Mehmet KARAÇAY

İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI DOKTORA TEZİ

2023

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIP FAKÜLTESİ
İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI

MALİGN MELANOM HASTALARINDA TÜMÖR İLE İLİŞKİLİ ANTİJENLERİN BELİRLENMESİ

Mehmet KARAÇAY

(DOKTORA TEZİ)

BURSA-2023

T.C
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIP FAKÜLTESİ
İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI

MALİGN MELANOM HASTALARINDA TÜMÖR İLE İLİŞKİLİ ANTİJENLERİN BELİRLENMESİ

Mehmet KARAÇAY

(DOKTORA TEZİ)

DANIŞMAN: Prof. Dr. H. Barbaros ORAL

218S910-TÜBİTAK

BURSA-2023

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK BEYANI

Doktora tezi olarak sunduğum ‘’**Malign Melanom Hastalarında Tümör İle İlişkili Antijenlerin Belirlenmesi**’’ adlı çalışmanın, proje safhasından sonuçlanmasına kadar geçen bütün süreçlerde bilimsel etik kurallarına uygun bir şekilde hazırlandığını ve yararlandığım eserlerin kaynaklar bölümünde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir ve beyan ederim.

Mehmet KARAÇAY
23.06.2023

T.C
TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU

23 /06/2023

Adı Soyadı: Mehmet KARAÇAY
Anabilim Dalı: Tıp-İmmünoloji
Tez Konusu: Malign Melanom Hastalarında Tümör ile İlişkili Antijenlerin Belirlenmesi

ÖZELLİKLER	**UYGUNDUR**	**UYGUN DEĞİLDİR**	**AÇIKLAMA**
Tezin Boyutları	■	❑	
Dış Kapak Sayfası	■	❑	
İç Kapak Sayfası	■	❑	
Kabul Onay Sayfası	■	❑	
Sayfa Düzeni	■	❑	
İçindekiler Sayfası	■	❑	
Yazı Karakteri	■	❑	
Satır Aralıkları	■	❑	
Başlıklar	■	❑	
Sayfa Numaraları	■	❑	
Eklerin Yerleştirilmesi	■	❑	
Tabloların Yerleştirilmesi	■	❑	
Kaynaklar	■	❑	

DANIŞMAN ONAYI

Unvanı Adı Soyadı: Prof. Dr. H. Barbaros ORAL

İmza:

İÇİNDEKİLER

DIŞ KAPAK
İÇ KAPAK
ETİK BEYANI II
TEZ KONTROL BEYAN FORMU……...……III
İÇİNDEKİLER……IV
TÜRKÇE ÖZET VIII
İNGİLİZCE ÖZET IX
1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 2
2.1 Malign melanom 2
2.2 Melanom Epidemiyolojisi 2
2.3 Melanom Etiyolojisi ve Risk Faktörleri 3
2.3.1 Etiyoloji 3
2.3.2 Risk Faktörleri 3
2.3.2.2 Melanositik nevüslerin varlığı 4
2.3.2.3 Genetik Faktörler 4
2.3.2.4 Aile Öyküsü 5
2.3.2.4.1 Yüksek riskli genler 5
2.3.2.4.2 Orta riskli genler 6
2.3.2.4.3 Düşük riskli genler 7
2.3.2.5 İmmün baskılama 8
2.3.2.6 Obezite 9
2.4 Melanom patofizyolojisi 9
2.5 Melanom sınıflaması 11
2.5.1 Tipik olarak CSD ile ilişkili melanomlar 12
2.5.1.1 Yolak I/ Yüzeyel yayılan melanom (düşük-CSD) 12
2.5.1.2 Yolak II /Lentigo maligna melanom (yüksek-CSD) 12
2.5.1.3 Yolak III/ Desmoplastik melanom (DM) 13
2.5.2 CSD ile ilgili olmayan melanomlar 14
2.5.2.1 Yolak IV/ Spizoid melanomlar (SM) 14
2.5.2.2 Yolak V/ Akral lentijinöz melanom (ALM) 14
2.5.2.3 Yolak VI/ Mukozal melanom 15
2.5.2.4 Yolak VII/ Konjenital nevüslerden türeyen melanomlar 16

2.5.2.5 Yolak VIII / Mavi nevüslerden türeyen melanomlar 17
2.5.2.6 Yolak IX/ Üveal melanom 17
2.5.3 Nodüler melanom 19
2.6 Malign melanomda klinik tanı 20
2.7 Malign melanoma TNM sınıflaması ve evreleme 22
2.7.1 Kutanöz melanomda TNM sınıflaması ve evreleme 22
2.7.1.1 Kutanöz melanomun klinik sınıflandırması 25
2.7.1.2 Kutanöz melanomun patolojik sınıflandırması 28
2.7.1.3 Kutanöz melanomda diğer prognostik belirteçler 30
2.8 Benign nevüsler 31
2.8.1 Junctional nevüsler 31
2.8.2 İntradermal nevüsler 32
2.8.3 Kompaund nevüsler 32
2.9 Malign melanomda tümör ile ilişkili antijenler (TAA) 32
2.9.1 Melanosit soy/farklılaşma antijenleri 33
2.9.1.1 Tirozinaz antijeni 33
2.9.1.2 Tirozinaz ilişkili protein-1 antijeni 34
2.9.1.3 Tirozinaz ilişkili protein-2 antijeni 34
2.9.1.4 MART-1 antijeni 35
2.9.1.5 HMB-45 antijeni 36
2.9.2 Onkofetal/kanser testis antijenleri 37
2.9.2.1 Melanom ile ilişkili antijen ailesi 37
2.9.2.1.1 MAGE-A antijeni 38
2.9.2.1.2 MAGE-C1 antijeni 39
2.9.2.2 NY-ESO-1 antijeni 40
2.9.2.3 BAGE ailesi antijenleri 40
2.9.2.4 GAGE ailesi antijenleri 40
2.9.2.5 SSX ailesi antijenleri 41
2.10 Malign melanomda tedavi yaklaşımları 41
2.10.1 Kemoterapi 41
2.10.2 Radyoterapi 42
2.10.3 Hedefe yönelik tedaviler 42
2.10.4 İmmünoterapiler 42
2.10.4.1 İmmün kontrol noktası inhibitör tedavileri 42
2.10.4.2 Adoptif hücre tedavileri 43
3. GEREÇ ve YÖNTEM 46

3.1 Araç ve Gereçler 46
3.1.1 Deneyde kullanılan kimyasal malzemeler 46
3.1.2 Deneyde kullanılan çözeltiler 47
3.1.3 Deneyde kullanılan diğer malzemeler 47
3.1.4 Deneyde kullanılan immünohistokimya reaktifleri 47
3.1.5 Cihazlar 48
3.2 Çalışma grubu 48
3.2.1 Hasta grubu örnekleri 48
3.2.2 Hasta kontrol grubu örnekleri 48
3.3 Yöntem 49
3.3.1 Formalin fikse ve parafine gömülü dokulardan kesit alınması 49
3.3.2 Parafinin dokular uzaklaştırılması 50
3.3.3 İmmünohistokimyasal boyamalar 50
3.3.4 Hematoksilen II ve bluing reaktifi ile arka plan boyaması 52
3.3.5 İmmünohistokimyasal boyama sonuçlarının değerlendirilmesi 52
3.3.6 Sonuçların istatistiksel analizi 55
4. BULGULAR 56
4.1 Melanom olgularının popülasyonu ve özellikleri 56
4.2 Hematoksilen II ve bluing boyanmalarının değerlendirilmesi 56
4.3 Kontrol dokularının değerlendirilmesi 56
4.4 İmmünoreaktivitelerin H- skorlama ile değerlendirilmesi 57
4.5 Hasta ve hasta kontrol gruplarında TAA'ların değerlendirilmesi 60
4.6 Kutanöz melanomun (CM) alt tiplerinde TAA'ların değerlendirilmesi 66
4.6.1 Akral lentijinöz melanom (ALM) hastalarının farklı klinik evrelerinde tümör ile ilişkili antijenlerin değerlendirilmesi 66
4.6.2 Nodüler melanom (NM) hastalarının farklı klinik evrelerinde TAA'ların değerlendirilmesi 71
4.6.3 Yüzeyel yayılan melanom (YYM) hastalarının farklı klinik evrelerinde TAA'ların değerlendirilmesi 77
4.6.4 Lentigo malign melanom (LMM) hastalarının farklı klinik evrelerinde TAA'ların değerlendirilmesi 81
4.7 Üveal melanom (UM) hastalarında TAA'ların değerlendirilmesi 97
4.8 Mukozal melanom (MUM) hastalarında TAA'ların değerlendirilmesi 90
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 94
6. KAYNAKLAR 102
7. SİMGELER VE KISALTMALAR 112
8. EKLER 114

9. TEŞEKKÜR 116
10. ÖZGEÇMİŞ..... 117

TÜRKÇE ÖZET

Adoptif hücre tedavileri (ACT) son yıllarda malign melanomlu hastalar için mevcut en iyi immünoterapi seçeneklerinden biridir. Tümörün baskılayıcı mikroçevresinden dolayı anti-tümör immün yanıtların yetersiz kalması, kansere bağlı ölümlerin artmasına neden olmaktadır. Verimli bir tedavi yaklaşımı için geniş bir hasta grubunun antijen özgüllüklerinin, önceden tanımlanmış olması oldukça önemlidir. Bu nedenle çalışmamızda malign melanomun farklı alt grup ve evrelerinde benzerlik ve ortaklık gösteren hücre içi antijenlerin tanımlanması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda kutanöz, üveal ve mukozal melanomlu hastaların doku örneklerinin hem *in situ* hem de invaziv alanlarında, literatürde daha önce melanom ile ilişkilendirilmiş MART-1, HMB-45, TYR, TRP-1, TRP-2, MAGE-A, MAGE-C1 ve NY-ESO-1 antijenlerinin ifade düzeyleri belirlenmiştir.

Çalışmanın sonucunda, hasta kontrol gruplarına kıyasla, HMB-45, MAGE-A ve MAGE-C1 antijenlerinin, melanom dokularının *in situ* ve invaziv alanlarında ve tüm alt grup ve evrelerinde benzer şekilde, istatistiksel olarak anlamlı derece yüksek ifade edildikleri tespit edilmiştir. Ayrıca bu antijenlerin, hastalığın metastatik evrelerinde primer evrelerine kıyasla daha yüksek ifade edildikleri de gözlemlenmiştir.

Belirlenen HMB-45, MAGE-A ve MAGE-C1 antijenlerinin tanınmasına yönelik gerçekleştirilecek immünoterapi yaklaşımları sayesinde efektif anti-tümör immün yanıtların artması, metastazların kontrol altına alınması ve melanoma bağlı ölümlerin azalmasına aracılık edebileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Malign melanom, Tümör ile ilişkili antijen, İmmünohistokimya, Adoptif hücre tedavisi

İNGİLİZCE ÖZET

Determination of Tumor Associated Antigens in Patients with Malignant Melanoma

Adoptive cell therapies (ACT) have become one of the best immunotherapeutic options available for patients with malignant melanoma in recent years. Inadequate anti-tumor immune responses due to the suppressive microenvironment of the tumor lead to increased cancer-related mortality. For an efficient treatment approach, it is very crucial that the antigen specificities of a large patient group are defined in advance. Therefore, in our study, we aimed to identify intracellular antigens with similarities and commonalities in different subgroups and stages of malignant melanoma.

In our study, the expression levels of MART-1, HMB-45, TYR, TRP-1, TRP-2, MAGE-A, MAGE-C1, and NY-ESO-1 antigens previously associated with melanoma in the literature were determined in both *in situ* and invasive areas of tissue samples from patients with cutaneous, uveal, and mucosal melanoma.

As a result of the study, HMB-45, MAGE-A, and MAGE-C1 antigens were found statistically significantly higher expressed in *in situ* and invasive areas of melanoma tissues and in all subgroups and stages of the disease compared to the patient control groups. It was also observed that these antigens were more highly expressed in the metastatic stages of the disease compared to the primary stages.

It is thought that immunotherapy approaches for the recognition of HMB-45, MAGE-A, and MAGE-C1 antigens may increase effective anti-tumor immune responses, control metastases, and reduce melanoma-related mortality.

Keywords: Malignant melanoma, Tumor-associated antigens, Immunohistochemistry, Adoptive cell therapy

1. GİRİŞ

Malign melanom beyaz ırkta oldukça sık rastlanan kanserlerden biridir. Hastalığın tanısı, epidemiyolojisi ve klinik bulguları birçok insanda benzer olmasına rağmen, tümör antijenleri bireyler arasında, hastalığın farklı alt tipleri ve evrelerinde değişiklik gösterebilmektedir.

Erken dönem malign melanom tanısı sayesinde cerrahi rezeksiyon tedavileri olasıdır. Ancak cerrahi rezeksiyonlar tek başına yeterli olmayıp, tümör derinliği 4.00 mm'yi geçen ve bölgesel lenf nodu metastazı olan hastalarda rezeksiyona rağmen ortalama 2 yıl içerisinde nüks veya ölüm riski %50 oranında artmaktadır.
Melanom tümörleri yüksek immünojenik karaktere sahiptir. Bu nedenle son yıllarda immünoterapi etkili terapötik stratejiler oldukça önem kazanmıştır (Ferlay ve ark., 2010).

Genel olarak kanser immünoterapileri, hedeflenebilme özelliklerinden dolayı düşük yan etkili olup, uzun süreli koruma sağladıkları için modern tıp uygulamalarında oldukça önemli yaklaşımlar haline gelmişlerdir. Güncel immünoterapi yaklaşımlarında sitokin ve kontrol noktası inhibitörlerine yönelik antikorların kullanımı umut vaad etse de tedavi edici etki T hücre aktivasyonuna bağlı olarak değişmektedir. T hücre özgüllüğünü sağlamak ve tümöre yönlendirmek için Kimerik Antijen Reseptörü (CAR) kullanımı hematolojik malignitelerde yüksek başarı sağlamasına karşın, solid tümörlerde tümör mikroçevresinden dolayı oldukça düşüktür. Bu nedenle de kanser immünoterapilerinde hücre içi antijenlere yönelik hedeflemelere gereksinim artmıştır.

Bu tez çalışması kapsamında, Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ne başvuran kutanöz malign melanom tanılı hastaların prospektif doku örnekleri ve patoloji arşivinden temin edilen kutanöz, üveal ve mukozal melanom hastalarının primer dokularının parafin blok örnekleri literatürde daha önceden malign melanomla ilişkilendirilmiş 8 farklı antijenin taraması gerçekleştirilmiştir. Yapmış olduğumuz bu çalışmada hastalığın farklı alt tipleri ve evrelerinde, primer ve metastatik aşamalarında değişen antijenik profiller ve Türkiye'de görülen yaygın tümör antijenleri saptanmış olacak ve ileride gerçekleştirilecek olan melanoma spesifik immünoterapi yaklaşımlarına ışık tutabilecek nitelikte veriler sağlamış olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Malign melanom

Malign melanom (MM) epidermisin bazal tabakasında yer alan ve melanosit olarak bilinen pigment hücrelerinin, kötü huylu (habis) tümöre dönüşümü nedeniyle meydana gelen bir kanser türüdür (Liu, & Sheikh, 2014). Melanom, cilt kanserlerinin yaklaşık %1'lik bir kısmını oluşturmasına rağmen, cilt kanserine bağlı ölümlerin %80'inden sorumludur.

Çoğunlukla deri yüzeylerinde gözlenir ve kutanöz melanom olarak tanımlanır. Ayrıca, gözde (konjuntiva ve üveada), farklı mukozal alanlarda (nazoferinks, oral mukoza, paranazal sinüsler, trake, bronş ve bronşiyaller) ve leptomenikslerde gelişebilir (Garbe ve ark., 2022).

2.2 Melanom Epidemiyolojisi

Malign melanom dünya genelinde en yaygın 19. kanserdir ve kutanöz maligniteye bağlı ölümlerin önde gelen nedenidir. En yüksek kutanöz melanom insidansı yoğun güneşe maruz kalan bölgelerde ve açık tenli bireylerin bulunduğu ırklarda gözlenmektedir. Yapılan çalışmalarda, 2020 yılından bu yana Dünya genelinde 325000 yeni MM vakası teşhis edilmiş ve 57000 kişinin melanom kaynaklı kanserden hayatlarını kaybettikleri bildirilmiştir (Ferlay ve ark., 2021).

Ülkelerin farklı coğrafi konumlarda bulunmaları nedeniyle melanom insidansları arasında farklılıklar görülmektedir. Yaşa bağlı standardizasyona göre, en yüksek MM insidans oranı Avusturalya ve Yeni Zelanda'daki erkeklerde yılda 42/100000 kadınlarda ise yılda 31/100000 olarak belirlenmiş, bunu Batı Avrupa ülkeleri takip ederek hem kadın hem de erkeklerde yılda 19/100000 olarak gözlemlenmiştir (Arnold ve ark., 2022).

Ülkemizde ise, Küresel Kanser Gözlemevi'nin 2020 yılında yayınladığı istatistiklere göre MM insidansı 100000'de 1,8-2'dir. Türkiye'de MM ile ilgili en geniş kapsamlı çalışma Ege Üniversitesi Hastanesi tarafından gerçekleştirilmiştir. Melanom tanısı almış hastaların 19 yıllık verileri incelendiğinde hastalığın görülme

sıklığı ve sağ kalımı oranlarında anlamlı bir biçimde artış gözlenmiştir (Acar ve ark., 2020).

MM dünyanın birçok bölgesinde erkeklerde kadınlardan daha sık görülmektir. Arnold ve ark. yaptıkları çalışmada ise Dünya'da 2020 yılının melanom oranlarının bu şekilde bir artış göstermesi halinde, 2040 yılında yeni vaka görülme sıklığının %50 ve mortalitenin %68 oranında artış gösterebileceğini ileri sürmüşlerdir (Arnold ve ark., 2022).

2.3 Melanom Etiyolojisi ve Risk Faktörleri

2.3.1 Etiyoloji

MM onkogenezi ile ilgili pek çok sayıda risk faktörü belirlenmiştir. Bunların birçoğu çevresel, kalıtsal ve immünolojik faktörler olarak kategorize edilmiş olsa da melanom gelişimi bu karmaşık faktörlerin etkileşimi ile gerçekleşmektedir (Rastrelli, Tropea, Rossi, & Alaibac, 2014).

2.3.2 Risk Faktörleri

2.3.2.1 Ultraviyoleye Maruz Kalma

Ultraviyole (UV) maruziyeti MM için birincil dereceden risk faktörüdür. Farklı enlem, boylam, bulut örtüleri ve mevsimsel farklılıklar UV ışınlarının geliş açılarını etkileyerek UV radyasyonunu tetikleyebilir (You, Henneberg, Coventry, & Henneberg, 2022).

Kanserojenik cilt hasarına neden olan iki tür UV radyasyonu vardır; bunlar UVA (315-400 nm) ve UVB (290-320 nm)'dir. Farklı dalga boylarına sahip bu ışınlardan UVA, UV radyasyonun %95'ini oluşturup güneş ışınlarından yayılan UVB'den çok daha fazladır. UVA dermise kadar nüfuz edebilme yeteneğine sahiptir. UVB ise sadece epidermise nüfuz edebilir, ancak UVA'ya kıyasla oldukça genotoksiktir. UV radyasyonu, yaygın olarak timidin-dimerlerinin oluşumunu teşvik eder. Nükleotid Eksizyon Onarımı (NER), memelilerdeki DNA onarım mekanizmalarından biridir. Bu mekanizmada herhangi bir bozukluk meydana gelmesi

durumunda, DNA replikasyonunda hatalar meydana gelir ve hücre sinyal moleküllerinde biriken bu hatalar mutasyonlara ve en nihayetinde karsinogeneze sebep olur (Sample, & He, 2018).

Özellikle solaryum gibi ışık kaynakları, güneş ışınlarına kıyasla 12 kat daha fazla UV radyasyonunun yayılmasına neden olur (Fears ve ark., 2011). Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IACR), solaryumun neden olduğu UVA ve UVB ışınlarının, çoğu enlemler için, günlük güneşten daha yüksek seviyelerde radyasyona neden olduğunu ve melanom riskini arttırdığını belirlemişlerdir (Gordon ve ark., 2020).

2.3.2.2 Melanositik nevüslerin varlığı

Melanositik nevüsler (benign/mole), pigment oluşumunu sağlayan melanosit hücrelerinin iyi huylu proliferasyonlarıdır. Genelde bu yapılar 6 mm'den daha küçük ve simetrik olarak yerleşiktir. Sayıca fazla bulunan nevüslerin melanom oluşturma riskinin yüksek olduğu, yapılan çalışmalarca belirlenmiştir (Ozaydın-Yavuz, & Yavuz, 2014). Özellikle yapılan birçok çalışmada yaşlılıkla birlikte oluşan nevüslerin, malignite riski yarattığına dair sonuçlara varmışlardır. 60 yaş ve üzeri erkeklerde bu nevüslerin, melanoma dönüşme ihtimalinin %0,003 oranında olduğu gözlenmiştir (Tsao, Bevona, Goggins, & Quinn, 2003).

2.3.2.3 Genetik Faktörler

MM, melanositlerin gelişimi ve ilerlemesine katkı sağlayan genetik yolaklarındaki anomalilerin bir araya gelmesiyle oluşmaktadır. Özellikle RAS-RAF - MEK ve ERK yolakları, p16 INK4A-CDK4-RB yolakları ve ARF-p53 yolaklarında meydana gelen, proto-onkogenlerin aktivasyonunu ve tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonunu sağlayan genlerdeki mutasyonlar sonucunda ortaya çıkmaktadır.

NRAS gen mutasyonu bunlardan ilk keşfedilenidir. Melanom olduğu bilinen hücre dizileri ve primer tümörlerin yaklaşık %15-20'sinin bu mutasyonu barındırdığı gözlemlenmiştir. Bu mutasyonun en önemli nedeni ise uzun süre güneş ışığına maruz kalınmasıdır. Nodüler melanom alt tipinde bu mutasyona sıkça rastlanır.

BRAF gen mutasyonu sıkça meydana gelen başka bir mutasyondur. Vakaların yaklaşık %50'sinde bu mutasyona rastlanmıştır. BRAF kinaz, hücre bölünmesi ve

farklılaşmasını kontrol eden MAPK (Mitojen ile aktive edilen protein kinaz) ve ERK (hücre dışı sinyal ile düzenlenen kinaz) arasındaki sinyal yolağının düzenlenmesinde rol alır. Bu gende bir mutasyon oluşması halinde melanositlerde kontrolsüz bölünmeler ve melanom gelişimi gözlenir. Spesifik bir mutasyon olan BRAF/V600E, BRAF mutasyonlarının %90'nından fazlasını oluşturur. Ayrıca bu mutasyon displastik nevüslerde de gözlenmektedir (Garbe ve ark., 2022).

2.3.2.4 Aile Öyküsü

MM vakalarının %90'ı sporadik kabul edilirken %10'u kalıtsal olarak sınıflandırılır (Ribeiro Moura Brasil Arnaut ve ark., 2021). Melanom eğilimli ailelerin, genel popülasyona göre kanser geliştirme riskleri 30-70 kat daha fazla olduğu belirlenmiştir (Hansen, Wadge, Lowstuter, Boucher, & Leachman, 2004).

Kalıtsal melanoma yatkınlık genleri, zaman içinde hastalığın görülmesinin göreceli risk derecelendirmesine göre üç grup altında kategorize edilmiştir. Bunlar yüksek riskli genler, orta riskli genler ve düşük riskli genlerdir (Ribeiro Moura Brasil Arnaut ve ark., 2021).

2.3.2.4.1 Yüksek riskli genler

CDKN2A (Siklin-bağımlı kinaz inhibitör 2A), bir tümör baskılayıcı gen olup, melanom için en yüksek riski taşır. Kalıtsal melanom vakalarında yaklaşık %20-40 oranında gözlenir, sıklığı ve penetrasyonu ülkeler arasında büyük farklılıklar göstermektedir (Puig ve ark., 2016). Somatik *CDKN2A* geninde meydana gelen mutasyon ve delesyonlar, hücre döngüsünün negatif regülatörü olan p16 protein eksikliğine neden olarak tümör hücrelerinin artan proliferasyonları ve metastazına sebep olmaktadır (Helgaddottir ve ark., 2020).

CDK4 (Siklin-bağımlı kinaz 4) melanom için tanımlanan ikinci yüksek duyarlılık genidir. Hücre döngüsünün normal bir şekilde ilerlemesinde önemli rol oynar. *CDK4* genindeki germline mutasyonları, tıpkı *CDKN2A* gen mutasyonu ile aynı yolağı etkiler. *CDK4* geninin nadir görülen iki patolojik varyantı tanımlanmıştır. Bu nadir varyantlarda (p.R24C ve p.R24H) görülen arginin aminoasid substitüsyonları *CDK4* kinazın sürekli akivasyonuna neden olarak kontrolsüz büyümeleri, tümör

heterojenitesini, invazyonu ve metastazı desteklemektedir (Ribeiro Moura Brasil Arnaut ve ark., 2021).

BAP-1 (BRCA-1 ile ilişkili protein-1) bir tümör baskılayıcı gendir. Kromatin ile ilişkili proteinler ile etkileşime girerek hücre döngüsü, hücre farklılaşması, hücre ölümü ve DNA hasar yanıtları dahil olmak üzere pek çok yolakta önemli rol alan bir deübikütinazdır. Deübikütinaz enzimler, protein übikütinasyonlarını tersine çeviren ve proteozomlar tarafından hücre içi protein bozunmalarını önleyen bir protein ailesidir. *BAP-1* geninin germline mutasyonları kutanöz ve üveal melanom, malign mezotelyoma ve renal hücre gibi farklı tümör tiplerini yönlendiren bir kanser yatkınlık sendromuna neden olmaktadır (Zhang, Rush, Tsao, & Duncan, 2019).

POT-1 (Telomer-1'in korunması) gen mutasyonları son yıllarda ailesel melanom vakalarının %1'ini oluşturmaktadır. *POT-1* geni shelterin kompleks olarak bilinen proteinlerin kodlanmasını sağlayarak memeli telomerlerinin DNA tamir mekanizmasını baskılar, telomeraz aktivitesini düzenler ve kromozomal uçların korunmasını sağlar. Shelterin kompleksinin oluşunda görev alan, *ACD* (Adenokortal displazi protein homoloğu) ve *TERF2IP* (Telomerik tekrar bağlama faktörü 2 etkileşimli protein) gibi genlerde oluşan mutasyonlar da ailesel geçişli melanom vakalarına neden olmaktadır. Aoude ve ark. kalıtsal geçişli melanom olgularını belirlemek için yaptıkları bir çalışmada 510 ailenin tüm genom, ekzon ve gen sekanlamasında, altı ailede *ACD* geni ve dört ailede ise *TERF2IP* mutasyonlarını saptamışlardır (Aoude ve ark., 2014).

TERT (Telomeraz RT) telomerik tekrarların kodlanması için bir şablon dizini sağlayan ters transkriptaz katalitik alt birimidir. *TERT* geninin promotor bölgesindeki mutasyonlar kromozomal değişkenliklere neden olarak telomeraz aktivitesinin artışına sebep olur (Huang ve ark., 2013).

2.3.2.4.2 Orta riskli genler

MC1R (Melanokortin-1 reseptör), cilt ve saç pigmentasyonunun ana düzenleyicisidir. Bu gen orta penetrasyonlu bir melanom duyarlılık geni olarak bilinir. İnsan melanositlerinde iki farklı melanin sentezi gerçekleşir. Eumelanin kahverengi ve siyah renkte pigmentasyon oluşumunu sağlarken, feomelanin ise kırmızı ile sarı renk oluşumuna neden olur. Yapılan çalışmalarda *MC1R* geninin en çok çalışılan, R alel

varyantları R151C, D294H, R160W, D84E, R142H ve r alel varyantları V60L, V92M, R163Q, I155T olarak bilinen dokuz farklı varyantın tek başına ya da kümülatif olarak bulunması melanom riskini arttırdığı belirlenmiştir (Read, Wadt, & Hayward, 2016). Özellikle de koyu pigmentli cilde sahip bireylerdeki fenotipik özelliklerden bağımsız olarak R alelinin varlığının bu riski daha da arttırdığına yönelik çalışmalar da mevcuttur (Pasquali ve ark., 2015). Ayrıca *CDKN2A* geni ile birlikte *MC1R* gen varyantlarını bir arada bulunduran kişilerde melanom riskinin 2 kat daha fazla geliştiğine dair çalışmalar literatürde yer almaktadır (Fargnoli, Gandini, Peris, Maisonneuve, & Raimondi, 2010). *MC1R* geninin somatik *BRAF/V600* gen mutasyonları ile etkileşime girdiği ileri sürülmüş, eş zamanlı olarak *MC1R* gen ifadesindeki azalma ve *BRAF/V600* ifadesindeki artışın daha fazla melanosit büyümesi ve tümör oluşumuna katkı sağladığı belirlenmiştir (Cao ve ark., 2013).

MITF (Mikroftalmi-ilişkili transkripsiyon faktörü) kalıtsal ve orta riskli bir gen olarak kabul edilmektedir. Bu transkripsiyon faktörü melanositlerin DNA korumasını, gelişimini ve farklılaşmasını düzenler (Ribeiro Moura Brasil Arnaut ve ark., 2021). *MITF* genindeki 318K kalıtsal mutasyonu, SUMO (Küçük übikütin benzeri değiştirici) proteine bağlanma affinitesini değiştirerek ve SUMOilasyonu azaltır ve hedef genlerin transkripsiyonunu arttırır. E318K mutasyonunu taşıyan bireylerin melanoma yatkınlıkları 2 ile 5 kata kadar arttığı bildirilmiştir (Bertolotto ve ark., 2015). Bu mutasyonun özellikle kutanöz melanomun nodüler alt tipi ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Ciccarese ve ark., 2020).

2.3.2.4.3 Düşük riskli genler

TP53, *RB1*, *BRCA2*, *PTEN* genleri ise düşük riskli genler olarak kabul edilmiş, ailesel otozomal dominant kanser sendromları ve melanom riski ile ilişkilendirilmiştir. Bu genlerdeki patojenik varyantların neden olduğu sendromlar aile öyküsü ve otozomal dominant paternleri taşıyan yüksek nüks riski ile ilgili belirlenmiş tanı kriterine sahiptir.

TP53 geni, hücresel tümör antijeni olan p53'ü kodlar. p53, DNA hasarlarına karşı transkripsiyonel yanıtta yer alan DNA replikasyonu ve onarımı, hücre döngüsü ve durması apoptoz gibi bir çok önemli fonksiyona sahiptir. Kalıtsal TP53

mutasyonları DNA hasarının meydana geldiği hücrelerin malign transformasyonlarını kolaylaştırmaktadır (Ribeiro Moura Brasil Arnaut ve ark., 2021).

RB1 geni, hücre döngüsünde G1 fazından S fazına geçişin düzenlenmesinde görev alır. Bu gende meydana gelen mutasyonlar hücre döngüsü düzenlenmesinde protein ifadelerinin bozulmasına yol açar. Kalıtsal *RB1* mutasyonu görülen taşıyıcı kişilerde kalıtsal retinoblastoma sendromu görülür (Tonorezos ve ark., 2020).

PTEN geni, PTEN (fosfatidilinositol 3, 4 ,5- trisfosfat 3-fosfataz ve dual spesifik fosfataz) proteinin ifadesini gerçekleştirmektedir (Hopkins ve ark., 2014). Bu protein işlevsel olarak hücre döngüsünün inhibisyonu, hücre ölümünün indüklenmesi, hücre döngüsünün durmasına, hücre migrasyonu ve apoptozun inhibisyonuna neden olmaktadır. *PTEN* genin patojenik kalıtsal mutasyonuna sahip ailelerde melanom gözlenmiştir (Bubien ve ark., 2013).

BRCA2 (Meme kanseri tip 2 duyarlılık) geni, BRCA2 proteini kodlar ve bu protein hücre döngüsünün ilerlemesi, gen transkripsiyonlarının düzenlenmesi, DNA hasarlarına yanıt olarak birçok hücresel yolakta yer alan moleküller ile etkileşime girer. *BRCA2* gen mutasyonları kalıtsal meme ve yumurtalık kanserine neden olmaktadır. Yapılan son çalışmalar çelişkili olsa da *BRCA2* kalıtsal gen mutasyonuna sahip melanom aileleri ile ilgili birkaç çalışma literatürde yer almaktadır (Ribeiro Moura Brasil Arnaut ve ark., 2021).

2.3.2.5 İmmün baskılama

UV radyasyonunun immün baskılama özelliklerini açıklayan birçok çalışma mevcuttur. Bu çalışmalara dayanarak iki önemli bakış açısı oldukça dikkat çekmiştir. Bunlardan ilki, UV radyasyon maruziyetinin sistemik olarak immün sistemi etkilemesidir. İkinci bakış açısı ise UV radyasyonunun antijene özgül immün toleransı sağladığıdır (Luke, & Schwartz, 2013).

UV radyasyonları sitokin salınımlarının etkili bir indükleyicisidir. Keratinositler, anatomik lokasyonları gereği UV radyasyonlarının doğal hedefleridir Sitokin bakımından güçlü bir kaynak olup, önemli seviyelerde IL-10 sitokini üretirler. UV'ye maruz kalan keratinositler dolaşıma girdiklerinde sistemik etkilere sebep olabilecek, immünsüpresif özellikteki çözünür mediyatörlerin salınımını gerçekleştirebilmektedir (Walterscheid, Nghiem, & Ullrich, 2002).

Çok düşük dozlarda UVA ve UVB radyasyonlarına maruz kalan kişilerde, immün gözetimden sorumlu Langerhans hücreleri (LH) ve Dendritik hücreleri (DH) sensitizasyona uğrayarak, antijenlere duyarsız hale gelebilir ya da melanom gibi tümör antijenlerini tanıyamayıp, anti-tümöral immüniteden sorumlu NK ve $CD8^+$ T hücrelerini aktive etmede yetersiz kalabilmektedir (Saginala, Barsouk, Aluru, Rawla, & Barsouk, 2021).

HIV (İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü) ile enfekte olmuş, edinsel immün sistemi baskılanmış kişilerde artan melanom riski gözlenmektedir. Ayrıca transplantasyon hastaları gibi kronik olarak immün sistemi baskılanmış bireylerde de melanom ve melanom dışı cilt kanserlerinin oluşma riski oldukça yüksek olabilmektedir (Schwarz, 2008).

2.3.2.6 Obezite

Melanom insidansının obezite ile ilişkili olabileceğine dair çok yeni araştırmalar mevcuttur. Beden kitle indeksi (BMI) 30'un üzerinde olan hastaların risk altında oldukları belirlenmiştir. Vücutta aşırı yağlanmanın cerrahi rezeksiyondan sonra primer melanomun prognostik belirteçlerinden biri olan Brestlow kalınlığını arttırdığı ve hastalığı daha agresif hale getirdiği belirlenmiştir. Ayrıca fareler ile yapılan çalışmalarda obez farelerde melanom gelişiminin, obez olmayan farelere kıyasla daha hızlı gerçekleştiği ve metastatik yayılım gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca, obezite immün hücre popülasyonlarında değişikliklere neden olarak anti-tümör immün yanıtların bozulmasına da aracılık etmektedir (Schwarz, 2008; Smith, Arabi, Lelliott, McArthur, & Sheppard, 2020).

2.4 Melanom patofizyolojisi

Melanin biyosentezi, UV maruziyeti ve birçok hormonal faktör tarafından düzenlenir. Melanositler epidermisin bazal tabakında yer alan önemli bir hücre tipidir (Slominski ve ark., 2022). Fizyolojik olarak keratinositler MSH (melanosit stimüle edici hormon) üretirler ve bunun *MC1R* ile bağlanması melanositlerin proliferasyonlarını destekler. Melanositler, keratinositlere taşınan melanozomlarda, melanini sentezleyerek UV radyasyonuna karşı koruma sağlarlar. Bu koruma

mekanizması melaninin, geniş spektrumlu UV radyasyonunun, DNA hasarlarına karşı koruma sağlamasıyla gerçekleşir.

Cilt kanserleri immün sistemin karmaşık ve çoklu yolaklarını içeren mekanizmalarıyla bilinirler. Bu mekanizmalar kısaca şu şekilde ilerlemektedir.

1- Başlangıç aşaması: Normal hücrelerdeki genotoksik etkiler nedeniyle, DNA mutasyonlarının geri döndürülemez aşaması

2- Artış aşaması: Klonal genişlemenin tersine çevrilebilir bir aşaması

3- Progresyon aşaması: Başlangıçtaki normal hücrelerin malign transformasyona uğramasıdır (Demierre, & Nathanson, 2003).

Melanomagenez

Melanom, melanogenez veya melanom tümörogenezi olarak adlandırılan, epidermisin bazal tabasında yer alan melanosit hücrelerinin anormal bir biçimde çoğalarak dermise ve deri altı hücresel dokulara yayılması ile immün sistemden kaçarak lenfatik ya da kan yoluyla diğer organları istila edip metastaza neden olan dinamik bir süreçtir. Melanomageneze yol açan olayların tam olarak sıralaması bilinmemekle birlikte, hücre çoğalmasına, farklılaşması ve ölümüne müdahale eden çok aşamalı genetik süreçler dizisidir.

Melanomagenez beş adımda gerçekleşmektedir. Bu adımlar melanin birikmesi ve oluşan lezyonların takip edilebilmesi ile anlaşılabilir hale gelmiştir (Garbe ve ark., 2022).

1- Melanositik hiperplaziliye sahip melanositik nevüslerin anormal şekilde farklılaşmasıdır.

2-Anormal olarak farklılaşmış melanositik nevüsler, melanositik nükleer atipi ve melanositik displazi gözlenen melanositik nevüslerin varlığı

3- Primer melanom tümörünün radyal büyüme fazı (RGP)

4- Primer melanomanın vertikal büyüme fazı (VGP)

5- Metastatik melanom

MM'da tümör büyüme fazlarının sınıflandırılması tümörün metastatik karakterdeki progresyonunun, hastalığın daha az ciddi olan formundan ayırt etmek için

kullanılır. Bu sınıflamada RGP (tümörojenik olmayan) ya da VGP (tümörojenik) büyüme fazları ile ayırt edilir. RGP, ince bir intraepidermal tümörün oluştuğu büyüme fazıdır. Primer melanomun bu fazdaki progresyonu ardışık ve merkezi olarak gerçekleşir. Kısmi büyümesi ise belirsiz ve bağımsızdır (Heasley, Toda, & Mihm, 1996).

Metastatik formunda ise VGP melanomagenezdeki en önemli adımdır. Bu büyüme fazlarındaki farklı hücre tipleri ve dağılımları histolojiye dayalı olarak melanom sınıflamasına imkan verir.

MM için primer metastatik bölgeler lenf nodlarıdır. Sekonder metastatik odaklar ise sıklıkla deri, deri altı yumuşak doku, akciğer ve beyindir. Primer tümör kalınlığı metastaz için önemli bir risktir. Derideki melanom metastazları normal epidermal bağlantı ve lenfositik yanıt olmaksızın, farklı boyutlarda dermal nodüllerle temsil edilir (Moreira, Bicker, Musicco, Persichetti, & Pereira, 2020).

2.5 Melanom sınıflaması

Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün 2018 yılında belirlemiş olduğu çok yönlü sınıflamaya göre melanom alt tipleri 9 farklı yolak olacak şekilde sınıflanmıştır. Nodüler melanomun belirlenen bu yolakların herhangi birinde olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Bu sınıflama klinik, histopatolojik, epidemiyolojik, genetik ve kümülatif güneş hasarı (CSD) derecelerine göre gerçekleştirilmiştir. Güneşe maruz kalan cildteki melanomlar solar elastoz derecesine göre düşük CSD ve yüksek CSD olacak şekilde kategorize edilmiştir (Elder, Bastian, Cree, Massi, & Scolyer, 2020) (Tablo 1).

Tablo 1. Malign Melanom Sınıflaması (2018 WHO Sınıflaması) (Elder ve ark., 2020).

MELANOM SINIFLAMASI (WHO 2018 SINIFLAMASI)
A. Tipik olarak kümülatif güneş hasarı (CSD) ile ilişkili melanomlar Yolak I. Yüzeyel yayılan melanom/ düşük-CSD melanom Yolak II. Lentigo maligna melanom/ yüksek-CSD melanom Yolak III. Desmoplastik melanom **B. Kümülatif güneş hasarı (CSD) ile ilgili olmayan melanomlar** Yolak IV. Spizoid melanomlar Yolak V. Akral melanom Yolak VI. Mukozal melanom Yolak VII. Konjenital nevüslerden türeyen melanomlar Yolak VIII. Mavi nevüslerden türeyen melanomlar Yolak IX. Üveal melanom **C. Nodüler melanom**

2.5.1 Tipik olarak CSD ile ilişkili melanomlar

2.5.1.1 Yolak I/ Yüzeyel yayılan melanom (düşük-CSD)

Yüzeyel yayılan melanom (YYM), kutanöz melanomun en yaygın görülen alt tipidir. Özellikle vücudun güneşe maruz kalan kısımlarında lokalize olarak gözlenir. Erkeklerde en yaygın yerleşim yeri sırt iken, kadınlarda ise bacakların arka kısımları veya baldır bölgeleridir. Histopatolojik açıdan VGP'nin mevcut olup olmadığına bakılmazsızın, RGP ile tanımlanır. RGP'da dermal-epidermal junctionlarda küme oluşturma eğilimi yüksek olan büyük epiteloid melanositlerin ağırlıklı olarak intraepidermal proliferasyonları gözlenir. Neoplastik karakterdeki hücrelerin epidermise pageoid şekilde saçılımları mevcuttur. Lezyonlar genellikle yoğun pigmentlidir ve sınırları oldukça iyi belirlenmiştir (Elder ve ark., 2020).

2.5.1.2 Yolak II /Lentigo maligna melanom (yüksek-CSD)

Lentigo maligna (LM), maküler melanositik bir displazidir. Yaşlı, açık tenli ve özellikle açık havada çalışan bireylerde sürekli olarak güneşe maruz kalınması sonucunda meydana gelen aktinik hasarlar ile oluşmaktadır. Melanositik bir displazinin, invaziv bir neoplazmaya dönüşmesi yaklaşık 10-18 yıllık bir süreçtir, bu süreçlerde yavaşça genişler ve invaziv bir süreç olan Lentigo malign melanoma (LMM) oluşumu gerçekleşir (De Luca ve ark., 2020).

Kutanöz melanomun diğer bir alt tipi olan Lentigo malign melanom (LMM), popülasyonda YYM tipinden daha az yaygınlıkta görülür. LMM'nin ilerleme hızı YYM'den daha yavaş gibi görünse de tümörojenik VGP bu lezyonlarda herhangi bir zamanda görülmektedir. Pigmentasyonları YYM'ye göre daha azdır, hatta bazı LMM lezyonları tamamen amelanotiktir, bu nedenle yanlış teşhis edilmelerine ve de sınır bölgelerini belirlemede zorluklar yaşanabilmektedir. YYM ile karşılaştırıldığında LMM'deki melanositlerde daha az kümelenme ve dermal-epidermal junctionlar boyunca tek hücreli lentijinöz (bazal) proliferasyon eğilimine sahip oldukları belirlenmiştir (Elder ve ark., 2020).

2.5.1.3 Yolak III/ Desmoplastik melanom (DM)

Desmoplastik melanom (DM), MM'nin çok nadir görülen bir alt tipidir. Histolojik açıdan bu tümörler fazla kollajen üretimi ve iğsi yapıdaki hücrelerin VGP oluşturduğu bir melanomdur. Histolojik olarak üç alt tipi belirlenmiştir: Desmoplastik, nörotrofik ve nöral transforming. Genelde yaşlı kişilerde baş ve boyun bölgelerinde lokalizedir (Nicolson, & Han, 2019).

DM, sert ve skar benzeri bir tümör olarak ortaya çıkabilir. Lezyonlar genellikle amelanotik ve seyrek pigmentlidir. Bu tip lezyonlar bir nodül oluşturmaktan ziyade endofitiktir. Çoğu durumda LMM'nin genel özelliklerine sahip *in situ*/ invaziv RGP bileşeni vardır. Dermisteki tümörler, schwannian farklılaşmasını anımsatan dalgalı bir lif modeline sahip iğsi hücrelerden oluşur (Elder ve ark., 2020).

DMM'nin saf ve karışık tümör formları tanımlanmıştır. Saf olarak tanımlanmış formunda lezyon hücreleri, tümör hücreleri tarafından sentezlenmiş gibi görünen hassas kollajen lifleri ile ayrılmıştır. Ayrıca bu dokunun immünohistokimya boyamaları ile pS100 ve SOX10'a karşı reaktivite gösterdikleri, HMB45 ve MART-1' e karşı herhangi bir reaktivite göstermedikleri ileri sürülmüştür (Ramos-Herberth, Karamchandani, Kim, & Dadras, 2010;Sidiropoulos, Sholl, Obregon, Guitart, & Gerami, 2014).

2.5.2 CSD ile ilgili olmayan melanomlar

2.5.2.1 Yolak IV/ Spizoid melanomlar (SM)

Spitz nevüsler (SN), fasiküller halinde düzenlenmiş büyük epiteloid, oval ya da iğsi melanositlerden oluşur. İlk olarak 1948 yılında Sophie Spitz tarafından çocukluk çağı melanomları olarak tanımlanmıştır. Klinik olarak en sık çocuklarda hızla büyüyen lezyonlar olarak görülse de her yaşta ortaya çıkabilmektedirler. Çok çeşitli klinik görümleri ve pigmentasyon eksiklikleri nedeniyle spizoid melanomları (SM), SN'lerden ayırt etmek oldukça zordur (Kim ve ark., 2015).

SM'ler çapları genellikle 1 cm ve daha fazla olan amelanotik nodüler lezyonlardan gelişir. Asimetrik şekil, derin invaziv bileşeni olan bir lezyon ve yüksek derece sitolojik atipi SM tanısını kolaylaştıran özelliklerdir. Ayrıca pageoid yayılma, atipi, olgunlaşma, Kamino cisimcikleri, p16 ifadesi, artmış mitotik aktivite, zonasyon, infiltrasyon paterni ve epidermisin tükenmesi SM tanısını ayırıcı nitelikteki en önemli özelliklerdir (Elder ve ark., 2020).

2.5.2.2 Yolak V/ Akral lentijinöz melanom (ALM)

Akral lentijinöz melanom (ALM), avuç içleri, ayak tabanları ve tırnak yataklarında oluşan özel bir melanom alt tipidir ve beyaz ırkta oldukça nadir gözlenir (Zhang ve ark., 2019). Tüysüz cilde sahip bireylerde, derinin korunmasını sağlamak için UV ışığının dağılmasını, epitel ve dermise nüfuz etmesini önlemek amacıyla bir bariyer görevi gören, kalın bir stratum korneum tabakası vardır (Wang, Zhao, & Ma, 2016).

ALM etiyolojisi tam olarak belirlenememiştir. Ancak UV radyasyonu bu tip melanom gelişiminde rol oynamamaktadır ve bu tip lezyonların travma ile indüklenebileceği düşünülmektedir. ALM'nin ileri aşamalarda teşhis edilmesi nedeniyle, prognozu tipik olarak kötüdür (Carrera ve ark., 2017).

ALM, diğer kutanöz melanom alt tiplerinde olduğu gibi çok az radyal biçimde genişleyen bir lezyon olarak gelişir. Bu lezyonlar dermisi tutmaya başladığında bir plak oluşturabilir ve epidermal kalınlaşmalara neden olabilir. Bu aşamada kalın stratum korneum, çevredeki deriye kıyasla düz kalan bir lezyon oluşturur. VGP ortaya

çıktığında ise lezyonlar ülsere olabilir ve bir nodül, ülsere olmuş stratum korneum boyunca çıkıntı oluşturabilir. ALM yaygın olarak lentijinöz tipte bir proliferasyon paterni ile ortaya çıkar (Elder ve ark., 2020).

2.5.2.3 Yolak VI/ Mukozal melanom

Mukoza zarında oluşan melanom olarak tanımlanan bu lezyonlar en sık genital bölgelerde, ağız ve burun boşluklarında, konjunktivada ve nadir de olsa diğer mukozal alanlarda gözlenir (Merkel, & Gerami, 2017). Bu tip lezyonlar tüm ırklarda eşit sıklıkta gözlenmektedir. Güneşe maruz kalma ile ilgili bilinen bir ilişki ya da papilloma, herpes ve polyoma gibi virüslerin patojenik rollerine dair herhangi bir kanıt bulunmadığından, risk faktörleri büyük ölçüde bilinmemektedir. Ancak tütün, oral mukozada pigmente lezyonlara neden olabilirken, bu maddenin mukozal melanomda kanserojen olduğu sonucuna varmak için yeterli kanıt yoktur.

Fokal oral pigmentasyonu olan hastalarda ayırıcı tanıda dikkat edilmesi gereken melanotik makül ve sigara içen melanozu olmalıdır. Melanotik makül, genellikle dudaklarda ve diş etlerinde lokalize olan küçük, iyi sınırlı, kahverengi-siyah renklerde olan homojen bir lezyondur. Sigara içen melanozunda ise, alt diş etinin labiyal yüzeyinde kahverengi bir renk değişikliği oluşturarak, birleşen çok sayıda makül olarak ortaya çıkar. Hasta sigarayı bıraktıktan birkaç ay sonra kaybolabilir (Ballester Sánchez, de Unamuno Bustos, Navarro Mira, & Botella Estrada, 2015).

Baş ve boyun bölgesinde meydana gelen mukozal melanom, burun boşluklarında ağız boşluklarına göre daha yaygın gözlenmektedir. Tanı anında oral melanomlardaki lenf nodu metastazı, sinonazal melanomdan daha yaygın olabilmektedir. Histolojik vasküler invazyon ve 5 mm'nin üzerinde bir tümör kalınlığı kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir. Baş ve boyun bölgesinde lokalize olan mukozal melanomun 2 yıllık ve 5 yıllık sağ kalım oranları sırasıyla %26 ve %8 olarak belirlenmiştir (Bachar ve ark., 2008).

Anorektal mukozal melanom; anal kanal, rektum ve ara bölgeleri etkilemektedir. Kadınlarda, erkeklere oranla daha sık gözlenmektedir. En sık görülen semptomlar kanama, ağrı ve sarkmadır. Pigmentasyon olsun ya da olmasın polipoid melanom yaygındır. Hemoroidler, polipler ve adenokarsinom ana teşhis ipuçlarıdır.

Kadın genital sistemini etkileyen mukozal melanom vakalarının çoğu vulvada gözlenmiştir. Vakaların %5'inden azı ise vajinada görülür. Vulvar melanom daha iyi bir prognoza sahiptir ve genellikle 60 ile 80 yaş grubundaki kadınları etkiler. Mukozal melanomun çok daha az yaygın olduğu bölgeler ise erkek üretrası, mesane, yemek borusu ve bağırsağın diğer kısımları olarak bildirilmiştir. Kutanöz melanomun aksine, mukozal melanoma kadınlarda daha sık rastlanır ve kadın/erkek oranı 1,85/1'dir. Kadınlarda daha çok genital alanlarda görülürken, erkeklerde baş ve boyun bölgeleri mukozal melanomun gözlendiği en yaygın bölgelerdir (Ballester Sánchez ve ark., 2015).

2.5.2.4 Yolak VII/ Konjenital nevüslerden türeyen melanomlar

Doğumda mevcut olan melanositik nevüsler olarak tanımlanan Konjenital nevüsler (CN) yeni doğanların %1'inde gözlenmektedir. Bunların çoğu daha sonraki yaşamda edinilmiş nevüslerden klinik olarak ayırt edilemeyen ufak lezyonlardır. CN'ler üç alt tipe ayrılır; vücudun tüm bölümlerini kaplayan ve genelde eksize edilemeyen dev nevüsler, cerrahi eksizyona duyarlı orta büyüklükteki nevüsler ve çapı 2,5 cm'den daha ufak olarak tanımlanan küçük konjenital nevüslerdir. Büyük CN'lerin yaşam süresince melanom geliştirme insidansları %1-30 arasında geniş bir aralıktadır. Dev nevüsü olan hastalarda genel popülasyon oranı ile kıyaslandığında 51,6 kat daha yüksek melanom geliştirme riski belirlenmiştir. Ara formdaki ya da daha küçük nevüslerin ise melanom oluşturma riskinin dev nevüslere kıyasla daha düşük olduğu bildirilmiştir (Elder ve ark., 2020).

CN'nin birleşim komponentinde gelişen melanomlar histolojik olarak genellikle YYM'ye bazen de LMM'ye benzerlik göstermektedir. Doğuştan gelen nevüslerde oluşan nodüler malign tümörlerin, tipik olarak çocukluk çağında dev CN'lerde oldukça sık gözlenen hücresel ve proliferatif nodüllerden ayırt edilmesi gerekmektedir. Bu tip lezyonlar ayırt edilirken nodül içerisindeki ülserasyonlar, mitotik aktivite, nekroz ve üst epidermise yayılmış pageoid hücrelerin varlığı dikkate alınmalıdır (Zaal, Mooi, Sillevis Smitt, & van der Horst, 2004).

2.5.2.5 Yolak VIII / Mavi nevüslerden türeyen melanomlar

Mavi nevüsler (BN) oldukça nadir görülen ve risk faktörleri tam olarak belirlenememiş lezyonlardır. Klinik özellikleri açısından farklı şekillerde tanımlanmışlardır (Zembowicz, & Phadke, 2011).

Banal nevüs, Jadassohn sebase nevüs, tipik mavi nevüs ve dendritik mavi nevüs olarak adlandırılan yaygın lezyonlara ve daha az yaygın olan hücresel mavi nevüs (CBN) olarak kategorize edilmişlerdir. Diğer alt tipleri ise epiteloid mavi nevüs, plak tipi mavi nevüs, hipopigmente mavi nevüs ve sklerozan mavi nevüslerdir (Zembowicz, 2017).

Tipik mavi nevüsler, kalınlaşmış retiküler dermis kollajen lif demetleri arasında yer alan, ince dendritik sitoplazmik yapılara sahip, seyrek dağılmış pigmentli iğsi hücre popülasyonlarından oluşur (Harris ve ark., 1999).

CBN'ler ise berrak sitoplazmaya sahip, kümeler oluşturabilen hücrelerin birleştiği alanlara sahiptir. Lezyonlar genellikle dermis tabaksının hemen altına uzanan yumru şeklinde bir genişlemeye sahiptir (Zembowicz, & Phadke, 2011).

Mavi nevüs türevli melanom (MBN), CBN'nin tümörojenik proliferasyonu sonucunda ortaya çıkar ve genellikle öncü lezyonlar dikkate alınmadığından geç teşhis edilirler. Ülserasyon ve önceden var olan lezyonların büyüklüklerinde meydana gelen boyut artışları ile MBN teşhisi kolaylaşmaktadır. Bu melanomlar belirgin anaplastik sitolojik atipi, sık mitoz ve nekroz ile karakterizedir (Borgenvik, Karlsvik, Ray, Fawzy, & James, 2017).

2.5.2.6 Yolak IX/ Üveal melanom

Üveal melanom (UM) yetişkinlerde yaygın olarak görülen primer malign intraoküler melanom olup, insidansı yaş, etnik köken ve enlemlere göre milyonda 0,1-8,6 arasındaki geniş bir aralıkta çeşitlilik göstermektedir. Genetik olarak CM'den tamamen farklı bir kanser türüdür. Ancak konjunktival melanom ile benzerlik göstermektedir (Rantala, Hernberg, Piperno-Neumann, Grossniklaus, & Kivelä, 2022).

Yetişkinlerde görme yetisinde bozukluklara yol açarak yaşam kalitesini oldukça etkileyen UM, göz içerisinde siliar cisim, iris ve koroid tabakasında gelişir.

Yaygın olarak yaklaşık %85-90 oranlarında koroidal melanositlerden kaynaklanırlar, ancak %3-5 oranında iristen ve %5-8 oranında siliyer cisimden de kaynaklanabilirler. Literatürdeki farklı çalışmalarda konjunktiva bölgesinde yerleşim göstererek kutanöz melanom sınıflamasına da dahil edildiği belirlenmiştir. Konjunktivada yerleşim gösteren bu melanomun bazı kaynaklarda oküler melanom olarak da sınıflandırıldığı bildirilmiştir (Krantz, Dave, Komatsubara, Marr, & Carvajal, 2017).

UM'nin ortanca tanı yaşı 62'dir. Ancak teşhis için en yüksek aralık 70-79 yaş arasındadır. Erkeklerde, kadınlardan %30 daha sık görülmektedir. Açık renk gözler, açık ten, oküler melanositoz, *BAP1* mutasyonları çeşitli risk faktörleri olarak tanımlanmıştır (Rantala ve ark., 2022).

UM'nin klinik tanısı temelde biyomikroskopi ve indirekt oftalmoskopi yöntemlerine dayanır. Siliyer cisim ve koroideada görülen melanom arka üvea melanomu olarak bilinir. Klasik olarak kahverengi kubbe şeklinde gözlenen bu lezyonlar mantar veya yaygın tipli şekillerde de gözlenebilmektedir. Tümörler çoğunlukla pigmentlidir, ancak bazı vakalarda kitlesel alanda pigmente ve pigmente olmayan lezyonlar bir arada görülmektedir.

Arka üvea melanomları klinik olarak tümör kalınlıklarına ve en geniş taban çapına göre sınıflandırılırlar. Sınıflamaya göre 3 mm'ye kadar olan tümör kalınlıkları ve 16 mm'ye kadar olan en geniş taban çapına sahip tümörler küçük, kalınlığı 3,1-8 mm'ye kadar olan ve en geniş taban çapı 16 mm'ye kadar olan tümörler orta, kalınlığı 8 mm'den büyük ve en geniş taban çapı 16 mm'den büyük tümörler büyük melanomlar olarak tanımlanmıştır (Tarlan, & Kıratlı, 2016).

UM'nin klinik olarak teşhisi, tümörün bulunduğu anatomik konumun ve siliar cisimciklerinin oldukça yüksek hareket kabiliyeti nedeniyle zorlaşmaktadır. Buna ek olarak bu bölgede çok yoğun damar ağlarının bulunması ekstraselüler matriks oluşumuna neden olarak, tümörün metastatik kapasitesinin artışına sebep olmaktadır. UM tanısı alan hastaların, tanı anında neredeyse %50'sinde uzak organ metastazı gözlenmektedir (Hassani, Akdeniz, Doğan, Tuncer, Yazıcı, 2022).

UM, hepatik arter ve kısmen dalağı besleyen splenik arter yoluyla hematojen olarak karaciğere metastaz yapar. Karaciğere girdikten sonra, karaciğer mikroçevresindeki davranışa dayalı olarak tümörün iki büyüme modeli belirlenmiştir. Vakaların büyük çoğunluğunda infiltratif büyüme modeli gözlenirken, geriye

kalanlarında nodüler bir büyüme modeli gözlenmiştir. Vakalarda metastazın en yaygın olduğu bölge %60,5 oranında karaciğerdir. Bunu %24,4 oranında akciğer, %10,9'luk oranla deri/ yumuşak dokular ve %8,4 oranında ise kemik doku takip etmektedir (Krantz ve ark., 2017).

Avrupa Oftalmolojik Onkoloji Grubu'nun (OOG), Küçük Ölümcül Koroidal Melanom ile ilgili yaptıkları çalışmalarda boyutu 3,00 mm ve en büyük bazal çapı 9,00 mm'yi aşmayan küçük koroidal melanomların büyük olasılıkla metastaz yapmadıklarını doğrulamışlardır. UM kaynaklı amelanotik ya da epiteloid hücre tipindeki metastazların melanosit türevli antijenik profilleme ile doğrulanması gereklidir. Bu doğrulamalar dokuların IHC yöntemleriyle yaygın olarak ifade edilen antijenlerin saptanmasıyla gerçekleşmektedir. UM'de pozitif çıkması beklenen en yaygın antikorlar S-100 proteini, HMB45 antijeni ve MART-1 (Melan-A) olarak tanımlanan melanosit antijenleridir. Belirtilen antijenlerin hiçbiri metastatik UM'yi CM'den ayırt edebilmek için kullanılamaz. Bir hastada UM öyküsü olup, CM öyküsü olmadığında karaciğere metastaz yapan bu melanomun UM'den kaynaklı olduğu kabul edilir (Elder ve ark., 2020).

UM'de kanser evrelemesi klinik, patolojik ve genetik faktörler göz önüne alınarak gerçekleştirilir. AJCC (*American Joint Committee on Cancer*) tarafından gerçekleştirilen sınıflamada, tümörün boyutları T grubunda (T1-T4), lenf nodu tutulumu (NX- N0- N1) ve uzak metastaz varlığı M grubunda (M0- M1) değerlendirilir. Arka uvea melanom olguları ise T öncelikli olarak tümörün en geniş taban çapı ve kalınlığına göre (T1, T2, T3, T4) sınıflandırılır. Alt gruplar ise siliyer cisim tutulumu ve sklera dışı yayılım varlığına göre (a, b, c, d, e) sınıflandırılmaktadır (Amin ve ark., 2017).

2.5.3 Nodüler melanom

Epidemiyolojik açıdan Nodüler melanom (NM), Tablo 1' de belirtilen yolakların herhangi birinde meydana gelebilmektedir. Genomik ve epidemiyolojik özellikleri bir arada barındıran heterojen bir gruptur. NM klinik değerlendirmelerde papüller veya nodüler bir konfigürasyona sahiptir. Kahverengi, siyah-mavi, mavi-kırmızı pigmentli olabilirler, pigmentasyonları homojen veya heterojen özellik gösterebilir. Ancak genellikle amelanotik ve pembe papülonodüler lezyon olarak

ortaya çıkarlar. Tümörojenitesi oldukça yüksek olan bu melanom alt tipinde hızla büyüyen lezyonlar gözlenmektedir. Bu nedenle NM'ler diğer melanom tiplerine göre daha kötü bir prognoza sahiptir (Bobos, 2021).

Histolojik olarak ufak çaplı olmalarına rağmen, önemli bir Brestlow derinliğine sahip olabilirler. Tümörojenik proliferasyonları, tek tip atipik ve mitotik olarak aktif neoplastik karakterdeki melanositlerden oluşur. Tümörlerde genellikle ülserasyon mevcuttur. Karakteristik olarak epidermisin üzerinde yükselirler ve lezyonlarda yukarı yönlü bir büyüme gözlenir. RGP tipindeki melanomlardan oldukça farklıdırlar ve diğer alt tiplere göre daha simetrik formdadır. Yoğunluklu olarak baş, boyun ve gövdede yerleşim gösterirler. Erkeklerde kadınlara oranla iki kat daha sık gözlenmektedir (Elder ve ark., 2020).

NM'ler dermatofibromlar, benler, nörotekomalar, nörofibromlar ve deri apendiks tümörleri gibi pembe papüllü lezyonlardan ayırt edilebilmelidir. Primer NM'nin ayırıcı tanısında özellikle büyük tümör boyutu, ülserasyon, belirgin tümör infiltre edici plazma hücreleri, yüksek mitotik aktivite, nekroz, likenoid inflamasyon ve epidermal halkaların varlığı önemlidir. Ayrıca *BRAF* ve *NRAS* genlerindeki nokta mutasyonlarının varlığı genomik açıdan NM tanı ayırımına yardımcı olabilmektedir (Skala ve ark., 2018).

2.6 Malign melanomda klinik tanı

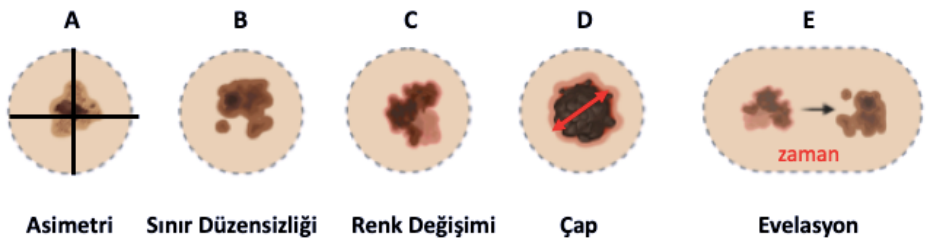
Önemli bir halk sağlığı sorunu olan MM rutin muayeneler esnasında tesadüfen fark edilir. Klinik tanıda şüpheli melanositik lezyonların değerlendirilmesi tüm vücut için dermoskopi yöntemi ile gerçekleştirilir. Ancak dermoskopik tanı tek başına yeterli olmayıp, şüphe uyandıran lezyonlardan mutlaka biyopsi örneklerinin alınması gereklidir.

Melanom lezyonları klinik olarak ''ABCDE'' kriterlerine göre değerlendirilir.
A: Asimetri; lezyonun şekil veya renk açısından diğer yarısı ile olan farklılığının değerlendirilmesidir.
B: Sınır düzensizliği; lezyonların bu aşamadaki aşırı girinti ve çıkıntıları nedeniyle farklı türden dokunun içerisindeki izole kütlenin varlığı

C: Renk değişiklikleri; lezyonlar çoğunlukla ten rengi maküllerden kahverengi, siyah-kırmızı-beyaz-mavi renkleri dahil olmak üzere çeşitli papül ya da plak lezyonlarına dönüşümleri gözlemlenir.

D: Çap; lezyonun çapı 4 mm'den büyük olduğu durumlar değerlendirilir. Ancak melanomun oluşabileceği boyutlar kesin bir alt sınır yoktur. 4 mm'den küçük olan lezyonlar da melanom olabilmektedir.

E: Evelasyon; lezyonun zamanla değişmesi ve gelişmesi anlamına gelir, burada lezyondaki bir büyüme ya da bir değişiklik öyküsü lezyonun ayırt edilmesinde önem taşır (Lopes, Rodrigues, Gaspar, & Reis, 2022) (Şekil 1).



Şekil 1: Melanom lezyonlarının ABCDE kriterlerine göre klinik tanısı (biorender.com kullanılarak hazırlanmıştır.)

NM klinik tanısında ise daha çok EFG kriterleri göz önüne alınarak değerlendirilir (Garbe ve ark., 2022).

E: Elevated; lezyonun yüksekliği, NM'da epidermisin yukarı yönlü doğrultuda bir büyüme gözlenmesi

F: Firm; dokunulacak kadar sert ve sağlam yapıda olmaları

G: Growing; hızlı bir şekilde büyümeleri

MM'nin tespit ve teşhis edilebilmesinde invaziv olmayan görüntüleme teknolojileri biyopsi öncesi ve sonrası floresan *in situ* hibridizasyon (FISH), karşılaştırmalı genomik hibridizasyon, sekanslama, kütle spektrofotometrisi ve IHC yöntemleri gibi nicel analiz teknikleri de kullanılmaktadır (Davis, Shalin, & Tackett, 2019).

Klinik olarak MM'nin kesin tanısı histopatolojik yöntemlerle belirlenmektedir. Histopatolojik açıdan doğru değerlendirmenin yapılabilmesi için lezyonlardan uygun yöntemlerle biyopsi alınması gerekmektedir.

Melanom olduğu düşünülen hastadan cerrahi rezeksiyon sırasında eksizyonel (lezyonun tamamının çıkarılması) biyopsi alınarak konur. Anatomik olarak eksizyonel biyopsinin gerçekleştirilemediği bölgelerde ise insizyonel (lezyonun belirli bir bölgesi çıkarılması) biyopsi yardımıyla tanı konulması gerekmektedir. Şüpheli lezyonlardan ise punch biyopsi örneğinin alınması gerekmektedir. Shave biyopsi (lezyonun traşlanarak çıkarılması) MM'de önerilmemektedir, bunun en önemli nedenlerinden biri de tümör (brestlow) kalınlığının yanlış ölçülmesine neden olarak, evrelemenin hatalı gerçekleşmesine yol açmasıdır (Parlak, Çayırlı, Parlak, & Ekinci, 2014).

2.7 Malign melanoma TNM sınıflaması ve evreleme

2.7.1 Kutanöz melanomda TNM sınıflaması ve evreleme

TNM (Tümör- Nod- Metastaz) sınıflaması AJCC (American Joint Committee of Cancer) evreleme sisteminin sekizinci ve son baskısına göre primer tümörün kalınlığı, bölgesel lenf nodları ve lenfatik drenajı ve de uzak metastazın varlığı ya da yokluğuna göre belirlenmektedir. Evreleme ile ilgili veriler doğrultusunda hastaların prognostik olarak sınıflandırılması ve tedavi amaçlı yaklaşımları değişiklik göstermektedir.

Primer tümörün kalınlığının (brestlow indeksi) mm cinsinden ölçülmesi T kategorisi ile belirlenmektedir. T1 kategorisi için tümörün brestlow kalınlığının 0,8 mm eşik değerinden büyük olması gerekmektedir. Ayrıca bu kategori lezyondaki ülserasyonun varlığı ve yokluğuna göre de değerlendirilmektir (Gershenwald ve ark., 2017) (Tablo 2).

Tablo 2. Kutanöz melanom primer tümör (T) kategorisi (Gershenwald ve ark., 2017).

T kategorisi	Tümör Kalınlığı (Brestlow indeksi)	Ülserasyon Durumu
TX: primer tümör kalınlığı değerlendirilememiş	Değerlendirilemez	Değerlendirilemez
T0: primer tümöre dair kanıt yoktur. Tamamen gerilemiş olabilir.	Değerlendirilemez	Değerlendirilemez
Tis: *in situ* melanoma	Değerlendirilemez	Değerlendirilemez
T1	≤ 1,00 mm	Belirtilmemiş
T1a	< 0,8 mm	Ülserasyon var
T1b	< 0,8 mm	Ülserasyon var
T1b	0,8- 1,00 mm	Ülserasyon var veya yok
T2	> 1,00- 2,00 mm	Belirtilmemiş
T2a	> 1,00- 2,00 mm	Ülserasyon yok
T2b	> 1,00- 2,00 mm	Ülserasyon var
T3	>2,00–4,00 mm	Belirtilmemiş
T3a	>2,00–4,00 mm	Ülserasyon yok
T3b	>2,00–4,00 mm	Ülserasyon var
T4	>4,0 mm	Belirtilmemiş
T4a	>4,0 mm	Ülserasyon yok
T4b	>4,0 mm	Ülserasyon var

Primer tümöre en yakın lokasyonda olan ve sentinel lenf nodu (SLN) olarak adlandırılan lenf nodunun çıkarılarak histopatolojik olarak incelenmesi hastalığın yayılımı ve klinik yaklaşımı açısından oldukça önem taşımaktadır.

N kategorisi bölgesel ya da yakındaki lenf nodlarında in-transit (primer lezyondan 2 cm uzakta oluşan intralenfatik metastaz), satellit (primer lezyonun 2 cm çevresinde oluşan intralenfatik metastaz) veya mikrosatellit halindeki metastazların varlığı ya da yokluğuna ve tutulumu olan lenf nodu sayıları göre sınıflandırılmıştır. Uzak organ metastazı olmayan hastalar tümör yükü ve boyutlarına bakılmaksızın evre III olarak sınıflandırılırlar. (Tablo 3).

Tablo 3. Kutanöz melanom lenf nodu (N) kategorisi (Gershenwald ve ark., 2017).

N kategorisi	Lenf Nodu Tutulumu ve Bölgesel Metastaz Durumu	İn-transit, Satellit veya Mikrosatellit Metastaz Durumu
NX	Değerlendirilememiş lenf nodu (SLN biyopsisi yapılmamış ya da daha önceden başka sebeplerden dolayı rezekte edilmiş)	Yok
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı saptanmamış	Yok
N1	Lenf nodunun sadece birinde tutulum veya tümör tutulumu olmayan lenf nodlarında in transit, satellik ve/veya mikrosatellit metastazlar	
N1a	Klinik olarak gizli (SLN biyopsisinde saptanmış metastaz)	Yok
N1b	Klinik olarak tespit edilmiş bir metastaz	Yok
N1c	Bölgesel lenf nodu hastalığının bulunmaması	Var
N2	İki veya üç adet lenf nodu tutulumu veya bir lenf nodu tutulumlu in-transit, satellit ve/veya mikrosatellit metastaz varlığı	
N2a	İki veya üç klinik olarak gizli (SLN biyopsisi ile saptanmış metastaz)	Yok
N2b	İki veya üç lenf nodunun en az birinde klinik olarak tespit edilmiş metastaz	Yok
N2c	Klinik olarak bir lenf nodunda gizli yada tespit edilmiş metastaz	Var
N3	Dört veya daha fazla lenf nodu tutulumu ve/veya iki veya daha fazla lenf nodu tutulumu olan in-transit, satellit ve/veya mikrosatellit metastazlar, mikrosatellit metastaz varlığı yada yokluğunda herhangi bir sayıdaki kaynaşmış lenf nodu ve/veya mikrosatellit metastaz	
N3a	Dört veya daha fazla klinik olarak gizli lenf nodu (SLN biyopsisi ile saptanmış) metastazı	Yok
N3b	Dört veya daha fazla en az biri klinik olarak saptanmış, veya herhangi bir sayıda kaynaşmış lenf nodu	Yok
N3c	İki veya daha fazla sayıdaki klinik olarak gizli veya saptanmış veya herhangi bir sayıdaki kaynaşmış lenf nodlarının varlığı	Var

M kategorisinde uzak organ metastazları olan hastaların tutulum bölgelerine göre kategorizasyonlara gerçekleştirilmiştir. Uzak deri, deri altı ve lenf nodları tutulumları M1a, akciğer tutulumu M1b, merkezi sinir sistemi (MSS) haricindeki iç organların tutulumu M1c, MSS tutulumları ise M1d kategorisinde sınıflandırılmıştır. Artan ya da azalan laktat dehidrojenaz (LDH) seviyelerine göre ise bu sınıfların bir alt kategorizasyonları oluşturularak bir sınıflandırma gerçekleştirilmiştir (Tablo 4).

Tablo 4. Kutanöz melanom uzak metastaz (M) kategorisi (Gershenwald ve ark., 2017).

M kategorisi	M Kriterleri	
	Anatomik Bölge	**LDH Seviyesi**
M0	Uzak metastaza dair bulgu yoktur	Uygulanamaz
M1	Uzak metastaz saptanmıştır	
M1a	Cilt, kas dahil olmak üzere yumuşak dokuya, ve/veya bölgesel olmayan lenf noduna uzak metastaz bulgusu	Kaydedilmemiş yada özellikle belirtilmemiş
M1a (0)		LDH Yükselmemiş
M1a (1)		LDH Yükselmiş
M1b	Hastalığın M1a bölgeleri varlığında yada yokluğunda akciğere uzak metastaz bulgusu	Kaydedilmemiş yada özellikle belirtilmemiş
M1b (0)		LDH Yükselmemiş
M1b (1)		LDH Yükselmiş
M1c	Hastalığın M1a veya M1b varlığında veya yokluğunda MSS haricindeki iç organlarda metastaz bulgusu	Kaydedilmemiş yada özellikle belirtilmemiş
M1c (0)		LDH Yükselmemiş
M1c (1)		LDH Yükselmiş
M1d	Hastalığın M1a, M1b veya M1c bölgeleri varlığında veya yokluğunda MSS'ye uzak metastaz bulgusu	Kaydedilmemiş yada özellikle belirtilmemiş
M1d (0)		LDH Yükselmemiş
M1d (1)		LDH Yükselmiş

2.7.1.1 Kutanöz melanomun klinik sınıflandırması

MM'nin klinik sınıflandırması hastaların primer tümör (T), lenf nodu (N) ve uzak metastaz (M) parametrelerine dayalı olarak gerçekleştirilir. Sekizinci baskı AJCC evreleme sistemine göre melanom klinik ve patolojik olarak Tablo 5 ve Tablo 6'ya göre sınıflandırılmaktadır (Gershenwald ve ark., 2017).

Brestlow indeksi (Tümör kalınlığı)

T kategorisinin sınıflanabilmesi için tümörün dikey kalınlığının ölçülmesine dayanır. Histolojik olarak alınan biyopsi örneği optik mikrometre ölçeği ile ölçülür, epidermisin granüler tabakasından en derin invazyon noktasına kadar olan tümör derinliği olarak tanımlanır. AJCC evreleme sistemine göre tümör kalınlığı T kategorisi 1,00 mm, 2,00 mm ve 4, 00 mm olacak şekilde belirlenmiştir.

Ülserasyon

T kategorisinin belirlenmesindeki ikinci adımdır. Histolojik olarak primer tümör dokusunda üst epidermisin, stratum korneum tabakası ve bazal membran bütünlüğünün bozulması, nötrofil yoğunlu ile birlikte fibrin birikimi, kalınlaşma ve reaktif hiperplaziye sahip epidermis ile karakterize edilmektedir

Primer odağı belirlenemeyen melanomlar

Bölgesel lenf nodu tutulumu ve uzak metastazı saptanan ancak cilt, mukoza veya gözde herhangi bir primer lezyonun bulunmadığı melanomlardır. Böyle bir durumda başlangıcı bilinen bir melanom ile aynı şekilde evreleme kriterleri uygulanır. Ayrıca hastanın deri, mukoza ve gözdeki pigmentasyonu bozuk tüm alanların değerlendirilmesi gerekmektedir.

in situ melanom, belirlenememiş melanom ve çoklu sayıdaki primer melanom

in situ melanom hastaları AJCC evreleme sistemine göre Tis olarak kategorize edilir. Birden fazla primer tümör lezyonuna sahip hastalar ise her bir cilt bölgeleri farklı bir primer odak olarak birbirinden bağımsız bir şekilde kategorize edilir. Aynı bölgedeki lenf noduna drene olan çok sayıdaki primer melanoma sahip hastalar en yüksek T kategorisinde değerlendirilir. Çok sayıda primer tümöre sahip olan hastaların T kategorilerine *m* eklerek sınıflandırılırlar.

Epidermal bileşeni olmayan primer dermal melanomlar

Epidermal bileşeni olmayan soliter dermal ya da subkutan melanom nodülleri nadir ve farklı bir varyant olarak gözlenir. Cilt renginden mavi yada kırmızıya dönüşen kabarık sert bir nodüldür. MM'de kullanılan geleneksel evreleme kriterlerinin bu tip melanomlara uygulanması sınırlıdır. Bu tarz klinik tabloda ülserasyon ve bileşenin olmaması nedeniyle lezyonun skar oluşumu, gerileme ve ilerlemesinin gözlemlenmesi önem taşır (Simonetti ve ark., 2021).

Evre I melanom, oldukça düşük riskli primer tümör ile sınırlıdır. Primer tümörün brestlow kalınlığı ve ülserasyonun varlığı ya da yokluğu ile değerlendirilir.

Buna bağlı olarak evre IA veya IB olarak sınıflanmaktadır. T1a olarak sınıflandırılan hastalarda ileri görüntüleme ve SLN biyopsisine ihtiyaç duyulmaz.

Evre II melanom, hastalığın nüksetme riskinin biraz daha yüksek olduğu sınıftır. Ancak lenfatik tutulum ve uzak organ metastazı olmayan sadece primer tümör ile sınırlıdır. Primer tümör kalınlığı ve ülserasyonun varlığı ya da yokluğuna göre bağlı olarak evre IIA, IIB ve IIC olarak değerlendirilir. Özellikle evre IIB ve üzerindeki hastalara lokorejyonel lenf nodu ultrasonu yapılmalıdır.

Evre III melanomda, N kategorisine göre değerlendirilerek bölgesel lenf nodu tutulumları patolojik olarak kanıtlanmıştır. Evre III hastaların tulumlu lenf nodu sayıları, in-transit, satellit veya mikrosatellit metastazlarına bağlı olarak evre IIIA, IIIB ve IIIC alt grupları şeklinde sınıflandırılır. Bu sınıftaki hastaların toraks ve karın intravenöz kontrastlı bilgisayarlı tomografileri (BT) veya pozitron emisyon tomografi taramaları (PET CT) yapılmalıdır. Ayrıca evre III olan hastaların mutlaka intravenöz kontrastlı beyin manyetik rezonans (MRI) ile taranması önemlidir.

Evre IV melanom, uzak metastazların varlığı ile tanımlanır. Bu gruptaki hastaların CT ya da PET CT ve beyin MRI ile tüm vücut taramaları yapılmalıdır. Ayrıca serum LDH seviyelerindeki değişimler belirlenmelidir. LDH seviyeleri yükselmemiş olan hastalar M kategorisinin alt gruplarından (0) ile sınıflandırılırken, yükselmiş LDH'ye sahip hastalar M kategorisinin (1) alt sınıfı ile temsil edilirler (Gershenwald ve ark., 2017).

Tablo 5. Kutanöz melanom prognostik klinik evrelemesi (cTNM) (Gershenwald ve ark., 2017).

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

2.7.1.2 Kutanöz melanomun patolojik sınıflandırması

MM'nin patolojik sınıflandırılması biyopsinin uygun şekilde alınması ve tanının dayandığı kriterlerin önemli bir biçimde analiz edilmesine bağlıdır. Tümör kalınlığı, ülserasyon, mitotik aktivite, lenfovasküler invazyon ve lenf nodu tutulumu nörotropizm ve tümör infiltre eden lenfositler patolojik sınıflama için oldukça önemli parametrelerdir. AJCC'nin evreleme sisteminin sekizinci baskısında T kategorisinden çıkarılan mitotik aktivite tümör progresyonunun tahmininde oldukça önemli bir yer tutar ve tüm patoloji raporlarında yer alması gereken bir parametredir.

Patolojik olarak evre I ve II hastalarının primer tümör dışındaki bölgelerde tutulumları ve uzak metastazları bulunmaz. Patolojik olarak evre III hastalar uzak metastazı saptanmamış ancak lenf nodu tutulumu, in-transit, satellit veya mikrosatellit metastazları mevcuttur. Evre IV hastaların patolojik olarak bir yada daha fazla organda tutulumlarına dair bulgular mevcuttur (Gershenwald ve ark., 2017).

Brestlow indeksi (tümör kalınlığı)

MM'nin klinik sınıflandırılmasında açıklanmıştır.

Ülserasyon

MM'nin klinik sınıflandırılmasında açıklanmıştır. Primer CM'de ülserasyon varlığı patolojik ve klinik açıdan olumsuz bir parametredir. Ayrıca daha yaygın ülserasyona sahip hastaların, minimal ülserli tümöre sahip hastalara kıyasla daha da kötü bir prognoza sahip oldukları belirlenmiştir (In 't Hout ve ark., 2012).

Mikrosatellit metastaz

Mikrosatellitler tümörün invaziv bileşeninden en az 0,3 mm'lik bir mesafe ile dermis ve deri altı yağ doku ile ayrılan, çapı> 0,05 mm olan intralenfatik metastatik hücrelerin oluşturduğu bir küme olarak tanımlanır. Primer tümörün eksize edilmiş olan materyalinden patolojik olarak saptanmaktadır. Lenf nodu tutulumu olmayan bir veya daha fazla mikrosatelliti ya da belirgin olarak saptanan satellit ve in-transit metastazı bulunan hastalar klinik evre III olarak değerlendirilmelidir (Garbe ve ark., 2022).

Lenf nodu tutulumu

Radyolojik görüntüleme veya klinik olarak saptanamayan ancak SLN biyopsisi ile saptanan lenf nodu tutulumları klinik olarak gizli şekilde tanımlanmıştır. N kategorisindeki tabloya göre in-transit, satellit ve mikrosatellit metastazların varlığına ya da yokluğuna göre hastalar evre III'ün alt sınıflarına atanırlar (Tablo3).

Uzak metastazlar

M kategorisinde ayrıntılı olarak belirtildiği gibi deri, deri altı dokular, iç organlar, akciğer ve MSS'ye uzak organ metastazı bulunan hastalar evre IV olarak tanımlanır (Tablo 4).

Tablo 6. Kutanöz melanom patolojik evrelemesi (pTNM) (Gershenwald ve ark., 2017).

T Kategorisi	N Kategorisi	M Kategorisi	Patolojik Evre Grubu
Tis	N0	M0	**0**
T1a	N0	M0	**IA**
T1b	N0	M0	**IA**
T2a	N0	M0	**IB**
T2b	N0	M0	**IIA**
T3a	N0	M0	**IIA**
T3b	N0	M0	**IIB**
T4a	N0	M0	**IIB**
T4b	N0	M0	**IIC**
T0	N1b, N1c	M0	**IIIB**
T0	N2b, N2c, N3b yada N3c	M0	**IIIC**
T1a/b- T2a	N1a yada N2a	M0	**IIIA**
T1a/b- T2a	N1b/c yada N2b	M0	**IIIB**
T2b/ T3a	N1a- N2b	M0	**IIIB**
T1a-T3a	N2c yada N3a/b/c	M0	**IIIC**
T3b/ T4a	Herhangi bir N≥ N1	M0	**IIIC**
T4b	N1a-N2c	M0	**IIIC**
T4b	N3a/b/c	M0	**IIID**
Herhangi bir T, Tis	Herhangi bir N	M1	**IV**

2.7.1.3 Kutanöz melanomda diğer prognostik belirteçler

Serum LDH seviyeleri

Serum LDH seviyeleri M kategorisinin alt sınıflarını belirleme açısından önem taşımaktadır. Artan serum LDH seviyeleri kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir. LDH piruvatın, laktata dönüştürülmesi yolağında ve aneaerobik glikolizde rol alan anahtar bir enzimdir ve hipoksik koşullar altında çoğalabilen daha agresif kanser türlerini yansıtır. Yüksek LDH seviyeleri bu agresif kanser türlerinin radyoterapi ve

kematerapilere karşı daha dirençli oluşunun dolaylı belirteci olabileceğini gösterir (Pan, 2023). Ayrıca laktat birikimi $CD8^+$ T hücrelerinin ve Doğal öldürücü (NK) hücrelerinin sağ kalımları ve sitolitik kapasitelerinin azalmasına neden olarak immün sistemden kaçışını destekledikleri kanıtlanmıştır (Jedlička, Feglarová, Janstová, Hortová-Kohoutková, & Frič, 2022).

Tümör infiltre lenfositler (TİL)

TİL'ler konağın immün sisteminin tümörü tanıdığı ve ona karşı yanıt oluşturduğunun göstergesidir. Bu nedenle primer melanomda olumlu bir prognostik belirteçtir. Genel olarak ne kadar fazla TİL varsa, hasta için prognoz o kadar iyidir (Azimi ve ark., 2012).

2.8 Benign nevüsler

Nevüsler tipik olarak deri ile aynı seviyelerde ya da deri seviyesinden daha yüksek değişken boyutlardaki retiküler ya da globüler paterne sahip iyi huylu tümörlerdir. Edinsel nevüsler beyaz ırka sahip bireylerde çok sık görülmektedir. Yaşla ilişkili olarak artış göstermekle birlikte, puberte ve gebelik dönemlerinde güneşe maruz kalan cilt alanlarında arttığı belirlenmiştir. Nevüslerin bu artışın daha çok UV radyasyonu ve genetik faktörler ile hormonların etkileşimleri olduğu düşünülmektedir.

Edinsel melanositik nevüsler 3 grupta incelenmedir. Dermoepidermal bileşkede yer alanlar junctional nevüsler (JN), dermiste yer alan nevüsler ise intradermal nevüs (İN) olarak bilinmektedir. Özelliklerin ikisini birden barındırıyor ise kompaund nevüs (KN) olarak tanımlanmaktadır.

2.8.1 Junctional nevüsler

Kahverengi -siyah renkli, yüzeyleri düz ve çapları 1-6 mm olan nevüslerdir. Daha çok çocukluk dönemlerinde görülen bu nevüsler ileriki yaşlarda kompaund ya da intradermal nevüslere dönüşebilmektedir.

2.8.2 İntradermal nevüsler

Çoğunlukla yetişkinlerde görülen bu nevüsler polipoid ya da nodüler lezyonlar şeklindedir. 5 mm'den daha ufak çaplı olup sıklıkla yüz bölgesinde gözlenirler. Malign transformasyonları oldukça nadirdir.

2.8.3 Kompaund nevüsler

Çapları genellikle 5-10 mm olan bu nevüsler cilt yüzeyinden yukarı doğru kabarıktır. Kahverengi-siyah şekillerde olan bu nevüsler simetrik yapıdadırlar. Vücudun birçok bölgesinde görülebilir ve yüzeylerinde kıl bulundurabilirler (Ozaydın-Yavuz, & Yavuz, 2014).

2.9 Malign melanomda tümör ile ilişkili antijenler (TAA)

MM'de tümör ile ilişkili antijenlerin tanımlanması ve karakterize edilmeleri tümör gelişimi, progresyonu, farklılaşması ve metastatik olarak yayılımının anlaşılmasına katkıda bulunması açısından oldukça değerlidir. Klinikte bu antijenler hastalığın derecelerini tespit etmede, özellikle de primer tümörleri metastazdan ayırt etmede ve prognostik süreçte önemli bilgi kaynakları olarak kullanılır. Ayrıca spesifik antikor ya da Sitotoksik T lenfositler (STL) ve NK hücre bazlı immünoterapilerde hedef olarak kullanılabilmektedir

Çok çeşitli tümör antijenlerinin hem tanı aracı olarak kullanılmaları hem de immünoterapi açısından hedeflenebilmeleri yapılan son çalışmalarda onları oldukça değerli kılmıştır. Kapsamlı analizler ile test edilerek seçilmiş bu antijenlerin genel olarak tüm kanserler ve spesifik olarak da melanom immünoterapileri için birincil adaylar olabileceklerini düşündürmüştür.

Melanom tümörlerinde yaygın olarak gözlenen TAA'lar, melanosit soy/farklılaşma antijenleri, onkofetal/kanser testis antijenleri, GAGE ailesi ve bazı hücre membran proteinleridir (Pitcovski, Shahar, Aizenshtein, & Gorodetsky, 2017).

2.9.1 Melanosit soy/farklılaşma antijenleri

Melanosit farklılaşma antijenleri (MDA), melanogenezin enzimatik aşamalarında yer alan, farklılaşmış melanositlerin değişen aşamalarında ve normal melanositlerde ifade edilen mutasyona uğramamış proteinlerdir. MDA'lar primer ve metastatik melanomlarda artan oranlarda ifade edilirler. Ancak kanser gelişimindeki rolleri henüz kanıtlanmamıştır. Bu proteinler melaninin sentezlendiği ve depolandığı organeller olan melanozomlarda bulunurlar. Bu antijenler epidermal melanositlerde, gözün iris ve siliyer bölgesinin pigmentli epitelinde ve mukozal alanlarlardaki melanositlerde ifade edilirler (Winge-Main, Wälchli, & Inderberg, 2020).

Bu antijenler, tirozinaz (TYR), tirozinaz ilişkili protein-1 (TRP-1), tirozinaz ilişkili protein-2 (TRP-2), melanosit antijeni (MART-1 veya Melan-A), glikoprotein 100 (gp100 veya HMB-45)'dür.

2.9.1.1 Tirozinaz antijeni

Tirozinaz (TYR) melanozom zarına bağlı olarak bulunan ve Cu (bakır) içeren glikolize edilmiş bu enzim birçok mantar, bitki ve hayvanda melanin sentezinde önemli rol almaktadır. İnsanda ise çok aşamalı melanogenez sürecinin ve deride pigment oluşumu ve depolanmasının ilk adımında rol oynar. Enzimin aktif bölgesi moleküler oksijeni bir yan perokso köprüsü olarak bağlayan iki Cu atomu ile karakterizedir. Bu konfigürasyon ile L-tirozinin, L-dihidroksifenilalanine (L-DOPA) hidroksilasyonunu sağlar. Ayrıca o-difenolün sonraki oksidasyonuna karşılık gelen kinon L-dopakinon'a katalize eder. Bu reaksiyonlar melanin üretimindeki ilk iki adımdır. Artan melanin üretimi ve birikimi, edinilmiş hiperpigmentasyon, Lentigo solaris veya senilis, malezma, Adisson ve MM dahil olmak üzere birçok cilt bozukluğu hastalarının ortak özelliğidir (Fogal ve ark., 2015).

Tirozinaz nevüsler, primer ve metastatik melanomların yaklaşık %80-90 oranlarında ifade edilmektedir. Bu da tirozinazı oldukça önemli bir teşhis belirteci haline getirmiştir

Hedeflenen tirozinaz spesifik STL'ler ve Th (T yardımcı hücreler) melanom hastalarında karakterize edilmişlerdir. MM hastalarından ekstrakte edilen spesifik T hücreleri *in vitro* olarak otolog tümör hücrelerini hedefleyerek öldürebildiklerini

göstermişlerdir. Ancak bu antijenler en önemli dezavantajlarından birisi de normal dokularda da ifade olmaları ve hedef dışı tümör oluşturma riski yaratabilmeleridir (Winge-Main ve ark., 2020).

2.9.1.2 Tirozinaz ilişkili protein-1 antijeni

Tirozinaz ilişkili protein-1 (TRP-1), gp75 olarak da bilinen bu antijen, tirozinaz ve TRP-2 ile birlikte eşgüdümlü olarak eumelanin biyosentezinde rol alır. TRP-1 aynı zamanda tirozinaz proteinini stabilize hale getirmede ve daha verimli bir katalitik aktivite sağlamasına neden olmaktadır. TRP-1 tirozinaz ile %48'lik bir homoloji göstermektedir. TRP-1'in olgun formu 75 kD'luk bir proteindir ve endoplazmik retikulum (ER) içerisinde üretilerek golgi aracılığıyla melanozom adı verilen orgenellere taşınır.

TRP-1 melanozomlarda olduğu gibi melanosit hücreleri ve melanom hücrelerinin yüzeylerinde ifade edilmektedir. TRP-1 ile ilgili yapılan *in vitro* biyokimyasal çalışmalarda, bir katalaz türevi ve dihidroksiindol karboksilik asit (DHICA) oksidaz gibi rolleri olduğu gösterilmiştir. Tirozinaz ve TRP-1 kompleksinin, tirozinaz aracılı sitotoksisiteyi azaltarak melanositlerin erken dönemde ölümünü önlemektedir. Primer melanom lezyonlarının IHC yöntemi ile değerlendirilmesine bağlı olarak TRP-1 ifadesinin RGP'da gözlendiği, ancak VGP'de gözlenmediği belirlenmiştir. Bu da invazyon ve hücre yayılmasında potansiyel bir role sahip olmadığını desteklemektedir.

Pigment mekanizmasının bir parçası olan TRP-1'in melanom progresyonuna ilişkin giderek artan kanıtları nedeniyle araştırılması oldukça önem taşımaktadır (Ghanem, & Fabrice, 2011).

2.9.1.3 Tirozinaz ilişkili protein-2 antijeni

Tirozinaz ilişkili protein-2 (TRP-2) bir diğer melanosit farklılaşma antijenidir. Dopakrom tautomeraz (DCT) olarak da bilinen bu enzim melanogenezin düzenlenmesindeki üç enzimden biridir ve pigment modifikasyonunda görev alır. TRP-2'nin yokluğu pigment kaybına yol açmaz fakat bir renk modifikasyonu

oluşturur. Diğer melanosit farklılaşma antijenleri gibi TRP-2, melanom hastalarında otolog bir immün yanıt oluşmasına neden olabilir.

TRP-2'ye yönelik ticari olarak üretilen klonu C-9, normal ve tümör dokularında yapılan karşılaştırmalı analizler sonucunda hepatosit ve alveolar makrofajlardaki bazı granüler boyamalar dışında, normal dokulardaki reaktivitesinin sadece melanositler olduğu belirlenmiştir. Metastatik melanomlarda ise primer %60'ının %84'ünde TRP-2 ifadesinin saptandığı belirlenmiştir. Desmoplastik melanomlar için genellikle TRP-2 ifadesi negatiftir (Jungbluth, & Busam, 2019).

TRP-2'nin aşırı ifadesinin gözlendiği MM'li hastalarda kemoterapi ve radyoterapi tedavilerine karşı direnç oluştuğu gözlemlenmiştir (Pak, Chu, Lu, Kerbel, & Ben-David, 2001).

2.9.1.4 MART-1 antijeni

T hücreleri tarafından tanınan melanom antijeni, Melan-A veya MART-1 olarak da bilinir. Melanozomun enzimatik olmayan yapısal bir bileşenidir. Melanozom dışında yer alır ve golgi organeline lokalizedir. Ticari olarak en sık iki klonu kullanılmaktadır. Bunlar M2-7C10 (anti-MART-1) ve A103 (anti-Melan-A) klonlarıdır. A103 klonu steroid üreten hücreler ve tümör hücrelerinde daha güçlü bir immünopozitiflik gösterdiği belirlenmiştir (Busam ve ark., 1998).

Melan-A (MART-1), kanser immünoterapilerinde potansiyel aşı hedefi olabilecekleri düşünülerek NIH (Ulusal Sağlık Enstitisü) ve Ludwig Kanser Araştırma Enstitüsü'nde üretilmişlerdir ve kısa sürede tanı belirteci olarak kullanılmaya başlanmıştır (Chen ve ark., 1996). Günümüzde klinikte halen melanomun patolojik tanı belirteci olarak kullanılmaktadır.

MART-1, ayrıca HMB-45 ifadesini ve stabilizasyonunu sağlarken, evre II melanozom biyogenezinde önemli bir rol oynar (Hoashi ve ark., 2005).

Normal cilt dokusunda intraepidermal ve intrafoliküler melanositler tarafından ifade edilirler. Bu antijenin ifadesi HMB-45'ten daha yüksek, TYR ve TRP-1'den daha düşük düzeylerdedir Nevüslerin birçoğunda belirli düzeylerde ifadeleri görülebilir. Ancak nötralize veya fusiform hücre formundaki melanositlerde ifadeleri gözlenmez. MART-1, çoğu nodal nevüs tarafından sürekli ifade edilir.

Epiteloid hücre fenotipindeki birincil melanomlar MART-1 ifade etme eğilimi gösterir. Primer ve metastatik melanomlarda ifadeleri homojen gözlenebilir ancak Melan-A'da immünoreaktivite gösteren tümör hücrelerinin bir alt popülasyonu heterojen olarak gözlenmemiştir. Mil hücreli melanomlar ve desmoplastik melanomlar MART-1 ifade etmezler. Ayrıca desmoplastik melanomları iğsi hücre bileşenleri de genellikle MART-1 ile reaktivite göstermez (Jungbluth, & Busam, 2019).

Melanom ile ilişkili bir protein olan MART-1'in peptid dizisinin bir kısmı, otolog STL'ler tarafından tanınabilmektedir (Pitcovski ve ark., 2017).

2.9.1.5 HMB-45 antijeni

PMEL17 (Premelanozomal protein) geni tarafından kodlanan gp 100 olarak da adlandırılan, 100 kD'luk bir proteindir ve melanozomların yapısal bir bileşenidir. Melanozomlardaki ifadesi olgunlaşma aşamalarına göre değişebilmektedir. Neoplastik olmayan normal intraepidermal melanositleri tespit etmek için hassas bir belirteç değildir (Bissig, Rochin, & van Niel, 2016).

Ortak bağlantısal ve bileşik nevüslerde HMB-45 pozitif hücreler genel olarak dermo-epitel bileşkede yer alırlar ve çoğunlukla melanositik bir nevüsün en üst kısmından dip kısmına doğru HMB-45 ifadesinin azaldığı ya da tamamen kaybolduğu gözlenir. Daha derine nüfuz eden bazı nevüslerde ve BN'lerde HMB-45 pozitifliği daha homojen olarak gözlenmiştir. CN'ler ve SN'lerde HMB-45 pozitifliği oldukça değişkenlik gösterir.

Epiteloid hücrelere sahip MM'de HMB-45 yaygın olarak ifade edilmektedir. Primer melanom tümörlerinin yaklaşık %70'inde HMB-45 pozitifliği saptanmıştır. Ancak metastatik melanomda duyarlılığının daha düşük düzeylerde olduğu belirlenmiştir. Çoğu DM'nin invaziv iğ hücre bileşenlerinde bu antijenin ifadesi gözlenmemektedir (Plaza, Suster, & Perez-Montiel,2007).

Çoğu melanom hücrelerinde olduğu gibi neoplastik karakterde olmayan normal hücreler ve retinadaki pigment hücreleri gp100'ü ifade etmektedir. Erken melanogenez, melanozom biyogenezi ve melanin polimerizasyonunda önemli rolleri vardır. HMB-45 melanomun patolojik tanısında rutin olarak kullanılan bir antikordur (Jungbluth, & Busam, 2019).

Evre IV hastalarında yapılan Dendritik Hücre (DH) bazlı aşı çalışmalarında, DH'lere gp100'ün belli peptid bölgelerinin yüklenmesi ve kemoterapi ile kombine melanom tedavi stratejileri gösterilmiştir (Fukuda ve ark., 2017).

2.9.2 Onkofetal/kanser testis antijenleri

Kanser testis antijenleri (CTA)'lar başta melanom olmak üzere bir çok kanser türündeki tümör hücrelerinde ifade edilmektedir. İnsan germline hücrelerinin çoğalma, farklılaşma ve sağ kalımlarını düzenlerler. Normal dokularda plasental trofoblastlarda, spermatogenezin çeşitli aşamalarındaki testiküler germ hücrelerinde ve medullar tipik epitel hücrelerinde ifade edilir. Bazı CTA'lar ise MSS, adrenal bez ve bazı somatik dokularda gelişim aşamalarında esnasında ifade edilir (Pitcovski ve ark., 2017).

Erişkinlerde CTA'ların ifadesi melanom dahil olmak üzere farklı kanser oluşumları ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Genellikle bu antijen ifadeleri İnsan lökosit antijen (HLA) moleküllerini ifade etmeyen germ hücreleri ile sınırlı olduğundan, STL'lerin aracılık ettiği kansere özgül immünoterapiler için uygun hedefler olabilecekleri ileri sürülmüştür (Fratta ve ark., 2011).

Tedavi potansiyelleri ile ilgili yaklaşımları tartışmalı olsa da bu antijenlere yönelik geliştirilen antikorların moleküler tanı amaçlı kullanımı mümkün olabilmektedir. Ancak ağırlıklı olarak hücre içinde ifade edildiklerinden immünoterapötik olarak kullanımları tartışmalıdır.

Seksenden fazla üyeye sahip CTA'ların kanser immünoterapilerinde en çok çalışılanları, Melanom ilişkili antijenler (MAGE), B-M antijen-1 (BAGE), G antijeni (GAGE), New York Özofagus Skuamöz Hücreli Karsinoma-1 (NY-ESO-1) antijeni ve sinoviyal sarkom X kromozomu kırılma noktası (SSX) ailesi antijenleridir (Winge-Main ve ark., 2020).

2.9.2.1 Melanom ile ilişkili antijen ailesi

Dokulardaki antijen ifade paternlerine göre MAGE ailesi iki alt sınıfa ayrılmaktadır. Bunlar MAGE-I ve MAGE-II ailesi antijenleridir. MAGE ailesinin tam olarak işlevi net olmasa da yapılan çalışmalarda hücre döngüsünün düzenlenmesi ve apoptozun kısıtlanmasında rol oynadıkları düşünülmektedir.

MAGE-I ailesi daha çok tümöre özgül antijenlerdir. MAGE-I gen ailesinin 23 tane üyesinin bulunduğu belirlenmiştir. Bu ailenin alt grupları ve en çok çalışılan antijenleri MAGE-A, MAGE- B ve MAGE-C'dir. Bu proteinlerin HLA üzerinden sunularak, otolog STL'lere tanıtılması bu molekülleri hücresel immünoterapilerde potansiyel adaylar haline getirebilir. MM'de, MAGE-I sınıfındaki antijenlerin dokulardaki ifadeleri artmış tümörogenez ve kötü progresyonla ilişkilendirilmiştir.

MAGE-II ailesi antijenleri MAGE-I ailesinin aksine, X kromozomu ile sınırlı olmayıp beyin ve embriyonik dokular gibi farklı dokularda da ifade edilmektedir (Pitcovski ve ark., 2017).

2.9.2.1.1 MAGE-A antijeni

MAGE-A'lar erkek germ hücreleri ve plesental hücreler dışındaki normal dokularda tamamen sessiz formda bulunur. Spermatogenez ve embriyonik gelişimin basamaklarında önemli bir rol oynarlar. Bazı çalışmalar MAGE-A proteininin MSS ve periferik sinirlerin erken gelişim evrelerinde gösterilmiş olmaları, nöronal gelişime de katkı sağlamış olabileceklerini düşündürmektedir (Sang ve ark., 2011).

MAGE-A tümör dokularındaki yüksek ifadeleri, başta melanom olmak üzere meme kanseri, mesane kanseri, akciğer kanseri ve mide kanserlerinde de gözlemlenmektedir. Ayrıca MAGE-A'nın anormal ifadeleri invaziv ve metastatik kapasiteye sahip tümör hücrelerinde daha yaygın olarak saptanmıştır. Bu antijenin yüksek seviyeleri genelde kötü prognoz ve düşük sağ kalım ile ilişkilendirilmiştir.

Kanser hücrelerinde MAGE-A ve üyeleri tümör büyümesi, proliferasyonu, invazyonu ve metastazı gibi tümör gelişimini ilerleten aşamalara neden olarak apoptozu inhibe ettikleri belirlenmiştir. Tümör progresyonunun desteklenmesi, *MAGE* genlerinin yüksek ifadesi ile oluşan DNA hipometilasyonu, kusurlu histon modifikasyonları gibi epigenetik düzensizlikler nedeniyle gerçekleşmektedir.

Farklı kanser tiplerinde birçok yolağın aktivitesini değiştiren MAGE-A ve alt tipleri, farklı sinyal yolakları üzerinden tümör progresyonlarını etkilemektedir. Prostat kanserinde MAGE-A androjen reseptör aktivitesini arttırarak kanser progresyonunun ilerlemesine neden olmuştur. Ayrıca birçok mekanizma ile direkt veya indirekt yoldan p53 aktivitesini azaltarak kanser progresyonuna neden olduğu yapılan farklı çalışmalarda gösterilmiştir. Bir başka çalışmada ise doğrudan c-JUN'un

fosforilasyonunu veya ERK-MAPK yoluyla melanom hücrelerinin proliferasyonlarını desteklediği belirlenmiştir. MAGE-A3'ün yüksek ifadesi epitelyal mezenlimal geçişi (EMT) ve Wnt (β-katenin) sinyal yolaklarını modüle ederek servikal kanser hücrelerinin proliferasyonlarını ve metastazlarını kolaylaştırabilecekleri gösterilmiştir. MAGE-A'nın yüksek ifadesinin görüldüğü hastalarda, hastalığın nüksetme ihtimalinin arttığı, ayrıca kemoterapiye karşı direnç geliştirdikleri gösterilmiştir (Poojary, Jishnu, & Kabekkodu, 2020).

2.9.2.1.2 MAGE-C1 antijeni

Diğer bir CTA olan MAGE-C1, MAGE-I ailesi üyelerinden biridir. X kromozomu üzerinde lokalize halde bulunur, CT7 ve CT7.1 olarak da bilinir. Diğer MAGE ailesi antijenleri gibi normal dokuda germline hücreler olan plesenta, testis ve yumurtalık ile sınırlıdır. Malign dokularda ise birkaç CTA ile birlikte ifade edilebilir.

MAGE-C1 (CT7) ilk olarak bir melanom hücre hattında tanımlanmıştır. Eş zamanlı olarak bir melanom hastasından alınan cDNA örneği ile karşılaştırılmıştır. Yapılan birçok çalışmada MAGE-C1'in çeşitli kanserlerde yüksek oranda ifade edildiği belirlenmiştir.

MM'de primer tümörde belirli seviyelerde gözlenen MAGE-C1'in, metastatik melanomda ise daha da artan bir ifade sergilediği gözlemlenmiştir. Primer melanomda MAGE-C1 ifadesinin artışı, yüksek ihtimalle bir lenf nodu metastaz riskini yansıtabileceğinden, sıkı takip gerektiren hastaları kontrol etmede klinik açıdan oldukça önem taşımaktadır (Curioni-Fontecedro ve ark., 2011).

CM'den farklı olarak gelişen mukozal melanomlar UV maruziyeti CSD dışında oluşan melanomlar sınıfında incelenmektedir. Daha ileri yaşlarda ve sıklıkla ileri evrelerde gözlenirler. İleri evrelerde teşhis edildiklerinden metastatik olmaları muhtemeldir. Mukozal melanom hastalarında yapılan bir çalışmada hem primer hem de metastatik evresinde MAGE-C1'in sitoplazmik ve nükleus boyamalarının pozitif olduğu gözlenmiştir. Sinonozal mukozal melanomların %78'inde MAGE-C1 pozitifliği gözlenirken, jinekolojik mukozal melanom hastalarında ise bu oran %18 olacak şekilde değişmektedir (Curioni-Fontecedro ve ark., 2015).

2.9.2.2 NY-ESO-1 antijeni

En immünojenik CTA'lardan biri olan olarak bilinen NY-ESO-1, 18 kD'luk bir proteindir. Normal yetişkinlerin somatik hücrelerinde ifadeleri olmayan veya çok düşük olan, testiküler germ hücreleri ve plesental trofoblastlarda ifade edilen bir antijendir.

Çok çeşitli tümör hücrelerinde gözlenen bu antijenin ifade sıklığı en yaygın %89-100 oranlarında miksoid ve yuvarlak hücreli liposarkomda, %82 oranında nöroblastomlarda, %80 oranında sinoviyal sarkomada, %46 oranında melanomda ve %43'lük bir oranda ovaryum kanserinde gözlemiştir.

NY-ESO-1, HLA sınırlı peptidlerin T hücreleri tarafından tanınmalarına dair birçok çalışma bulunmaktadır. NY-ESO-1'deki üç HLA-2A sınırlı epitop, $CD8^+$ STL'ler için tanınma bölgeleri olarak belirlenmiştir. Bir takip çalışmasında, metastatik melanomlu bir hastada NY-ESO-1'e karşı eş zamanlı olarak hümoral ve hücresel immün yanıtlarda yüksek titrelerde antikor oluştuğu belirlenmiştir. Yine melanom hastalarında yapılan bir başka çalışmada NY-ESO-1 antikorlarını taşıyan 11 hastanın 10'unda NY-ESO-1'e özgül $CD8^+$ T hücreleri saptanmıştır.

Başka bir çalışmada melanom hastalarının HLA-Sınıf II moleküllerini tarafından sunulan NY-ESO-1'in epitopları analiz edilmiştir. Üç HLA-DRB4*0101–0103 sınırlı epitopu $CD4^+$ T lenfositleri tarafından tanınmıştır (Thomas ve ark., 2018).

2.9.2.3 BAGE ailesi antijenleri

BAGE ailesi HLA'nın özgül bir aleli ile etkileşime girebilen STL'lerini aktive edebilen peptidleri içeren, %90-99 oranında birkaç polipeptidten oluşur. Metastatik melanomların %31'inde BAGE-I ifadesi gözlenmiştir. Buna dayanarak T hücre immünoterapileri için bir hedef olabileceği ya da bir tanı belirteci olarak kullanılabileceği düşünülmektedir (Winge-Main ve ark., 2020).

2.9.2.4 GAGE ailesi antijenleri

GAGE ailesi proteinleri, normalde germ hücreleri ve tümör hücrelerinde ifade edilen en az 16 oligomerik asidik protein üyesinden oluşur. Diğer kanserlerin yanı sıra melanomun tanısı ve prognozu için önemli belirteçlerdir.

Melanomda, GAGE proteinlerinin hümoral yanıtları ve HLA Cw*0601tarafından sunulduğunda bunlardan köken alan peptidler ile ilgili haplotipe sahip bireylerde STL yanıtları indükleyebilir. GAGE proteinlerinin kanserdeki yüksek ifadeleri kötü prognoz ile ilişkilidir (Pitcovski ve ark., 2017).

2.9.2.5 SSX ailesi antijenleri

SSX, CTA protein ailesinin üyelerinden biridir. Yalnızca melanomla sınırlı olmayıp birçok kanserde ifadeleri heterojen olarak saptanmıştır. Melanom hastalarında spontan olarak hümoral ve hücresel immün yanıtları indüklediği belirlenmiştir (Pitcovski ve ark., 2017). Ancak primer tümörler ve metastazların yalnızca bir kısmında görüldüğünden, birçok tümör, bu proteinleri hedef alan immünoterapiden kaçmaktadır. SSX'in tümör dokularındaki ifadesi ileri evreler ve kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir (Winge-Main ve ark., 2020).

2.10 Malign melanomda tedavi yaklaşımları

MM, az görülen kanserlerden biri olmasına rağmen, en ölümcül türlerden biridir. Primer tedavi yöntemleri tümörün cerrahi rezeksiyonu ya da eksizyonu ile uzaklaştırılmasıdır. Ancak ileri evre metastatik melanomlar için sistemik tedavilere ihtiyaç duyulmaktadır (Newcomer ve ark., 2022).

Melanom tedavileri hastalığın evresine ve hastanın özelliklerine bağlı olarak değişmektedir. Temel olarak tedaviler kemoterapi, radyoterapi, hedefe yönelik tedavi, immünoterapiler olarak sınıflandırılmaktadır.

2.10.1 Kemoterapi

İleri evre melanom tedavilerinde birden fazla kemoterapötik ajan kullanılabilmektedir. Ancak onay almış tek ilaç Dacarbazine'dir. Alkile edici ajan olarak bilinir ve alkil gruplarını, guanin bazına yerleştirerek DNA'yı hasarı uğratır ve hücre ölüm mekanizmalarından, apoptoz aracılığı ile hücre ölümüne neden olur. Metastatik melanom hastalarında dacarbazine kullanımı %10-20 arasında yaklaşık 3-6 ay arası bir progresyonsuz sağ kalım gözlenmiştir (Luke, & Schwartz, 2013).

2.10.2 Radyoterapi

Radyoterapi metastatik melanomda pek bir önemi olmayan tedavi yöntemi olarak düşünülmektedir. Bunun en önemli nedeni melanom tümörlerinin radyo-resistant olmasıdır. Ancak eksize edilemeyen ya da ameliyat yapılamayan hastalarda, belirli fraksiyonlarda uygulanan palyetif radyoterapilerin sağ kalım sürecinde etkili olabileceği gösterilmiştir (Çaloğlu ve ark., 2006).

2.10.3 Hedefe yönelik tedaviler

Vemurafenib, dabrafenip BRAF inhibitörleridir ve *BRAF* mutasyonu olan hastalarda, BRAF seçici inhibitörlerinin terapötik olarak kullanımı olumlu sonuçlanmıştır (Wong, & Ribas, 2016).

NRAS mutasyonları olan melanom hastalarında şu an için hedefe yönelik bir tedavi seçeneği yoktur. Ancak seçici MEK inhibitörleri olan trametinip, binimetip ve cobimetinib, *NRAS* ve *BRAF* mutasyonlu melanom hücre hatlarında yapılan bir çalışmada, büyümeyi önleyerek hücre ölümünü indükledikleri gösterilmiştir. Bu çalışmalara dayanarak MEK inhibitörlerinin, *NRAS* mutasyonları için yeni bir terapötik seçenek olabileceği düşünülmektedir (Grimaldi ve ark., 2017).

2.10.4 İmmünoterapiler

2.10.4.1 İmmün kontrol noktası inhibitör tedavileri

İmmün kontrol noktası inhibitörleri (ICI), immün yanıtların başlatılması, süresi ve büyüklüğünü kontrol eden hücre yüzey reseptörleridir. ICI'ler homeostazın sağlanması için pro-enflamatuvar ve anti-enflamatuvar sinyaller arasında bir denge oluştururlar. En önemli görevlerinden biri de aşırı immün yanıtları kontrol altına alarak immün toleransı sağlanmalarıdır (Shiravand ve ark., 2022).

Tümör hücrelerinin immün sistemden kaçış stratejilerinden biri yüzeylerinde inhibitör reseptör ifade etmeleridir. Klinik olarak bu inhibitör reseptörlerin blokajı, immün sistem hücrelerini yeniden aktive ederek, tümörlerin ortadan kaldırılmalarına

aracılık etmektedir. Diğer sistemik tedavilerle karşılaştırıldığında, ICI tedavileri kalıcı olarak tümör hücrelerini kontrol altında tutabilmektedir.

Klinikte üç farklı ICI kullanılmaktadır. Bunlar anti-CTLA4 antikoru (ipilimumab), anti-PD-1 antikoru (nivolumab ve pembrolizumab)'dur.

Anti-CTLA-4 antikoru (ipilimumab)

İleri evre melanomlu hastaların sağ kalımında önemli bir artış gerçekleştiren ilk ilaçtır. Kemoterapi ve gp100 aşısına kıyasla genel sağ kalımda anlamlı bir artış gözlenmiştir.

Anti-PD-1 antikoru (nivolumab ve pembrolizumab)

İleri melanom hastalarında hem nivolumab hem de pembrolizumab daha önce tedavi almamış hastalarda, ipilimumab ile karşılaştırıldığında daha üstün bir tedavi etkinliği göstermiştir.

Anti-CTLA-4 ve anti-PD-1 antikorlarının kombine tedavileri

İpilimumab ve nivolumab kombinasyonları ile tedavi edilen hastalarda çok daha güçlü bir anti-tümöral immün yanıtlar oluşmuş, tümör boyutunda çok daha fazla bir küçülme gözlemlenmiştir. Bu antikor tedavilerinin kombine halleri, tek başlarına kullanılmalarına kıyasla çok yüksek sitotoksik etki göstermiştir (Carlino, Larkin, & Long, 2021).

2.10.4.2 Adoptif hücre tedavileri

Son birkaç yılda kanser gelişimi ve tedavisinde immün sistemin potansiyel etkisi ile ilgili çalışmalar, araştırmaların odak noktası haline gelmiştir. ICI immünoterapileri ve hedefe yönelik tedaviler başta melanom olmak üzere, küçük hücreli dışı akciğer kanseri hastalarının sağ kalımlarını önemli ölçüde iyi hale getirmiştir. Ancak bir süre sonra hastaların büyük bir kısmında hastalığın progresyonunun ilerlediği gözlenmiştir. Ayrıca ICI tedavilerinin yarattığı yan etkiler

ve toksisite ciddi komplikasyonlara neden olabileceğinden, adoptif hücre tedavileri (ACT) bu hastalar için alternatif bir seçenek oluşturabilmektedir.

Her biri farklı etki mekanizmasına sahip üç farklı tip ACT sınıflandırılmıştır. Bunlar, TİL içeren, kimerik antijen reseptörü (CAR) ile oluşturulan ve TCR (T hücre reseptörü) gen tedavisi ile kullanılan ACT'lerdir. Ayrıca NK gibi potansiyel immün hücrelerin kullanımı güncel araştırmalarda yer almaktadır (Rohaan, Wilgenhof, & Haanen, 2019).

Mevcut TİL içeren ACT'ler, rezekte edilmiş tümör materyelinden, TİL'lerin *ex vivo* ortamda IL-2 desteği ile hızlı bir expansiyon protokölü uygulanarak ve hastaya intravenöz transferi yapılmadan önce lenfodeplesif kondisyonlama rejimi ile gerçekleştirilir. Bu tip ACT'nin metastatik melanomlu hastaların yaklaşık %50'sinde anti-tümöral immün yanıt elde edildiği belirlenmiştir (Besser ve ark., 2013).

CAR ile oluşturulan ACT'lerde ise tümöre özgül T hücreleri tarafından tanınmasını sağlayarak, tümör hücrelerinde MHC ifadesinin bulunma gerekliliğini ortadan kaldırmaktadır. MHC ifadesinden bağımsız olarak protein, karbonhidrat ve glikolipid antijenlerine karşı hedeflenebilirler. CD19 spesifik CAR-T hücreleri ile ACT'leri hematolojik malignitelere karşı oldukça etkili yanıtlar görülmüş, ancak solid tümörlerde baskılanmış tümör mikroçevresinden dolayı düşük etkinlik gözlenmiştir (Marofi ve ark., 20221).

TCR gen terapisinde tümör antijenlerinin tanınması, T hücrelerine yeni bir T hücre reseptörünün eklenmesiyle sağlanır. Otolog T hücrelerinin α veβ zincirlerini kodlayan genlerin modifiye edilmesiyle tümör antijenleri hedeflenebilmektedir. TCR ile modifiye edilmiş T hücreleri, antijen tanınmasını MHC'ye bağımlı olarak gerçekleştirir. Melanomda hedeflenebilir antijenler melanom farklılaşma antijenleri ve CTA'lardır. Melanomların yaklaşık %80-95'inde ifade edilen MART-1'i hedefleyen TCR gen terapisinin uygulanabilirliği ve klinik etkinliğine dair ilk kanıtı metastatik melanom hastalarında gösterilmiştir. Tedavi edilen hastalarda %30'a yakınında objektif tümör yanıtı gözlenmiştir. NY-ESO-1 ve MAGE ailesi gibi CTA'lar hedeflendiğinde oldukça anlamlı klinik yanıtlar gözlemlenmiştir (Rohaan ve ark., 2019).

Kanser immünoterapilerinin çoğu T hücre bazlı tedavilere yoğunlaşmıştır. Ancak anti-tümöral immüniteden sorumlu bir diğer hücre grubu olan NK hücrelerin

hem otolog hem de allojenik uygulamaları, güncel çalışmalarda yeni tedavi seçenekleri olabilmeleri açısından umut vericidir. T hücrelere kıyasla, allojenik NK hücreler, graft versus host hastalığına (GVSD) neden olmadan malignitelere karşı, hedeflemede daha etkin ve güvenli terapötikler olabileceklerini düşündürmektedir (Morton ve ark., 2022).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1 Araç ve Gereçler

3.1.1 Deneyde kullanılan kimyasal malzemeler

Doku hazırlama solüsyonu 10X (EZ-Prep), (Roche, Ventana Medikal Sistemler, Tucson, AZ, A.B.D.)

Hücre iyileştirme ve antijeni açığa çıkarma solüsyonu (Ultra-CC1) (Roche, Ventana Medikal Sistemeler, Tucson, AZ, A.B.D.)

Reaksiyon tampon çözeltisi (10X) (Roche, Ventana Medikal Sistemeler, Tucson, AZ, ABD)

Ön seyreltme solüsyonu (Pre-Dilute) (Roche, Ventana Medikal Sistemeler, Tucson, AZ, ABD)

Antikor seyreltme solüsyonu (Roche, Ventana Medikal Sistemeler, Tucson, AZ, ABD)

Hematoksilen II (Roche, Ventana Medikal Sistemeler, Tucson, AZ, A.B.D.)

Bluing Reaktifi (0,1M Li_2CO_3, 0,5M Na_2CO) (Roche, Ventana Medikal Sistemeler, Tucson, AZ, A.B.D.)

Evrensel alkalin fosfataz kırmızısı saptama kiti (*ultraView*) (Roche, Ventana Medikal Sistemeler, Tucson, AZ, A.B.D.)

Alkalin fosfataz kırmızısı, Enhancer (%0,03 ProClin 300 çözeltisi ile birlikte Tris tamponu ve %3 $MgCl_2$) (Roche, Ventana Medikal Sistemeler, Tucson, AZ, A.B.D.)

Alkalin fosfataz kırmızısı, Multimer (%0,03 ProClin 300 çözeltisi ile birlikte bir tampon çözeltide 50 µg/mL alkalin fosfataz etiketli antikor kokteyli))(Roche, Ventana Medikal Sistemeler, Tucson, AZ, A.B.D.)

Alkalin fosfataz kırmızısı, Naphthol (%0,1 ProClin 300 çözeltisi ile birlikte Tris tamponu ve %1 Naphtol içerir.) (Roche, Ventana Medikal Sistemeler, Tucson, AZ, A.B.D.)

Alkalin fosfataz kırmızısı, Fast Red A (%0,05 ProClin 300 çözeltisi ile birlikte asetat tamponu ve %1 Fast red içerir.) (Roche, Ventana Medikal Sistemeler, Tucson, AZ, A.B.D.)

Alkalin fosfataz kırmızısı, Fast Red B (%0,05 ProClin 300 çözeltisi ile birlikte asetat tamponu ve %1 Fast red içerir.) (Roche, Ventana Medikal Sistemeler, Tucson, AZ, A.B.D.)
Ksilen solüsyonu Wellpath Netkimyasal (Ankara, TÜRKİYE).

3.1.2 Deneyde kullanılan çözeltiler

Etil alkol (%95): Saf %100 etil alkolün %5 oranında ultra saf su eklenerek seyreltilmesiyle hazırlanmıştır.
Ultra saf su: Ekoloji profesyonel ultra saf su sistemleri ile saflaştırılmıştır.

3.1.3 Deneyde kullanılan diğer malzemeler

S 35 mikrotom bıçağı, Feather (Tokyo, JAPONYA)
Pozitif yüklü lam, Superfrost Plus (Braunschweig, ALMANYA)
Lam kapatma filmi, Sakura (Tokyo, JAPONYA)

3.1.4 Deneyde kullanılan immünohistokimya reaktifleri

Anti-insan TRP-1 (fare monoklonal IgG_3 antikoru, klon: G-9- Santa Cruz Biyoteknoloji, Kaliforniya, A.B.D)
Anti-insan TRP-2 (fare monoklonal IgG_{2a} antikoru, klon: C-9- Santa Cruz Biyoteknoloji, Kaliforniya, A.B.D)
Anti-insan NY-ESO-1(fare monoklonal IgG_1 antikoru, klon: E978- Santa Cruz Biyoteknoloji, Kaliforniya, A.B.D)
Anti-insan MAGE-A (fare monoklonal IgG_{2a} antikoru, klon: 6C1- Santa Cruz Biyoteknoloji, Kaliforniya, A.B.D)
Anti-insan MAGE-C1 (fare monoklonal IgG_1 antikoru, klon: CT7-33- Santa Cruz Biyoteknoloji, Kaliforniya, A.B.D)
Anti-insan Tirozinaz (fare monoklonal IgG_{2a} antikoru, klon: T311-Cell Marque, Sigma-Aldrich, Kaliforniya, A.B.D.)
Anti-insan MART-1/Melan-A (fare monoklonal IgG_1 antikoru, klon: A103-Cell Marque, Sigma-Aldrich, Kaliforniya, A.B.D.)

Anti-insan HMB45/gp100 (fare monoklonal $IgG_{1/k}$ antikoru, klon: HMB-45 Cell Marque, Sigma-Aldrich, Kaliforniya, A.B.D)

3.1.5 Cihazlar

Ventana Discovery XT (Roche, Ventana Medikal Sistemler, Tuscon, AZ, A.B.D)
Olympus BX51TF Binoküler Mikroskop (Tokyo, JAPONYA)
EVOS M5000 Görüntüleme Sistemi (Thermo Fisher, A.B.D)
Maxotech MX632 Soğutmalı Blok (Türkiye).
Shandon Finesse, 325 (Thermo Scientific, A.B.D.)
Sakura Tissue-Teq 4740 Preparat Kapama Cihazı (Tokyo, JAPONYA)

3.2 Çalışma grubu

Bu doktora tez çalışması, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 4 Aralık 2019 tarihli, 2019-20/9 nolu kararı ile alınmış izin doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Çalışma Helsinki bildirgesinin ilkelerine uyumlu olarak yürütülmüştür.

3.2.1 Hasta grubu örnekleri

Çalışmamızın melanom hasta doku örnekleri Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi Hastanesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı arşivinden sağlanmış, 2016-2023 tarihleri arasındaki paranize blok dokular kullanılmıştır. Kutanöz melanom alt tiplerinden ALM doku örneklerinden n=30, NM doku örneklerinden n=42, YYM doku örneklerinden n=36 ve LMM doku örneklerinden ise n=13 hasta grubu ve ayrıca MUM doku örneklerinden n=6, UM doku örneklerinden n=6 şeklinde, toplamda n=133 hasta doku örneği ile çalışılmıştır.

3.2.2 Hasta kontrol grubu örnekleri

Çalışmanın hasta kontrol grubu örnekleri, Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı arşivinden sağlanmıştır. Benign

nevüs örneğinden n=25'i kompaund nevüs ve n=5'i ise intradermal nevüs parafin blok örneklerinden çalışılmıştır.

3.3 Yöntem

3.3.1 Formalin fikse ve parafine gömülü dokulardan kesit alınması

Melanom hastalarının doku örnekleri ve benign nevüs kontrol grubunun doku örnekleri, Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi Hastanesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı arşivinde bulunan ve daha önceden formalin ile fikse edilip parafine gömülerek saklanan örneklerden elde edilmiştir. Ayrıca TYR, TRP-1, TRP-2, MART-1 ve HMB-45 antikorları için melanom olduğu bilinen bir vakanın tümör doku örneği, MAGE-A, MAGE-C1 ve NY-ESO-1 antikorları için ise testis dokusu, pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

Arşivden alınan parafine gömülmüş dokular, soğutmalı buz blok (Maxotech, Türkiye) üzerinde bekletilmiş ve daha sonra manuel mikrotom (Shandon Finesse 325, Thermo Scientific, A.B.D.) kullanılarak 4 µm kalınlığında seri kesitler alınmıştır. Bunu takiben kesit alınan örneklerin birbirine yapışmalarını önlemek amacıyla su banyosuna aktarılmıştır (Şekil 2).



Şekil 2: Parafine gömülü dokulardan kesit alınmasının şematik gösterimi

3.3.2 Parafinin dokular uzaklaştırılması

Seri kesitleri alınan doku örnekleri, pozitif yüklü lamlara (Superfrost Plus, Braunschweig, ALMANYA) aktarılmış ve parafini dokulardan uzaklaştırmak için 60ºC'de 2 saat etüvde inkübasyona bırakılmıştır.

3.3.3 İmmünohistokimyasal boyamalar

Pozitif yüklü lamlara alınan doku örnekleri Ventana Discovery XT (Roche, Ventana Medikal Sistemler, Tuscon, AZ, A.B.D) model otomatik cihaza yerleştirilmiş ve IHC boyama adımları üretici firmanın önerdiği şekilde uygulanmıştır. Tüm işlemler kapalı bir sistem içerisinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 2).

İlk adımda parafinin tam olarak dokulardan uzaklaştırılması için lama sabitlenmiş doku örnekleri (EZ-Prep) doku hazırlama solüsyonunda (Roche, Ventana Medikal Sistemler, Tucson, AZ, A.B.D.) 75ºC'de 8 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Ardından Tris-EDTA tamponu içeren ve pH'ı 7,8 olan hücre iyileştirme ve antijeni açığa çıkarma (Ultra-CC1) solüsyonunda (Roche, Ventana Medikal Sistemler, Tuscon, AZ, A.B.D) 95ºC'de 64 dakika inkübasyon sağlanmıştır. Bu inkübasyon metodu sayesinde ısı ile indüklenmiş epitop kazanımı gerçekleştirilmektedir. Daha sonra endojen peroksidaz ve protein bloklama işlemi 37ºC'de 4 dakikada inhibitör CM kullanılarak, Ventana Discovery XT (Roche, Ventana Medikal Sistemler, Tuscon, AZ, A.B.D) platformunda gerçekleştirilmiştir.

Primer antikorlar, antikor seyreltme solüsyonu (Roche, Ventana Medikal Sistemler, Tuscon, AZ, A.B.D) ile aşağıdaki tabloda belirtilen dilüsyon oranlarında seyreltilerek kullanılmıştır (Tablo 7).

Tablo 7: Primer antikorların dilüsyon oranları

Primer Antikor	Klon	Firma	Dilüsyon oranı
TRP-1	G-9	Santa Cruz Biyoteknoloji	1:50
TRP-2	C-9	Santa Cruz Biyoteknoloji	1:50
NY-ESO-1	E978	Santa Cruz Biyoteknoloji	1:50
MAGE-A	6C1	Santa Cruz Biyoteknoloji	1:50
MAGE-C1	CT7-33	Santa Cruz Biyoteknoloji	1:50
Tirozinaz	T311	Cell Marque	1:250
MART-1	A103	Cell Marque	1:250
HMB45	HMB45	Cell Marque	1:250

Melanom olgularının dokuları, benign nevüs dokuları, pozitif kontrol doku örnekleri ve negatif kontrol örnekler aynı koşullar altında, 37^{o}C'de 32 dakika boyunca primer antikorlar ile kapalı sistem Ventana Discovery XT (Roche, Ventana Medikal Sistemler, Tuscon, AZ, A.B.D) cihazında inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda otomatik sistem içerisinde (1X) Reaksiyon tampon çözelti ile 3 kez yıkanmaları sağlanmış ve primer antikorlar uzaklaştırılmıştır. Antijenin görünür hale gelebilmesi için alkalin fosfataz kırmızısı (ultraView evrensel alkalin fosfataz kırmızısı saptama kiti, Roche, Ventana Medikal Sistemeler, Tucson, AZ, A.B.D.) ile muamele edilmiştir. Kit kullanıma hazır olarak temin edilen beş farklı solüsyondan oluşmaktadır ve üretici firmanın önerdiği şekilde kullanılmıştır.

Primer antikor inkübasyonundan sonra, primer antikorun biyotinsiz olarak indirekt saptanmasına olanak tanıyan, içerisinde fare IgG, fare IgM ve tavşan antikorlarına bağlanabilen, 50 μg/mL antikor kokteyli içeren Multimer (%0,03 ProClin 300 çözeltisi ile birlikte bir tampon çözeltide 50 μg/mL alkalin fosfataz etiketli antikor kokteyli) (Roche, Ventana Medikal Sistemeler, Tucson, AZ, A.B.D.) reaktifi, kırmızı çökelti oluşumu için gerekli Naphthol (%0,1 ProClin 300 çözeltisi ile birlikte Tris tamponu ve %1 Naphtol içerir.) (Roche, Ventana Medikal Sistemeler, Tucson, AZ, A.B.D.), Fast Red A (%0,05 ProClin 300 çözeltisi ile birlikte asetat tamponu ve %1 Fast red içerir.) (Roche, Ventana Medikal Sistemeler, Tucson, AZ, A.B.D.), Fast Red B (%0,05 ProClin 300 çözeltisi ile birlikte asetat tamponu ve %1 Fast red içerir.) (Roche, Ventana Medikal Sistemeler, Tucson, AZ, A.B.D.) ve ışık mikroskopu ile görüntülenmesini kolaylaştıran Enhancer (%0,03 ProClin 300 çözeltisi ile birlikte Tris

tamponu ve %3 $MgCl_2$) (Roche, Ventana Medikal Sistemeler, Tucson, AZ, A.B.D.) reaktifleri ile Ventana Discovery XT (Roche, Ventana Medikal Sistemler, Tuscon, AZ, A.B.D) cihazında 37ºC'de 20 dakika inkübasyona bırakılmıştır.

3.3.4 Hematoksilen II ve bluing reaktifi ile arka plan boyaması

Alkalin fosfataz boyamasından sonra görüntünün arka plan boyamaları Ventana Discovery XT (Roche, Ventana Medikal Sistemler, Tuscon, AZ, A.B.D) cihazında, firmanın önerdiği adımlar programlanarak gerçekleştirilmiştir.

Doku örneklerinin 37ºC'de 12 dakika Hematoksilen II (Roche, Ventana Medikal Sistemeler, Tucson, AZ, A.B.D.) ile karşıt boyamaları yapılmış ve bunu takiben karşıt boyama sonrası reaktifi Bluing ile 37º'de 8 dakika inkübasyona alınmıştır. İnkübasyon sonunda preparatlar cihaz içerisinden çıkarılarak önce deterjanlı su ile yıkanmış, ardından akan su ile deterjanın tamamen uzaklaşması sağlanmıştır. %96'lık etil alkol (Histolab, Gotenburg, İSVEÇ) içerisinde 3 kez 3 dakika boyunca bekletildikten sonra preparatlar 3 kez 3 dakika boyunca ksilen solüsyonuna (Wellpath, Netkimyasal, Ankara, TÜRKİYE) alınmış ve daha sonra Sakura-Tissue Teq Film 4740 (Tokyo, JAPONYA) preparat kapama cihazında kapatılarak görüntüleme için hazır hale getirilmiştir.

3.3.5 İmmünohistokimyasal boyama sonuçlarının değerlendirilmesi

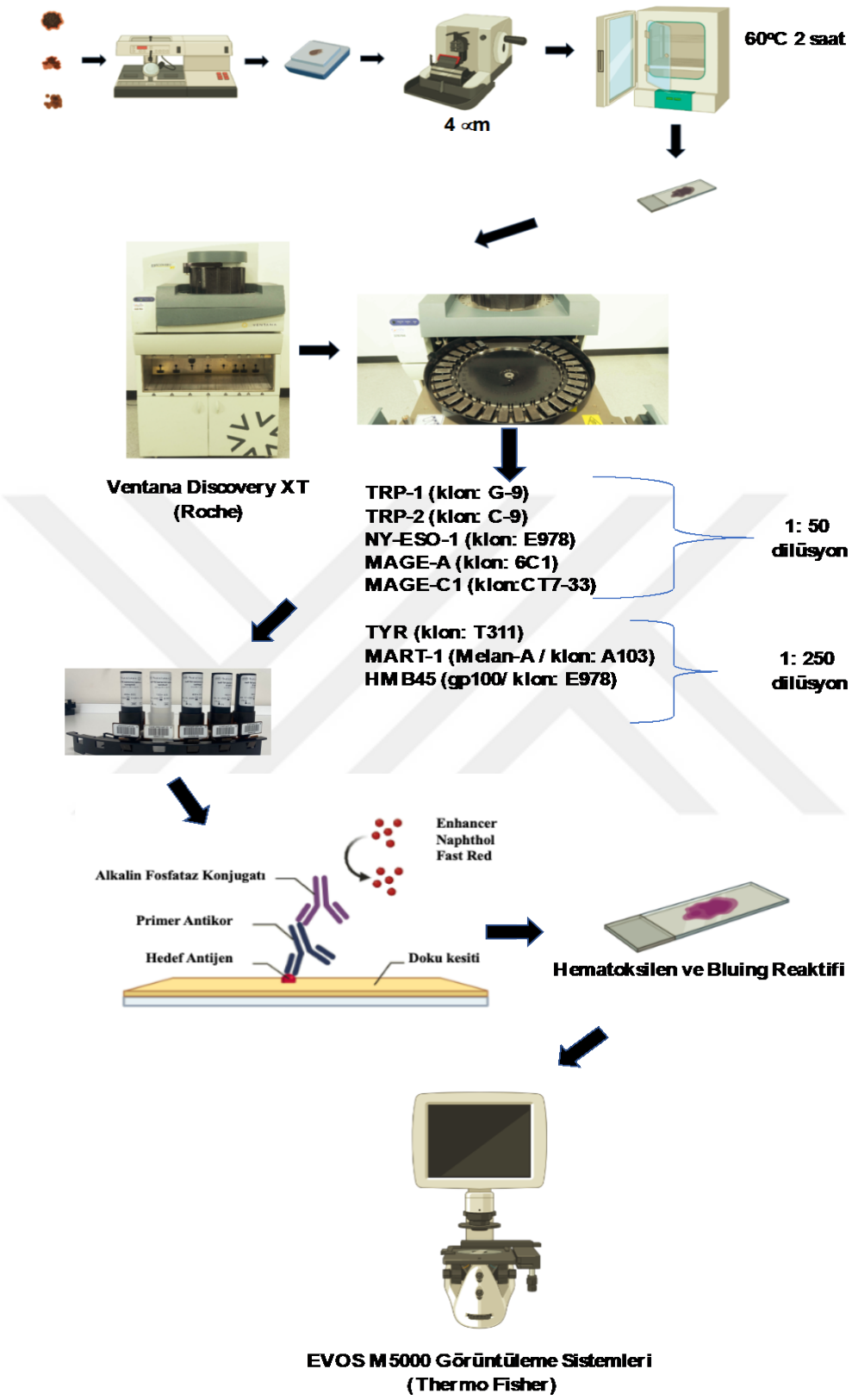
İmmünohistokimya sonuçlarının değerlendirilmesi Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Şaduman BALABAN ADIM'ın mentorlüğünde gerçekleştirilmiştir.

Malign melanom ve kontrolü olan benign nevüs dokularında Tirozinaz, TRP-1, TRP2, MART-1, HMB-45, MAGE-A, MAGE-C1 ve NY-ESO-1 antijen ifadeleri boyanan dokuların *in situ* ve invaziv alanlarında iki ayrı grup olacak şekilde binoküler ışık mikroskopu altında (BX51TF, Olympus, Tokyo, JAPONYA) 10X ve 40X büyütmelerle değerlendirilmiştir. Görüntü kalitesi açısından fotoğraflamalar EVOS M5000 Görünüleme Sistemi (Thermo Fisher, A.B.D) kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 3).

IHC belirteçlerinin immünoreaktiviteleri, H-skorlama yöntemi ile hesaplanmıştır. Bu yöntemde immünoreaktivite şiddetleri güçlü (3), orta (2), zayıf (1) ve boyanmanın olmadığı (0) şeklinde skorlanmış, ayrıca fokal alanda yüz hücre sayılarak, bu hücrelerden boyalı olanların % olarak değeri belirlenerek, aşağıda belirtilen formüle göre hesaplanmıştır.

H-skorlama: (% boyalı hücre sayısı) X (Boyanma şiddeti+1)

Örneklerdeki antijen ifade düzeyleri 0-400 arasında olacak şekilde değerlendirilmiştir.



Şekil 3: İmmünohistokimya deneysel protokolünün şematik gösterimi (biorender.com kullanılarak oluşturulmuştur.)

3.3.6 Sonuçların istatistiksel analizi

H-skorlama ile hesaplanan antijen ifadelerinin, istatistiksel olarak analizleri IBM SPSS Statistics Yazılım Programı (Windows Version 28.0 için. Armonk, NY: IBM Corp.) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Değerlerin normal dağılıma uygunluğu dikkate alıp, analitik yöntemlerle (Kolmogorov-Smirnov-Shapiro-Wilk testleri) değerlendirilmiştir. Veriler normal dağılım göstermediğinden, hasta ve hasta kontrol gruplarının istatistiksel analizleri, ikili grup karşılaştırmalarında Mann-Whitney testi kullanılarak analiz edilmiştir. Çoklu grup analizlerinde ise Kruskal-Wallis, Dunn testi ile Graphpad Prism 8.2.1 (GraphPad Yazılım, Kaliforniya, A.B.D) yazılım programı kullanılarak değerlendirilmiştir. P değerinin <0,05 olması, istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

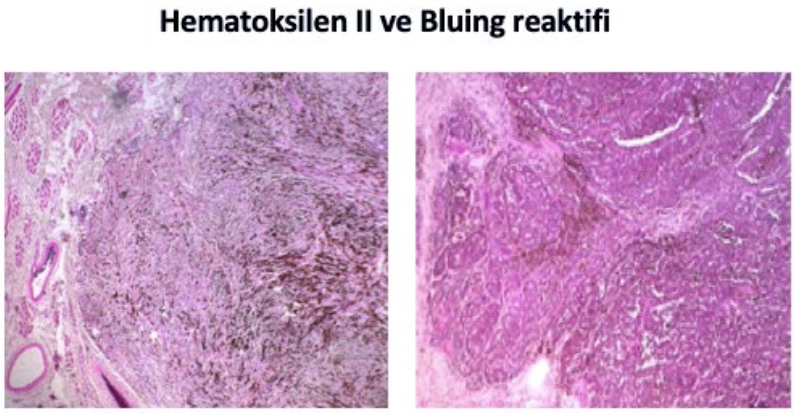
4. BULGULAR

4.1 Melanom olgularının popülasyonu ve özellikleri

Çalışmada yer alan melanom olgularının yaşları 22-89 arasındadır. Tüm hastaların ortalama yaşı 61,43 ortanca yaşı 63, standart sapması 15,77 olarak belirlenmiştir.

4.2 Hematoksilen II ve bluing boyanmalarının değerlendirilmesi

IHC antikor boyamalarından önce, hematoksilen II ve bluing reaktifi ile boyanan dokulardan, tümör morfolojisini en iyi şekilde temsil eden preparatlar seçilerek çalışmaya devam edilmiştir (Şekil 4).

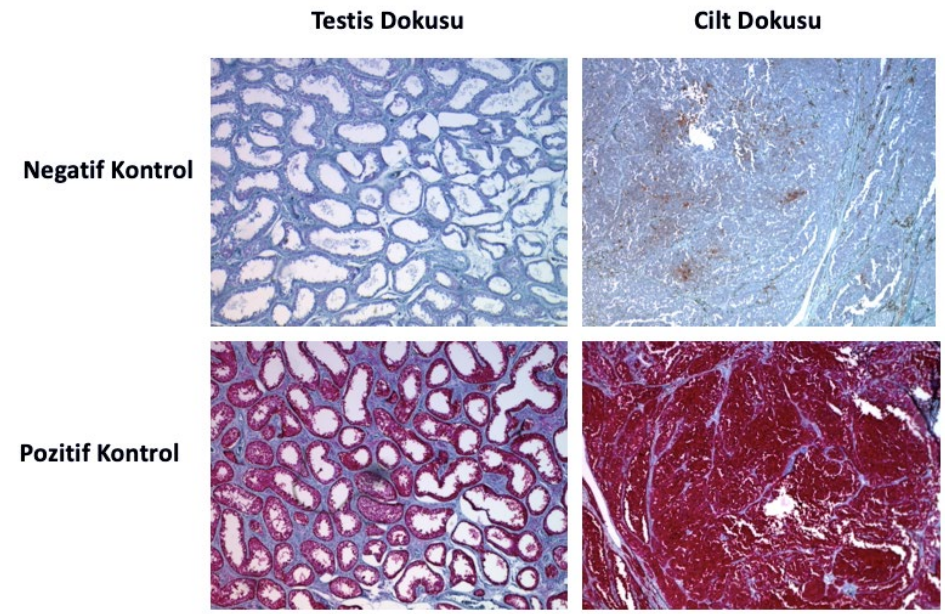


Şekil 4: Malign melanom doku örneklerinin hematoksilen II ve bluing reaktifi ile boyanma görüntüleri

4.3 Kontrol dokularının değerlendirilmesi

Her bir hasta örneğinin boyanması esnasında pozitif kontrolü olan doku örneği aynı lam üzerine fikse edilerek, aynı koşullar altında primer antikor ile boyanmıştır. MAGE-A (Klon:6C1- Santa Cruz Santa Cruz Biyoteknoloji, A.B.D.), MAGE-C1 (Klon: CT7-33- Santa Cruz Biyoteknoloji, A.B.D.) ve NY-ESO-1(Klon: E978- Santa Cruz Biyoteknoloji, A.B.D.) primer antikorları, boyamanın pozitif kontrolü olan testis dokusu ile doğrulanmıştır. TYR (Klon: T311- Santa Cruz Santa Cruz Biyoteknoloji, A.B.D.), MART-1 (Melan-A- Klon: A103-Cell Marque Sigma), HMB45 (gp100-Klon: HMB45-Cell Marque Sigma), TRP-1 (Klon:G-9- Santa Cruz Biotechnology,

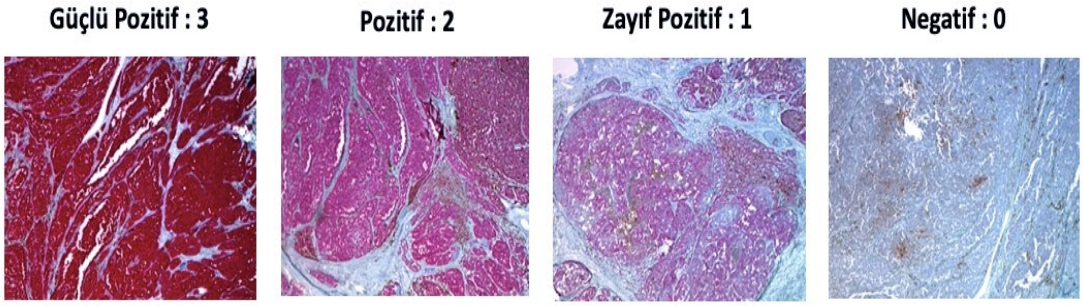
Inc.) ve TRP-2 (Klon: C-9 -Santa Cruz Biyoteknoloji, A.B.D..) primer antikorları ise daha önceden melanom olduğu bilinen bir hastanın doku örneği kullanılarak doğrulanmıştır. (Şekil 5).



Şekil 5: Pozitif kontrol ve negatif kontrol örneklerinin mikroskop görüntüsü

4.4 İmmünoreaktivitelerin H- skorlama ile değerlendirilmesi

IHC yöntemi ile boyanan melanom ve benign nevüs doku örneklerinin boyanma şiddetine göre, güçlü pozitif (3), pozitif (2), zayıf pozitif (1) ve boyanmanın olmadığı negatif (0) olacak şekilde skorlama gerçekleştirilmiştir (Şekil 6).

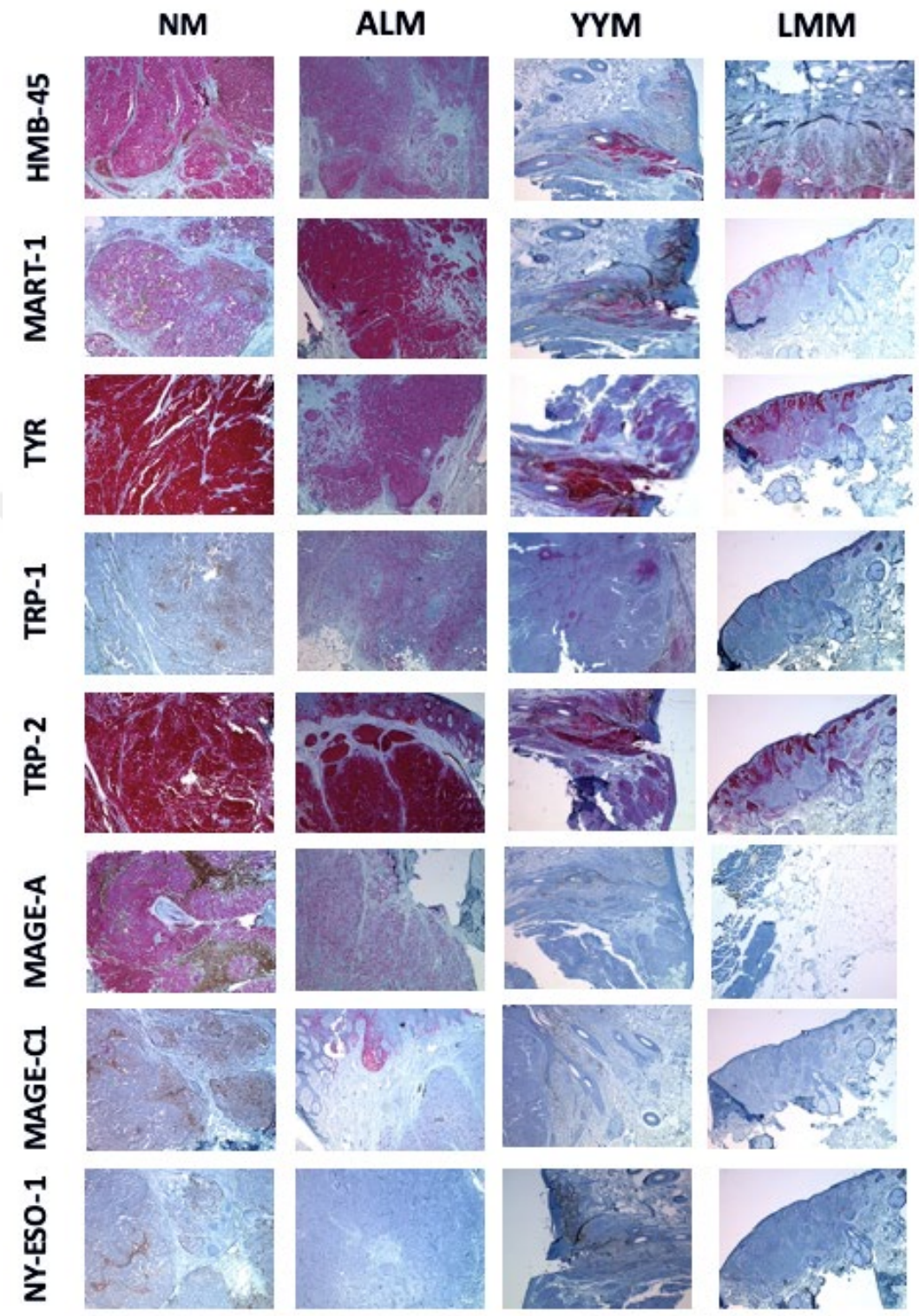


Şekil 6: Malign melanom doku örneklerinin boyanma şiddetlerinin skorlama görseli

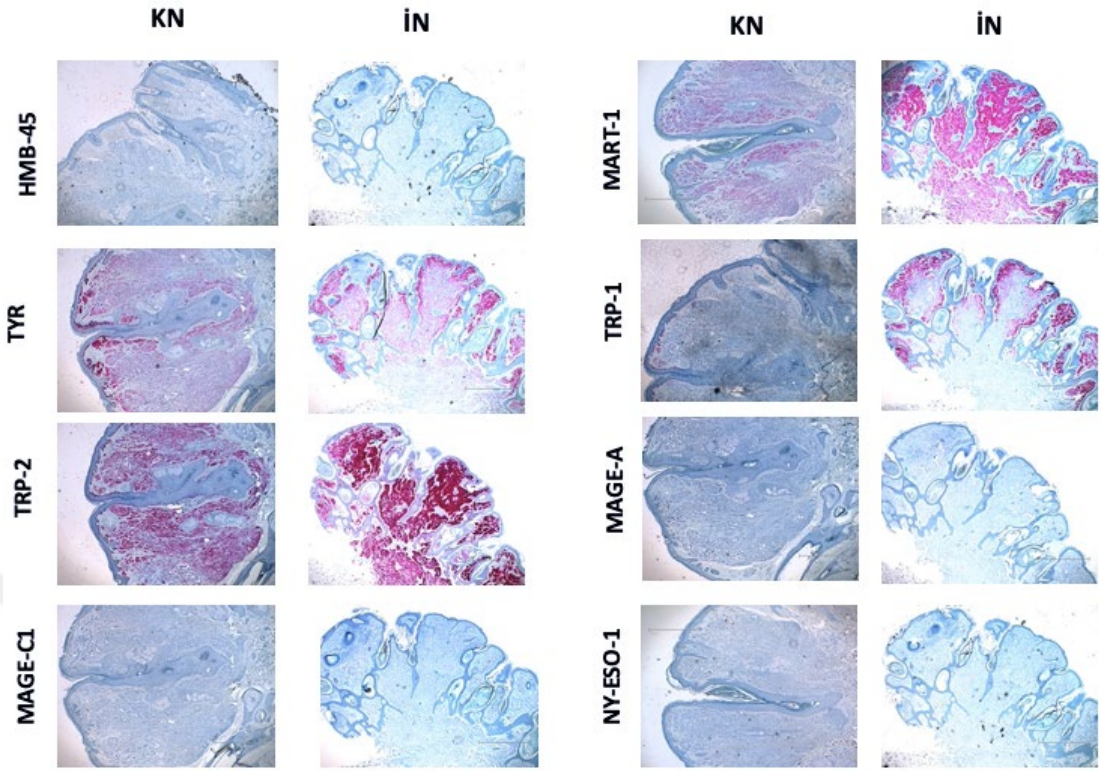
Ayrıca fokal alandaki tümör hücrelerinin boyanma yüzdeleri 3.3.5 numaralı başlıkta belirtilen formüle göre skorlanmıştır. Bu formüle göre skorlama, 0-400 arasında değerlendirilmiştir.

Kutanöz melanom alt tiplerinden NM, ALM, YYM ve LMM hasta dokularındaki MART-1, HMB-45, TYR, TRP-1, TRP-2, MAGE-A, MAGE-C1 ve NY-ESO-1 reaktivitelerinin görüntüleri aşağıdaki şekilde gösterilmiştir (Şekil 7).

Melanom tümör dokularının kontrol grubu olarak ise BN'lerin iki alt tipi olan KN ve İN doku örnekleri kullanılmıştır. KN ve İN dokularının MART-1, HMB-45, TYR, TRP-1, TRP-2, MAGE-A, MAGE-C1 ve NY-ESO-1 antikorları ile boyanma görüntüleri Şekil 8'de gösterilmiştir.



Şekil 7: Kutanöz melanom alt tiplerinin IHC yöntemi sonrası boyanma görüntüleri: Nodüler melanom (NM), Akral lentijinöz melanom (ALM), Yüzeyel yayılan melanom (YYM) ve Lentigo malign melanom (LMM)'un IHC yöntemi ile HMB-45, MART-1, TYR, TRP-1, TRP2, MAGE-A, MAGE-C1 ve NY-ESO-1 antikorlarının boyanma görüntüleri.



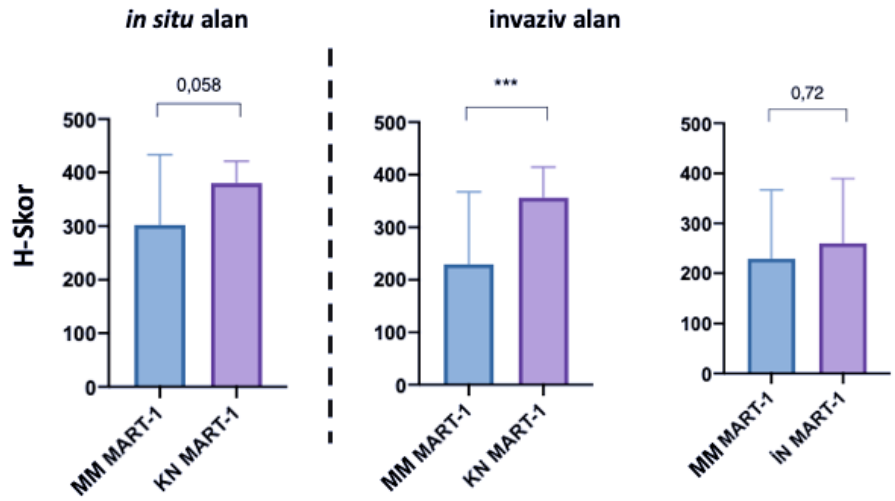
Şekil 8: Hasta kontrol gruplarının IHC boyanma görüntüleri. BN'lerin iki önemli alt grubu olan Kompaund nevüs (KN) ve İntradermal nevüs (İN)lerde HMB-45, MART-1, TYR, TRP-1, TRP-2 ve NY-ESO-1 antijen ifadelerinin mikroskop görüntüsü.

4.5 Hasta ve hasta kontrol gruplarında TAA'ların değerlendirilmesi

MM tümör dokularında, epidermisin tutulumu olarak bilinen in *situ* alan ve dermal tutulum olarak adlandırılan invaziv alanlar, birbirinden bağımsız olarak değerlendirilmiştir. Hasta kontrol gruplarından KN'lerin hem *in situ* hem de invaziv alanları, İN'lerin ise yalnızca invaziv alanları skorlanmış, hasta grupları ve hasta kontrol gruplarında anlamlı olabilecek antijen ifadeleri karşılaştırılmıştır.

MART-1

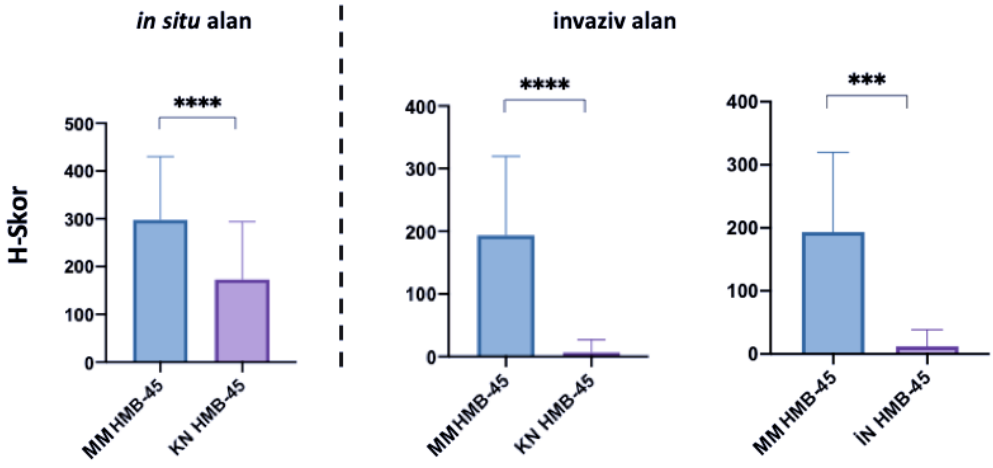
MART-1 antijen düzeyinin in *situ* alanda MM ve BN olguları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Ancak invaziv alanda MART-1 antijen ifadesinin MM'lere kıyasla BN'lerde daha yüksek ifade edildiği gözlemlenmiştir (Şekil 9).



Şekil 9: Malign melanom (MM) ve Kompaund nevüs (KN)/ İntradermal nevüs (İN) dokularının *in situ* ve invaziv alanlardaki MART-1 antijeninin ifade düzeyleri (hasta grubu n=133; hasta kontrol grubu n=30; ***p <0,001).

HMB-45

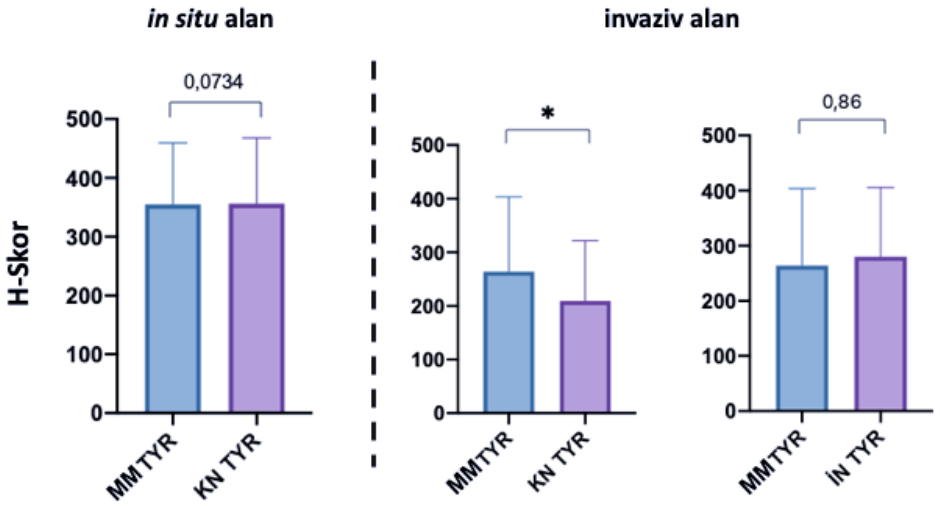
In situ alandaki HMB-45 ifadesi, MM olgularda BN'li olgulara kıyasla istatistiksel olarak oldukça anlamlı bulunmuştur. İnvaziv alanda HMB-45'in MM'li hastalarda yüksek ifadesi gözlenirken KN ve İN dokularında anlamlı derece düşük ifade edildiği belirlenmiştir (Şekil 10).



Şekil 10: Malign melanom (MM) ve Kompaund nevüs (KN)/ İntradermal nevüs (İN) dokularının *in situ* ve invaziv alanlardaki HMB-45 antijeninin ifade düzeyleri (hasta grubu n=133; hasta kontrol grubu n=30; ***p<0,001; ****p<0,0001).

TYR

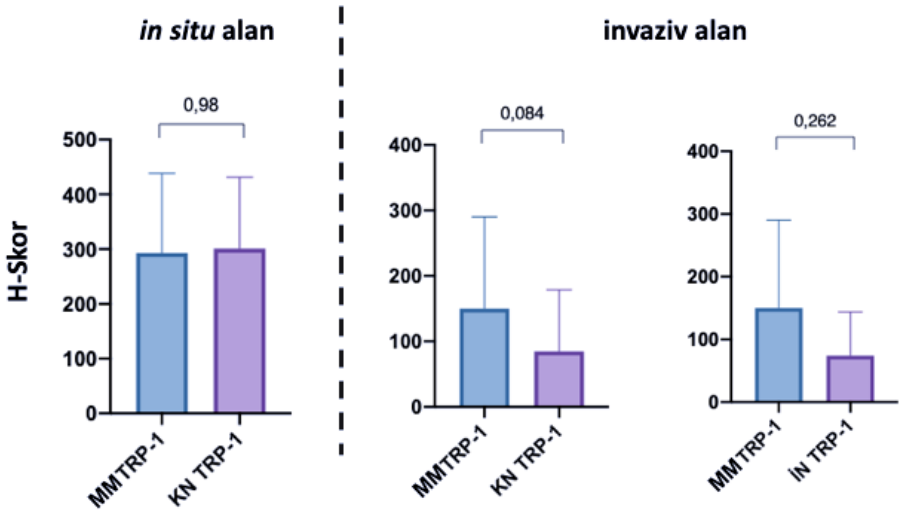
MM ve KN olgularının *in situ* alandaki TYR ifadeleri arasında istatistiksel anlamda bir farklılık yoktur. İki grup arasında benzer ifade seviyesi gözlenmektedir. İnvaziv alanda ise KN'de TRY antijen ifadesinin melanom hastalarına kıyasla istatistiksel olarak daha düşük düzeylerde gözlenmiştir. İN'lerde ise hastalara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 11).



Şekil 11: Malign melanom (MM) ve Kompaund nevüs (KN)/ İntradermal nevüs (İN) dokularının *in situ* ve invaziv alanlardaki TRY antijeninin ifade düzeyleri (hasta grubu n=133; hasta kontrol grubu n=30 *p<0,05).

TRP-1

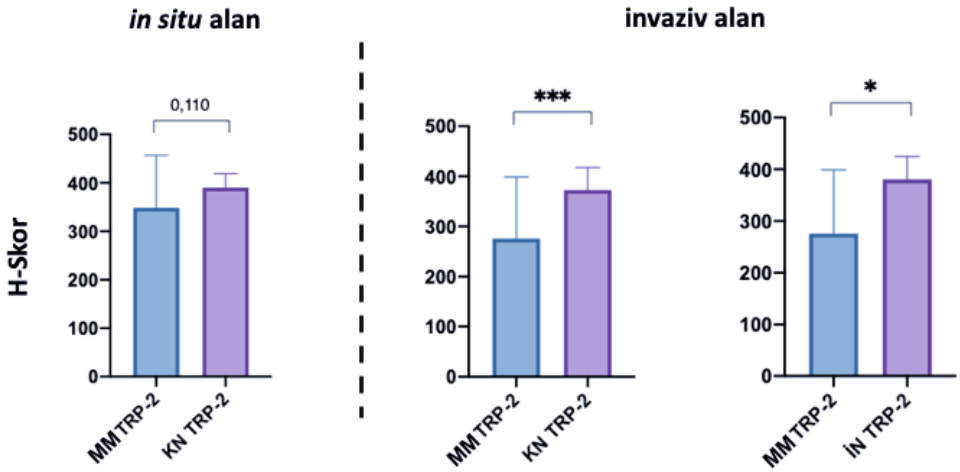
TRP-1 ifadesi hem MM'li dokularda hem de BN'lerde yüksek ifade edildiği saptanmıştır. Bu nedenle gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Şekil 12).



Şekil 12: Malign melanom (MM) ve Kompaund nevüs (KN)/ İntradermal nevüs (İN) dokularının *in situ* ve invaziv alanlarındaki TRP-1 antijeninin ifade düzeyleri. (hasta grubu n=133; hasta kontrol grubu n=30)

TRP-2

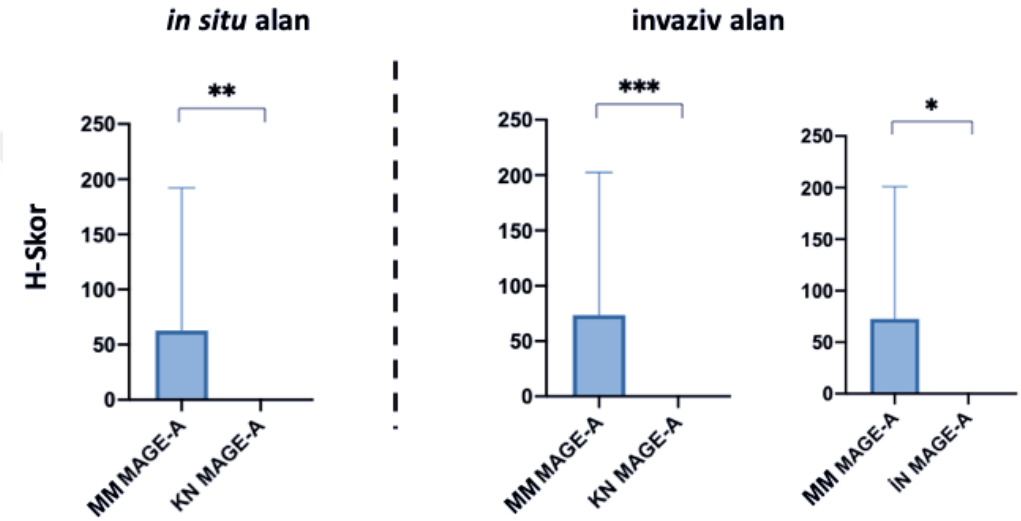
In situ alanda MM ve BN grupları arasındaki TRP-2 ifadesi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Ancak TRP-2 ifadesinin BN dokularında, MM tümör dokularından daha yüksek seviyelerde ifade edildiği gözlemlenmektedir. İnvaziv alanda da aynı şekilde hasta kontrol gruplarındaki TRP-2 ifadesinin melanom hasta dokularına kıyasla daha yüksek ifade edildiği ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır (Şekil 13).



Şekil 13: Malign melanom ve Kompaund nevüs (KN)/ İntradermal nevüs (İN) dokularının *in situ* ve invaziv alanlarındaki TRP-2 antijeninin ifade düzeyleri (hasta grubu n= 133; hasta kontrol grubu n=30;***p<0,001;*p<0,05).

MAGE-A

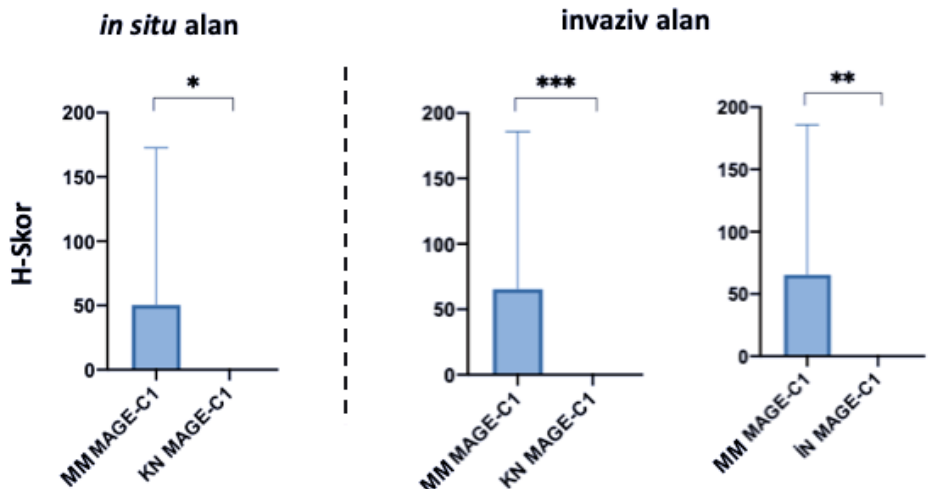
MAGE-A antijen ifadesinin yalnızca MM dokularda ifade edildiği belirlenmiştir. MM doku örneklerinde düşük ifade edilmelerine rağmen, BN'lerde MAGE-A'nın ne *in situ* ne de invaziv alanda ifadesi gözlenmemiştir. Bu nedenle *in situ* ve invaziv alanlarda, hasta ve hasta kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (Şekil 14).



Şekil 14: : Malign melanom (MM) ve Kompaund nevüs (KN)/ İntradermal nevüs (İN) dokularının *in situ* ve invaziv alanlarındaki MAGE-A antijeninin ifade düzeyleri (hasta grubu n=133; hasta kontrol grubu n=30; ***p<0,001; **p<0,01; *p<0,05).

MAGE-C1

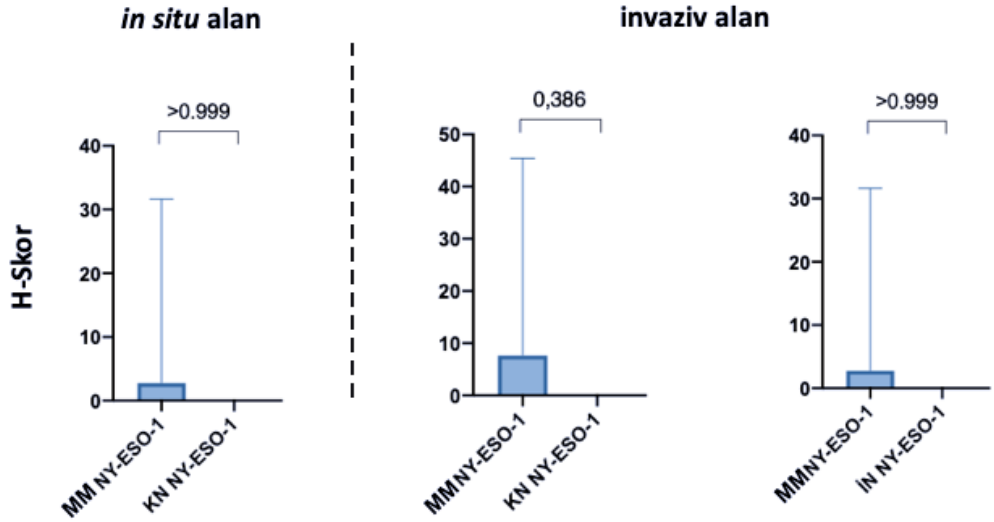
MM hastalarında MAGE-C1 antijen ifadesi, BN'li hastalarla karşılaştırıldığında hem *in situ* hem de invaziv alanda istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir. MAGE-C1'in MM'li hastalarda MAGE-A'ya benzer şekilde düşük seviyelerde ifade edildiği gözlenmiştir (Şekil 15).



Şekil 15: Malign melanom (MM) ve Kompaund nevüs (KN)/ İntradermal nevüs (İN) dokularının *in situ* ve invaziv alanlarındaki MAGE-C1 antijeninin ifade düzeyleri (hasta grubu n=133; hasta kontrol grubu n=30; ***p<0,001; **p<0,01; *p<0,05).

NY-ESO-1

NY-ESO-1 antijeni, tüm MM olgularında en düşük seviyelerde ifade edilen antijen olarak saptanmıştır. KN ve İN olgularının hem *in situ* hem de invaziv alanlarında NY-ESO-1 antijen ifadesi gözlenmemiştir (Şekil 16).

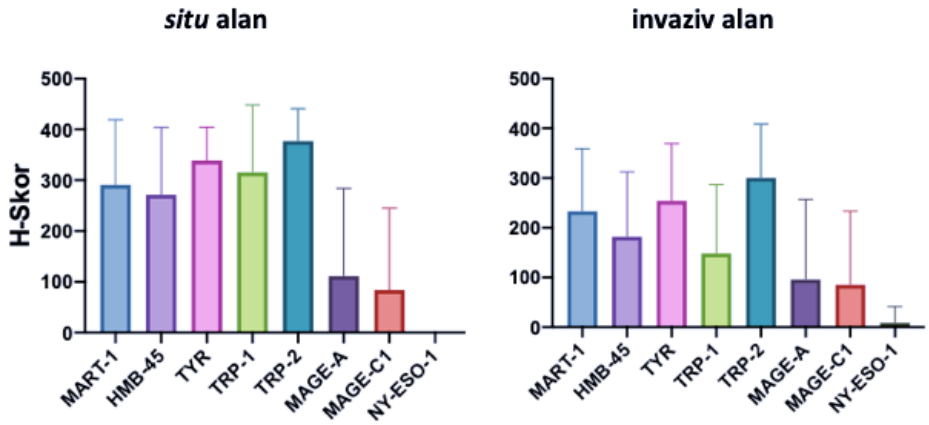


Şekil 16: Malign melanom (MM) ve Kompaund nevüs (KN)/ İntradermal nevüs (İN) dokularının *in situ* ve invaziv alanlarındaki NY-ESO-1 antijeninin ifade düzeyleri. (hasta grubu n=133; hasta kontrol grubu n=30)

4.6 Kutanöz melanomun (CM) alt tiplerinde TAA'ların değerlendirilmesi

4.6.1 Akral lentijinöz melanom (ALM) hastalarının farklı klinik evrelerinde tümör ile ilişkili antijenlerin değerlendirilmesi

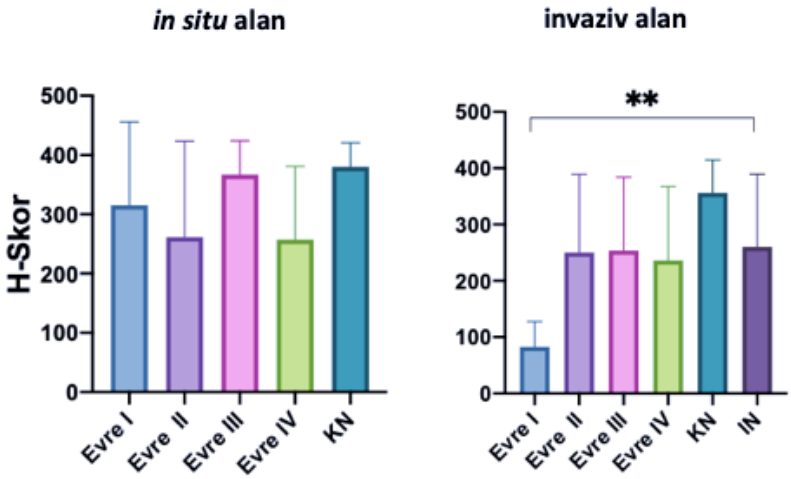
Akral lentijinöz melanom (ALM) hastalarının doku örneklerindeki MART-1, HMB-45, TYR, TRP-1, TRP-2, MAGE-A, MAGE-C1 ve NY-ESO-1 antijen düzeyleri dokuların hem *in situ* hem de invaziv alanlarında değerlendirilmiştir. ALM dokularında *in situ* ve invaziv alandaki en yüksek antijen ifadesi TRP-2 olarak saptanmıştır. En düşük antijen ifadesi ise NY-ESO-1 olarak gözlenmiştir (Şekil 17).



Şekil 17: Akral lentijinöz melanom (ALM) hasta doku örneklerinin *in situ* ve invaziv alanındaki tümör ile ilişkili antijenlerin ifade düzeyleri (n= 30)

MART-1

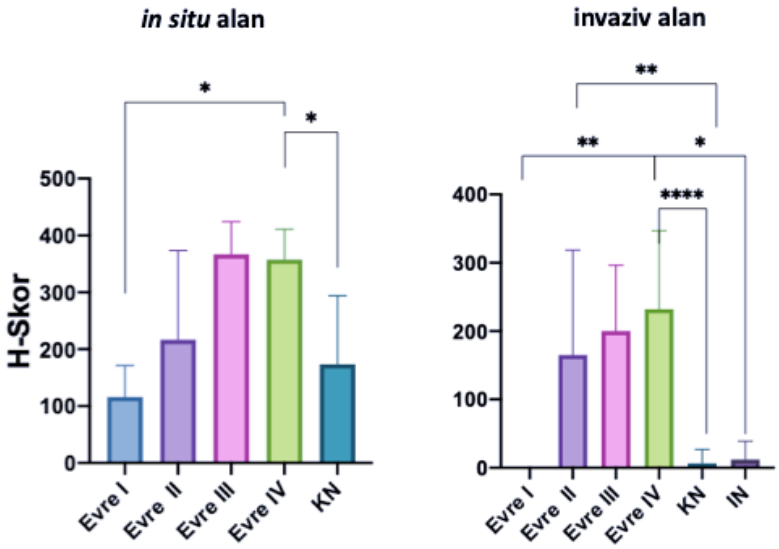
ALM dokularının *in situ* alanlarında MART-1 antijen ifadesinin, evreler arasında ve KN ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. KN'lerde MART-1 ifadesinin, ALM evrelerine kıyasla daha yüksek olduğu gözlenmiştir. (Şekil 18).



Şekil 18: Akral lentijinöz melanom (ALM) hastalarında MART-1 antijeninin klinik evreler arasındaki ifade düzeylerinin gösterimi (hasta grubu n=30; hasta kontrol grubu n=30; **p<0,01).

HMB-45

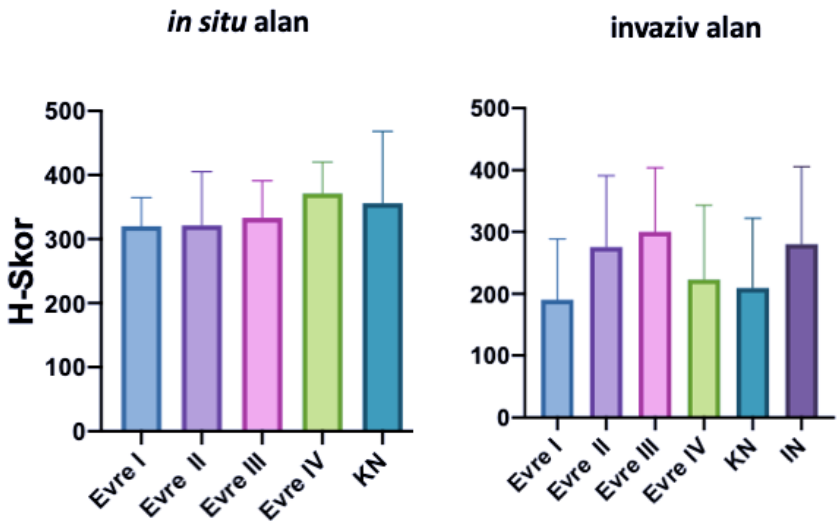
ALM dokularının *in situ* alanlarında evre IV hastaların doku örnekleri, KN ile karşılaştırıldığında, HMB-45 ifadesinin istatistiksel olarak anlamlı derece artış gösterdiği gözlenmiştir. Ayrıca evre I ve evre IV hasta grupları arasında da HMB-45 antijen ifadesinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı saptanmıştır. İnvaziv alandaki ALM hasta dokularının HMB-45 ifadesi, hasta kontrol grupları olan KN ve İN dokularına kıyasla, belirgin şekilde artış gösterdiği bulunmuştur. İnvaziv alanda ALM hasta dokularının HMB-45 antijen ifadesinin düzeyleri, hastalığın ilerleyen evrelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmıştır. ALM hasta örneklerinde her iki doku alanında da evreler arasındaki antijen ifadelerinde doğrusal bir artış gözlemlenmektedir (Şekil 19).



Şekil 19: Akral lentijinöz melanom (ALM) hastalarında HMB-45 antijeninin klinik evreler arasındaki ifade düzeylerinin gösterimi (hasta grubu n=30; hasta kontrol grubu n=30; ****p<0,0001; ***p<0,001; **p<0,01; *p<0,05).

TYR

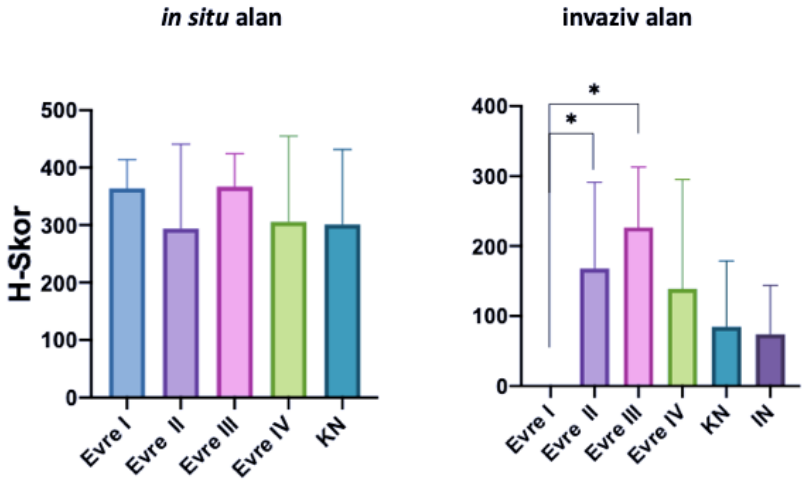
ALM hastalarının evreleri arasında ve hasta dokuları ile hasta kontrol grubu dokularının *in situ* ve invaziv alanlarında, TYR antijen ifadeleri arasında istatistiksel anlamda bir farklılık bulunamamıştır (Şekil 20).



Şekil 20: Akral lentijinöz melanom (ALM) hastalarında TYR antijeninin klinik evreler arasındaki ifade düzeylerinin gösterimi (hasta grubu n=30; hasta kontrol grubu n=30).

TRP-1

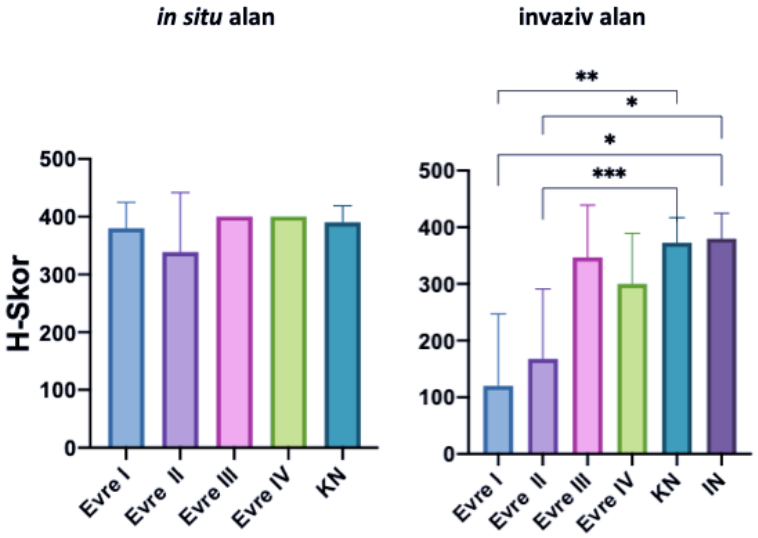
ALM hasta dokularının *in situ* alanlarında evreler arası ve kontrol grupları arasında TYR antijen ifadesinin anlamlı bir farklığı yoktur. Ancak invaziv doku alanlarında, TRP-1 ifadesinin evre I ve evre II, evre I ve evre III arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 21).



Şekil 21: Akral lentijinöz melanom (ALM) hastalarında TRP-1 antijeninin klinik evreler arasındaki ifade düzeylerinin gösterimi. (hasta grubu n=30; hasta kontrol grubu n=30; *p<0,05).

TRP-2

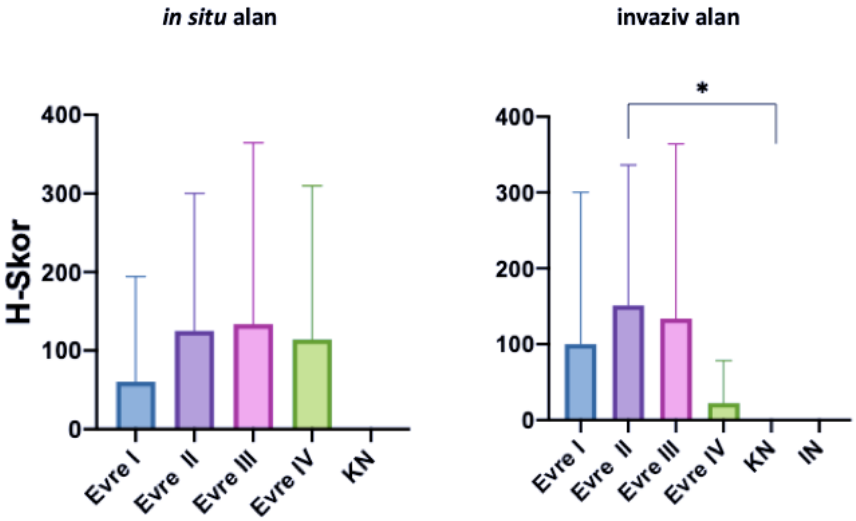
ALM hasta dokularının *in situ* alanlarında evreler arası ve hasta kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. İnvaziv alanda ise KN ve İN dokularında ifade edilen TRP-2 antijen düzeyleri, ALM hasta dokularından daha yüksek düzeylerde saptanmıştır (Şekil 22).



Şekil 22: Akral lentijinöz melanom (ALM) hastalarında TRP-2 antijeninin klinik evreler arasındaki ifade düzeylerinin gösterimi (hasta grubu n=30; hasta kontrol grubu n=30; ***p<0,001; **p<0,01; *p<0,05).

MAGE-A

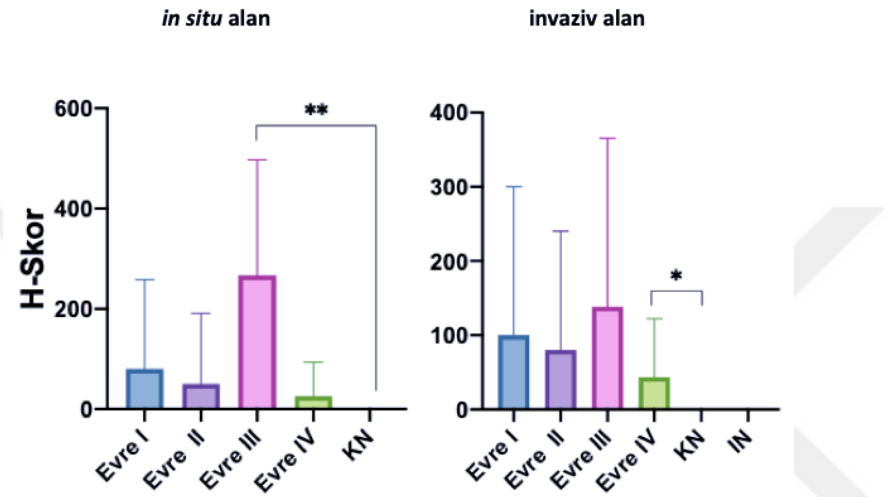
In situ alandaki ALM hasta doku örneklerinde, MAGE-A antijen ifadesinde hem evreler arasında hem de hasta kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. İnvaziv alanda ise evre II ALM hasta dokularında, MAGE-A antijen ifadesi KN dokusuna kıyasla anlamlı bir fark göstermiştir (Şekil 23).



Şekil 23: Akral lentijinöz melanom (ALM) hastalarında MAGE-A antijeninin klinik evreler arasındaki ifade düzeylerinin gösterimi. (hasta grubu n=30; hasta kontrol grubu n=30; *p<0,05).

MAGE-C1

In situ alanda, klinik olarak evre III ALM hasta doku örneklerindeki MAGE-C1 antijen ifadesi, hasta kontrol grubu olan KN ile karşılaştırıldığında anlamlı derece artış gösterdiği belirlenmiştir. İnvaziv alanda ise evre IV ALM hasta dokularında aynı şekilde KN ile kıyaslandığında anlamlı bir artış saptanmıştır. KN ve İN dokularının *in situ* ve invaziv alanlarında MAGE-C1 antijen ifadesi gözlenmemiştir (Şekil 24).



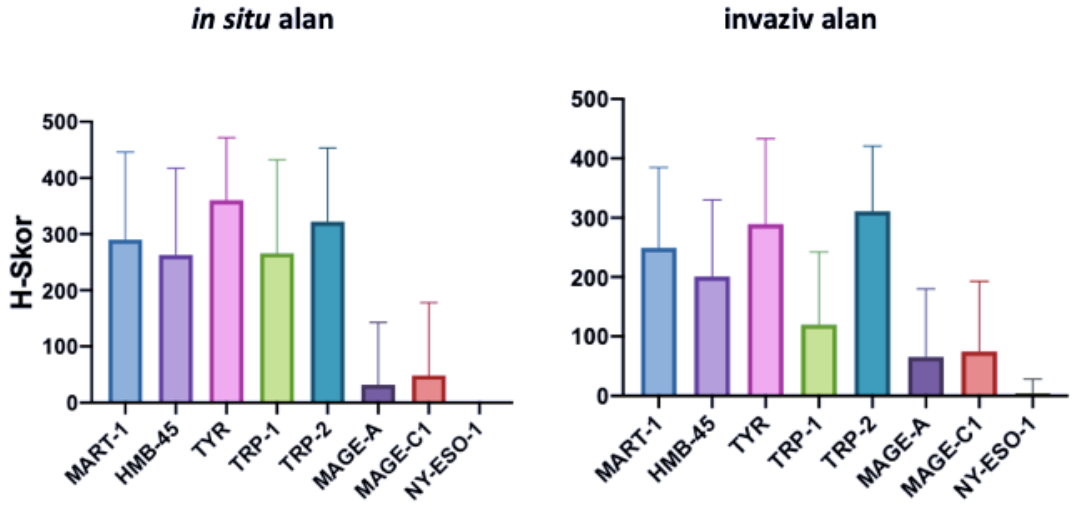
Şekil 24: Akral lentijinöz melanom (ALM) hastalarında MAGE-C1 antijeninin klinik evreler arasındaki ifade düzeylerinin gösterimi (hasta grubu n=30; hasta kontrol grubu n=30; **p<0,01; *p<0,05).

NY-ESO-1

ALM hastalarının doku örneklerinde NY-ESO-1 antijen ifadesi saptanmamıştır.

4.6.2 Nodüler melanom (NM) hastalarının farklı klinik evrelerinde TAA'ların değerlendirilmesi

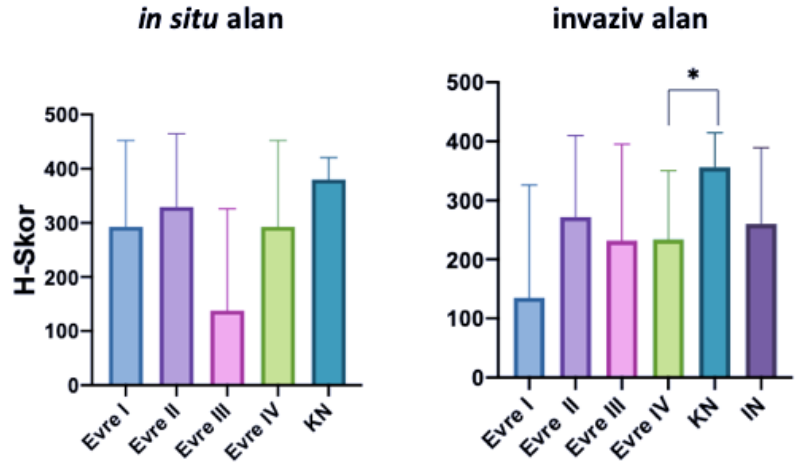
Nodüler melanom (NM) hastalarının doku örneklerindeki MART-1, HMB-45, TYR, TRP-1, TRP-2, MAGE-A, MAGE-C1 ve NY-ESO-1 antijen düzeyleri dokuların hem *in situ* hem de invaziv alanlarında değerlendirilmiştir. ALM dokularında *in situ* alandaki en yüksek antijen ifadesi TYR antijeni olarak saptanmıştır. İnvaziv alandaki en yüksek antijen ifadesi ise TRP-2 antijeni olarak gözlenmiştir. Hem *in situ* hem de invaziv alandaki en düşük antijen ifadesi ise NY-ESO-1 olduğu belirlenmiştir (Şekil 25).



Şekil 25: Nodüler melanom (NM) hasta doku örneklerinin *in situ* ve invaziv alanındaki TAA'ların ifade düzeyleri (hasta grubu n=42; hasta kontrol grubu n=30).

MART-1

NM dokularının *in situ* alanlarında MART-1 antijen ifadesinin, evreler arasında ve KN ile kıyaslandıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. İnvaziv alanda ise evre IV ile KN arasındaki MART-1 antijeninin anlamlı farkı saptanmıştır. Ancak *in situ* ve invaziv alanlarda KN'lerde MART-1 ifadesinin, NM evrelerine kıyasla daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Şekil 26).

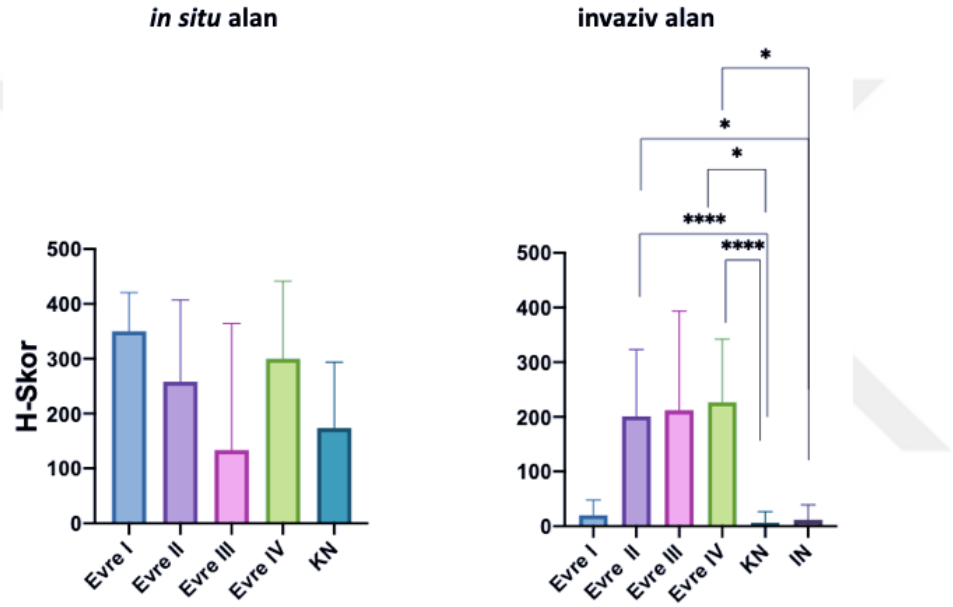


Şekil 26: Nodüler melanom (NM) hastalarında MART-1 antijeninin klinik evreler arasındaki ifade düzeylerinin gösterimi (hasta grubu n=42; hasta kontrol grubu n=30; *p<0,05).

HMB-45

NM dokularının *in situ* alanlarında HMB-45 antijen ifadesinin, evreler arasında ve KN ile kıyaslandıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

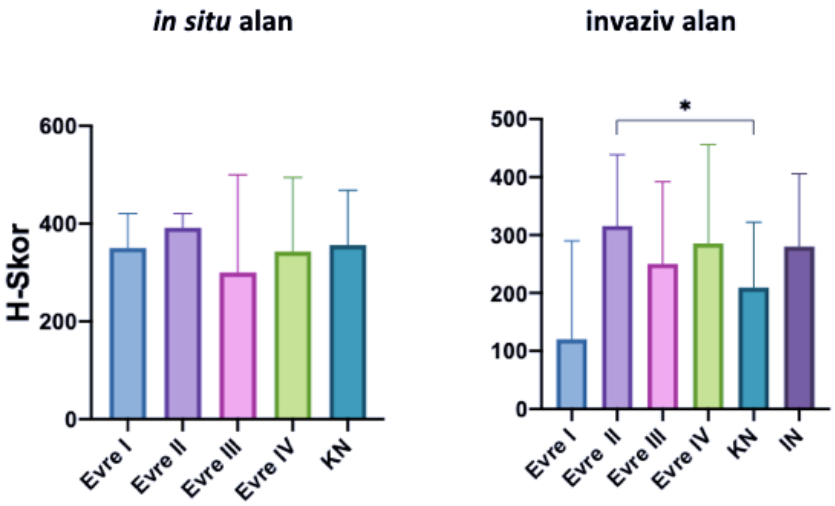
İnvaziv alanda ise hasta kontrol grupları olan KN ve İN'lerin, NM hasta dokularındaki HMB-45 ifadeleri evre II, evre III ve evre IV ile karşılaştırıldıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde artış gösterdikleri belirlenmiştir. Evre I NM hasta dokularında ise HMB-45'in düşük düzeyde ifade edildiği belirlenmiştir (Şekil 27).



Şekil 27: Nodüler melanom (NM) hastalarında HMB-45 antijeninin klinik evreler arasındaki ifade düzeylerinin gösterimi (hasta grubu n=42; hasta kontrol grubu n=30; ****p<0,0001; **p<0,01; *p<0,05).

TYR

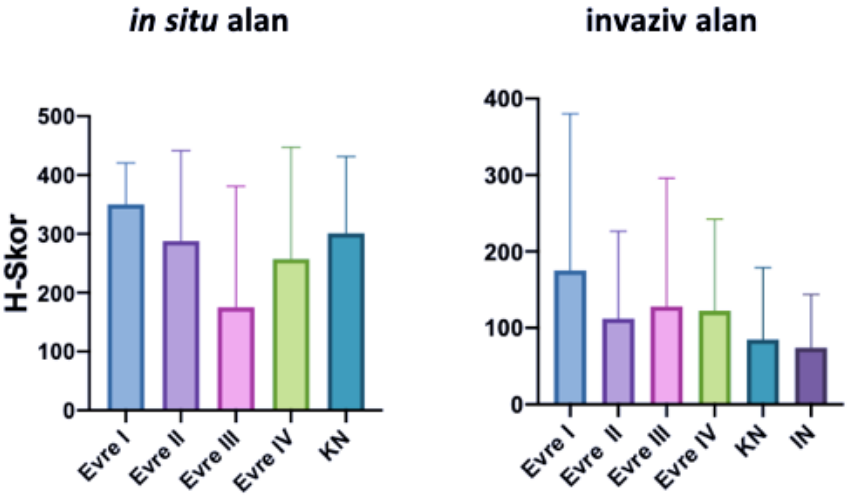
NM dokularının *in situ* alanlarında TYR antijen ifadesinin, evreler arasında ve KN ile kıyaslandıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. İnvaziv alanda ise hasta kontrol gruplarından, KN dokuları ile karşılaştırıldığında klinik evresi II olan NM hastaların dokularında TYR antijeni istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artış göstermiştir (Şekil 28).



Şekil 28: Nodüler melanom (NM) hastalarında TYR antijeninin klinik evreler arasındaki ifade düzeylerinin gösterimi (hasta grubu n=42; hasta kontrol grubu n=30; *p<0,05).

TRP-1

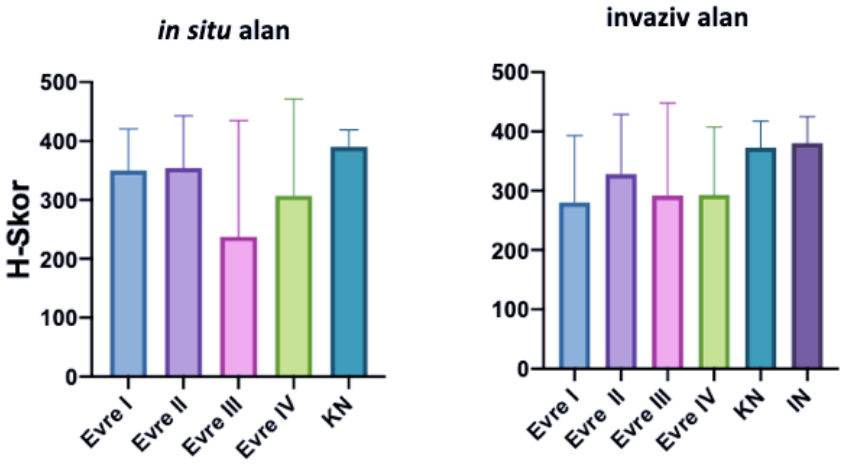
NM hasta dokularının *in situ* ve invaziv alanındaki TRP-1 antijen ifadesi, hasta kontrol gruplarından KN ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı gözlemlenmiştir. Ayrıca evreler arasındaki TRP-1 antijen ifadelerinde de anlamlı bir fark görülmemiştir (Şekil 29).



Şekil 29: Nodüler melanom (NM) hastalarında TRP-1 antijeninin klinik evreler arasındaki ifade düzeylerinin gösterimi (hasta grubu n=42; hasta kontrol grubu n=30).

TRP-2

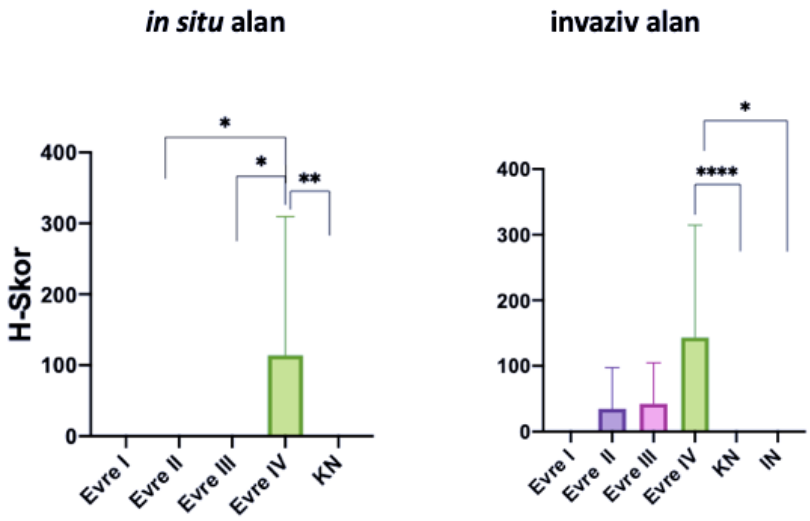
NM hasta dokularının *in situ* ve invaziv alanlarında TRP-2 antijen ifadesinin hem evreler arası hem de hasta kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Şekil 30).



Şekil 30: Nodüler melanom (NM) hastalarında TRP-2 antijeninin klinik evreler arasındaki ifade düzeylerinin gösterimi (hasta grubu n=42; hasta kontrol grubu n=30).

MAGE-A

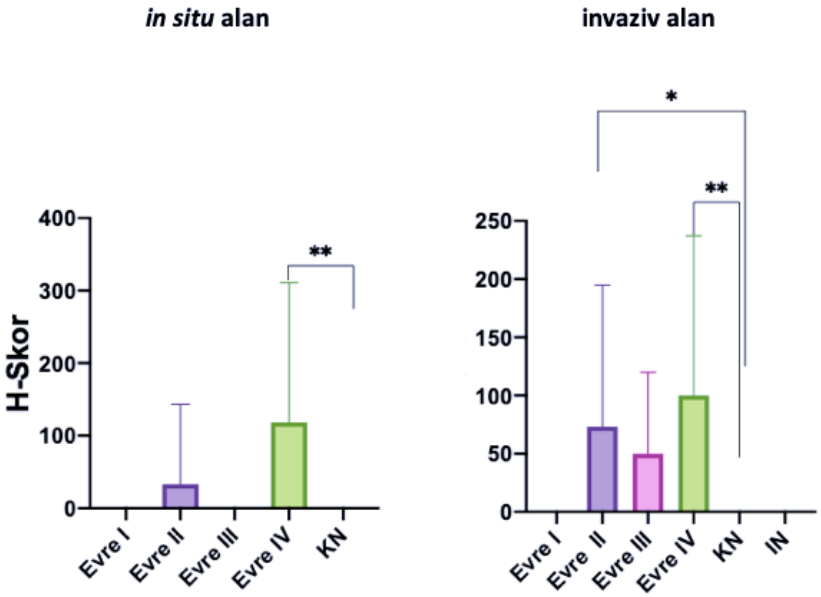
NM hasta dokularının *in situ* alanlarındaki MAGE-A antijen ifadesi, klinik olarak evre IV hasta dokularında, evre II ve evre III ile kıyaslandığında anlamlı bir şekilde artış göstermiştir. Ayrıca hasta kontrol grubu olan KN ile kıyaslandığında evre IV NM hasta dokularındaki MAGE-A'nın ifadesi istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmıştır. İnvaziv alanda klinik olarak evre II ve evre III hastalarda MAGE-A antijeninin ifadesi oldukça düşüktür. Evre IV hasta dokularında ise hem KN hem de ile istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artış göstermiştir (Şekil 31).



Şekil 31: Nodüler melanom (NM) hastalarında MAGE-A antijeninin klinik evreler arasındaki ifade düzeylerinin gösterimi (hasta grubu n=42; hasta kontrol grubu n=30; ****p<0,0001; **p<0,01; *p<0,05).

MAGE-C1

NM hasta dokularının *in situ* alanlarındaki MAGE-C1 antijen ifadesi, klinik olarak evre IV hasta dokularında, hasta kontrol grubu olan KN'lere kıyasla anlamlı derecede artış gösterdiği belirlenmiştir. İnvaziv alanda evre II ve evre IV hastaların dokularında KN'ye kıyasla anlamlı bir artış göstermiştir (Şekil 32).



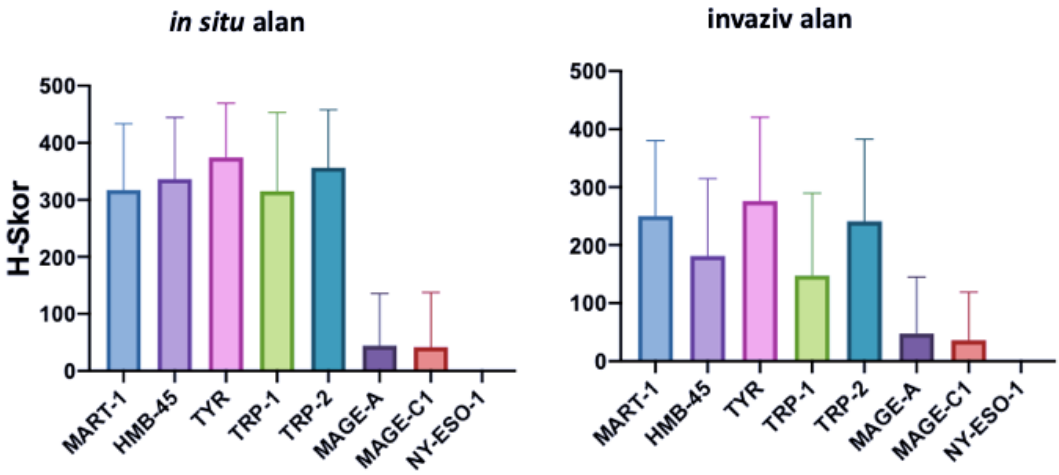
Şekil 32: Nodüler melanom (NM) hastalarında MAGE-C1 antijeninin klinik evreler arasındaki ifade düzeylerinin gösterimi (hasta grubu n=42; hasta kontrol grubu n=30 **p<0,01; *p<0,05).

NY-ESO-1

NM hastalarının doku örneklerinde NY-ESO-1 antijen ifadesi saptanmamıştır.

4.6.3 Yüzeyel yayılan melanom (YYM) hastalarının farklı klinik evrelerinde TAA'ların değerlendirilmesi

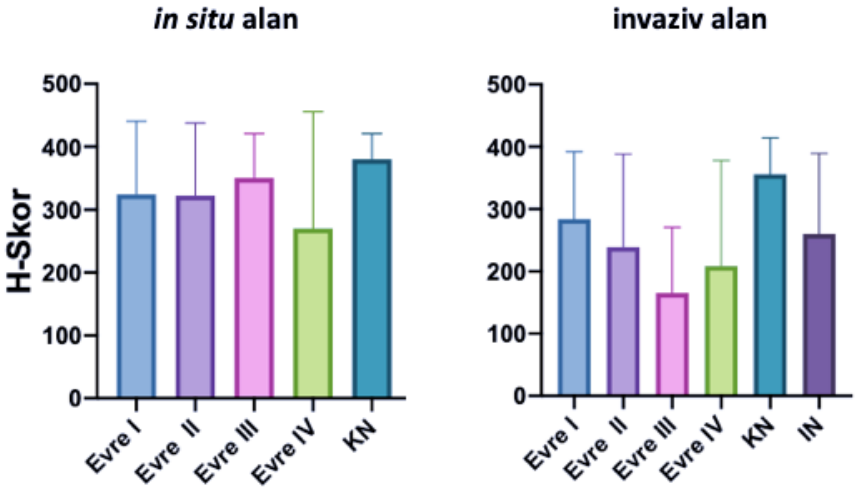
YYM hastalarının doku örneklerindeki MART-1, HMB-45, TYR, TRP-1, TRP-2, MAGE-A, MAGE-C1 ve NY-ESO-1 antijen düzeyleri dokuların hem *in situ* hem de invaziv alanlarında değerlendirilmiştir. YYM dokularında *in situ* ve invaziv alandaki en yüksek antijen ifadesi TYR antijeni olarak saptanmıştır. En düşük antijen ifadesi ise NY-ESO-1 olarak gözlenmiştir (Şekil 33).



Şekil 33: Yüzeyel yayılan melanom (YYM) hasta doku örneklerinin *in situ* ve invaziv alanındaki tümör ile ilişkili antijenlerin ifade düzeyleri (hasta grubu n=36; hasta kontrol grubu n=30).

MART-1

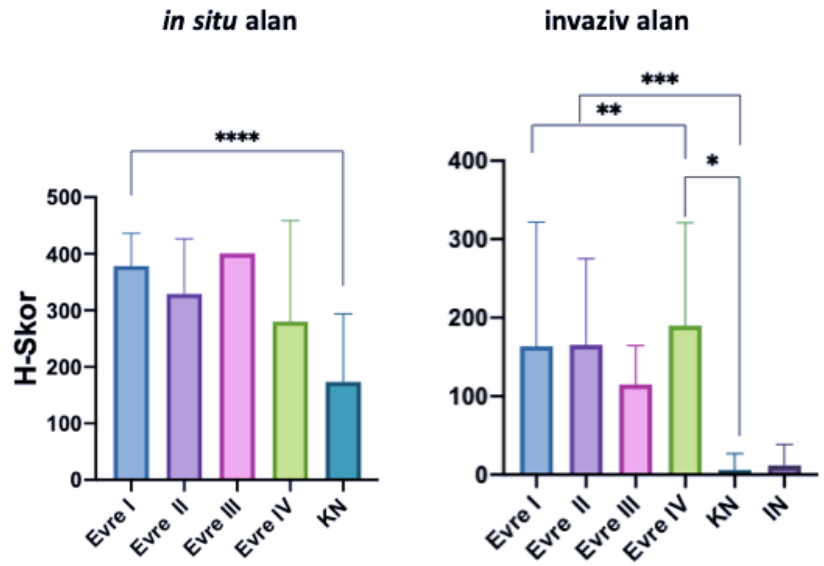
YYM dokularının *in situ* ve invaziv alanlarında MART-1 antijen ifadesinin, evreler arasında ve KN ile kıyaslandıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Ancak KN'leri *in situ* ve invaziv alanlardaki MART-1 ifadesinin, YYM evrelerine kıyasla daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Şekil 34).



Şekil 34: Yüzeyel yayılan melanom (YYM) hastalarında MART-1 antijeninin klinik evreler arasındaki ifade düzeylerinin gösterimi (hasta grubu n=36; hasta kontrol grubu n=30).

HMB-45

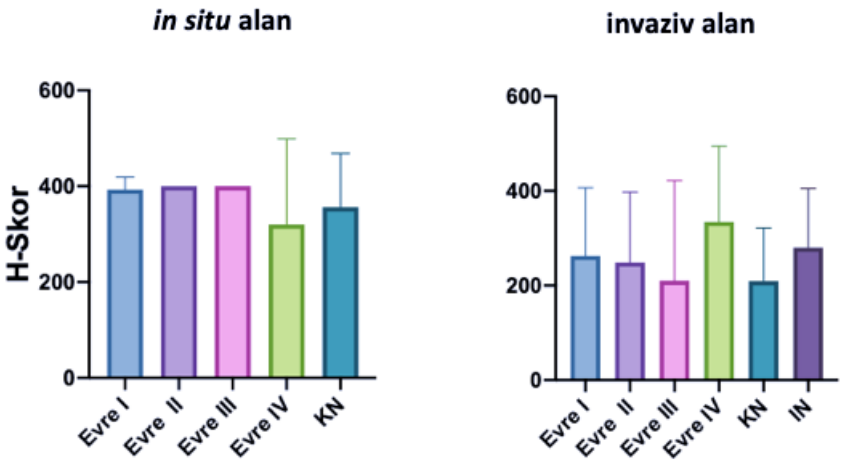
YYM hasta dokularının *in situ* alanlarındaki HMB-45 antijen ifadesi evre I YMM hastalarında KN'lere kıyasla anlamlı bir artış gösterdiği belirlenmiştir. İnvaziv alanda ise evre II ve evre IV hastalar KN'lere kıyasla anlamlı bir artış gösterdiği, ayrıca evre I ve evre III YYM hasta dokuları arasında HMB-45 ifadesinin ilerileyen evrelerde artış gösterdiği saptanmıştır (Şekil 35).



Şekil 35: Yüzeyel yayılan melanom (YYM) hastalarında HMB-45 antijeninin klinik evreler arasındaki ifade düzeylerinin gösterimi (hasta grubu n=36; hasta kontrol grubu n=30; ****p<0,0001; ***p<0,001; **p<0,01; *p<0,05).

TRY

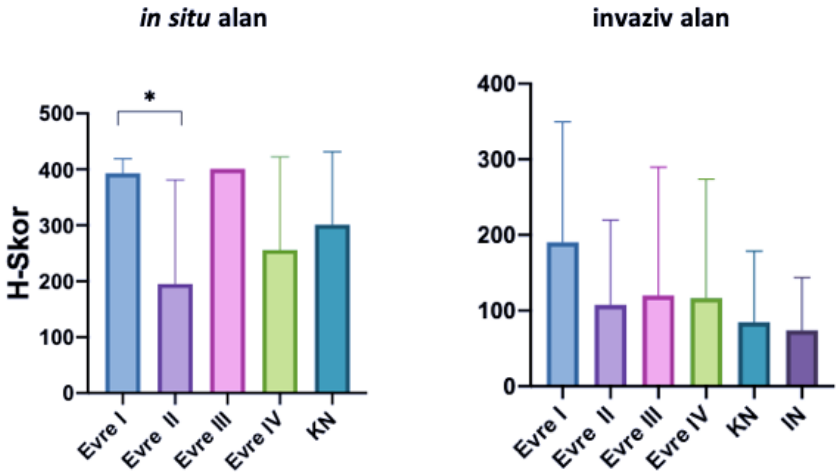
YYM hasta dokularının *in situ* ve invaziv alanlarında KN'ye kıyasla TRY antijenlerinde anlamlı fark gözlenmemiştir. Ayrıca evreler arasında da bir farklılık saptanmamıştır (Şekil 36).



Şekil 36: Yüzeyel yayılan melanom (YYM) hastalarında TRY antijeninin klinik evreler arasındaki ifade düzeylerinin gösterimi (hasta grubu n=36; hasta kontrol grubu n=30).

TRP-1

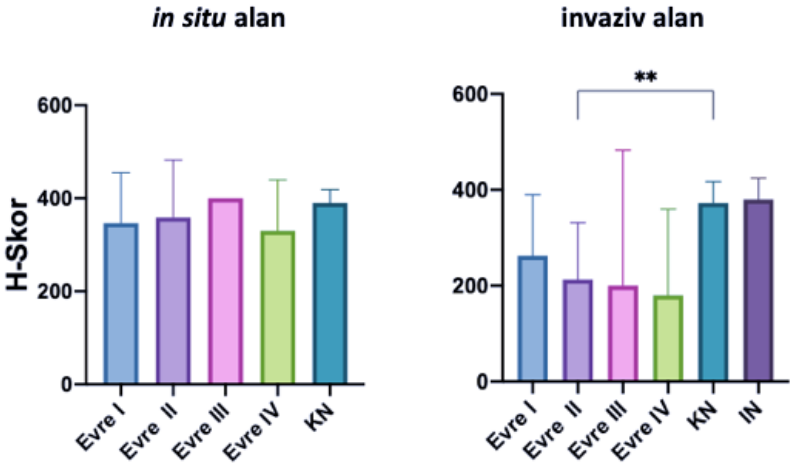
YYM hasta dokularının *in situ* alanlarında klinik olarak evre I ve evre II arasında TRP-1 antijen ifadesinin azalması anlamlı olarak gözlenmiştir. Ancak in situ ve invaziv alanda hasta kontrol gruplarına kıyasla evreler arasında bir fark gözlenmemiştir (Şekil 37).



Şekil 37: Yüzeyel yayılan melanom (YYM) hastalarında TRP-1 antijeninin klinik evreler arasındaki ifade düzeylerinin gösterimi (hasta grubu n=36; hasta kontrol grubu n=30; *p<0,05).

TRP-2

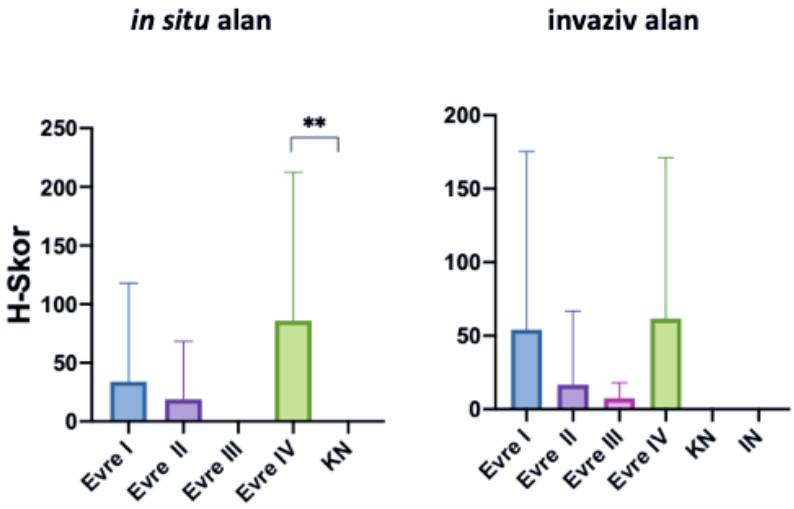
YYM hasta dokularının *in situ* alanlarında hasta kontrol grubuna kıyasla ve evreler arasında anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir. İnvaziv alanda ise evre II hasta dokularında KN'ye kıyasla TRP-2 ifadenin daha düşük olduğu saptanmıştır (Şekil 38).



Şekil 38: YYM hastalarında TRP-2 antijeninin klinik evreler arasındaki ifade düzeylerinin gösterimi (hasta grubu n=36; hasta kontrol grubu n=30;**p<0,01)

MAGE-A

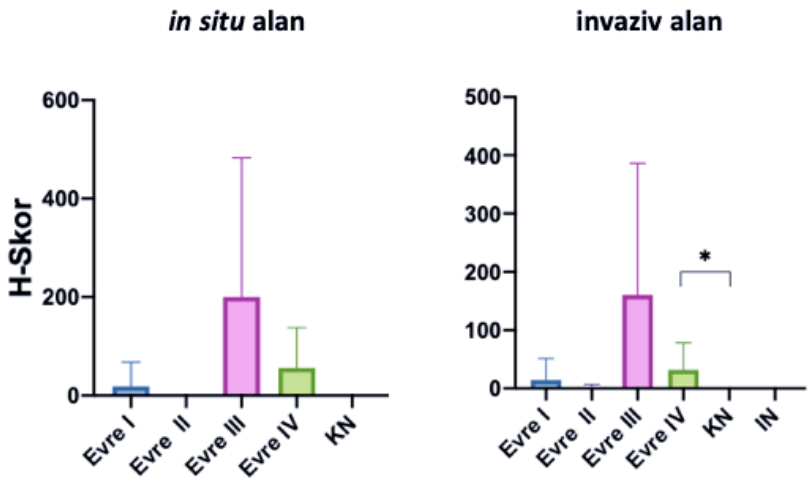
MAGE-A antijen ifadesinin *in situ* alandaki klinik evre IV YYM hasta dokularında, hasta kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir artış gösterdiği gözlenmiştir. İnvaziv alanda ise hem evreler arasında hem de hasta kontrol grupları arasında belirgin bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 39).



Şekil 39: Yüzeyel yayılan melanom (YYM) hastalarında MAGE-A antijeninin klinik evreler arasındaki ifade düzeylerinin gösterimi. (hasta grubu n=36; hasta kontrol grubu n=30; **p<0,01).

MAGE-C1

YYM hasta dokularının *in situ* alanında evreler arası ve BN'ler arasına MAGE-C1 antijen ifadelerinde anlamlı bir fark gözlenmemiştir. İnvaziv alanda ise evre IV ve KN arasındaki MAGE-C1 ifadesinde az da olsa anlamlı bir farklılık saptanmıştır (Şekil 40).



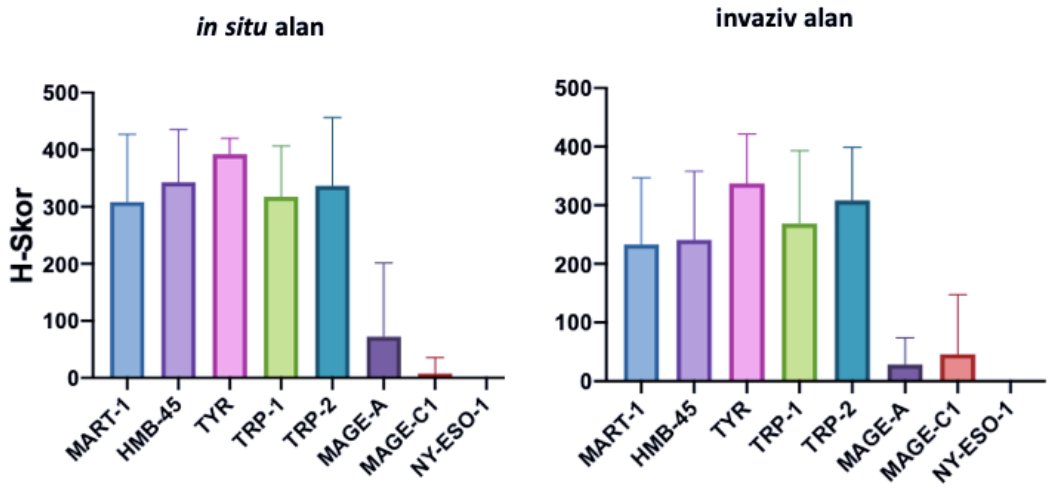
Şekil 40: Yüzeyel yayılan melanom (YYM) hastalarında MAGE-A antijeninin klinik evreler arasındaki ifade düzeylerinin gösterimi (hasta grubu n=36; hasta kontrol grubu n=30; *p<0,05).

NY-ESO-1

YYM'de *in situ* ve invaziv alanda NY-ESO-1 antijen ifadesine rastlanmamıştır.

4.6.4 Lentigo malign melanom (LMM) hastalarının farklı klinik evrelerinde TAA'ların değerlendirilmesi

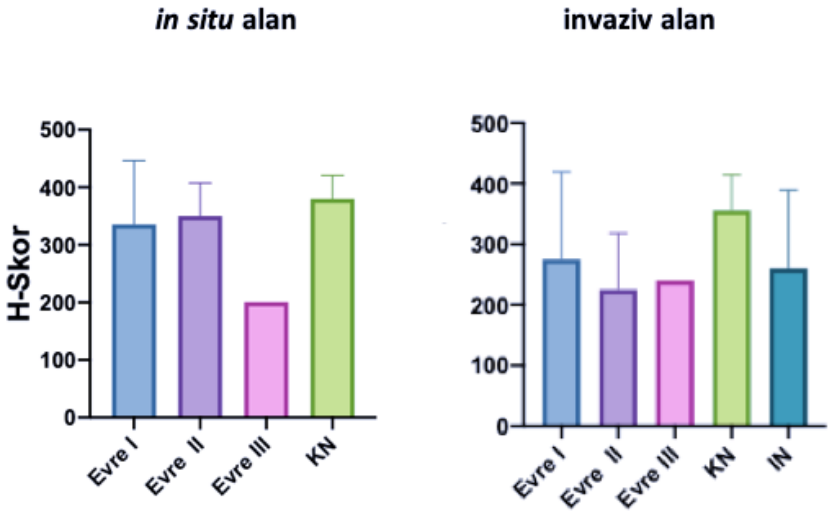
LMM hastalarının doku örneklerindeki MART-1, HMB-45, TYR, TRP-1, TRP-2, MAGE-A, MAGE-C1 ve NY-ESO-1 antijen düzeyleri dokuların hem *in situ* hem de invaziv alanlarında değerlendirilmiştir. LMM dokularında *in situ* ve invaziv alandaki en yüksek antijen ifadesinin TYR olduğu saptanmıştır. En düşük antijen ifadesi ise NY-ESO-1 olarak belirlenmiştir (Şekil 41).



Şekil 41: Lentigo malign melanom (LMM) hasta doku örneklerinin *in situ* ve invaziv alanındaki TAA'ların ifade düzeyleri (hasta grubu n=13; hasta kontrol grubu n=30).

MART-1

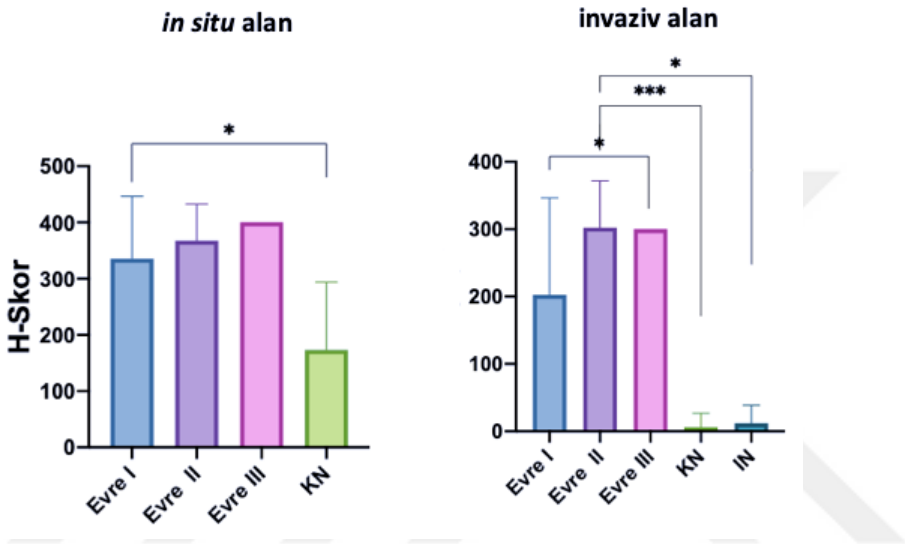
LMM hasta doku örneklerinin *in situ* ve invaziv alanlarında MART-1 antijen ifadesinin, hasta kontrol grubu olan KN ve İN'lere kıyasla ve de evreler arasında MART-1 antijen ifadelerinde anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 42).



Şekil 42: Lentigo malign melanom (LMM) hastalarında MART-1 antijeninin klinik evreler arasındaki ifade düzeylerinin gösterimi (hasta grubu n=13; hasta kontrol grubu n= 30).

HMB-45

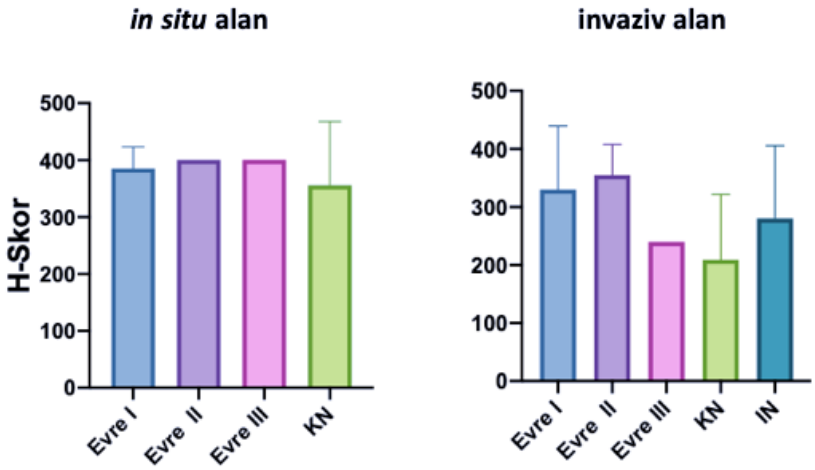
LMM hasta dokularının *in situ* alanında klinik evre I hastalarının HMB-45 antijen ifadesi hasta kontrol grubu olan KN'den anlamlı olarak daha yüksek ifade edilmektedir. İnvaziv alanda ise evre II ve evre III hastala dokularında KN ve IN ile kıyaslandığında oldukça anlamlı farklar gözlemlenmiştir. Ayrıca ileri evre LMM'lerde HMB-45 artışı söz konusudur (Şekil 43).



Şekil 43: Lentigo malign melanom (LMM) hastalarında HMB-45 antijeninin klinik evreler arasındaki ifade düzeylerinin gösterimi (hasta grubu n=13; hasta kontrol grubu n=30; ***p<0,0001; ***p<0,001; **p<0,01; *p<0,05).

TYR

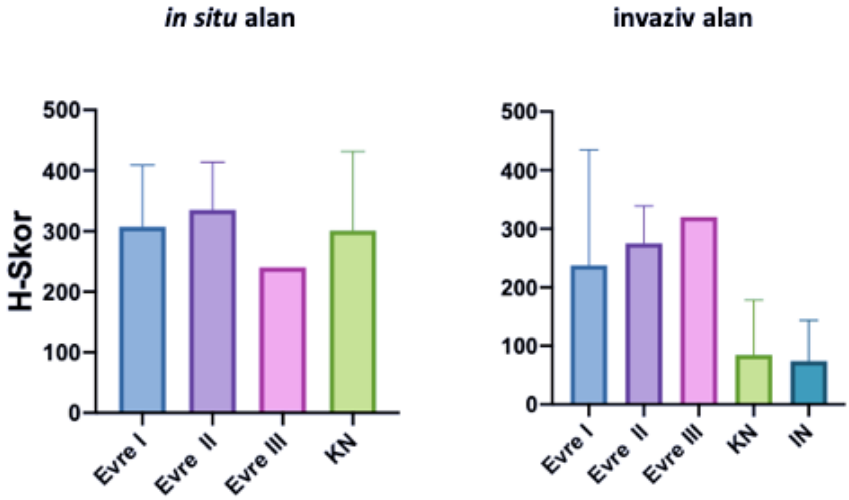
LMM doku örneklerinde hem *in situ* hem de invaziv alanda kayda değer bir TRY antijen ifadesinin farklılığı gözlenmemiştir (Şekil 44).



Şekil 44: Lentigo malign melanom (LMM) hastalarında TYR antijeninin klinik evreler arasındaki ifade düzeylerinin gösterimi (hasta grubu n=13; hasta kontrol grubu n=30).

TRP-1

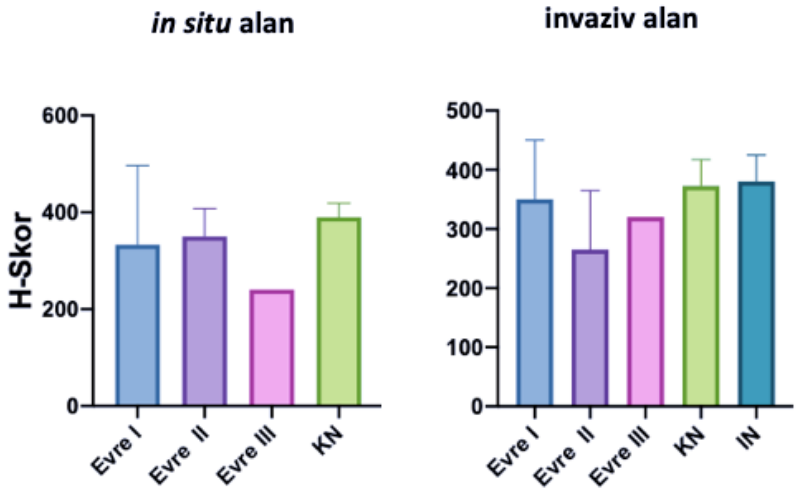
LMM hasta dokularının *in situ* ve invaziv alanlarında evreler arası ve hasta kontrol grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. İnvaziv alanda BN'lerin MM'ye göre daha düşük ifade edildikleri belirlenmiş ancak istatistiksel olarak bir anlamlılık göze çarpmamıştır (Şekil 45).



Şekil 45: Lentigo malign melanom (LMM) hastalarında TRP-1 antijeninin klinik evreler arasındaki ifade düzeylerinin gösterimi (hasta grubu n=13; hasta kontrol grubu n=30).

TRP-2

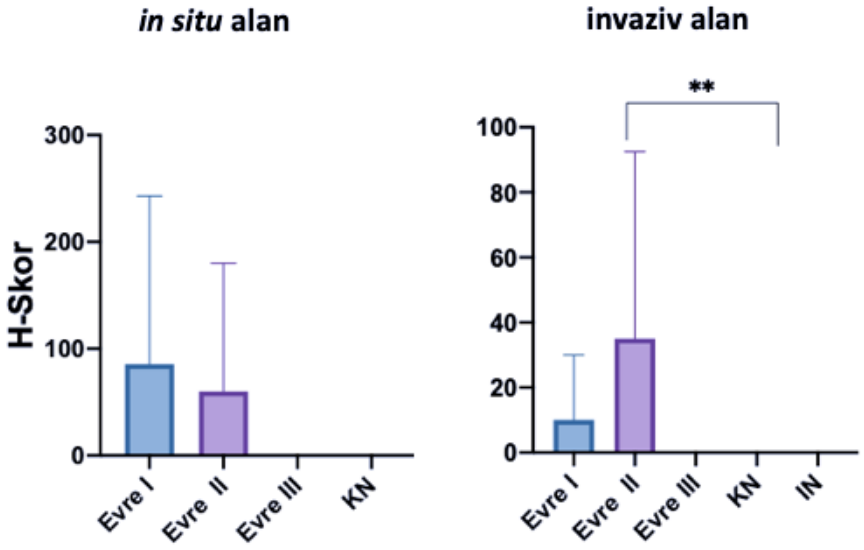
LMM hasta dokularının *in situ* ve invaziv alanlarında evreler arası ve hasta kontrol grupları arasında anlamlı bir farklılık yoktur. Hasta kontrol grupları olan KN ve İN'lerdeki TRP-2 düzeyleri LMM hasta örneklerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Şekil 46).



Şekil 46: Lentigo malign melanom (LMM) hastalarında TRP-2 antijeninin klinik evreler arasındaki ifade düzeylerinin gösterimi (hasta grubu n=13; hasta kontrol grubu n=30).

MAGE-A

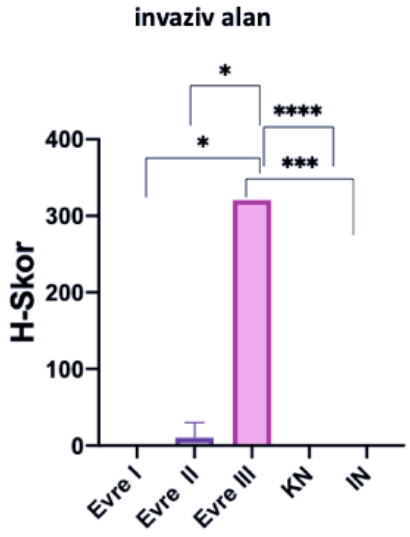
LMM hasta dokularının *in situ* alanındaki MAGE-A antijen ifadeleri klinik evreler ve hasta kontrol grupları arasında, anlamlı bir farklılık bulunmazken, evre II hasta dokularının invaziv alanında İN'lere kıyasla anlamlı bir farklılık gözlenmiştir (Şekil 47).



Şekil 47: Lentigo malign melanom (LMM) hastalarında MAGE-A antijeninin klinik evreler arasındaki ifade düzeylerinin gösterimi (hasta grubu n=13; hasta kontrol grubu n=30; **p<0,01).

MAGE-C1

LMM hasta dokuları ve hasta kontrol gruplarının dokularının, *in situ* alanlarında, MAGE-C1 ifadesi gözlenmemiştir. Ancak, evre III LMM hastalarının evre I, evre II ve hasta kontrol gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir MAGE-C1 ifadesi gözlenmiştir (Şekil 48).



Şekil 48: Lentigo malign melanom (LMM) hastalarında MAGE-C1 antijeninin klinik evreler arasındaki ifade düzeylerinin gösterimi (hasta grubu n=13; hasta kontrol grubu n=30; *p<0,05; ***p<0,001; ****p<0,0001).

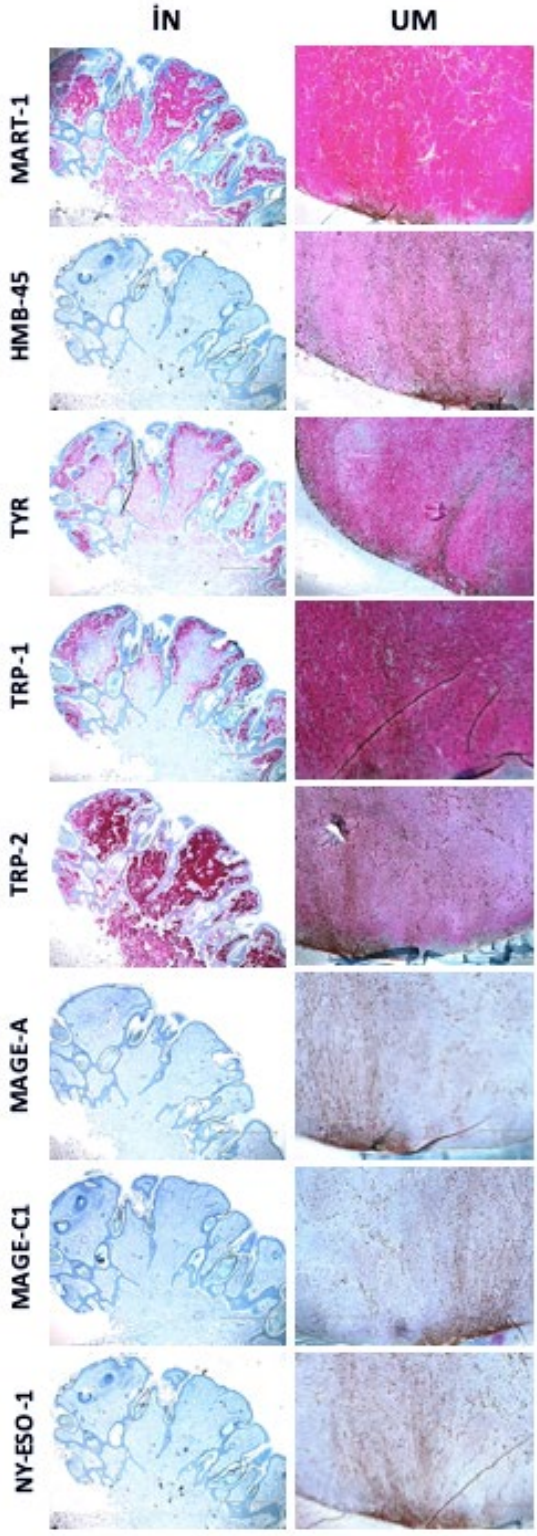
NY-ESO-1

LMM hasta örneklerinde NY-ESO-1 ifadesi *in situ* ve invaziv alanda gözlenmemiştir.

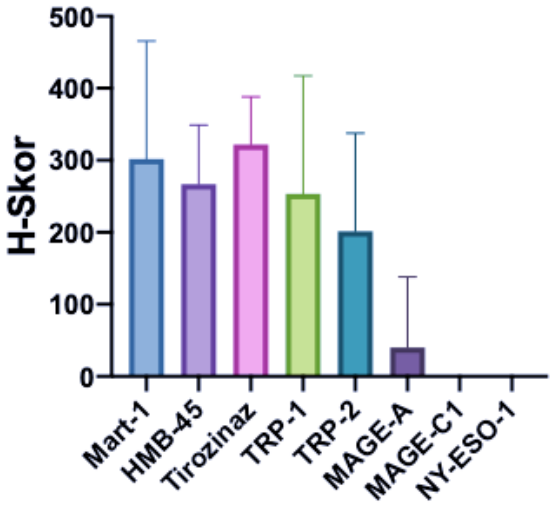
4.7 Üveal melanom (UM) hastalarında TAA'ların değerlendirilmesi

Üveal melanom (UM) hastalarının doku örneklerindeki MART-1, HMB-45, TYR, TRP-1, TRP-2, MAGE-A, MAGE-C1 ve NY-ESO-1 antijen düzeyleri, dokuların sadece invaziv alanlarında değerlendirilmiştir. UM dokuları hasta kontrol grubu olan İntradermal nevüs (İN) dokuları ile karşılaştırılmıştır (Şekil 49).

UM dokularının, invaziv alanında, en yüksek antijen ifadesi TRY'de gözlemlenmiştir. MAGE-C1 ve NY-ESO-1 antijen ifadeleri UM dokularında saptanmamıştır (Şekil 50).

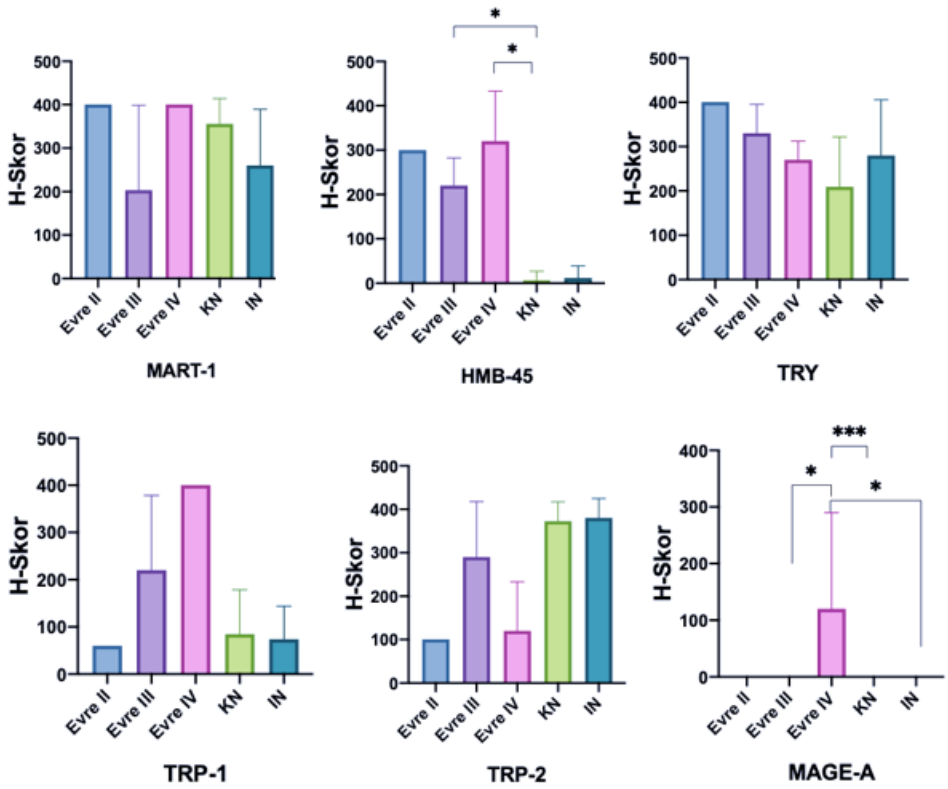


Şekil 49: Üveal melanom (UM) hasta dokularının, İntraderma nevüs (İN) hasta kontrol grubu dokuları ile MART-1, HMB-45, TYR, TRP-1, TRP-2, MAGE-A, MAGE-C1 ve NY-ESO-1 antikorları ile IHC boyanma görüntüleri



Şekil 50: Üveal melanom (UM) hasta dokularının invaziv alanlarındaki TAA'ların ifade düzeylerinin gösterimi (hasta grubu n=6; hasta kontrol grubu n=30).

UM hasta dokularında MART-1, HMB-45, TYR, TRP-1, TRP-2, MAGE-A, MAGE-C1 ve NY-ESO-1 antijenlerinin ifade düzeyleri, hastalığın klinik evreleri ve hasta kontrol grupları olan KN ve İN arasında karşılaştırılmıştır. HMB45 antijeni hasta kontrol gruplarında oldukça düşük düzeyler ifade edilmiş ve evre III ve evre IV hastalarda KN'ye kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha yüksek gözlenmiştir. MAGE-A antijeni ise, evre IV hastalarında, evre III ve hasta kontrol gruplarına kıyasla daha yüksek ifade edilmiştir. MART-1, TRY, TRP-1 ve TRP-2 de anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. MAGE-C1 ve NY-ESO-1 antijenlerine UM'de rastlanmamıştır (Şekil 51).

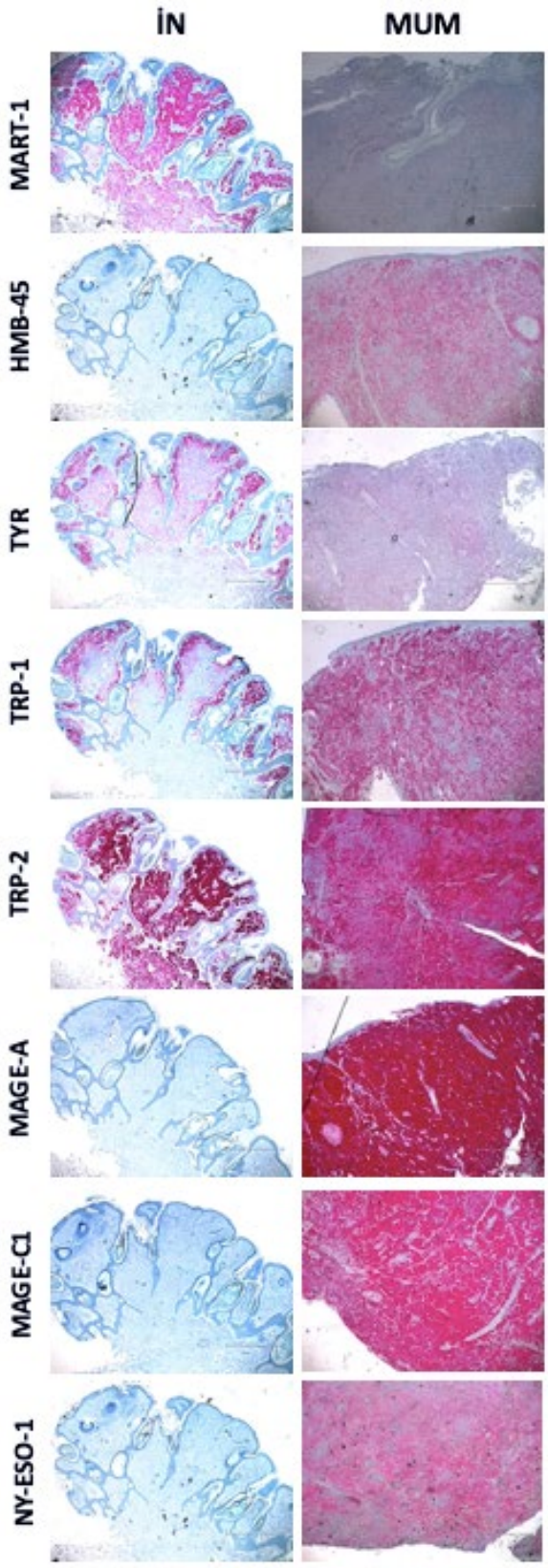


Şekil 51: Üveal melanom (UM) hasta dokularının invaziv alanlarındaki TAA'ların klinik evreler ve hasta kontrol grupları arasındaki ifade düzeylerinin gösterimi (hasta grubu n=6; hasta kontrol grubu n=30; ***p<0,0001; ***p<0,001; **p<0,01; *p<0,05).

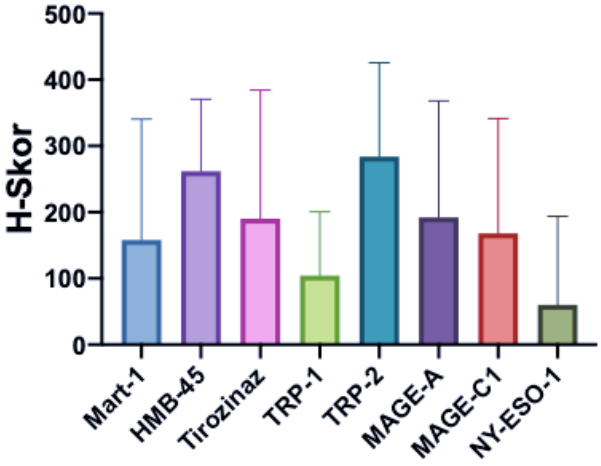
4.8 Mukozal melanom (MUM) hastalarında TAA'ların değerlendirilmesi

Mukozal melanom (MUM) hastalarının doku örneklerindeki MART-1, HMB-45, TYR, TRP-1, TRP-2, MAGE-A, MAGE-C1 ve NY-ESO-1 antijen ifadeleri, dokuların invaziv alanlarında değerlendirilmiştir. MUM dokuları ve hasta kontrol grubu olan İntradermal nevüs (İN) dokularının boyanma görüntüleri reprezentatif olarak gösterilmiştir (Şekil 52).

MUM dokularında en yüksek ifade düzeyine sahip antijen TRP-2'dir. En düşük seviyelerde gözlenen antijen ise NY-ESO-1'dir (Şekil 53).

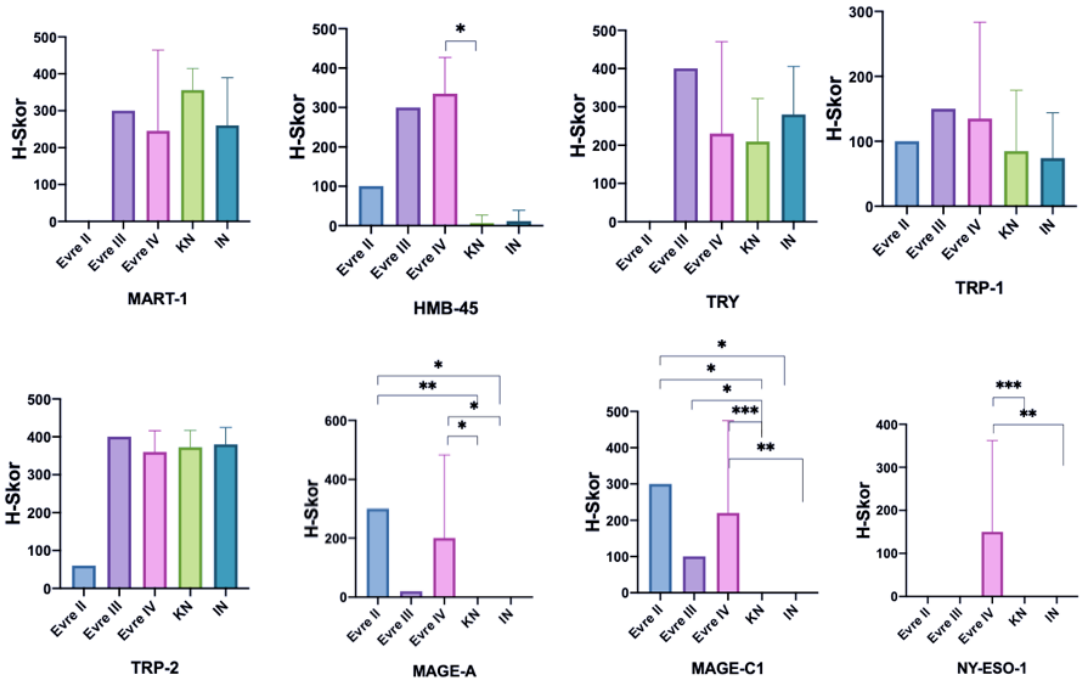


Şekil 52: Mukozal melanom (MUM) hasta dokularının, İntradermal nevüs (İN) hasta kontrol grubu dokuları ile MART-1, HMB-45, TYR, TRP-1, TRP-2, MAGE-A, MAGE-C1 ve NY-ESO-1 antikorları ile IHC boyanma görüntüleri



Şekil 53: MUM hasta dokularında TAA'ların ifade düzeylerinin gösterimi (hasta grubu n=6; hasta kontrol grubu n=30).

MUM dokularında, KN ve İN dokularına kıyasla HMB-45, MAGE-A, MAGE-C1 ve NY-ESO-1 ifadeleri istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiştir. HMB-45 ifadeleri ilerleyen evreler arasında artış göstermiştir. Ayrıca, HMB-45 antijeni, evre IV MUM dokularında hasta kontrol gruplarına kıyasla anlamlı derecede yüksektir. MAGE-A antijeni evre II ve evre IV hasta dokularında, hasta kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksektir. MAGE-C1 antijeni evre II, evre III ve evre IV hastalarda, hasta kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek ifade edilmiştir. NY-ESO-1 antijeni de aynı şekilde evre IV MUM hasta dokularında, hasta kontrol grubu dokularına kıyasla anlamlı derecede yüksek olarak saptanmıştır. MART-1, TRY, TRP-1 ve TRP-2 antijen ifadelerinde kontrol gruplarına kıyasla anlamlı bir fark bulunamamıştır (Şekil 54).



Şekil 54: Mukozal melanom (MUM) hasta dokularının invaziv alanlarındaki TAA'ların klinik evreler ve hasta kontrol grupları arasındaki ifade düzeylerinin gösterimi (hasta grubu n=6; hasta kontol grubu n=30; ***p<0,0001; ***p<0,001; **p<0,01; *p<0,05).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Malign melanom, melanositlerin malign dönüşümünden kaynaklanan bir kanser türüdür. İnsidansı Dünya çapında hızla artmakta ve önemli halk sağlığı sorunlarını ortaya çıkarmaktadır (Ahmed, Qadir & Ghafoor, 2020). Güncel terapötik yaklaşımlar arasında cerrahi rezeksiyon, kemoterapi, hedefe yönelik tedavi ve immünoterapiler yer alır. Terapötik stratejiler, hastanın sağlığına, klinik evresine ve tümörün bulunduğu konuma bağlı olarak, ajanların tek başına ya da kombine terapi uygulamalarını içerebilir. Çeşitli direnç mekanizmalarının gelişmesi, cilt ve gastrointestinal toksisiteye neden olan immün reaksiyonlar, bu tedavilerin bazılarının etkinliğini zamanla azaltabilir. Bu nedenle melanositlerde malign transformasyon patogenezinde oluşum gösteren moleküler belirteçlerin tanımlanması ile yeni terapötik hedefler ortaya çıkmıştır (Domingues, 2018).

Melanomda immün kontrol noktası inhibitörleri ile immünoterapiler çoğunlukla başarı göstermiş, ancak metastatik hastalığı olan hastaların üçte ikisinde tümör progresyonu devam etmiştir. Bu nedenle daha spesifik immünoterapi yöntemlerinin bu tip hastalarda daha etkili olabileceği düşünülmektedir (Strobel ve ark., 2021).

Melanom hücreleri, CTA'lar başta olmak üzere, kendi antijenlerinin yeni epitoplarını taşıyan neoantijenler ve iyi tanımlanmış TAA'lar ile oldukça immünojenik tümörler olarak kabul edilirler. Ayrıca, sitotoksik lenfositlerin, tümör ile ilişkili antijenlere özgü hedeflenmelerinde, CAR-T ve CAR-NK tabanlı tedaviler kullanılmış, ancak bu yöntem yalnızca hedef hücrelerin yüzeyinde bulunan antijenlerin hedeflenmesine olanak tanımıştır. Tüm insan genlerinin yaklaşık dörtte üçünü etkileyen yüzey antijenleri dışındaki ve özellikle de hücre içi antijenler olarak bilenen antijenlere karşı duyarsız kalmıştır. Yüzey dışı antijenlerin hedeflenmeleri yalnızca doğal TCR mekanizmalarının kullanılmasıyla mümkündür. Ancak, genetik modifikasyonlar yoluyla T hücrelerine ikinci bir TCR eklenmesi, yeni TCR zincirlerinin endojen olarak ifade edilenlerle yanlış eşleşmesine yol açabileceği gözlemlenmiş ve bu nedenle son zamanlarda, NK hücrelerinin TCR gen terapisi için olası efektörler olarak kullanılmalarının daha avantajlı olabileceği ileri sürülmüştür (Karahan, Aras & Sütlü, 2023). NK ve STL'ler tarafından tanınabilen melanom ilişkili

bu antijenlerin tanımlanması, terapötik aday olarak seçilebilmeleri açısından oldukça önem teşkil etmektedir.

Çalışmamızda MM hasta dokularında, hasta kontrol gruplarına kıyasla hem *in situ* hem de invaziv alanda, MART-1 antijeninde anlamlı bir farklılık görülmemiş, hatta kontrol gruplarında, melanom dokularına kıyasla daha yüksek seviyelerde ifade edildikleri saptanmıştır. Bu da hedeflenmek istenen antijenin cilde ya da göze rengini veren pigmentasyondan sorumlu melanosit hücrelerini hedefleme ihtimaline karşı yüksek bir risk oluşturabilmektedir. Duinkerken ve ark. yaptıkları bir çalışmada MART-1 antijenini adoptif hücre tedavilerini kullanarak hedefledikleri, MART-1 spesifik T hücrelerin, CM'li bir hastada kohlear inflamasyona neden olarak, bilateral duyma kaybına sebep olduğunu göstermişlerdir. Uygulanan THR gen tedavisinin sitria vaskülariste, perivasküler makrofaj benzeri melanositleri hedeflemiş olabileceği düşünülmektedir (Duinkerken ve ark., 2019). Yine benzer bir çalışmada, metastatik melanom hastalarında MART-1 antijenini hedeflediklerinde, 12 hastanın 7'sinde gözde, üveit oluşumuna yol açtığı, ciltte üçüncü derecede dermatite neden olduğu ve kulakta ise bir önceki çalışmaya benzer şekilde bilateral duyma kaybı gibi doz bağımlı sitotoksisiteler gözlemlemişlerdir ve bazı hastalarda ise sitokin salınım sendromu görüldüğünden çalışma erken sonlandırılmıştır (Rohaan ve ark., 2022).

MM olgularında *in situ* ve invaziv alandaki HMB-45 ifadesi, BN'lere kıyasla anlamlı derece yüksek bulunmuştur. BN'lerin *in situ* alanındaki HMB-45 ifade seviyeleri ise invaziv alanına göre daha yüksek orandadır. Ancak invaziv alanda, HMB-45 ifadesi kayda değer derecede düşüktür. Daha önceki çalışmalarla uyumlu bir şekilde tümör hücrelerinde oldukça yüksek ifade edilen HMB-45'in, nevüslerde ise sadece birkaç melanosit ile sınırlı olduğu düşünülmektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda hem *Pmel17*, hem de onun oldukça homolog bir varyantı olan gp100'ün melanom spesifik $CD8^+$ T hücreler tarafından tanındığı gösterilmiştir. Ayrıca HMB-45'i hedefleyen bir anti-CD3 bispesifik füzyon proteini olan tebentafusp'un hem UM'de hem de metastatik CM'nin faz I ve faz II çalışmalarında, bir yıl içerisindeki genel sağ kalım oranını %65 arttırdığı gösterilmiştir (Strobel ve ark., 2021). Ancak, bu antijen sadece melanom hücrelerde ifade edilmemektedir. Pigmente hücreler, retina ve normal melanositlerde de gözlenmektedir (Pitcovski ve ark., 2017). Middletan ve ark. metastatik melanomlu hastalarda yaptıkları bir çalışmada, gp100 antijenini

hedeflediklerinde hem CM hem de UM'li hastalarda bir yıllık genel sağ kalım oranını %65 civarlarında arttırdıklarını göstermişlerdir. Tedavi sırasında perifer ve tümörde gerçekleştirdikleri sitokin ölçümlerinde, IFN-γ ilişkili sitokinlerin arttığını belirlemişlerdir. Ayrıca serumda CXCL10 seviyelerinin arttığı ve dolaşımdaki $CXCR3^+$ $CD8^+$ T hücrelerinin azalarak, tümör mikroçevresindeki $CD8^+$ T hücrelerinin sitotoksik kapasitelerinin arttığını gözlemlemişlerdir. Çoğu hastada serumda CXCL10 seviyelerinin artışı ciltte döküntülere neden olmuş, ancak hastaların sağ kalım sürelerinin arttığını belirlemişlerdir (Middleton ve ark., 2020). Çalışmamızda, HMB-45 antijen ifadesinin BN'lerde, sadece epidermis ile sınırlı olduğu düşünülürse, bu antijenin hedeflenmesi önemli bir terapötik strateji olarak kullanılmasını mümkün kılabilir.

In situ alandaki TYR antijen ifadeleri hem melanom hem de BN gruplarında birbirlerine çok yakın seviyelerde olduğu belirlenmiştir. İnvaziv alanda ise, MM dokularında BN'lerden KN'lere kıyasla daha yüksek ve anlamlı ifadeleri olduğu saptanmıştır. Ancak invaziv alandaki İN'lerde MM'lerden daha yüksek seviyelerde olduğundan hedeflenmeleri önemli riskler oluşturabilmektedir. Parlar ve ark. yaptıkları bir çalışmada, NK92 hücre hattını, TYR antijeni için hedeflediklerinde, hedeflenmeyen NK92 hücre hattına kıyasla hücreleri daha hızlı ve selektif bir şekilde öldürebildiklerini elektriksel empedans analizini kullanarak göstermişlerdir. Çalışmada TYR antijenine özgül modifiye ettikleri NK92 hücrelerinde proinflamatuvar sitokinler olan IFN-γ ve TNF-α'nın, modifiye edilerek hedeflenen hücrelerde daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir (Parlar ve ark., 2017). Çoğu araştırmada, melanom hücrelerinde oldukça yüksek ifadesi olduğu belirtilen bu antijenin bizim çalışmamızda da aynı şekilde yüksek ifadeleri gözlenmiştir. Ancak klinikte kullanımı konusunda, benign hücreleri de hedefleyebileceğinden risk oluşturma potansiyeli yüksektir.

TRP-1 antijeni, MM ve BN'ler arasında kıyaslandığında hem *in situ* hem de invaziv alanda benzer düzeylerde ifade edildikleri gözlemlenmiştir. Daha önce de literatürde belirtildiği gibi bu antijen hem malign melanom hücrelerinde hem de fare ve insan cilt ve gözlerde retinada ifade edilirler. Bu nedenle TRP-1'in hedeflenen tedavilere uygulanması oldukça risklidir. Yapılan bir çalışmada fare TRP-1'ini hedeflemek için modifiye edilen MHC Sınıf II sınırlı naif $CD4^+$ T hücreleri, insana

olabildiğince homolog olan, TRP-1'e özgül THR transjenik farelerdeki tümörün şaşırtıcı bir şekilde $CD8^+$ T, B, NK ve NKT hücrelerden bağımsız olarak gerilemesine neden olduğunu göstermişlerdir. Ancak bu tedavinin önemli bir yan etkiye sebep olarak fare tüylerinin bazı bölgelerde, siyah tüylerin beyaza dönüştüğünü ve depigmentasyona neden olduğunu gözlemlemişlerdir (Xie ve ark., 2010).

Çalışmamızda TRP-2 antijeni genel olarak MM dokularının, hem *in situ* hem de invaziv alanında, hasta kontrol grubu dokulardan daha yüksek düzeylerde ifade edilmiştir. Tüm melanositlerde ifade edilen bu antijenin hedeflemesi TYR ilişkili diğer antijenlerde olduğu gibi olası yan etkilere sebep olabileceğini düşündürmektedir. Ancak Patel ve ark. SCBI1, TRP-2/gp100'den iki $CD8^+$ ve iki $CD4^+$ epitopu içeren metastatik melanomlu hastalarda kullandıkları bir DNA aşısında, aşılama öncesi alınan biyopsilerle, aşılama sonrası biyopsilerini karşılaştırmış, tümör dokusu rezekte edilen hastaların birinden alınan tümörün, hedef antijenlerden herhangi birini ifade edemediğini belirlemiş ve hastada tümör nüksü gözlemlemişlerdir. Bazı hastalarda ise MHC- Sınıf I ve TRP-2 ifadelerinin kaybı gözlemlenmiştir. Genel olarak DNA aşılarının, ICI ve NY-ESO-1'i hedefleyen bir Immunobody ile kombine halinde kullanıldığı pre-klinik çalışmalarda, T hücre infiltrasyon ve proliferasyonunu arttırarak, genel sağ kalımı önemli ölçüde iyileştirdiklerini göstermişlerdir (Patel ve ark., 2018).

MAGE-A antijeni başta melanom olmak üzere meme kanseri, mesene kanseri, akciğer kanseri ve kolorektal kanserler gibi malign fenotipler ile güçlü bir biçimde ilişkilendirilmiştir. MAGE-A'nın anormal ifadeleri yapılan çalışmalarda invaziv ve metastatik kapasiteye sahip malign hücrelerde daha yüksek ifade edildiği gözlenmiştir. Genel olarak kanser hastalarında anormal ifadeleri kötü prognoza neden olmaktadır. Bizim çalışmamızda, MM dokularının *in situ* ve invaziv alanlarında MAGE-A'nın ifade seviyeleri diğer antijenlere kıyasla oldukça düşüktür. Ancak BN'lerde ne *in situ* ne de invaziv alanda MAGE-A ifadesi gözlenmediğinden hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir. Bu nedenle MAGE-A antijenin hedeflenmesi, terapötik potansiyeli açısından önem taşımaktadır. Literatürdeki bir çalışmada otolog anti-MAGE-A3 112–120/HLA-A*0201 THR tasarlanmış transdükte T hücrelerinin kalıcılığı ile tümör gerilemesi arasındaki oran arasında bir uyum olduğu kaydedilmiştir (Alsalloum, Shevchenko & Sennikov, 2023).

Metastatik melanomlu yedi hasta, sinoviyal sarkomlu bir hasta ve özafagus kanserli bir hastada ölçülebilir klinik yanıtlar gözlenmiş, iki hastada 12 ay devam eden tümör progresyonunun, sonradan gerilediği belirlenmiştir. Dokuz hastanın üçünde ise nörotoksisite geliştiği, iki hastanın ise öldüğü gözlenmiştir. Yazarlar özellikle tasarlanan bu THR'nin MSS'de bulunan ve MAGE-A3'e homolog olan MAGE-A12 peptidine yüksek afinite göstermesi nedeniyle gerçekleştiğini düşünmektedirler. Benzer şekilde bir başka çalışmada iki melanom hastası, HLA-A*01 sınırlı MAGE-A3 peptidini hedefleyen T hücrelerinin, infüzyonundan sonraki birkaç gün içinde kardiyojenik şok yaşadıkları ve öldükleri gözlenmiştir. Bunun sebebini ise çizgili kas hücrelerinde bulunan ve titin adı verilen ilgisiz bir epitop türevli proteine bağlandığı düşünülmektedir. Tümör dışındaki hedeflere yönelen bu hücrelerin kullanımı ile ilgili oluşan yan etkiler MAGE-A'nın farklı izotiplerinin hedeflenmeleri gibi yan etkilere yol açabilmektedir. MAGE-A ile ilgili yapılan birçok çalışma dikkate alınıp değerlendirildiğinde, farklı yaklaşımlara sahip klinik ve pre-klinik deneyler sonucunda hedef dışı toksisiteye neden olan heterojen immünolojik tepkileri indüklediği ve sadece üreme hücreleri ile sınırlı bir protein ifadesi göstermediği de belirlenmiştir (Alsalloum ve ark., 2023). MAGE-A antijeninin birçok tümör tipindeki homolog yapısı ve heterojen ifadesi göz önüne alındığında tüm MAGE-A antijenlerinde ortak olan bir epitopun hedeflenmesi farklı tümör tiplerinde immünoterapi açısından MAGE-A'yı potansiyel bir aday haline getirebilir.

MAGE-C1 antijeni tüm melanom olgularında MAGE-A'ya benzer şekilde diğer TAA'lara kıyasla daha düşük seviyelerde ifade edilmiştir. BN'lerde ise hem *in situ* hem de invaziv alanda ifadelerine rastlanmamıştır. Bu nedenle hedefe yönelik immünoterapiler açısından güçlü bir aday olabilme ihtimalleri yüksektir. Primer melanomu ve lenf nodu ile uzak organ metastazı olan hastalarla ilgili yapılan bir çalışmada, primer melanomları olan hastaların %24'ünde, metastatik hastaların ise %40'ında MAGE-C1 antijen ifadelerinin pozitifliğine rastlanmıştır. Metastatik melanomlarda ise, artan bir MAGE-C1 antijen ifadelerini gözlemlemişlerdir (Curioni-Fontecedro ve ark., 2011). Bizim çalışmamızda da aynı şekilde hem CM alt tiplerinde, hem de UM ve MUM'larda, evre III ve evre IV hastalarda, evre I ve evre II'lere kıyasla daha yüksek MAGE-C1 antijen ifadesi saptanmıştır. Bir başka çalışmada ise, primer tümörlerde MAGE-C1 antijen pozitifliğinin SLN metastazlarının güvenilir bir

göstergesi olabileceğini saptamışlardır. Bu şekilde orta kalınlıktaki lezyonları olan hastalarda, bir metastaz saptama aracı olarak kullanılabilecekleri de belirtilmiştir (Mihic-Probst ve ark., 2006).

NY-ESO-1 antijeni ile ilgili yapılan çalışmaların çoğunda, klinik olarak ileri evredeki hastalıkların prognostik bir belirteci olduğunu ileri sürmüşlerdir. Bizim çalışmamızda ise *in situ* ve invaziv alanlardaki MM hasta dokularında NY-ESO-1 en düşük ifadeye sahip antijendir ve BN dokuları ile kıyaslandığında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Fakat ileri evre MUM'da NY-ESO-1 antijen ifadesi, BN dokuları ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı derece yüksek gözlenmiştir. Literatürdeki çalışmalarda NY-ESO-1 ifadesinin özellikle metastatik lezyonlarda daha yüksek olduğu, primer lezyonlarda ise ifade edilmediği gösterilmiştir. Ayrıca NY-ESO-1 antijen ifadesinin metastatik melanomların sadece epiteloid alt tipiyle yakından ilişkili olduğu, iğ, rabroid ve desmoplastik özelliklere sahip küçük bir metastatik melanom alt kümesinde de görüldüğü belirlenmiştir. Böylece epiteloid morfolojiye sahip metastatik melanomlu hastaların NY-ESO-1 ACT'den yararlanma olasılığının daha iyi olabileceği düşünülmektedir (Aung ve ark., 2014). Bizim çalışmamızda ise ileri evrelerdeki CM alt tipleri ve UM'lerde NY-ESO-1 antijen ifadesine rastlanmamıştır. Belki de dokudaki hücrelerin yukarıda belirtilen tiplerden farklı bir morfolojiye sahip olmasından kaynaklı olabileceğini düşünülmektedir.

Çalışmamızda, CM'nin, ALM alt tipindeki dokular ile BN'ler kıyaslandığında HMB-45 antijeninin *in situ* alandaki ifadesi, ileri evrelerde, bir önceki evresine kıyasla daha yüksek düzeylerde gözlenmiştir. BN'lerin *in situ* alanında ise, evre I ALM ile kıyaslandığında HMB-45'in yüksek seviyeleri gözlenmiştir. ALM dokularının invaziv alanlarında ise HMB-45 antijen ifadesi BN'lerle kıyaslandığında anlamlı derecede yüksek olduğu gözlenmiştir. Çünkü, BN'lerin invaziv alanlarında neredeyse hiç HMB-45 ifadeleri gözlenmemiştir. BN'lerde HMB-45'in sadece epidermis ile sınırlı olduğu düşünülürse, bu antijenin hedeflenmesine yönelik immünoterapiler tümör progresyonunun gerilemesine neden olabileceğini düşündürmektedir.

ALM hasta dokularında MAGE-A'nın *in situ* alanında, evreler arasında önemli farklılıklar gözlenmemiştir. İnvaziv alanlarında ise ilginç şekilde evre II kontrol gruplarına göre, MAGE-A'nın ifadesi anlamlı olarak daha yüksek gözlenmiştir. MAGE-C1'de ise *in situ* alanda evre III, invaziv alanda ise evre IV kontrol gruplarına

kıyasla anlamlı farklılık oluşturmuştur. Literatürde daha önceden bahsedildiği gibi primer dokularda bu antijenlerin ifadeleri, metastatik bir belirteç olma ihtimalini düşündürmektedir. MART-1, TRY, TRP-1, TRP-2 hem MM hem de BN'lerde benzer seviyelerde ifade edildiklerinden hedefe yönelik immünoterapilerde kullanılmaları önemli riskler taşıyabilir. ALM'nin herhangi bir evresinde NY-ESO-1 ifadesi gözlenmemiştir.

NM hasta dokularının *in situ* alanında HMB-45 ifadesinin evreler arasında anlamlı bir farkı gözlenmemiş, invaziv alanda ise evre I haricindeki diğer evrelerinde BN'lere kıyasla anlamlı derecede artan bir antijen ifadesi gözlenmiştir. NM'nin hem *in situ* hem de invaziv alanlarında MAGE-A ve MAGE-C1 antijenlerinin ifadeleri, BN'lere kıyasla daha yüksek seviyelerde olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlara ve literatüre dayalı olarak primer tümör dokularındaki bu antijenlerin varlığı, hastalığın metastatik olabileceğini düşündürmektedir. MART-1, TRY, TRP-1 ve TRP-2 antijenlerinin kontrol gruplarına kıyasla değişmediği ALM alt tipine benzer şekilde ifade edildikleri belirlenmiştir.

YYM hasta dokularının evreler arası HMB-45 ifade seviyeleri, sadece invaziv alanda gözlenmiştir. MAGE-A antijeni diğer alt tiplerde olduğu gibi sadece evre IV'lerde anlamlı bir şekilde artmıştır. MAGE-C1 seviyeleri anlamlı gibi görünse de düşük seviyelerde ifade edildiği belirlenmiştir.

LMM hastalarının invaziv dokularında HMB-45, MAGE-A ve MAGE-C1'in BN'lere kıyasla anlamlı şekilde yüksek ifadeleri belirlenmiştir. Diğer TAA'ların ifade düzeyleri, kontrol gruplarına yakın seviyelerde olduğundan potansiyel kullanımları riskli olabilmektedir.

UM'de bugüne kadar yapılan birçok farklı tedavi yaklaşımı pek de olumlu sonuçlar göstermemiştir. İmmünoterapilerden, ICI tedavilerinin oldukça sınırlı etki gösterdiği rapor edilmiş, hedefe yönelik hücresel tedavilerin daha umut verici olduğundan, çalışmalar daha çok bu tedavi seçenekleri üzerine yoğunlaşmıştır (Fu, Xiao & Mao, 2022). Tebentafusp son yıllarda umut verici bir yaklaşım haline gelmiş, gp100 hedefli anti-CD3 bispesifik füzyon proteini kullanılarak T hücrelerin yeniden tümöre yönlendirilmesi ile metastatik UM'li hastalarda genel sağkalımı %61 oranında arttırdığı belirlenmiştir (Middleton ve ark., 2020). Çalışmamızda UM'li hastaların dokuları, kontrol grubu dokulara kıyasla HMB-45 ve MAGE-A antijenlerini yüksek

seviyelerde ifade ettikleri belirlenmiştir. Genel olarak CM'ler ile benzer antijen profilleri sergilemeleri onları önemli terapötik hedefler haline getirebilir.

MUM'da diğer melanom alt tiplerinden farklı olarak ileri evrelerde NY-ESO-1 ifadesi dikkat çekmiştir. CM alt tipleri ve UM'lerde olduğu gibi MUM'de de HMB-45, MAGE-A ve MAGE-C1'in metastatik evrelerde kontrol gruplarına göre anlamlı artışları tedavi yaklaşımları açısından önemli kılmıştır.

Bu tez çalışması, ''Melanom antijenlerine spesifik T hücresi reseptörleri ile modifiye edilen Doğal Öldürücü hücrelerin kanser aşısı olarak geliştirilmesi'' başlıklı TÜBİTAK 1003 projesinin, alt projesi kapsamında gerçekleştirilen bir ön çalışmadır. Bu çalışma sayesinde MM hasta dokularında ifade edilen, melanomun farklı alt grup ve evrelerinde benzerlik ve ortaklık gösteren, melanom spesifik antijenlerin, TCR-NK tabanlı ACT immünoterapi çalışmalarında hedeflenecek antijenlerin tanımlanmasına olanak sağlamıştır. HMB-45, MAGE-A ve MAGE-C1 antijenlerinin TCR-NK hücreleri ile hedeflenmesi, melanomun birçok tipi için efektif anti-tümör immün yanıtların oluşmasına aracılık ederek, metastatazın kontrol altına alınmasını sağlanabileceği düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

Acar A. , Yoldaş A. H. , Yaman B. , Ceylan C. , Karaca Ş. B. , Esassolak M. , … Karaarslan I. (2020). Ege Üniversitesi Hastanesinde görülen deri melanomlarının epidemiyolojik ve genel sağ kalım özellikleri. *Ege Tıp Dergisi*. 2020; 89-96.

Ahmed, B., Qadir, M. I., & Ghafoor, S. (2020). Malignant Melanoma: Skin Cancer-Diagnosis, Prevention, and Treatment. Critical reviews in eukaryotic gene expression, 30(4), 291–297. https://doi.org/10.1615/CritRevEukaryotGeneExpr.2020028454

Alsalloum, A., Shevchenko, J. A., & Sennikov, S. (2023). The Melanoma-Associated Antigen Family A (MAGE-A): A Promising Target for Cancer Immunotherapy?. Cancers, 15(6), 1779. https://doi.org/10.3390/cancers15061779

Amin, M. B., Greene, F. L., Edge, S. B., Compton, C. C., Gershenwald, J. E., Brookland, R. K., … & Winchester, D. P. (2017). The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, *67*(2), 93–99. https://doi.org/10.3322/caac.21388

Aoude, L. G., Pritchard, A. L., Robles-Espinoza, C. D., Wadt, K., Harland, M., Choi, J., … Hayward, N. K. (2014). Nonsense mutations in the shelterin complex genes ACD and TERF2IP in familial melanoma. *Journal of the National Cancer Institute*, *107*(2), dju408. https://doi.org/10.1093/jnci/dju408

Arnold, M., Singh, D., Laversanne, M., Vignat, J., Vaccarella, S., Meheus, F., … Bray, F. (2022). Global Burden of Cutaneous Melanoma in 2020 and Projections to 2040. *JAMA Dermatology*, *158*(5), 495–503. https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2022.0160

Aung, P. P., Liu, Y. C., Ballester, L. Y., Robbins, P. F., Rosenberg, S. A., & Lee, C. C. (2014). Expression of New York esophageal squamous cell carcinoma-1 in primary and metastatic melanoma. Human pathology, 45(2), 259–267. https://doi.org/10.1016/j.humpath.2013.05.029

Azimi, F., Scolyer, R. A., Rumcheva, P., Moncrieff, M., Murali, R., McCarthy, S. W., …& Thompson, J. F. (2012). Tumor-infiltrating lymphocyte grade is an independent predictor of sentinel lymph node status and survival in patients with cutaneous melanoma. *Journal of Clinical Oncology : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, *30*(21), 2678–2683. https://doi.org/10.1200/JCO.2011.37.8539

Bachar, G., Loh, K. S., O'Sullivan, B., Goldstein, D., Wood, S., Brown, D., & Irish, J. (2008). Mucosal melanomas of the head and neck: experience of the Princess Margaret Hospital. *Head & Neck*, *30*(10), 1325–1331. https://doi.org/10.1002/hed.20878

Ballester Sánchez, R., de Unamuno Bustos, B., Navarro Mira, M., & Botella Estrada, R. (2015). Mucosal melanoma: an update. *Actas Dermo-sifiliograficas*, *106*(2), 96–103. https://doi.org/10.1016/j.ad.2014.04.012

Bertolotto, C., Lesueur, F., Giuliano, S., Strub, T., de Lichy, M., Bille, K., … Bressac-de Paillerets, B. (2016). Corrigendum: A SUMOylation-defective MITF germline mutation predisposes to melanoma and renal carcinoma. *Nature*, *531*(7592), 126. https://doi.org/10.1038/nature16158

Besser, M. J., Shapira-Frommer, R., Itzhaki, O., Treves, A. J., Zippel, D. B., Levy, D., … & Schachter, J. (2013). Adoptive transfer of tumor-infiltrating lymphocytes in patients with metastatic melanoma: intent-to-treat analysis and efficacy after failure to prior immunotherapies. *Clinical cancer research : An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, *19*(17), 4792–4800. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-13-0380

Bissig, C., Rochin, L., & van Niel, G. (2016). PMEL Amyloid Fibril Formation: The Bright Steps of Pigmentation. *InternationalJjournal of Molecular Sciences*, *17*(9), 1438. https://doi.org/10.3390/ijms17091438

Bobos M. (2021). Histopathologic classification and prognostic factors of melanoma: a 2021 update. *Italian Journal of Dermatology and Venereology*, *156*(3), 300–321. https://doi.org/10.23736/S2784-8671.21.06958-3

Borgenvik, T. L., Karlsvik, T. M., Ray, S., Fawzy, M., & James, N. (2017). Blue nevus-like and blue nevus-associated melanoma: a comprehensive review of the literature. *ANZ Journal of Surgery*, *87*(5), 345–349. https://doi.org/10.1111/ans.13946

Bubien, V., Bonnet, F., Brouste, V., Hoppe, S., Barouk-Simonet, E., David, A., … & French Cowden Disease Network (2013). High cumulative risks of cancer in patients with PTEN hamartoma tumour syndrome. *Journal of Medical Genetics*, *50*(4), 255–263. https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2012-101339

Busam, K. J., Iversen, K., Coplan, K. A., Old, L. J., Stockert, E., Chen, Y. T., McGregor, D., & Jungbluth, A. (1998). Immunoreactivity for A103, an antibody to melan-A (Mart-1), in adrenocortical and other steroid tumors. The American journal of surgical pathology, 22(1), 57–63. https://doi.org/10.1097/00000478-199801000-00007

Cao, J., Wan, L., Hacker, E., Dai, X., Lenna, S., Jimenez-Cervantes, C., …& Cui, R. (2013). MC1R is a potent regulator of PTEN after UV exposure in melanocytes. *Molecular Cell*, *51*(4), 409–422. https://doi.org/10.1016/j.molcel.2013.08.010

Carlino, M. S., Larkin, J., & Long, G. V. (2021). Immune checkpoint inhibitors in melanoma. *Lancet (London, England)*, *398*(10304), 1002–1014. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)01206-X

Carrera, C., Gual, A., Díaz, A., Puig-Butillé, J. A., Noguès, S., Vilalta, A., … & Puig, S. (2017). Prognostic role of the histological subtype of melanoma on the hands and feet in Caucasians. *Melanoma Research*, *27*(4), 315–320. https://doi.org/10.1097/CMR.0000000000000340

Chen, Y. T., Stockert, E., Jungbluth, A., Tsang, S., Coplan, K. A., Scanlan, M. J., & Old, L. J. (1996). Serological analysis of Melan-A(MART-1), a melanocyte-specific protein homogeneously expressed in human melanomas. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *93*(12), 5915–5919. https://doi.org/10.1073/pnas.93.12.5915

Ciccarese, G., Dalmasso, B., Bruno, W., Queirolo, P., Pastorino, L., Andreotti, V., …Ghiorzo, P., & Italian Melanoma Intergroup (I.M.I.) (2020). Clinical, pathological and dermoscopic phenotype of MITF p.E318K carrier cutaneous melanoma patients. *Journal of Translational Medicine*, *18*(1), 78. https://doi.org/10.1186/s12967-020-02253-8

Curioni-Fontecedro, A., Nuber, N., Mihic-Probst, D., Seifert, B., Soldini, D., Dummer, R., … & Moch, H. (2011). Expression of MAGE-C1/CT7 and MAGE-C2/CT10 predicts lymph node metastasis in melanoma patients. *PloS One*, *6*(6), e21418. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021418

Curioni-Fontecedro, A., Pitocco, R., Schoenewolf, N. L., Holzmann, D., Soldini, D., Dummer, R., … & Fitsche, A. (2015). Intratumoral Heterogeneity of MAGE-C1/CT7 and MAGE-C2/CT10 Expression in Mucosal Melanoma. *BioMed Research International*, *2015*, 432479. https://doi.org/10.1155/2015/432479

Çaloğlu, V. Y., Çaloğlu, M., Tokatlı, F., Koçak, Z., Alas, R. C., İbiş, K., … & Uzal, C. (2006). Bir olgu nedeniyle malign melanomlarda palyatif radyoterapi. *Türk Onkoloji Dergisi*, 21 (3), 151-155. Retrieved from https://dergipark.org.tr/tr/pub/iuonkder/issue/1061/12062

Damato, B. E., Dukes, J., Goodall, H., & Carvajal, R. D. (2019). Tebentafusp: T Cell Redirection for the Treatment of Metastatic Uveal Melanoma. Cancers, 11(7), 971. https://doi.org/10.3390/cancers11070971

Davis, L. E., Shalin, S. C., & Tackett, A. J. (2019). