak fibroblastlar tarafından yapılan kollajen oluşturmaktadır. ESM'in oluşmasında ikinci grup esansiyel moleküller ise heparan sülfat, keratan sülfat, kondroitin sülfat gibi yüksek moleküler ağırlıklı glikozaminglikanlara kovalent olarak bağlı olan proteoglikanlardır. Yapısında sülfatı ve protein koru olmayan hyaluronan ESM'in diğer bir major glikozaminglikanıdır (24,87).

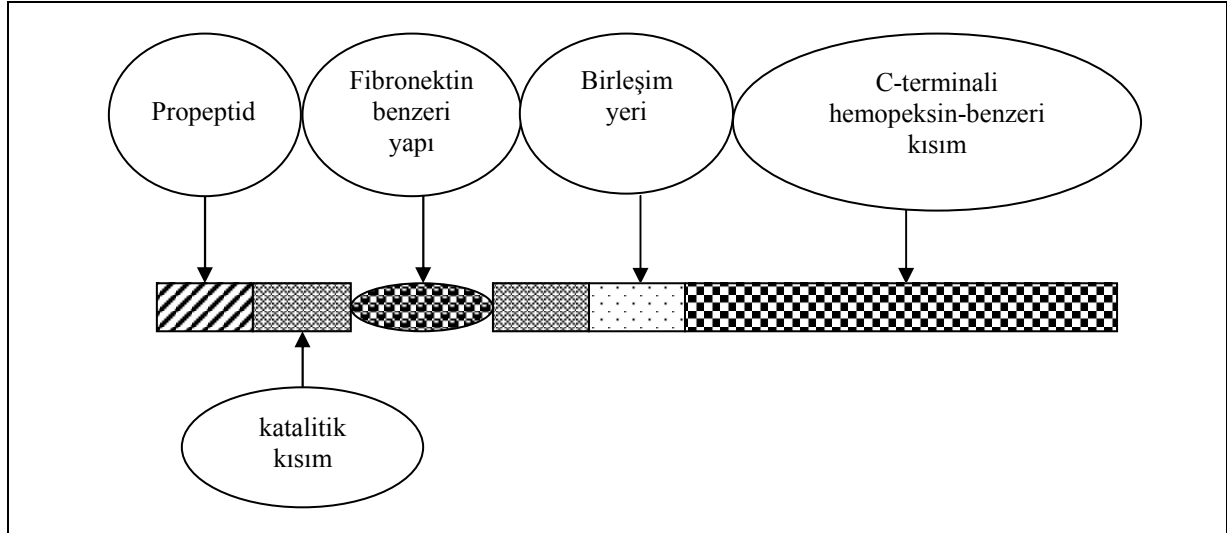
ESM yeniden yapılandırılmasında birkaç anahtar mekanizma çoğu zaman geçerlidir. Bunlardan birincisi sentez ve depolama, diğeri ise proteolitik yıkımdır. ESM'in parçalanmasında sayısız proteazın rolü olduğu bilinmekte olup, bunların içinde MMP ailesi önemli yer tutmaktadır.

Matriks Metalloproteinazların Yapıları Ve Fonksiyonları

MMP'lar bir kaç metalloendopeptidaz ailesinden biri olan metzinsin proteaz ailesinin alt grubundandır (87). Günümüzde 22 farklı insan MMP'ı klonlanmış ve tanımlanmıştır (51). İdentifikasyon sıralarına göre kronolojik olarak isimlendirilmişlerdir. Ancak son zamanlarda MMP'lar yapısal özelliklerine, substrat spesifitelerine ve hücrel lokalizasyonlarına göre sınıflandırılmış ve 5 farklı alt gruba ayrılmışlardır. Bu gruplar, kollajenaz, jelatinaz, stromelisin, membran tip MMP'lar ve diğerleridir (11,51,81).

MMP'ların yapıları N terminal propeptid, katalitik kısım ve C terminal hemopeksin benzeri kısımları içerir (32,33). Jelatinazlar (MMP-2, MMP-9) katalitik kısımlarında fibronektin-benzeri yapı içermeleri ile diğer MMP'lardan ayrılır (Şekil 1).

Şekil 1: Matriks metalloproteinazların yapıları



Jelatinazlar, jelatini, tip IV ve Tip V kollajeni parçalayabilen, tümör hücrelerinin yanı sıra stromal hücreler, makrofajlar ve nötrofiller tarafından da sentezlenen proteinazlardır. MMP-2 (Jelatinaz A) diğer MMP'lar gibi inaktif pro-MMP-2 şeklinde zimojen formunda üretilir ve aktivasyonu için propeptid kısmın proteolitik olarak ayrılması gerekir (32). MMP-

2 aktivasyonunda en bilinen mekanizma, hücre yüzeyinde MT1-MMP/TIMP-2 kompleksi tarafından aktifleştirilmesidir (67,82). Bir çok büyüme faktörü, sitokinler ve kemokinler de MMP-2 aktivitesinin regülasyonunda önemli rol oynarlar. Örneğin, integrinlerin MMP-2 aktivasyonunda rol oynadığı çalışmalarda gösterilmiştir (49). Tümör hücrelerinin oluşturduğu ekstrasellüler matriks metalloproteinaz indükleyici (**EMMPRIN; CD 147**) gibi faktörler, peritümöral fibroblastlardan MMP üretimini uyarırlar (89). Basigin (**CD147, fare EMMPRIN'i**) eksprese eden insan melanom hücreleri, dermal fibroblast kültürlerinde MMP-2 yanısıra MMP-1, -3 ve MT1-MMP üretimini de uyarmaktadır (66). Basigin'e karşı antikor kullanıldığında ise hem fibroblastlardan hem de invaziv melanom hücrelerinde MMP üretimi azalmaktadır (58). Stresle aktive olan mitojen-aktif protein (MAP) kinase'lar ise MMP-2 aktivasyonunu azaltırlar (37). TIMP-2, MMP-2 aktivitesini tek başına inhibe edebilen doku inhibitörüdür (33). MMP-2'nin sadece melanomlarda değil nevüslerde de melanositik hücrelerin dermiste aşağı doğru ilerlemesinde rol alabileceği düşünülmektedir (63). Yüksek MMP-2 ekspresyonunun malign melanomlu hastalarda saptanan hematogen metastazlar ile ve malign melanomun progresyonu ile korele olduğu bir çok çalışmada gösterilmiştir (48,95,96).

Melanom progresyonunda MMP-9'un rolü hakkında çelişkili bilgiler mevcuttur. MMP-9 geni olmayan farelerde yapılan çalışmada, metastaz formasyonunun baskılandığı dolayısıyla MMP-9'un metastaz için önemli bir faktör olduğu gösterilmiştir (55). MMP-9 ekspresyonunun regülasyonunda diğer MMP'larda olduğu gibi bir çok büyüme faktörü, sitokinler ve kemokinlerin aktif rol oynadığı bilinmektedir. Özellikle interlökin β ve tümör nekrozis faktörü α 'nın MMP-9 regülasyonunda etkili olduğu bilinmektedir (79) MMP-9 ekspresyonu, radial büyüme fazındaki primer melanomlarda yüksek oranda saptanırken, vertikal büyüme fazında ekspresyonunun düşük olması, MMP-9'un ESM'in degradasyonu ve melanom hücre invazyonunun erken evrelerinde etkin olduğu, ekstrasvazyon gibi geç basamaklarla ilişkisiz olduğu sonucunu doğurmuştur (50,102).

IIC-MATRİKS METALLOPROTEİNAZ DOKU İNHİBİTÖRLERİ

Matriks metalloproteinazların ana fizyolojik inhibitörleri, metalloproteinaz doku inhibitörleri (**TIMP**)’dir. TIMP’leri düşük molekül ağırlıklı protein ailesinin üyelerindendirler ve MMP’ların aktif formlarını spesifik olarak inhibe edebilirler. TIMP’leri tarafından MMP aktivitesinin inhibisyonu çok önemli bir regülatör mekanizmadır (33).

Matriks Metalloproteinaz Doku İnhibitörlerinin Yapıları Ve Fonksiyonları

TIMP’leri, MMP’lar ile kompleks oluşturan ve onların fonksiyonel aktivitelerini düzenleyen proteinlerdir. Birkaç farklı TIMP (TIMP-1’den TIMP-4’e kadar) identifiye edilmiştir. TIMP moleküllerinde, MMP inhibe edici aktiviteyi sağlayan büyük N terminal kısım ve proenzimlerle kompleks oluşturan daha küçük C-terminal kısım olmak üzere 2 farklı fonksiyonel ve yapısal kısım tanımlanmıştır (33).

TIMP-1 28,5 kD ağırlıkta ve ilk olarak tavşan kemiğinden elde edilen bir glikoproteindir. Sonradan insan vücut sıvıları ve dokularında da olduğu anlaşılmıştır. Bütün aktive kollajenazları inhibe edebilir. Fibroblast büyüme faktörü, platelet-derive büyüme faktörü , forbol esterleri ve interlökin-1 gibi bir çok uyarıcı TIMP-1’in fibroblastlardaki ekspresyonunu arttırmaktadır (33).

TIMP-2, ilk kez melanom hücrelerinden izole edilen 21 kD ağırlıkta non-glikolize bir proteindir (94). MMP-2’yi inhibe eder ve fibroblast gibi bazı hücrelerde pro-MMP-2 ile birlikte sekrete edilir. Ancak alveolar makrofajlarda olduğu gibi tek başına da sekrete edilebilirler (33).

TIMP-3 meme kanserinden identifiye edilmiş TIMP-1 ve TIMP-2'den farklı bir inhibitör proteindir (33). Son zamanlarda insan kalbinde saptanan TIMP ailesinin son üyesi TIMP-4'ün de tümör invazyon ve metastazını inhibe ettiği gösterilmiştir (98).

Hücre kültürleri ve fare modelleri ile yapılan bir çok çalışma MMP'lar ve TIMP'leri arasındaki dengenin tümör progresyonunu belirlediği gösterilmiştir. Bugüne kadar olan çalışmalar sonucunda TIMP-1, -2 ve -3'ün tümör büyümesini , melanom hücre invazyonunu ve metastaz formasyonunu azalttığı konusunda fikir birliği oluşmuştur (6). Buna rağmen in situ çalışmalar TIMP-1 ve TIMP-3 'ün melanositik tümör progresyonunun geç bir kanıtı olduğunu göstermiştir. Artmış TIMP ekspresyonu bir antimetastatik etkiyi gösterebildiği gibi, bazen de kötü prognoz habercisi olabilmektedir (33). TIMP'leri MMP aktivasyonu da yaptıkları için sadece MMP'ların basit bir inhibitörü değildirler. Örneğin MMP-2 aktivasyonu için MT-1 MMP, proMMP-2 ve TIMP-2 üçlü kompleksinin oluşması gerekmektedir (17,32). Diğer yandan TIMP-2'nin tümör anjiogenezisini engelleyici etkisi de gösterilmiştir. Antianjiogenik etkinin TIMP-2'in MMP'den bağımsız bir mekanizmanın ürünü olduğuna inanılmaktadır (102). TIMP-2'nin p38 MAP kinase yolunu bloke ederek tümör vaskülarizasyonunu azalttığı bildirilmiştir (40). TIMP-1'in ve TIMP-3'ün Clark seviyesi III-IV tümörlerde, TIMP-2'nin ise daha az düşük invazyon potansiyelli melanomlarda daha yüksek oranda eksprese olduğu bildirilmektedir (2).

III-GEREÇ VE YÖNTEMLER

1.HASTALAR

Çalışmaya 1990-2006 yılları arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda primer kutanöz invaziv malign melanom tanısı almış 70 olgu alındı. Olguların yaş, cinsiyet ve tümör lokalizasyonları gibi demografik verileri kaydedildi.

2.MİKROSKOPİK İNCELEME

Olgulara ait Hematoksilen Eozin boyalı kesitler tekrar değerlendirildi.

Histolojik tiplerin tayininde tümörler nodüler malign melanom, yüzeyel yayılan melanom, lentigo maligna melanom ve akral lentiginöz malign melanom olmak üzere 4 ayrı kategoriye ayrıldı.

