

Primer Kutanöz Malin Melanomlarda nm23 Ekspresyonu

Araştırma

Study

Şule Özsoy, İrem Paker, Selda Seçkin

Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Bölümü

Özet

Primer kutanöz malin melanomlarda (PKMM) nm23 ekspresyonu ile tümör derinliği arasında ilişki olup olmadığını araştırmak üzere çalışmaya 16 sı güneş gören 10 u güneş görmeyen alanda saptanan 26 PKMM olgusu incelendi. Tümör derinliği Clark Level (CL) ile belirlendi. İmmünohistokimyasal olarak nm23 ile tümör hücrelerinde %10 dan fazla sitoplazmik boyanma semikantitatif olarak yaygınlık (+, ++, +++) ve yoğunluğuna (+, ++, +++) göre değerlendirildi. CL ı düşük olan (CL I, II, III) toplam 6 PKMM olgusunda; nm23 boyanma yaygınlığı 4 olguda (+++), 1 olguda (++) , 1 olguda (+) idi, boyanma yoğunluğu ise 5 olguda (+++), 1 olguda (++) idi. CL ı yüksek olan (CL IV, V) toplam 20 PKMM olgusu vardı. nm23 boyanma yaygınlığı 15 olguda (+++), 2 olguda (++) iken, 3 olguda boyanma gözlenmedi. Boyanma yoğunluğu 6 olguda (+++), 6 olguda (++) , 5 olguda (+), 3 olguda (-) idi. Güneş gören ve görmeyen alanlardaki PKMM larda nm23 pozitivitesinde anlamlı fark saptanmadı. CL ı düşük olguların tamamında nm23 ile boyanma izlenmesi nm23 ün tümör süpresör etkisini düşündürmektedir ancak CL ı yüksek olguların beklenenin aksine, nispeten daha azında boyanma olmaması nm23 ekspresyonunun tümör invazyon derinliğiyle ilişkili olmayabileceğini akla getirmektedir. Ayrıca güneş gören alanlarda CL ı yüksek PKMM olgularında nm23 ekspresyonunun daha az bulunması, bu alanlarda görülen PKMM ların daha agresif olabileceğini düşündürmüştür.

Anahtar Kelimeler: nm23, malin melanom, prognoz

Özsoy Ş, Paker İ, Seçkin S. Primer kutanöz malin melanomlarda nm23 ekspresyonu. TÜRKDERM 2005; 39: 178-181

Summary

Background and Design: We investigated the correlation between nm23 and tumor depth in primary cutaneous malignant melanomas (PCMM).

Materials and Methods: Sixteen cases in sun-exposed areas and 10 cases in nonexposed areas were included into the study. Clark Levels (CL) were determined to evaluate tumor depth. Immunohistochemically more than 10% of cytoplasmic staining by nm23 was assessed in a semiquantitative fashion. The extent of staining was estimated as (+), (++) , (+++), the intensity of staining was graded as (+), (++) , (+++).

Results: There were totally 6 PCMM cases with low Clark level (CL I, II, III). The extent of nm23 staining was as follows: in 4 cases (+++), in 1 case (++) and in 1 case (+). The intensity of staining was in 5 cases (+++), in 1 case (++) . There were 20 PCMM cases with high CL (CL IV, V). The extent of nm23 staining was as follows; in 15 cases (+++), in 2 cases (++) , there was no staining in 3 cases. The intensity of staining was (+++) in 6 cases, (+) in 5 cases, (-) in 3 cases. No significant difference regarding the nm 23 positivity was observed in PCMM in sun exposed areas and nonexposed areas.

Conclusion: In all of the cases with low CL there was nm23 staining. This finding suggests tumor suppressor potential of nm23. But the number of cases with high CL that weren't stained by nm23 was fewer on the contrary of the expected. We thought that nm23 expression may not be related to the depth of tumor invasion. Besides the fewer expression of the nm23 in PKMM in sun exposed areas may suggest the more aggressive behaviour in those tumors.

Key Words: nm23, malignant melanoma, prognosis

Özsoy Ş, Paker İ, Seçkin S. nm23 expression in primary cutaneous malignant melanomas. TÜRKDERM 2005; 39: 178-181

nm23 proteinin tümör gelişimindeki süpresör etkisi ve metastaz önleyici fonksiyonu in vivo yapılan deneysel çalışmalarla da gösterilmiştir¹. Ayrıca nm23'ün malin melanom, over ve meme kanserlerini de içine

alan bir spektrumda prognoz ve sağkallım ile ilişkili olduğu saptanmıştır¹.

Çalışmamızda primer kutanöz malin melanomlarda (PKMM) tümör derinliği ile etyolo-

Alındığı Tarih: 30.09.2004 **Kabul Tarihi:** 14.06.2005

Yazışma Adresi: Dr. Şule Özsoy, Ankara Numune Hastanesi, Patoloji Bölümü, Talatpaşa Bulvarı, Ankara

jik bir faktör olan ultraviyole ışınları ve nm23 ekspresyonu arasında korelasyon olup olmadığını araştırdık.

Gereç ve Yöntem

Çalışmaya 16'sı güneş gören, 10'u güneş görmeyen alanlarda olmak üzere 26 PKMM olgusu dahil edildi. Olguların HE kesitleri 2 patoloj tarafından incelendi ve tümör derinliğini değerlendirmek üzere Clark Level (CL) belirlendi. Parafin bloklardan hazırlanan kesitlere immünohistokimyasal olarak nm23 protein (NDP Kinase/nm23 Ab-1, Rabbit Polyclonal Antibody, Neomarkers) uygulandı. nm23 ile tümör hücrelerinde %10'dan fazla sitoplazmik boyanma semikantitatif olarak yaygınlık ve yoğunluğuna göre değerlendirildi. Boyanma yaygınlığı şu şekilde belirlendi: tümör hücrelerinde %10'dan az boyanma ya da boyanma olmaması a0, %10-50 arasında boyanma a1 = +, %50-75 arası boyanma a2 = ++, %75 den fazla boyanma a3 = +++ olarak değerlendirildi. Yoğunluğuna göre boyanma ise b0= boyanma yok, b1=zayıf (+), b2=orta (++) , b3=kuvvetli (+++) olarak derecelendirildi.

Bulgular

Güneş gören alanlarda bulunan 16 PKMM olgusunda nm23 ekspresyonu (Tablo I): CL I olan 1 olguda ve CL II olan 2 olguda hem yaygınlık hem yoğunluğuna göre (+++), CL III olan olan 1 olguda yaygınlık ve yoğunluğuna göre (++) boyanma izlendi. CL IV olan 5 olgunun hepsinde yaygınlığına göre (+++) boyanma izlenirken yoğunluğuna göre olguların 2 sinde (+++), 1'inde (++) ve 2'sinde (+) boyanma gözlemlendi. CL V olan 7 olgunun yaygınlığına göre 4'ünde (+++), 1'inde (++) boyanma tespit

	Olgu	a0	a1	a2	a3	b0	b1	b2	b3
CL I	1				1				1
CL II	2				2				2
CL III	1			1				1	
CL IV	5				5		2	1	2
CL V	7	2		1	4	2	1	2	2

Yaygınlığına göre boyanma; a0=boyanma yok (<%10), a1=(+) (%10-50), a2=(++) (%50-75), a3=(+++) (>%75)
Yoğunluğuna göre boyanma; b0= boyanma yok, b1=(+), b2=(++), b3=(+++)

edildi, 2'sinde boyanma saptanmadı. Yoğunluğuna göre ise 2 olguda (+++), 2 olguda (++) ve bir olguda (+) boyanma izlenirken, 2 olguda boyanma gözlemlenmedi.

Güneş görmeyen alanlarda bulunan 10 PKMM olgusunda nm23 ekspresyonu (Tablo II): CL I olan 1 olguda yaygınlık ve yoğunluğuna göre (+++) boyanma izlendi. Güneş görmeyen alanda CL II olgusu bulunmamaktadır. CL III olan 1 olgu yaygınlığına göre (+) boyanırken yoğunluğuna göre (+++) boyandı. CL IV olan 2 olgunun ikisinde de yaygınlığına göre (+++) boyanma izlenirken, yoğunluğuna göre 1 olguda (+++), 1 olguda (++) boyanma gözlemlendi. CL V olan 6 olgunun yaygınlığına göre 4'ü (+++), 1 i (++) boyanırken, yoğunluğuna göre 1'inde (+++), 2'sinde (++) , 2'sinde (+) boyanma gözlemlendi. Olguların birinde boyanma izlenmedi .

Güneş gören ve görmeyen alanlarda bulunan PKMM olgularında nm23 pozitifitesi arasında anlamlı fark saptanmadı. CL'ı düşük olan 6 olgunun hemen hepsinde yüksek oranda pozitifite izlendi. Ancak CL'ı yüksek olan 20 olguda çoğunlukla yüksek oranda boyanma izlenmekle birlikte 4 olguda (+) boyanma gözlemlendi ya da boyanma saptanmadı. Bu 4 olgunun 3'ünün güneş gören alanlardaki PKMM olması dikkat çekiciydi.

Tartışma

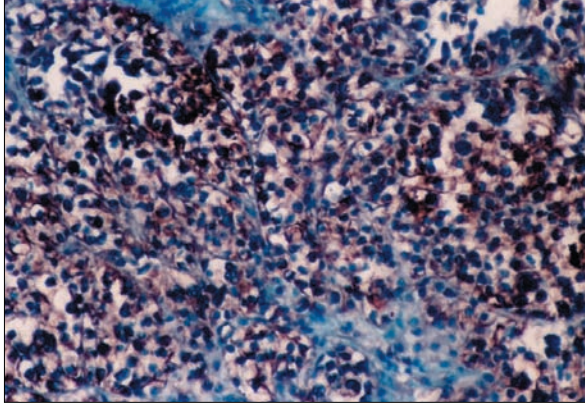
Tümör süpresör genlerdeki değişikliklerin onkogeneze önemli rol oynadığı bilinmektedir. Hücre proliferasyonunun inhibisyonu hücre diferansiyasyonunun önemli bir basamağıdır. nm23 proteininin serin fosforilasyonu ve fosfotransferasyon ile bu basa-

	Olgu	a0	a1	a2	a3	b0	b1	b2	b3
CL I	1				1				1
CL II	-								
CL III	1		1						1
CL IV	2				2			1	1
CL V	6	1		1	4	1	2	2	1

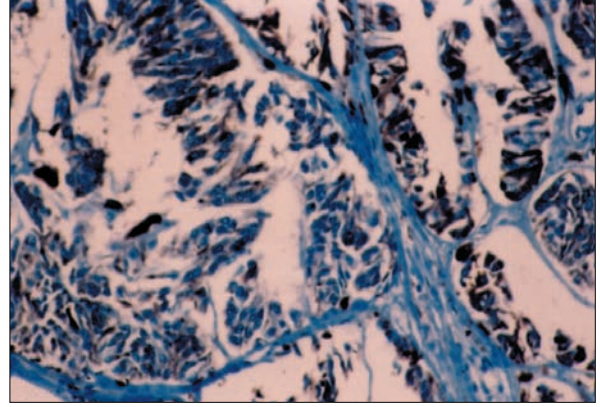
Yaygınlığına göre boyanma; a0=boyanma yok (<%10), a1=(+) (%10-50), a2=(++) (%50-75), a3=(+++) (>%75)
Yoğunluğuna göre boyanma; b0= boyanma yok, b1=(+), b2=(++), b3=(+++)

makta yer aldığı düşünülmektedir. Serin fosforilasyonu tümör hücrelerinin hareketini engellemektedir². nm23'ün nm23-1 nm23-2 olmak üzere 2 komponenti vardır³. Bunlardan nm23-2 nin tümör süpresyon ve metastaz inhibisyonunda rol aldığı düşünülmektedir¹. nm23 gen bölgesinde farklı mutasyon bölgelerinin varlığı tümörlerdeki farklı davranışının nedeni olabileceği düşünülmektedir⁴. Leone ve arkadaşları malin melanomanın hayvan modellerinde nm23 proteininin tümör hücrelerindeki etkilerini araştırmışlardır⁵. Bu çalışmada kültüre edilmiş malin melanoma hücrelerine ve tümörlere nm23 proteini transfer etmişlerdir. Sonuçta nm23 transferi yapılan tümörlerin boyutlarında küçülme gözlenmiştir. nm23 transferi yapılan melanoma hücrelerinin, yapılmayanlara göre daha geç primer tümör oluşturdıkları ve geç metastaz yaptıkları saptanmıştır. Bu

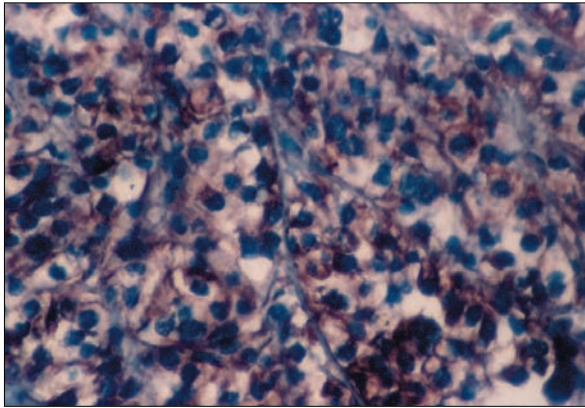
çalışmada ayrıca nm23 transferi yapılan ve yapılmayan melanoma hücreleri dolaşıma verilmiş ve nm23 transfer edilen hücrelerin daha az metastaz yaptıkları gözlenmiştir. Bulgular nm23 proteininin metastaz inhibisyonundan başka tümör proliferasyonunu da inhibe ettiğini düşündürmüştür⁵. Literatürde PKMM larda nm23 ekspresyonunun CL ve sağkalım süresiyle ilişkisinin araştırıldığı çalışmalar vardır ve çoğunda anlamlı ilişki saptandığı belirtilmiştir^{1,6,7}. Yüzelli yedi PKMM olgusunda diğer prognostik faktörlerle birlikte nm23 ekspresyonuna bakılmış, CL'ı yüksek olan bazı olgularda yüksek oranda boyanma izlenmekle birlikte, nm23 ekspresyonunun çoğu olguda kötü prognostik faktörlerle ters orantılı olduğu bulunmuştur⁸. Ancak nm23 ekspresyonu ile CL arasında ilişki saptanmayan çalışmalar da bulunmaktadır⁹.



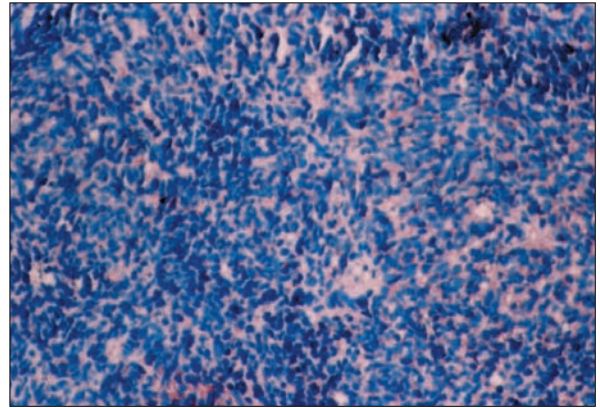
Şekil 1: Yoğunluk ve yaygınlığına göre (+++) nm23 ekspresyonu (x100).



Şekil 3: Yoğunluk ve yaygınlığına göre (++) nm23 ekspresyonu (x100).



Şekil 2: Yoğunluk ve yaygınlığına göre (+++) nm23 ekspresyonu (x200).



Resim 4: Yoğunluk ve yaygınlığına göre (+) nm23 ekspresyonu (x100).

Çalışmamızda CL'ı düşük (CL I, II, III) olan bütün olgularda nm23 ile hem yoğunluk hem yaygınlık açısından yüksek oranda boyanma izlenmiştir. Ancak CL'ı yüksek (CL IV,V) olan olgularda daha az nm23 ekspresyonu olmakla birlikte yüksek oranda nm23 ekspresyonu olan olgular da vardır. Bu bulgular literatürdeki çalışmaları desteklemektedir ancak olgu sayısının azlığı nedeniyle istatistiksel olarak anlamlı sonuç alınamamıştır. nm23 proteini paradoksal olarak oldukça agresif seyreden nöroblastom ve testis, over, tiroid ve akciğerin skuamöz hücreli karsinomu gibi bazı tümörlerde de yüksek oranda ekspresyona edilebilmektedir^{1,8}. Bu durum gen fonksiyonlarının oldukça kompleks olabileceğini düşündürmüştür. Ayrıca gen mutasyonlarındaki farklılıklar da fazla ekspresyona yol açabilir.

Clark ve arkadaşları 386 Evre I olgusunda prognostik faktörleri araştırmış 0,76 mm den ince olgularda %3.3 oranında metastaza bağlı ölüm saptamışlardır¹⁰. Ayrıca bazı kalın malin melanoma olgularında şaşırtıcı olarak beklenenden daha uzun sürvi izlenmiştir¹¹. Çalışmamızda bulunan olguların progreslerinin bilinmemesi nm23 ekspresyonunun tümör süpresyonundaki değeri açısından ileri yorum yapılmasını engellemiştir.

Ultraviyole ışınlarının melanomun inisiasyonu ve progresyonunda rolü olduğu bilinmektedir. Ultraviyole ışınları bir melanosit mitojenidir, p53 ve ras gibi bazı genlerde mutasyon yapmaktadır¹².

Çalışmamızda ultraviyole ışınlarının nm23 protein ekspresyonu üzerindeki etkilerini araştırmak üzere olgularımızı güneş gören ve görmeyen alanlarda olmak üzere iki ayrı grupta inceledik. Her iki grup arasında anlamlı bir fark olmamakla birlikte nm23 ekspresyonu çok az olan ve hiç olmayan toplam 4 olgudan 3'ünün güneş gören alanlarda olması, olgu sayısı az olmakla birlikte ultraviyole ışını maruziyetindeki PKMM ların daha agresif seyredebileceğini düşündürmüştür. Ancak nm23 ekspresyonunun hem tümör derinliği hem de ultraviyole ışınları ile anlamlı

ilişisini saptamadık. nm23 ekspresyonu diğer parametrelerle birlikte daha geniş serilerde değerlendirildiğinde daha anlamlı sonuçlar alacağımız düşüncesindeyiz.

Kaynaklar

1. Hartsough MT, Steeg PS: nm23/nucleoside diphosphate kinase in human cancers. *J Bioenerg Biomembr* 2000;30(3):301-308.
2. Lombardi D, Lacombe ML, Paggi MG: nm23: unraveling its biological function in cell differentiation. *J Cell Physiol* 2000;182(2):144-149.
3. Hamby CV, Abbi R, Prasad N, et al. Expression of a catalytically inactive H118Y mutant of nm23-H2 suppresses the metastatic potential of line IV CL 1 human melanoma cells. *Int J Cancer* 2000;88:547-553
4. Backer JM, Mendola CB, Kovacs I, et al. Chromosomal localization and nucleoside diphosphate kinase activity of human metastasis suppressor genes nm23-1 and nm23-2. *Oncogene* 1993;8:497-502
5. Leone A, Flataw U, King CR, et al. Reduced tumor incidence metastatic potential and cytokine responsiveness of nm23 transfected melanoma cells. *Cell* 1991;65:1:25-35
6. Hart JR, Easty D. Identification of genes controlling metastatic behaviour. *BJ Cancer* 1991; 63:9-12.
7. Reichrath J, Seyfried P, Brawn R, et al. Expression of nm23 protein in acquired melanocytic nevi malignant melanoma and metastases of malignant melanoma an immunohistochemical assesment in human skin. *Dermatology* 1997;194: 136-139.
8. McDermott NC, Milburn C, Curran B, Kay EW, Barry Walsh C, Leader MB: Immunohistochemical expression of nm23 in primary invasive malignant melanoma is predictive of survival outcome. *J Pathol* 2000;190(2):157-162.
9. Holmes SC, MacKie RM: The value of nm23 expression as an independent prognostic indicator in primary thick melanoma. *J Cutan Pathol* 1996;23(4):344-349.
10. Clark WH, Elder DB, Giveny D, et al. Model predicting survival in stage I melanoma based on tumor progression. *J Natl Cancer Inst* 1989; 81: 1893-1904.
11. Mangini Li N, Bhawan J. New prognostic factors of cutaneous melanoma: a review of the literature. *J Cutan Pathol* 2002;29:324-340.
12. Demunter A, Stas M, Degreef H, De Wolf-Peeters C, van den Oord JJ: Analysis of n- and k-ras mutations in the distinctive tumor progression phases of melanoma. *J Invest Dermatol* 2001;117(6):1483-1489.