Mitoz sayımı, derin dermiste invaziv tümör alanlarında 400 büyütmede 1mm² 'lik tümör alanında sayıldı.

Her bir olgunun epidermiste ülserasyon içerip içermediği saptandı. Ülserasyon içermeyen olgularda Breslow'a göre tümör kalınlığı granüler tabakadan itibaren, ülserasyon içerenlerde ise ülserasyon yüzeyinden itibaren en derin invazyon alanına kadar milimetre cinsinden ölçülüp kaydedildi.

Papiller dermiste invazyon içermeyen veya mikro invazyon saptanan olgular RBF, dermiste, epidermisteki en büyük melanositik hücre kümesinden daha büyük tümör olması ya da dermiste mitoz olması durumunda VBF olarak değerlendirildi.

Bütün olgular Tablo 1'de gösterilen Clark klasifikasyonuna uygun olarak gruplandırıldı.

Tümörü infiltre eden lenfositler (TIL) yok, belirgin değil, belirgin TIL varlığı olarak skorlandı. Tüm tümör tabanı boyunca kesintisiz olarak devam eden lenfositik infiltrasyon belirgin olarak değerlendirildi.

3.İMMÜNHİSTOKİMYASAL YÖNTEM

Her bir olgu için, bir adet tanısal olan ve en çok tümör içeren parafin blok saptandı. Belirlenen bloklardan MMP-2, MMP-9, TIMP-1 ve TIMP-2 ekspresyonunu immünhistokimyasal olarak belirlemek amacıyla 3-4 mikron kalınlığında kesitler hazırlandı.

- 1- 3-4 mikron kalınlığında hazırlanan kesitler 56°C'lik etüvde 12 saat tutularak deparafinize edildi.
- 2- Yarım saat ksilolde bekletildi.
- 3- Her birinde beşer dakika bekletilerek sırasıyla %100, %95 ve %90'lık alkolden geçirilerek hidrasyonları yapıldı.
- 4- Çeşme suyu ile yıkandı.
- 5- Endojen peroksidazı bloke etmek için %3'lük hidrojen peroksitte 10 dakika süre ile oda sıcaklığında bekletildi.
- 6- PBS buffer (pH 7,6) ile 5 dakika süresince yıkandı.
- 7- 0,01m sodyum sitrat tamponu (pH 6,0) içinde toplam 15 dakika süre ile mikrodalga fırında işlem gördü.
- 8- Distile su ile 3 kez yıkandı.
- 9- Kesitler 20 dakika süre ile non-immün protein bloklama serumunda bekletildi.
- 10- Birincil (primer) antikorlar MMP-2 Ab-4 (72 kD collagenase IV, Clone A-Gel VC2, Neomarkers), MMP-9 (92 kD Collagenase IV, Neomarkers), TIMP-1 Ab-2 (Clone 102D1, Neomarkers) ve TIMP-2 Ab-5 (Clone 3A4, Neomarkers) kesitleri kapatacak şekilde uygulandı ve oda sıcaklığında 2 saat süre ile bekletildi.

11- 2 kez 5'er dakika PBS ile yıkandı ve kurutuldu.

12- Bağlayıcı (sekonder) antikor (Multi-species Ultra Streptavidin detection system-HRP; Signet, Massachusetts, USA) ile oda sıcaklığında 20 dakika süre ile inkübasyon yapıldı.

13- 2 kez 5'er dakika PBS ile yıkandı.

14- Streptavidin-biyotin kompleksi uygulanarak 30 dakika bekletildi.

15- 2 kez 5'er dakika PBS ile yıkandı.

16- 10 dakika süreyle renk vererek görüntülemeyi sağlamak amacıyla AEC (3-Amino-9-Ethylcarbazole) ile muamele edildi.

17- 5 dakika distile su ile yıkandı.

18- Zemin çabuk boyama yöntemi ile Mayer hematoksilen ile boyandı.

19- Dehidrasyon için kesitler sırasıyla %90, %95 ve %100'lük alkolde beşer dakika tutuldu, ksilolde şeffaflaştırıldı ve entellan ile kapatıldı.

Pozitif kontrol olarak MMP-2 ve MMP-9 için meme karsinomu, TIMP-1 için over karsinomu ve TIMP-2 için kolon karsinomu kullanıldı.

4.İMMÜNHİSTOKİMYASAL BOYANMALARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

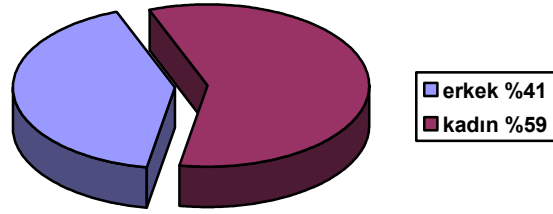
Sitoplazmik ve membranöz boyanma pozitif kabul edildi. Işık mikroskopunda küçük büyütmede (x100) bütün tümör alanları tarandı ve her bir antikor için boyanan hücrelerin tüm tümör hücrelerine olan oranı x200 büyütmede (boyanma yaygınlığı) semikantitatif ve subjektif olarak yüzde ile belirtildi. Kesitlerde boyanma şiddeti her bir antikor için hiç boyanma yok ise 0, hafif boyanma var ise 1, orta derecede boyanma var ise 2 ve kuvvetli boyanma var ise 3 olarak skorlandı.

5.İSTATİSTİKSEL ANALİZ

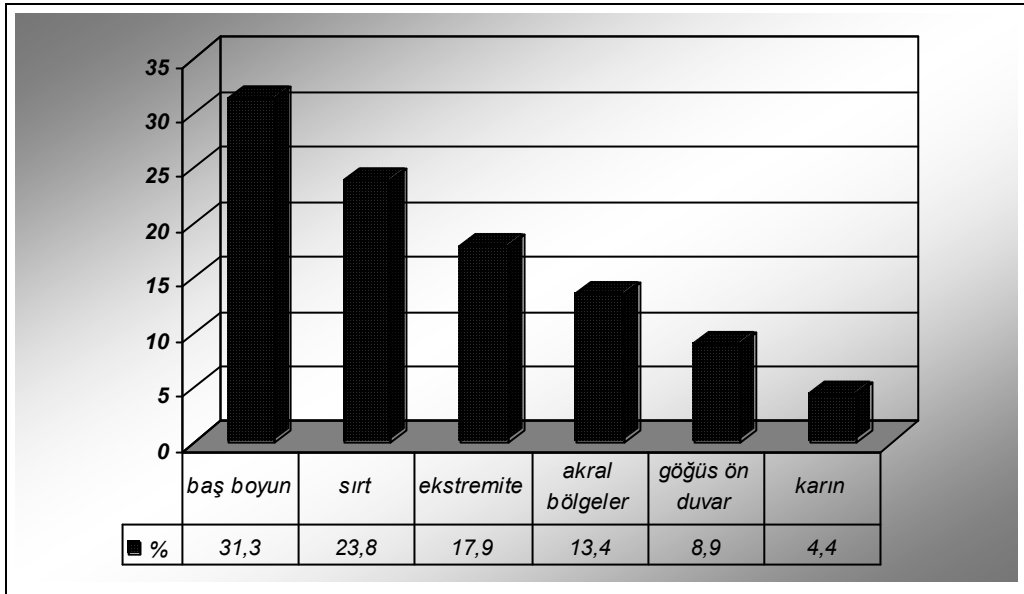
Yeniden değeriendirilen 70 primer kutanöz malign melanom olgusu MMP-2, -9, TIMP-1 ve -2 ile olan boyanma yaygınlığı ve şiddeti, histopatolojik bulgular ve hastaların yaşları SPSS 10.0 programı kullanılarak incelendi. Parametreler Mann Whitney-U testi, ANOVA, χ^2 testi ve korelasyon analizi ile karşılaştırıldı. *p* değeri 0.05'den küçük olanlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

V-BULGULAR

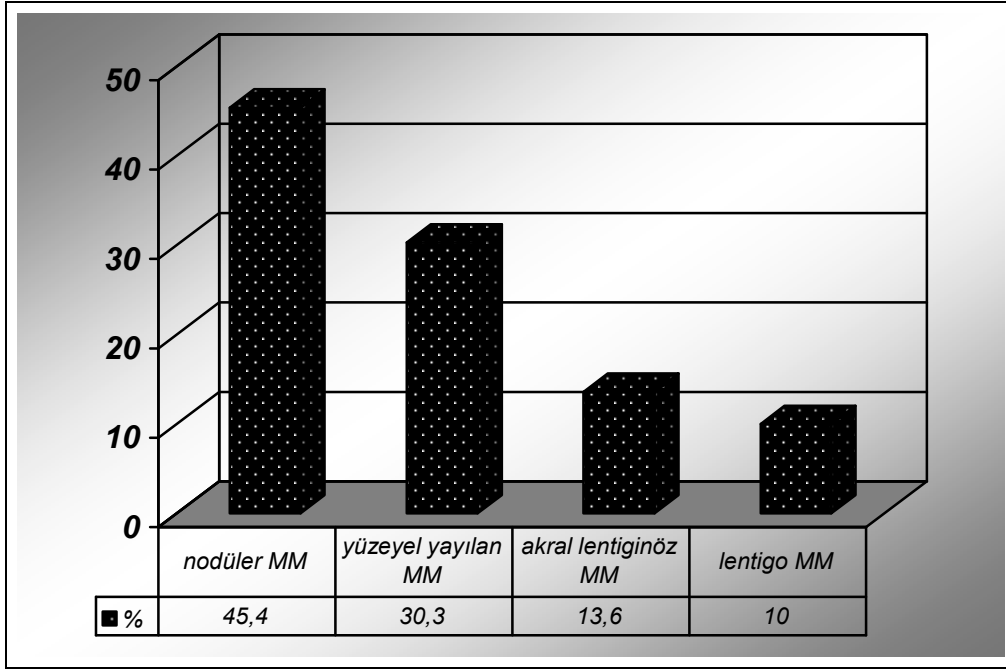
Tanı anında hastaların yaşı 24-87 arasında olup, ortalama 53.4 idi. Çalışmaya alınan olguların 29'u kadın 41'i erkek olup, kadın/erkek oranı 1,4 olarak bulundu (Şekil 2). Tümör lokalizasyonlarına bakıldığında 21'i başboyun, 16'sı sırt, 12'si ekstremita, 5'i akral bölgeler, 6'sı göğüs ön duvarı ve 3'ü karında lokalize idi (Şekil 3). Olguların histopatolojik subtiplere göre dağılımı incelendiğinde; 30'u nodüler, 20'si yüzeysel yayılan melanom, 9'u akral lentiginöz melanom ve 7'si lentigo maligna melanom idi (şekil 4).



Şekil 2: Kadın ve erkek hastaların oranları



Şekil 3: Tümör lokalizasyonları



Şekil 4: Histolojik tipler

1.HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

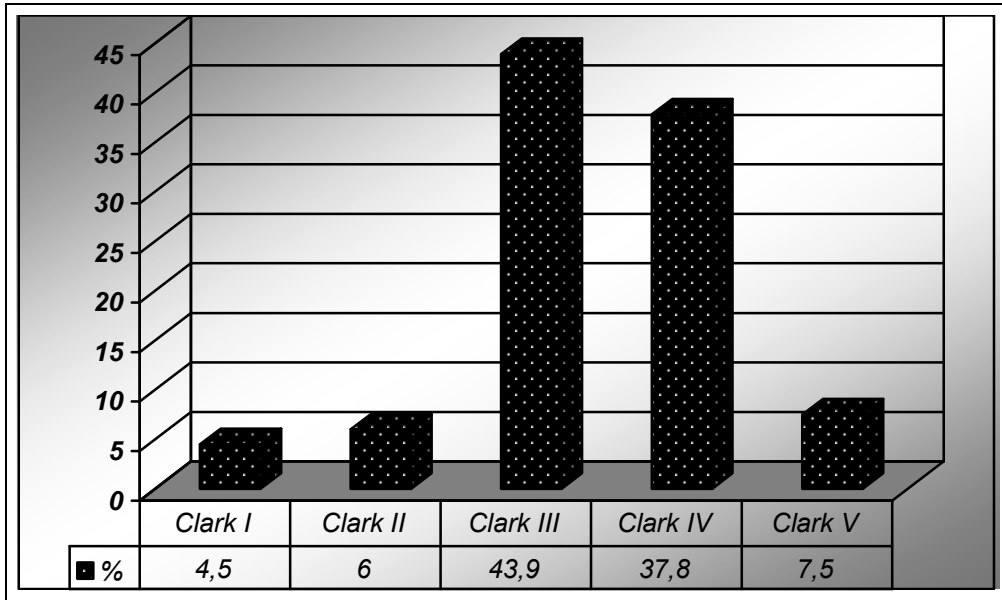
Histopatolojik subtipler ile diğer histopatolojik parametreler arasında anlamlı bir korelasyon bulunamadı ($p>0,05$).

İnvaziv tümör alanlarında mitoz sayısı 0-20 arasında değişmekte olup, ortalama 4,66/olgu olarak saptandı. Mitoz sayısının, Clark Seviyesi, Breslow kalınlığı ve ülserasyon varlığı ile istatistiksel olarak ilişkili olduğu izlendi ($p<0.05$).

Çalışmaya dahil edilen malign melanom olgularının Breslow'a göre tümör kalınlığı 1-17 mm arasında olup ortalama 4,5 mm bulundu. Breslow değerleri histopatolojik parametrelerden ülserasyon varlığı, Clark seviyesi ve mitoz sayısı ile istatistiksel olarak ilişkili idi ($p<0.05$).

Ülserasyon olguların 26'sında (%38,2) saptanırken, 42 olguda (%61,8) izlenmedi. Ülserasyonun diğer histopatolojik parametrelerden mitoz sayısı, Clark seviyesi ve Breslow'a göre tümör kalınlığı ile istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gösterdiği görüldü ($p<0.05$).

Olgulara ait Clark seviyelerinin dağılımı Şekil 6'da özetlenmiştir. Clark seviyesi değerlerinin, ülserasyon ile ve mitoz oranı ile aralarında pozitif korelasyon olduğu, radial büyüme fazı ile ise aralarında ters korelasyon olduğu saptandı. Clark seviyesi ile hasta yaşları arasında zayıf da olsa bir korelasyon olduğu gözlemlendi ($p<0.05$).



Şekil 6: Clark klasifikasyonu oranları

Histopatolojik olarak incelenen parametrelerden mitoz sayısı, Breslow değerleri, ülserasyon ve Clark seviyesi birbirleri ile korelasyon içerirken, bu parametrelerin TIL, büyüme fazları, histolojik tipler ve hasta yaşları gibi diğer parametrelerle aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmedi.

Tümörü infiltre eden lenfositler, 1 olgu (%0,14) dışında diğer 68 olguda (%98,5) mevcut olup, 68 olgunun 57'sinde (%83,8) belirgin olmayan TIL varlığı, kalan 11 olguda ise

(%15,9) belirgin TIL varlığı görüldü. TIL'ler hiçbir histopatolojik parametre ile ilişkili bulunmadı.

Clark seviyesi, RBF ile korele olan tek parametre olarak dikkat çekti.

Tablo 2. Histopatolojik parametreler arasındaki korelasyonlar, r ve p değerleri

	<i>Mitoz</i>	<i>Clark</i>	<i>Breslow</i>	<i>Ülserasy</i>	<i>RBF</i>	<i>VBF</i>	<i>TIL</i>	<i>Hist Tip</i>	<i>Yaş</i>
<i>Mitoz</i>		r 0,343 p 0,006	r 0,419 p 0,001	r 0,341 p 0,006	r -0,088	r -0,175	r -0,195	r 0,014	r 0,241
<i>Clark</i>	r 0,343 p 0,006		r 0,378 p 0,002	r 0,312 p 0,011	r -0,350 p 0,006	r -0,012	r -0,212	r -0,024	r 0,265 p 0,044
<i>Breslow</i>	r 0,419 p 0,001	r 0,378 p 0,002		r 0,407 p 0,001	r -0,194	r 0,040	r -0,141	r 0,051	r 0,223
<i>Ülserasy</i>	r 0,341 p 0,006	r 0,312 p 0,011	r 0,407 p 0,001		r -0,201	r -0,067	r 0,740	r 0,088	r 0,105
<i>RBF</i>	r -0,088	r -0,350 p 0,006	r -0,194	r -0,201		r -0,195	r -0,070	r -0,144	r -0,258
<i>VBF</i>	r -0,175	r -0,012	r 0,040	r -0,067	r -0,195		r -0,083	r -0,193	r -0,035
<i>TIL</i>	r -0,195	r -0,212	r -0,141	r 0,740	r -0,070	r -0,083		r -0,109	r 0,133
<i>Hist Tip</i>	r 0,014	r -0,024	r 0,051	r 0,088	r -0,144	r -0,193	r -0,109		r 0,052
<i>Yaş</i>	r 0,241	r 0,265 p 0,044	r 0,223	r 0,105	r -0,258	r -0,035	r 0,133	r 0,052	

2.İMMÜNHİSTOKİMYASAL BULGULAR

MMP-2

MMP-2 ekspresyonu olguların 66'sında değerlendirilebildi. 17 olgu (%25,7) pozitif boyanma gösterirken, 49 olgu (%74) negatifti (Resim 2). MMP-2 şiddeti ve yüzdesinin dağılımı Tablo 3'de özetlenmiştir. MMP-2 şiddeti, yüzdesi ve pozitifliği ile Breslow değeri arasında, MMP-2 yüzdesi ile de ülserasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı olan ($p<0,05$) korelasyon saptandı. MMP-2'nin MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 ve diğer histopatolojik parametreler ile ilişkisiz olduğu izlendi. Bulgular Tablo 3-4-5-6 ve 7 de gösterilmiştir.

Tablo 3. Olguların MMP-2 boyanma yüzdeleri ile boyanma şiddetlerinin dağılımı

	%	<i>MMP- 2 Şiddeti</i>				<i>Toplam</i>
		Negatif	1,00	2,00	3,00	
<i>MMP-2 Yüzdesi</i> Ortalama %9,35	Negatif	49				49
	5,00			1		1
	10,00		1			1
	15,00			2	2	4
	20,00				2	2
	30,00			1	1	2
	35,00				1	1
	40,00				1	1
	50,00				1	1
	60,00				1	1
	70,00			1		1
	80,00		2			2
<i>Toplam</i>		49	3	5	9	66

 $(p<0,05)$

Tablo 4. Breslow değerleri ile MMP-2 boyanma şiddetlerinin korelasyonu

<i>MMP-2 şiddeti</i>	<i>BRESLOW (mm)</i>						<i>Toplam</i>
		Negatif	0,1-1,0	1,1-2,0	2,1-4,0	4,1-	
	Negatif	2 (%3,1)	2 (%3,1)	13 (%20,6)	12(%19,0)	17 (%26,9)	46(%73,0)
	1	0	1 (%1,5)	0	1 (%1,5)	1 (%1,5)	3 (%4,7)
	2	0	0	0	1 (%1,5)	4 (%6,8)	5 (%7,9)
	3	0	0	2 (%3,1)	1 (%1,5)	6 (%9,5)	9 (%14,2)
<i>Toplam</i>		2 (%3,1)	3 (%4,7)	15 (%23,8)	15 (%23,8)	28 (%44,4)	63

 $(p<0,05)$

Tablo 5. MMP-2 pozitifliği ile Breslow değerleri arasında saptanan korelasyon

<i>MMP-2</i>	<i>BRESLOW (mm)</i>						<i>Toplam</i>
		Negatif	0,1-1,0	1,1-2,0	2,1-4,0	4,1-	
	Negatif	2(%3,1)	2 (%3,1)	13(%20,6)	12(%19,0)	17(%26,9)	46(%73,0)
	Pozitif	0	1 (%1,5)	2 (%3,1)	3 (%4,7)	11 (17,4)	17(%26,9)
<i>Toplam</i>		2(%3,1)	3 (%4,7)	15(%23,8)	15(%23,8)	28(%44,4)	63

 $(p<0,05)$

Tablo 6. MMP-2 boyanma yüzdesi ve Breslow değerlerinin birbiri ile olan ilişkisi

<i>MMP-2 yüzdesi</i>	<i>BRESLOW (mm)</i>						<i>Toplam</i>
		Negatif	0,1-1,0	1,1-2,0	2,1-4,0	4,1-	
	Negatif	2(%3,1)	2 (%3,1)	13 (%20,6)	12(%19,0)	17(%26,9)	46(%73,0)
	1-20	0	1 (%1,5)	2 (%3,1)	0	5 (%7,9)	8 (%12,7)
	21-40	0	0	2(%3,1)	0	1 (%1,5)	3 (%4,7)
	41-60	0	0	0	0	2 (%3,1)	2 (%3,1)
	61-80	0	0	0	1 (%1,5)	3 (%4,7)	4 (%6,8)
<i>Toplam</i>		2(%3,1)	3 (%4,7)	17 (%26,9)	13(%20,6)	28(%44,4)	63

 $(p<0,05)$

Tablo 7. MMP-2 boyanma yüzdeleri ile ülserasyon arasındaki ilişki

<i>MMP-2 yüzdesi</i>	<i>ÜLSERASYON</i>			<i>Toplam</i>
		Yok	Var	
	Negatif	31 (%48,4)	16(%25,0)	47 (%73,4)
	1-20	6 (%9,3)	2 (%3,1)	8 (%12,5)
	21-40	1 (%1,5)	3 (%4,6)	4 (%6,2)
	41-60	0	2 (%3,1)	2 (%3,1)
	61-80	0	3 (%4,6)	3 (%4,6)
<i>Toplam</i>		38 (%59,3)	26 (%40,6)	64

 $(p<0,05)$ **MMP-9**

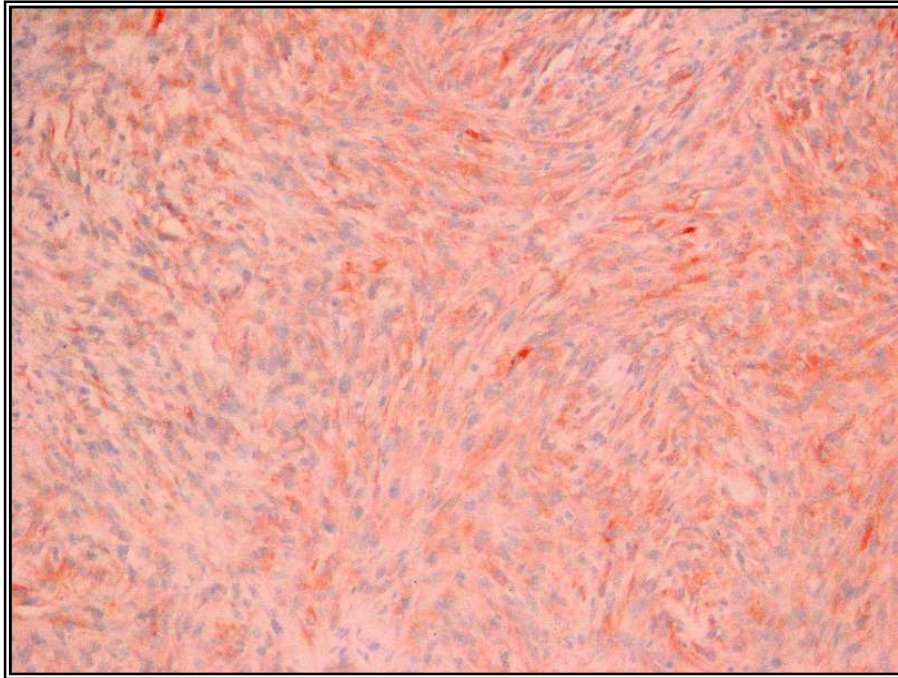
MMP-9 ekspresyonu olguların 64'ünde değerlendirildi. Toplam 55 (%85,9) olguda MMP-9 ekspresyonu saptandı (Resim 3). Boyanma şiddeti ve yüzdesinin olgular arasında dağılımı Tablo 8'de gösterilmiştir. Olguların MMP-9 yüzdesi ortalaması %40,9 olarak saptanmıştır. MMP-9 boyanma şiddeti ile Breslow'a göre tümör kalınlığı arasında korelasyon saptandı (Tablo 9). MMP-9 pozitifliği ile TIMP-2 pozitifliği arasında ise ters korelasyon

izlendi. Hiçbir histopatolojik ve immünohistokimyasal parametre MMP-9 boyanma yüzdesi ile ilişkili değildi.

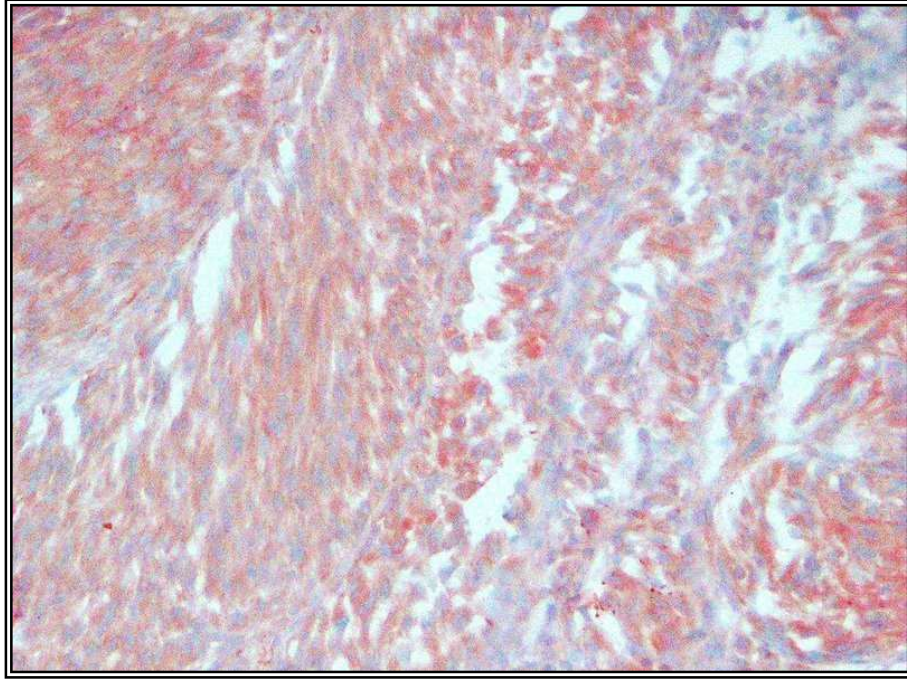
Tablo 8. MMP-9 boyanma yüzdeleri ile boyanma şiddetlerinin dağılımları

		<i>MMP-9 Şiddeti</i>				<i>Toplam</i>
		Negatif	1,00	2,00	3,00	
<i>MMP-9 Yüzdesi</i>	Negatif	9				9
	10,00		4	1	2	7
	15,00		1	2		3
	20,00			4	1	5
	25,00		1			1
	30,00			5		5
	40,00			5	2	7
	45,00			1		1
	50,00		1	1		2
	60,00			3		3
	70,00		1	7	4	12
	75,00				1	1
	80,00			6	2	8
<i>Toplam</i>		9	8	35	12	64

Resim 2: Tümör alanında yaygın MMP-2 immünreaktivitesi (x 100)



Resim 3: Tümör hücrelerinde yaygın MMP-9 ekspresyonu (x 100)



Tablo 9. Breslow değerleri ile MMP-9 boyanma şiddeti arasında izlenen korelasyon

	<i>BRESLOW (mm)</i>						<i>Toplam</i>
		Negatif	0,1-1,0	1,1-2,0	2,1-4,0	4,1-	
<i>MMP-9 Şiddeti</i>	Negatif	0	0	3 (%4,9)	4	2 (%3,2)	9 (%14,7)
	1	1 (%1,6)	0	3 (%4,9)	2 (%3,2)	2 (%3,2)	8 (%13,1)
	2	1 (%1,6)	2 (%3,2)	5 (%8,1)	7 (%11,4)	17(%27,5)	32(%52,4)
	3	0	1 (%1,6)	4 (%6,5)	2 (%3,2)	5 (%8,1)	12(%19,6)
<i>Toplam</i>		2 (%3,2)	3 (%4,9)	15 (%24,6)	15 (%24,6)	26(%42,6)	61

 $(p<0,05)$ ***TIMP-1***

TIMP-1 uygulanabilen 51 olgunun 25'inde (%49,0) boyanma görülürken kalan 26 olguda (%50,9) TIMP-1 negatifti (Resim 4). Boyanma yüzdesi ortalaması 20,2 (0-90) bulundu. Boyanma şiddeti ve yüzdelerinin dağılımı Tablo 10'da gösterilmiştir.

TIMP-1 ekspresyonu ile histopatolojik parametreler arasında korelasyon saptanmadı. İmmünohistokimyasal parametrelerden ise sadece TIMP-1 pozitifliği ile TIMP-2 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon izlendi (Tablo 11).

Tablo 10. Olguların TIMP-1 boyanma şiddetleri ve boyanma yüzdelerinin dağılımı

		TIMP-1 Şiddeti				Toplam
		Negatif	1,00	2,00	3,00	
TIMP-1 Yüzdesi Ortalama %20,25	Negatif	26				26
	5,00				2	2
	7,00				1	1
	10,00		1	1	2	4
	15,00			1	1	2
	25,00				1	1
	30,00				1	1
	40,00			1	1	2
	50,00		2		1	3
	60,00			1		1
	70,00		2	1		3
	80,00		1	2		3
	90,00			1	1	2
	Toplam	26	6	8	11	51

($p < 0,05$)

Tablo 11. TIMP1 ve TIMP-2 pozitifliği arasında izlenen ilişki

		TIMP-1		Toplam
		Negatif	Pozitif	
TIMP-2	Negatif	10 (%21,7)	4 (%8,6)	14 (%30,4)
	Pozitif	12 (%26,0)	20 (%43,4)	32 (%69,5)
	Toplam	22 (%47,8)	24 (%52,1)	46

($p < 0,05$)

TIMP-2

TIMP-2 ekspresyonu olguların 61'inde değerlendirilebildi. 41 olgu (%67,2) TIMP-2 eksprese ederken kalan 20 olguda TIMP-2 ile ekspresyon saptanmadı (Resim 5). Olguların TIMP-2 boyanma şiddetleri ve boyanma yüzdelerinin dağılımı Tablo 12'de gösterilmiştir. TIMP-2 yüzdesinin TIL ile ve mitoz sayısı ile, TIMP-2 pozitifliğinin de yine mitoz ile ve MMP9 pozitifliği ile korelasyon gösterdiği saptandı. TIMP-2 şiddeti ile diğer parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmedi (Tablo 13-14-15-16).

VBF ve RBF ile MMP-2, -9, TIMP-1, ve -2 ekspresyonu arasındaki ilişkiyi araştırmak için Mann Whitney-U testi uygulandı ancak aralarında anlamlı bir fark saptanmadı.

Tablo 12. Olguların TIMP-2 boyanma şiddetlerinin ve boyanma yüzdelerinin dağılımı

		TIMP-2 Şiddeti				Toplam
		Negatif	1,00	2,00	3,00	
TIMP-2 Yüzdesi Ortalama %31,39	Negatif	20				20
	10,00		3			3
	15,00		1		1	2
	20,00			2	3	5
	30,00		1	2		3
	40,00		2	1	4	7
	45,00			1		1
	50,00		1	1	1	3
	60,00			6		6
	70,00		3	5	2	10
	80,00			2		2
Toplam		20	11	20	11	62

($p<0,05$)

Tablo 13. TIMP-2 pozitifliğinin MMP-9 pozitifliği ile korelasyonu

		MMP-9		Toplam
		Negatif	Pozitif	
TIMP-2	Negatif	0	20 (%32,2)	20 (%32,2)
	Pozitif	9 (%14,5)	33 (%53,2)	42 (%67,7)
Toplam		9 (%14,5)	53 (%85,4)	62

($p<0,05$)

Tablo 14. TIMP-2 pozitifliğinin mitoz sayısı ile ilişkisi

MITOZ SAYISI									Toplam
TIMP-2		0	1	2-4	5-7	8-10	13-16	18-20	
	Negatif	1 (%1,7)	10 (%17,2)	5 (%8,6)	1 (%1,7)	1 (%1,7)	1 (%1,7)	0	19 (%32,7)
	Pozitif	0	11 (%18,9)	11 (%18,9)	10 (%17,2)	3 (%5,1)	2 (%3,4)	2 (%3,4)	39 (%67,2)
Toplam		1 (%1,7)	21 (%36,2)	16 (%27,5)	11 (%18,9)	4 (%6,9)	3 (%5,1)	2 (%3,4)	58

($p<0,05$)

Tablo 15. TIMP-2 yüzdesinin mitoz sayısı ile ilişkisi

		<i>MİTOZ SAYISI</i>							
<i>TIMP-2 Yüzdesi</i>		0	1	2-4	5-7	8-10	13-16	18-20	Toplam
	Negatif	1 (%1,7)	10 (%17,2)	5 (%8,6)	1 (%1,7)	1 (%1,7)	1 (%1,7)	0	19 (%32,7)
	1-20	0	3 (%5,1)	3 (%5,1)	2 (%3,4)	0	0	1 (%1,7)	9 (%15,5)
	21-40	0	3 (%5,1)	2 (%3,4)	2 (%3,4)	1 (%1,7)	0	0	8 (%13,8)
	41-60	0	3 (%5,1)	4 (%6,9)	2 (%3,4)	1 (%1,7)	0	0	10 (%17,2)
	61-80	0	2 (%3,4)	2 (%3,4)	4 (%6,9)	1 (%1,7)	2 (%3,4)	1 (%1,7)	12 (%20,6)
Toplam		1 (%1,7)	21 (%36,2)	16 (%27,5)	11 (%18,9)	4 (%6,9)	3 (%5,1)	2 (%3,4)	58

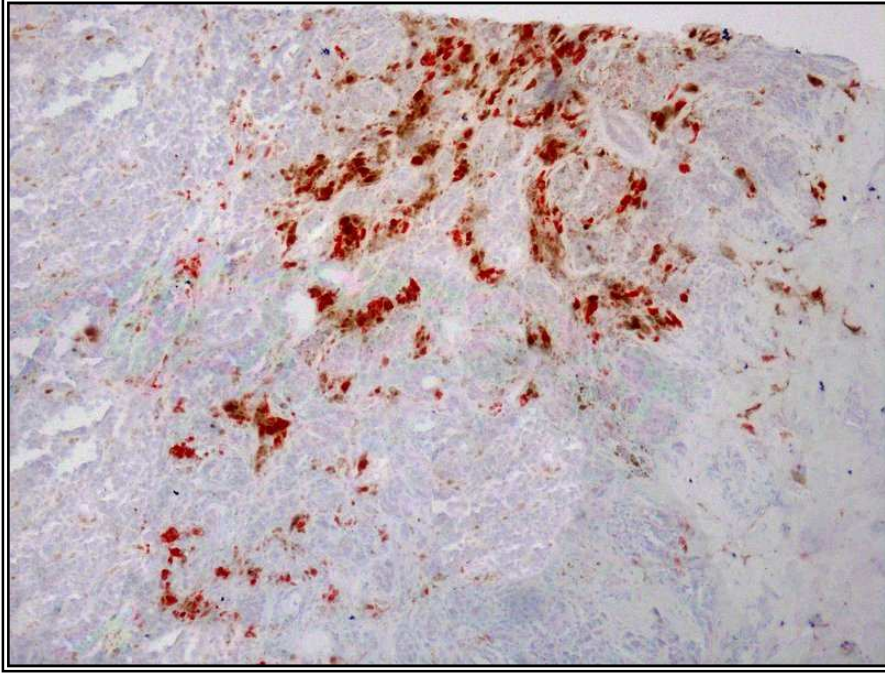
 $(p<0,05)$

Tablo 16. TIMP-2 yüzdesi ile TIL arasındaki korelasyon

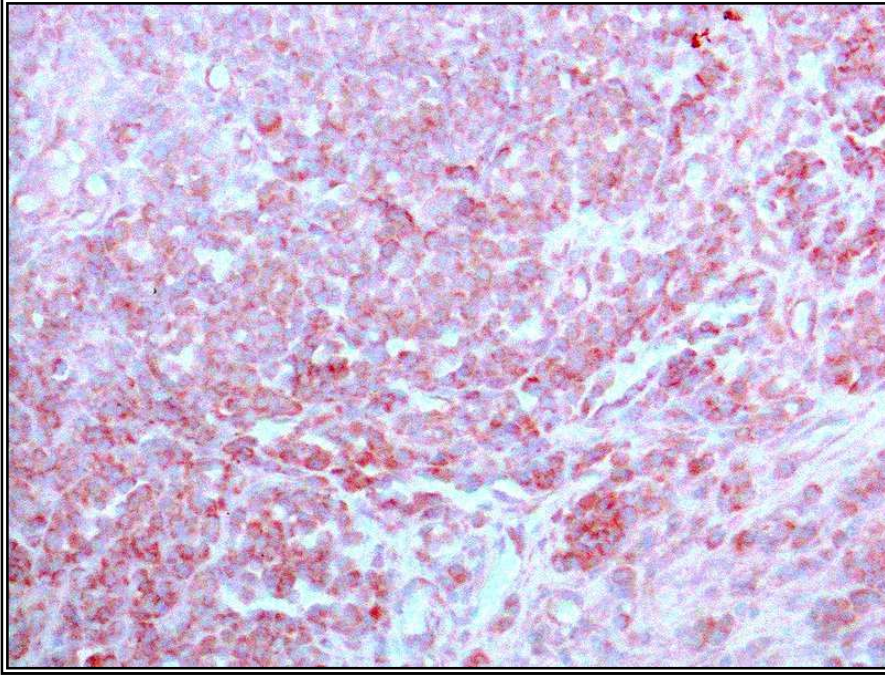
		<i>TIL</i>			<i>Toplam</i>
<i>TIMP-2 Yüzdesi</i>		Negatif	Belirgin Değil	Belirgin	
	Negatif	0	15 (%24,6)	4 (%6,5)	19 (%31,1)
	1-20	0	7 (%11,4)	3 (%4,9)	10 (%16,4)
	21-40	0	9 (%14,7)	1 (%1,6)	10 (%16,4)
	41-60	1 (%1,6)	8 (%13,1)	1 (%1,6)	7 (%11,4)
	61-80	0	12 (%19,6)	0	12 (%19,6)
Toplam		1 (%1,6)	51 (%83,6)	9 (%14,7)	61

 $(p<0,05)$

Resim 4: Kuvvetli ancak fokal TIMP-1 pozitifliği (x 40)



Resim 5: Tümör hücrelerinde TIMP-2 ile izlenen ekspresyon (x 100)



V-TARTIŞMA VE SONUÇ

Deri kanserleri içinde malign melanomlar gittikçe artan sıklıkları ve diğer bir çok maligniteden farklı olarak daha çok genç hasta grubunu etkilemesi nedeni ile önem taşımaktadır (77). Malign melanomların dikkat çeken bir başka özelliği de yüksek metastaz kapasitesi ve ileri evre olgularda hala etkin bir tedavisi olmaması nedeniyle mortalitenin yüksek olmasıdır. Lokal nükslerden çok metastaz yapabilme kapasitesinin yüksek olması malign melanomu diğer birçok malign tümörden ayırır. Bu nedenle malign melanomlar, tümör hücrelerinin metastaz yaparken hangi aşamalardan geçtiği ve ne gibi faktörlerden etkilendiği konusunda yapılan çalışmalar için en uygun tümörlerdir. MMP'lar ve doku inhibitörlerinin, metastaz gelişimindeki ana basamak olan ESM'in ve bazal membranların parçalanması basamağında etkin rol oynadıkları malign melanomların da aralarında olduğu bir çok tümörde gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da primer invaziv deri melanomlarında MMP-2, MMP-9, TIMP-1 ve TIMP-2 ekspresyonlarının birbirleri ile ve histopatolojik parametreler ile ilişkisi araştırılmıştır.

Malign melanomlar histopatolojik olarak nodüler melanom, yüzeysel yayılan melanom, akral lentiginöz melanom ve lentigo maligna melanom olarak 4 temel grupta sınıflandırılmaktadır (36). 30 nodüler malign melanom, 20 yüzeysel yayılan melanom, 9 akral lentiginöz melanom ve 7 lentigo maligna melanomdan oluşan bu çalışmada, histopatolojik subtipler ile diğer histopatolojik parametreler, MMP ve TIMP ekspresyonları arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Önceki yıllarda yapılan histopatolojik subtiplerle prognoz ilişkisini araştıran geniş serili çalışmalarda, nodüler melanomların prognozunun diğer subtiplerden daha kötü olduğu, lentigo maligna melanomun ise daha iyi prognozlu olduğu görülmüştür (18,97). Ancak sonraki çalışmalarda nodüler melanomların Breslow'a göre tümör

kalınlıklarının ve Clark seviyesinin diğer tiplerden daha fazla olmasının etken olduğu, lentigo maligna melanomlu hastaların prognozlarının ise diğer histopatolojik tiplerin prognozuyla arasında belirgin bir farklılık içermediği görülmüştür (30). Kutanöz melanomlarda sıklıkla saptanan BRAF ve NRAS mutasyonlarının klinikopatolojik subtiplere göre değerlendirildiği bir çalışmada, kombine BRAF ve NRAS mutasyon analizi yapıldığında subtipler arasında anlamlı bir fark görülmediği saptanmıştır (80). Histolojik tipler arasında prognostik olarak farklılığın görülmemesi veya varsa da tümüyle tümörün kalınlığına bağlı olması nedeniyle son yıllarda melanomlarda histopatolojik tiplendirmenin faydalı olmadığı ileri sürülmektedir (1).

70 primer kutanöz malign melanom olgusundan oluşan bu çalışmada, prognozu büyük ölçüde belirleyen histopatolojik parametrelerden Breslow değerleri, Clark seviyesi, mitoz sayısı ve ülserasyonun daha önceki çalışmalarda olduğu gibi birbiri ile ilişkili ve tutarlı parametreler olduğu görülmüştür.

Tümörlerin proliferatif kapasitelerini gösteren mitoz oranı, malign melanomlarda tümör kalınlığına bağlı olduğu düşünülen, kötü prognoz ile ilişkili bir parametredir. Attis ve Vollmer'in uzun dönem takipleri olan 1200 kutanöz melanom olgusunda, mitoz oranı ile genel sağ kalım arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmada, mitoz oranı sağ kalım ile anlamlı ve ülserasyondan daha fazla prognostik önemi olan bir parametre olarak bulunmuştur. Ancak tümör kalınlığı ve ülserasyonla anlamlı olarak birliktelik gösterdiğinden bağımsız bir prognostik faktör değildir (7). 6 veya daha fazla mitoz oranı saptanan melanomların mitoz içermeyenlere göre metastaz riskinin 12 kat arttığı gösterilmiştir (36). Bu çalışmada da Attis ve Volmer'in araştırmaları ile uyumlu olarak mitoz sayısı ile Breslow'a göre tümör kalınlığı ve ülserasyon varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı değerlere ulaşıldı. Breslow değeri arttıkça mitoz oranının arttığı, ülserasyon izlenen olgularda ise mitoz sayısının fazla olduğu saptanmıştır. Ek olarak bu çalışmada Clark seviyesi I-II olgularda mitoz oranı 1,83/mm² iken,

Clark seviyesi III-IV-V olgularda 4.67/mm² bulunmuştur. Bulgular malign melanomlarda mitoz sayısının önemli bir histopatolojik parametre olduğunu, ancak Breslow'a göre tümör kalınlığı ve Clark seviyesine bağlı olduğunu göstermektedir.

Malign melanomlarda en önemli prognostik parametrelerden olan ülserasyonun da bu çalışmada Breslow kalınlığı ve Clark seviyesi ile korele olduğu görülmüştür. Breslow kalınlığı 2 mm'nin altında olan 13 (%15,3) olgunun sadece 2'sinde ülserasyon saptanırken Breslow değerleri 2 mm'nin üzerinde olan 52 olgunun 24'ünde (%46) ülserasyon izlenmiştir. Sıralanan bulgular, Breslow kalınlığının, mitoz sayımının, Clark klasifikasyonunun ve ülserasyon varlığının hastaların prognozlarını belirleyen parametreler olduklarını desteklemektedir.

Konak aracılı immünitinin, malignite gelişimini engellediği veya sınırladığı bilinmektedir. Buna uyumlu olarak melanomlarda tümör derinliği ile lenfositik cevap arasında ters korelasyon olduğu bildirilmektedir (62). Belirgin TIL, VBF'ndaki tümörlerin her tarafında yoğun lenfositik infiltrasyon görülmesi veya lenfositik infiltrasyonun lezyonun tabanında boydan boya izlenmesi, belirgin olmayan TIL ise tümörün içinde veya periferinde bir veya daha fazla lenfositik agregatın izlenmesi şeklinde tanımlanır (26). Clemente ve arkadaşlarının bir çalışmasında 5 yıllık sağ kalım oranları belirgin TIL olgularında %55, belirgin olmayan TIL olgularında %45 ve TIL izlenmeyen olgularda %27 bulunmuş ve histolojik kriterler arasında sadece tümör kalınlığı ve TIL'in bağımsız prognostik faktör olduğu ileri sürülmüştür. (26). Ancak yapılan diğer çok değişkenli analizlerde, TIL'in bağımsız bir prognostik bir belirleyici olmadığı görülmüştür (8). Bizim çalışmamızda TIL ile Breslow değerleri, Clark seviyesi ve diğer histopatolojik parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki izlenmemiştir. TIL ile sadece TIMP-2 yüzdesi arasında ters korelasyon izlenmiştir. Çalışmada TIL'in belirgin olduğu toplam 9 olgu saptanmış ve bunların

da 7'sinin TIMP-2 ile %20'nin altında pozitiflik gösterdiği görülmüştür. TIMP-2 yüzdesinin ileri evre melanomlarda daha çok izlenmesi, TIL'in ise daha sıklıkla daha erken evre melanomlarda belirgin olması, TIL ile TIMP-2 arasında ters korelasyon olabileceğini düşündürmüştür.

MMP ailesinin üzerinde en çok çalışma yapılan üyesi olan MMP-2'nin kötü prognoz göstergesi olduğu ve malign melanomlarda metastazlarla ilişkili olduğu bilinmektedir (48,90,95,96). MMP-2'nin tip IV kollajen ve laminin gibi bazal membran proteinlerini yıkma özelliğinin olması nedeni ile tümör hücrelerinden MMP-2 ekspresyonu tümörün invaziv özelliğini arttırmaktadır. Primer melanomlarda ve metastastazlarında, benign melanositik lezyonlara göre, MMP-2 ve MT1-MMP ekspresyonlarının açıkça arttığı gösterilmiştir (48). MMP-2'nin sadece melanomlarda invazyon kapasitesinin artmasında değil, bileşke nevüs hücrelerinin dermiste aşağı doğru ilerlemesinde de rol alabileceği düşünülmektedir (63).

Literatürde MMP-2 ekspresyonu ve Breslow'a göre tümör derinliği arasındaki korelasyon ile ilgili farklı görüşler mevcuttur. Vaisanen ve arkadaşları 118 melanositik lezyonu değerlendirdikleri çalışmalarında, Clark seviyesi ve Breslow'a göre tümör derinliği fazla olan olgularda MMP-2 ekspresyonunun daha fazla olduğunu bulmuşlardır (96). İstatistiksel olarak Clark seviyesi ile anlamlı bir korelasyon bulunmamakla birlikte, Breslow'a göre tümör derinliği arttıkça MMP-2 ekspresyonunun da istatistiksel olarak anlamlı olarak arttığını göstermişlerdir (96). Aynı araştırmacının 50 olgudan oluşan primer deri melanomlarından oluşan bir başka çalışmasında ise MMP-2 ekspresyonunun Breslow'a göre tümör derinliği ile korelasyon göstermediği ve prognoz için bağımsız bir belirteç olduğu ileri sürülmüştür (95).

70 primer kutanöz malign melanom olgusundan oluşan bu çalışmada ulaşılan sonuçlar Vaisanen ve arkadaşlarının ilk çalışmaları ile uyumludur. Bu çalışmada MMP-2 pozitifliği,

boyanma yüzdesi ve boyanma şiddeti hem Breslow değerleri hem de ülserasyon ile istatistiksel olarak anlamlı korelasyon göstermektedir. MMP-2 pozitif olan toplam 17 olgunun 11'inde Breslow'a göre tümör kalınlığı 4 mm'nin üzerindedir. MMP-2 ile %20'nin üzerinde pozitif boyanma saptanan 8 olgunun 7' sinde ülserasyon mevcutken, MMP-2 negatif olan toplam 47 olgunun 31'inde ülserasyon saptanmamıştır. Aynı araştırmacıların farklı çalışmalarında farklı sonuçlar dikkati çekmekle birlikte, bu çalışmada elde edilen bulgular, MMP-2 pozitifliğinin ileri evre melanomlarda arttığını ve Breslow tümör derinliği ve ülserasyon ile ilişkili olduğunu desteklemektedir.

TIMP-2, MMP-2 doku inhibitörü olmakla birlikte MMP-2'nin aktivasyonunda da rol oynamaktadır. MT1-MMP/TIMP-2 kompleksi hücre yüzeyinde MMP-2'nin latent formu olan proMMP-2 üzerinden aktivasyon yapar. Diğer yandan TIMP-2, MMP-2'nin aktif bölgesine bağlanarak onu inhibe eder (48,65). MMP-2 ve TIMP-2 arasında moleküler düzeyde saptanan ilişki, immünohistokimyasal ekspresyonlar değerlendirildiğinde bu çalışmada istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu sonuç, TIMP-2 'nin tek başına tümör anjiogenezisini inhibe etmesi gibi bir takım MMP'lerden bağımsız etkileri olmasıyla ilgili olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca MMP-2 aktivasyonunu hem transkripsiyonel hem de posttranskripsiyonel olarak azaltan, stresle aktive olan mitojen-aktif protein (MAP) kinase'lar, intergrinler gibi bir çok sitokin ve kemokinlerin melanom hücre invazyonunda MMP-2 üzerinden etkili olduğu bildirilmiştir (24,37). Basigin (CD147, fare EMMPRIN'i) eksprese eden insan melanom hücreleri ve dermal fibroblast kültürlerinde MMP-1, MMP-2, MMP-3 ve MT1-MMP üretimini uyarmaktadır (66). Basigin'e karşı antikor kullanıldığında ise hem fibroblastlardan hem de invaziv melanom hücrelerinde MMP üretimi azalmaktadır (58). Tümör hücrelerinin oluşturduğu ekstrasellüler matriks metalloproteinaz indükleyici (EMMPRIN; CD 147) gibi faktörler peritümöral fibroblastlardan MMP üretimini uyarırlar (89). Dolayısıyla MMP-2 aktivasyonu birden fazla mekanizma ile gerçekleşmekte olup, MT1-

MMP-TIMP-2 kompleksi, MMP-2 aktivasyonunu etkileyen bir çok mekanizmadan sadece biri olarak gözükmetedir.

Literatürde MMP-9'un malign melanomlarda ekspresyonu ile ilgili farklı sonuçları olan çalışmalar mevcuttur. Bazı araştırmacılar MMP-9 ekspresyonunu radial büyüme fazındaki melanomlarda saptamışlar ve erken invazyonla ilişkili olduğunu belirtmişlerdir (74). Buna karşılık Mac Dougall ve arkadaşları immünohistokimyasal MMP-9 ekspresyonunun ileri evre melanomlarda olduğunu göstermiştir (68). MMP-9'un bazal membranın önemli bir komponenti olan tip IV kollajenin denatürasyonu yoluyla, fare melanomlarında ve insan kolon kanserlerinde metastatik potansiyeli arttırdığı bildirilmiştir. MMP-9 defisiti olan farelerde yapılan çalışmada deneysel tümör metastazının belirgin olarak azaldığı görülmüştür (55). Bizim çalışmamızda Breslow kalınlığı arttıkça MMP-9 boyanma yüzdesi ve şiddeti de artış göstermiştir. Bu farklı sonuçlar MMP-9'un melanom progresyonundaki rolünün tam olarak belirlenemediğini düşündürmektedir ve bunun melanomda farklı klonların olması ile ilişkili olduğu speküle edilebilir.

MMP'ların aktivitesinin düzenlenme basamaklarından biri de doğal olarak bulunan matriks metalloproteinazların doku inhibitörleridir (TIMP). TIMP'leri proMMP'lara yada aktif MMP'lara bağlanarak otokatalitik aktivasyonlarını ve yanısıra proteolitik kapasitelerini inhibe ederler. Aktive olmuş MMP seviyeleri ile serbest inhibitörleri arasındaki dengenin genel MMP aktivitesini belirlediği bilinmektedir. Bu genel bilgi ile uyumlu olarak melanomlarda da TIMP-1, TIMP-2 ve TIMP-3 'ün aşırı ekspresyonunun tümör büyümesini, melanom hücre invazyonunu ve metastaz formasyonunu inhibe ettiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (52). Bununla birlikte, Tas ve arkadaşları 70 malign melanom olgusunda serumda MMP-3 ve TIMP-1 düzeylerini değerlendirmişler ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak bir farklılık saptamamışlardır (92). Bilinen prognostik parametrelerle

(tümör histolojisi, lokalizasyon, hastalığın evresi, Breslow'a göre tümör kalınlığı, Clark seviyesi, mitoz, TIL ve regresyon) ülserasyon gösteren tümörler hariç, anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır. İmmünohistokimyasal olarak parafine gömülü dokularda TIMP ekspresyonunun değerlendirildiği bu çalışmada da, TIMP-1 ve TIMP-2 ekspresyonlarının istatistiksel olarak birbirleri ile anlamlı ilişki gösterdiği ancak özellikle TIMP-1'in bilinen histopatolojik parametrelerle korelasyon göstermediği dikkati çekmiştir. TIMP-2 ekspresyonu ise mitoz sayısı ve TIL ile anlamlı ilişki göstermekteydi. İstatistiksel olarak TIMP'leri birbiri ile korelasyon göstermekle birlikte; MMP'lar ile TIMP'leri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

TIMP-2'nin daha düşük invazyon potansiyelli melanomlarda erken evrelerde daha yüksek oranda eksprese olduğu belirtilmesine rağmen (2), bizim çalışmamızda TIMP-2' nin mitoz sayısı ile korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Mitoz sayısı $5/\text{mm}^2$ 'in üzerinde olan 20 olgunun 14'ünde %20'nin üzerinde TIMP-2 pozitifliği izlenmiştir. Mitoz sayısının $2/\text{mm}^2$ ve üzerinde olduğu 36 olgunun 28 'i TIMP-2 pozitif olarak saptanmıştır.

Bu çalışmada elde edilen enteresan bir bulgu da TIMP-2 ile MMP-9 arasında saptanan korelasyondur. TIMP-2 nin pozitif saptandığı 20 olgunun 20'si de MMP-9 ile pozitifken, MMP-9 negatif olan 9 olgunun 9'unun da TIMP-2 pozitif olduğu görülmüştür. TIMP-2'nin daha çok MMP-2 ve MT1-MMP ile ilişkili olduğu bilinmesine rağmen, aynı biyolojik ortamda birbiri içine geçmiş inhibisyon ve aktivasyon basamaklarının kesin sınırlarla birbirinden ayrılmasının da beklenilmemesi gerektiği bu gibi sonuçların değerlendirilmesinde akılda tutulmalıdır.

Sonuç olarak, malign melanomlarda prognozun belirlenmesinde önemli rol oynayan Breslow’a göre tümör kalınlığı, Clark seviyesi, mitoz ve ülserasyon gibi histopatolojik parametrelerin birbirleri ile korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Breslow’a göre tümör derinliği arttıka, MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonlarında da artış görülmesi bu belirteçlerin invazyondaki önemini desteklemektedir.

VI-ÖZET

Bu çalışmada, invazyon ve metastaz potansiyeli yüksek bir tümör olan malign melanomlarda, histopatolojik parametreler ile matriks metalloproteinaz ve doku inhibitörlerinin immünhistokimyasal ekspresyonları arasındaki ilişkiler ele alınmıştır. Araştırmaya dahil edilen 70 primer invaziv kutanöz malign melanom olgusu, histopatolojik olarak Breslow'a göre tümör kalınlığı, Clark seviyesi, ülserasyon varlığı, histolojik tipleri, mitoz sayısı, tümörü infiltrate eden lenfositler, vertikal ve radial büyüme fazları açısından tekrar değerlendirildi. Ayrıca immünhistokimyasal olarak MMP-2, MMP-9, TIMP-1 ve TIMP-2 çalışılarak boyanma şiddetleri ve yüzdeleri saptandı. Histopatolojik ve immünhistokimyasal sonuçlar arasında korelasyon olup olmadığı istatistiksel olarak araştırıldı.

Daha önce yapılan bir çok çalışma ile uyumlu olarak bu çalışmada da, histopatolojik belirteçlerden Breslow'a göre tümör kalınlığı, Clark seviyesi, mitoz oranı ve ülserasyon varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı. Histolojik tiplerle diğer histopatolojik parametreler arasında ise herhangi bir ilişki izlenmedi.

Bu çalışmada MMP-2 ekspresyonu ile Breslow'a göre tümör kalınlığı ve ülserasyon varlığı arasında korelasyon olması, MMP-2'nin prognozla ilişkili olduğu ancak bağımsız bir prognostik belirteç olmadığı şeklinde yorumlandı. MMP-9'un daha önceki çalışmalarda radial büyüme fazındaki melanomlarda etkili olduğu ileri sürülmesine rağmen, bu çalışmada Breslow'a göre tümör kalınlığı arttıkça immünhistokimyasal ekspresyonunda da artış görüldü. TIMP-2'nin, tek başına tümör anjiogenezisini inhibe etmesi gibi bir takım MMP'lardan bağımsız etkileri olduğu için MMP-2 ile korele olmadığı düşünüldü. TIMP-1 bilinen histopatolojik parametrelerle korelasyon göstermedi. TIMP-2 ise mitoz sayısı ve TIL ile

anlamli iliŖki göstermekteydi. İstatistiksel olarak TIMP-1 ve TIMP-2 birbiri ile korelasyon göstermekle birlikte; MMP-2 ve MMP-9 ile aralarında istatistiksel olarak anlamli iliŖki saptanmadı.

Sonuçta, malign melanomlarda prognozun belirlenmesinde rol oynayan histopatolojik parametrelerin (Breslow’a göre tümör kalınlığı, Clark seviyesi, mitoz ve ülserasyon gibi) birbirleri ile korelasyon g sterdiğı saptanmıŖtır. Breslow’a göre tümör derinliğı arttıkça, MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonlarının da artıŖ göstermesi bu belirte lerin invazyondaki  nemini desteklemektedir.

VII-SUMMARY

In this study; in malignant melanomas which are highly potential invasive and metastatic; it had been treated the relationship between immunohistochemical expressed of the histopathological parameters, matrix metalloproteinases and tissue inhibitors. In the 70 primer invasive cutaneous malignant melanomas events; which had been studied in this research; it had re-evaluated as histopathological for tumor thickness of Breslow, Clark level, existing of ulceration, histological types, mitotic rate, tumor-infiltrating lymphocytes, vertical and radial growth phase. Furthermore; the MMP-2, MMP-9, TIMP-1 and TIMP-2 had been immunohistochemical studied and the violence and percentage of painting had been arranged. The existing of correlation between histopathological and immunohistochemical results had been as statistical searched.

In the consistence with the other searches in this study; we have found a statistically significant relationship between tumor thickness for Breslow, Clark level, mitotic rate, existing of ulceration, which are the histopathologic parameters. There had been not found any correlation between histologic types and other histopathologic parameters.

The existing of correlation between MMP-2 expression and tumor thickness for Breslow and existing of ulceration, had been interpreted that the MMP-2 is in correlation with prognosis but is not a free prognostic parameter. In spite of ; it has been submitted that MMP-9 is effective in melanomas which is in radial growth phase ; in this study we have detected also the increasing of immunohistochemical expression beside the increasing of tumor thickness for Breslow. The unappointment of correlation between MMP-2 and TIMP-2 which is known as tissue inhibitors of MMP-2; has been thought because of the effects that are free of MMP's. For example inhibiting the tumor angiogenesis alone. TIMP-1 has not shown any

correlation with any known histopathologic parameters. TIMP-2 has shown an expressive correlation with mitotic rate and TIL. Although there was a statistically correlation between TIMP's, there had not been determined any statistical expressive correlation between MMP's and TIMP's.

In result; it has been ascertained that there is a correlation between histopathologic parameters, which take a role in appointing the prognosis of malignant melanomas. This parameters includes; tumor thickness for Breslow, Clark level, mitotic rate and ulceration. Because of there are correlation between increasing of expression for MMP-2 and MMP-9 and increasing of tumor deepness for Breslow; these support the consequence of the parameters in invasion.

KAYNAKLAR

1. Ackerman AB: Protocols for the reporting of cutaneous melanoma. *Am J Clin Pathol* 122:815-7, 2004
2. Airola K, Karonen T, Vaalamo M, Lehti K, Lohi J, Kariniemi AL, Keski-Oja J, Saarialho-Kere UK: Expression of collagenase-1 and -3 and inhibitors TIMP-1 and -3 correlates with the level of invasion in malignant melanomas. *Br J Cancer* 80:733-43, 1999
3. Aitken J, Welch J, Duffy D, Milligan A, Green A, Martin N, Havward N: CDKN2A variants in a population-based sample of Queensland families with melanoma. *J Natl Cancer Inst* 91:446-452, 1999
4. Albert LS, Rhodes AR, Sober AJ: Dysplastic melanocytic nevi and cutaneous melanoma: markers of increased melanoma risk for affected persons and blood relatives. *J Am Acad Dermatol* 22:69-75, 1990
5. Albert VA, Koh HK, Geller AC, Miller DR, Prout MN, Lew RA: Years of potential life lost: another indicator of the impact of cutaneous malignant melanoma on society. *J Am Acad Dermatol* 23:308-310, 1990
6. Alexander CM, Werb Z: Targeted disruption of the tissue inhibitor of metalloproteinase gene increases the invasive behavior of primitive mesenchymal derived from embryonic stem cells in vitro. *J Cell Biol* 118:727-739, 1992
7. Attis MN, Vollmer RT: Mitotic rate in melanoma : A re examination. *Am J Clin Pathol* 127(3):1-5, 2007
8. Barnhill RL, Fine JA, Roush GC, Berwick M: Predicting five year outcome for patients with cutaneous melanoma in a populations-based study. *Cancer* 78:427-432, 1996

9. Barnhill RL, Piepkorn M, Busam KL: Malignant melanoma, In: Pathology of melanocytic nevi and malignant melanoma. Barnhill RL. 2nd edn, New York:Springer-Verlag, 238-356, 2004
10. Beaty MW, FetschP, Wilder AM:Effussion cytology of malignant melanoma. A morphological and immuncytochemical analysis including aplication of the MART-1 antibody. Cancer Cytopathol 81:57-63, 1997
11. Birkedal-Hansen H, Moore WG, Bodden MK, Windsor LJ, Birkedal-Hansen B, DeCarlo A:Matrix metalloproteinases: a review, Crit Rev Oral Biol Med 4:197-250, 1993
12. Bono A, Bartoli C, Baldi M, Moglia D, Tomans S, Tragni G, Cascinelli N, Santinomi M:Micro-melanoma detection clinical study on 22 cases of melanoma with a diameter equal to or less than 3mm. Tumori 90:128-131, 2004
13. Brochez L, Myny K, Bleyen L, De Backer G, Naeyaert JM: The melanoma burden in Belgium; premature morbidity and mortality make melanoma a considerable health problem. Melanoma Res 9:614-618, 1999
14. Busam KJ, Iversen K, Coplan KA:Expression of Melan A(Mart-1) and benign melanocytic nevi and primary malignant melanoma. Am J Surg Pathol 22:976-982, 1998
15. Busam KJ, Jungbluth AA: Melan–A, a new melanocytic differentiation marker. Adv Anat Pathol 6:12-18, 1999
16. Burnet NG, Jefferies SJ, Benson RJ, Hunt DP, Treasure FP:Years of life lost (YLL) from cancer is an important measure of population burden – and should be considered when allocating research funds. Br J Cancer 92:241-245, 2005

17. Butler GS, Butler MJ, Atkinson SJ:TIMP-2 membrane type 1 metalloproteinase receptor regulates the concentration and efficient activation of progelatinase A. A kinetic study. J Biol Chem 273:871-880, 1998
18. Cascinelli N, Morabito A, Bufalino R:Prognosis of stage I melanoma of the skin. Int J Cancer 26:733-739, 1980
19. Chen YT, Stockert E, Jungbluth A:Serological analysis of Melan A, a melanocyte-specific protein homogenously expressed in human melanomas. Proc Natl Acad Sci USA 93:5915-5919, 1996
20. Clark WH: Tumor progression and the nature of cancer. Br J Cancer 64:631-644, 1991
21. Clark WH, Bernardino EA, Reed RJ, Kopf AW: Acral lentiginous melanomas including melanomas of mucous membranes.In:Clark WH, Goldman LI, Mastrangelo MJ, eds. Human Malignant Melanoma . New York , Grune&Stratton : 109-124, 1979
22. Clark WH, Elder DE, Guerry D IV: A study of tumor progression:the precursor lesions of superficial spreading and nodular melanoma. Hum Pathol 17:443-450, 1984
23. Clark WH, Elder DE, Guerry D IV:Model predicting survival in stage I melanoma based on tumor progression.J Natl Cancer 81:1893-1904, 1989
24. Clark WH, Elder DE, Van Horn M:The biologic forms of malignant melanoma. Human Pathol 15:1147-1165, 1984
25. Clark WH, From L, Bernardino EA, Mihm MC:The histogenesis and biologic behavior of primary human malignant melanoma of the skin. Cancer Res 8:621-647, 1969
26. Clemente CG, Mihm MC, Bufalino R: Prognostic value of tumor infiltrating lymphocytes in the vertical growth phase of primary cutaneous melanoma.Cancer 77:1303-1310, 1996

27. Cochran A, Wen DR, Herschman HR, Gaynor RB: Detection of S-100 protein as an aid to the identification of melanocytic tumors. *Int J Cancer* 30:295-297, 1982
28. Cohen LM: Lentigo maligna and lentigo maligna melanoma. *J Am Acad Dermatol* 33:923-936, 1995
29. Colombari R, Bonetti F, Zambone G: Distribution of melanoma specific antibody (HMB-45) in benign and malignant melanocytic tumors. An immunohistochemical study on paraffin sections. *Virchows Arch Apathol Anat* 413:17-24, 1988
30. Cox NH, Aitchison TC, Sirel JM, Mackie RM: Comparison between lentigo maligna melanoma of the head and neck. *Brit J Cancer* 73:940-944, 1996
31. Crowley NJ, Seigler HF: Late recurrence of malignant melanoma. Analysis of 168 patients. *Ann Surg* 212:173-177, 1990
32. Curan S, Murray GI: Matrix metalloproteinases: molecular aspects of their roles in tumor invasion and metastasis. *Eur J Cancer* 36:1621-1630, 2000
33. Curan S, Murray GI: Matrix metalloproteinases in tumor invasion and metastasis. *J Pathol* 189:300-308, 1999
34. Day CI, Harrist TJ, Gorstein F: Malignant melanoma. Prognostic significance of 'microscopic satellites' in the reticular dermis and subcutaneous fat. *Ann Surg* 194:108-112, 1981
35. De Wit NJW, van Muijen GNP, Ruiter DJ: Immunohistochemistry in melanocytic proliferative lesions. *Histopathology* 44, 517-541, 2004
36. De Vries E, Bray F, Coebergh JW, Cerroni L, Ruiter DJ, Elder DE, Thompson JF, Barnhill RL, van Muijen GNP, Scolyer RA, LeBoit PE: WHO classification of tumours Pathology & Genetics Skin Tumours In: Malignant melanoma: introduction, IARC Press Lon, 2006

37. Denkert C, Siegert A, Leclere A, Turzynski A, Hauptmann S: An inhibitor of stress-activated MAP-kinases reduces invasion and MMP-2 expression on malignant melanoma cells. *Clin Exp Metastasis* 19:79-85, 2002
38. Elder DE, Jucovy PM, Tuthill RJ, Clark WH: The classification of malignant melanoma. *Am J Dermatopathol* 2:315-320, 1980
39. Fallowfield ME, Cook MG: Pagetoid infiltration in primary cutaneous melanoma. *Histopathology* 20:417-420, 1992
40. Feldman AL, Stevenson WG, Costouros NG, Knezevic V, Baibakow G, Alexander HR: Modulation of tumor-host interactions, angiogenesis and tumor growth TIMP-2 via a novel mechanism, *Cancer Res* 64:4481-6, 2004
41. Fontaine D, Parkhill W, Geer W, Walsh N: Partial regression of primary cutaneous melanoma: is there an association with sub-clinical sentinel lymph node metastasis? *Am J Dermatopathol* 25:371-376, 2003
42. Gatter K, Ralfkaier E, Skinner J: An immunohistochemical study of malignant melanoma and its differential diagnosis from other malignant tumors. *J Clin Pathol* 38:7-15, 1985
43. Gaynor RB, Herschman HR, Irie R: S-100 protein: a marker for malignant melanoma. *J Clin Pathol* 38:1353-1357, 1981
44. Grob JJ, Gouvernet J, Aymar D, Mostaque A, Romano MH, Collet AM, Noe MC, Diconstanzo MP, Bonerandi JJ: Count of benign melanocytic nevi as a major indicator of risk for nonfamilial nodular and superficial spreading melanoma. *Cancer* 66:387-395, 1990
45. Harmelin ES, Holcombe RN, Goggin JP: Acral lentiginous melanoma. *J Foot Ankle Surg* 37:540-545, 1998

46. Haupt HM, Stern JB:Pagetoid melanocytosis:hystologic features in benign and malignant lesions. *Am J Surg Pathol* 19:792-797, 1995
47. Heenan PJ, Ghaznawie M:The pathogenesis of local recurrence of melanoma primary excision site. *Br J Plast Surg* 52:209-213, 1999
48. Hofmann UB, Westphal JR, Zendman AJW, Becker JC, Ruiter DJ, Muijen GNP:Expression and activation of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and its co-localization with membrane-type 1 matrix metalloproteinase (MT1-MMP) correlate with melanoma progression.*J Pathol* 191:245-256, 2000
49. Hofmann UB, Westphal JR, Kraats A, Ruiter DJ, Muijen GNP:Expression of integrin $\alpha_v\beta_3$ correlates with activation of membrane- type matrix metalloproteinase-1 (MT1-MMP) and matriks metalloproteinase-2 (MMP-2) in human melanoma cells in vitro and in vivo.*Int J Cancer* 87:12-19, 2000
50. Hofmann UB, Andreas AO, Eggert KB, Bröcker EB, Becker JC:Expression of matrix metalloproteinases in the microenvironment of spontaneous and experimental melanoma metastases reflects the requirments for tumor formation.*Cancer research* 63:88221-8225, 2003
51. Hofmann UB, Houben R, Bröcker EB, Becker JC:Role of the matrix metalloproteinases in melanoma cell invasion.*Biochimie* 87:307-314, 2005
52. Hofmann UB, Westphal JR, Muijen GNP, Ruiter DJ:Matrix metalloproteinases in human melanoma:*J Invest Dermatol* 115:337-344, 2000
53. Hutchinson J: Notes of the cancerous process and on new growth in general. *Arch Surg (London)* 3:315-322, 1892
54. Iozzo RV:Matrix proteoglycans: from molecular design to celluler function. *Annu Rev Biochem* 76:609-652, 1998

55. Itoh T, Tanioka M, Matsuda H, Nishimoto H, Yoshioka T, Suzuki R, Uehira M:
Experimental metastasis is suppressed in MMP-9-deficient mice. *Clin Exp Metastasis*
17:177-181, 1999
56. Jungbluth AA, Busam KJ, Gerald WL: A103 an anti-melan-a monoclonal antibody for
the detection of malignant melanoma in paraffin embedded tissues. *Am J Surg Pathol*
22(5):595-602, 1998
57. Kaddu S, Smolle J, Cerroni L, Kerl H: Melanoma with benign melanocytic naevus
components: reappraisal of clinicopathological features and prognosis. *Melanoma Res*
12:271-278, 2002
58. Kanekura T, Chen X, Kanzaki T: Basigin (CD147) is expressed on melanoma cells and
induces tumor cell invasion by stimulating production of matrix metalloproteinases by
fibroblasts. *Int J Cancer* 99:520-528, 2002
59. Kang S, Barnhill RL, Mihm MC, Sober AJ: Multiple primary cutaneous melanomas.
Cancer 70:1911-1916, 1992
60. Kato T, Suetake T, Tabata N, Takahashi K, Tagami H: Epidemiology and prognosis of
plantar melanoma in 62 Japanese patients over a 28-year period. *Int J Dermatol*
38:515, 519, 1999
61. Kanzler MH, Mraz-Gernhard S: Primary cutaneous malignant melanoma and its
precursor lesions: diagnostic and therapeutic overview. *J Am Acad Dermatol* 45:160-
276, 2001
62. Kopf AW, Welkovich B, Frankel RE: Thickness of malignant melanoma: global
analysis of related factors. *J Dermatol Surg Oncol* 13:345-390, 401-420, 1987
63. Krenkel S, Alexander M, Brinckmann J, Tronnier M: MMP-2, TIMP-2 and MT1-MMP
are differentially expressed in lesional skin of melanocytic nevi and their expression is
modulated by UVB-light. *J Cutan Pathol* 29:390-396, 2002

64. Kuchelmeister C, Schamburg-Lever G, Garbe C: Acral cutaneous melanoma in caucasians: clinical features, histopathology and prognosis in 112 patients. *Br J Dermatol* 143:275-280, 2000
65. Kurschat P, Zigrino P, Nischt R, Breitkopf K, Steurer P, Klein CE, Krieg T, Mauch C: Tissue Inhibitor of matrix metalloproteinase-2 regulates matrix metalloproteinase-2 activation by modulation of membrane-type 1 matrix metalloproteinase activity in high and low invasive melanoma cell lines. *J Bio Chem* 274(30):21056-21062, 1999
66. Li R, Huang L, Guo H, Toole BP: Basigin (MURINE EMMPRIN) stimulates matrix metalloproteinase production by fibroblasts. *J Cell Physiol* 186:371-379, 2001
67. Lida J, Wilhelmson KL, Price MA, Wilson CM, Pei D, Furcht LT, McCarthy JB: Membrane Type-1 matrix metalloproteinase promotes human melanoma invasion and growth. *J Invest Dermatol* 122:167-176, 2004
68. MacDougall JR, Bani MR, Lin Y, Muschel RJ, Kerbel RS: Proteolytic switching: opposite patterns of regulation of gelatinase B and its inhibitor TIMP-1 during human melanoma progression and consequences of gelatinase B overexpression. *Br J Cancer* 80:504-512, 1999
69. McGovern VJ: Melanocytic lesions of glabrous skin. In: *Melanoma : Histological Diagnosis and prognosis*, McGovern VJ ed., Raven Press: New York, 125-136
70. McGovern VJ, Mihm MC, Bailly C: The classification of malignant melanoma and its histologic reporting. *Cancer* 32:1446-1457, 1973
71. McNutt NS: The S-100 family of multipurpose calcium binding proteins. *J Cutan Pathol* 25:521-529, 1998
72. Miller RW, Young JL Jr, Novakovic B: Childhood cancer. *Cancer* 75:395-405, 1995

73. Okun MR, Di Mattia A, Thompson J, Pearson SH: Malignant melanoma developing from intradermal nevi. *Arch Dermatol* 110:599-601, 1974
74. Oord JJ, Paemen L, Opdenakker G, Wolf Peeters C: Expression of gelatinase B and the extracellular matrix metalloproteinase inducer EMMPRIN in benign and malignant pigment cell lesions of the skin. *Am J Pathol* 151:665-670, 1997
75. Osterlind A: Epidemiology on malignant melanoma in Europe. *Acta Oncol* 31:903-908, 1992
76. Prasad ML, Jungbluth AA, Iversen K: Expression of melanocytic differentiation markers in malignant melanomas of the oral and sinonasal mucosa. *Am J Surg Pathol* 25(6):782-789, 2001
77. Rager EL, Bridgeford EP, Ollila DW: Cutaneous melanoma: Update prevention, screening, diagnosis and treatment. *Am Fam Physician* 72:269-276, 2005
78. Rosai J: Special techniques in surgical pathology, In Rosai and Ackerman's *Surgical Pathology*, Volume I, 9th edn, Mosby, 54-57, 2004
79. Ruiter D, Bogenrieder T, Elder D, Herlyn M: Melanoma-stroma interactions: structural and functional aspects. *Lancet Oncol* 3:35-43, 2002
80. Saldanha G, Potter L, Daformo P, Pringle JH: Cutaneous melanoma subtypes show different BRAF and NRAS mutation frequencies. *Clin Cancer Res* 12(15):4499-4505, 2006
81. Sato H, Takino T, Okada Y, Cao J, Shinagawa A, Yamamoto E: A matrix metalloproteinase expressed on surface of the invasive tumour cells. *Nature* 370:61-65, 1994
82. Shankavaram UT, Lai WC, Arnett SN, Mangan PR, Ardans JA, Caterina N, Stevenson WG, Hansen HB, Wah LM: Monocyte membrane type 1 – matrix metalloproteinase

- prostaglandin-dependent regulation and role in metalloproteinase-2 activation. *J Bio Chem* 276(22):19027-19032, 2001
83. Schmid-Wendtner MH, Baument J, Schmidt M, Konz B, Holzel D, Plewig G, Volkenandt M: Late metastases of cutaneous melanoma: an analysis of 31 patients. *J Am Acad Dermatol* 43:605-609, 2000
 84. Schmoeckel C, Bockelbrink A, Bockelbrink H: Low and high risk malignant melanoma – I. Evaluation of clinical and histological prognosticators in 585 cases. *Eur J Cancer Clin Oncol* 19:227-235, 1983
 85. Shaw HM, Balch CM, Soong SJ: Prognostic histopathological factors in malignant melanoma. *Pathology* 17:271-274, 1985
 86. Spatz A, Giglia –Mari G, Benhamou S, Sarasin A: Association between DNA repair-deficiency and high level of p53 mutations in melanoma of xeroderma pigmentosum. *Cancer Res* 61:2480-2486, 2001
 87. Stamenkovic I: Extracellular matrix remodelling: the role of matrix metalloproteinases. *J Pathol* 200:448-464, 2003
 88. Sternlicht MD, Werb Z: How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu Rev Cell Dev Biol* 17:463-516, 2001
 89. Sun J, Hemler ME: Regulation of MMP-1 and MMP-2 production through CD 147/extracellular matrix metalloproteinase inducer interactions. *Cancer Res* 61:2276-2281, 2001
 90. Takahashi K, Eto H, Tanabe KK: Involvement of CD44 in matrix metalloproteinase-2 regulation in human melanoma cells. *Int j Cancer* 80:387-395, 1999
 91. Tannous ZS, Lerner LH, Duncan LM: Progression to invasive melanoma from malignant melanoma, lentigo maligna type. *Hum Pathol* 30:533-536, 2000

92. Tas F, Duranyıldız D, Oğuz H, Disci R, Kurul S, Yasasever V, Topuz E:Serum matrix metalloproteinase-3 and tissue inhibitor for metalloproteinase-1 in patients with malignant melanoma. *Med Oncol* 22(1):39-44, 2005
93. Thompson JF, Scolyer RA, Kefford RF:Cutaneous melanoma.*Lancet* 365:687-701, 2005
94. Urla JA, Ferrando AA,Velasco G, Freije JMP, Lopez-Otin C:Structure and expression in breast tumors of human TIMP-3, a new member of metalloproteinase inhibitor family. *Cancer Res* 54:2091-2094, 1994
95. Vaisanen A, Kallioinen M, Taskinen PJ, Turpeenniemi-Hujann T:Prognostic value of MMP-2 immunoreactive protein (72 kd type IV collagenase) in primary skin melanoma.*J Pathol* 186:51-58, 1998
96. Vaisanen A, Kallioinen M, Taskinen PJ, Turpeenniemi-Hujann T: MMP-2 (72 kD type IV collagenase) expression occurs in the early stage of human melanocytic tumour progression and may have prognostic value.*J Pathol* 180:283-289, 1996
97. Vollmer RT: Malignant melanoma.A multivariate analysis of prognostic factors. *Pathol Annu* 24:383-407, 1989
98. Wang M, Liu Y, Grene :Inhibition of tumour growth and metastasis of human breast cancer cells transfected with TIMP-4.*Oncogene* 14:2767-2774, 1997
99. Wang R, Dworak LJ, Lacy MJ:A panel immunoblot using co-incubated monoclonal antibodies for identification of melanoma cells. *J Immunol Methods* 249:167-183, 2001
- 101.Wei Q, Lee JE, Gershenwald JE,Guo ZZ,Qiao Y, Amos CL, Spitz MR, Duvic M:Repair of UV light-induced DNA damage and risk of cutaneous malignant melanoma .*J Natl Cancer Inst* 95:308-315, 2003

102. Wood W, Tron V: Analysis of HMB45 immunoreactivity in common and cellular blue nevi. *J Cutan Pathol* 18:261-263, 1991
103. Zigrino P, Löffek S, Mauch C: Tumor-stroma interaction: their role in the control of tumor cell invasion. *Biochimie* 87:321-328, 2005

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**MALİGN MELANOMLARDA
MATRİKS METALLOPROTEİNAZLARIN VE
İNHİBİTÖRLERİNİN EKSPRESYONU**

UZMANLIK TEZİ
DR. MUSTAFA GÜRELİ

TEZ DANIŞMANI
YRD.DOÇ.DR. ÖZLEM ERDEM

ANKARA - 2007

TEŞEKKÜR

Asistanlığım süresince bilgi ve deneyimleri ile yetişmemde büyük katkıları bulunan değerli hocalarım, başta Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Gülen Akyol olmak üzere Prof.Dr. Ömer Uluoğlu, Prof.Dr. Leyla Memiş, Prof.Dr. Ömür Ataoğlu, Prof.Dr. Ayşe Dursun, Doç.Dr. Aylar Poyraz, Yrd.Doç.Dr. Nalan Akyürek, Uzm.Dr. İpek Işık Gönül, Uzm.Dr. Özgür Ekinci, Uzm.Dr. Pınar Uyar ve tez danışmanım Yrd.Doç.Dr. Özlem Erdem'e, birlikte çalışmaktan zevk duyduğum araştırma görevlisi arkadaşlarıma, tezimin teknik kısmına yardımcı olan tüm laboratuvar personeline ve desteğini esirgemeyen eşim Tunay Güreli'ye teşekkür ederim.

Dr.Mustafa Güreli

Ankara, 2007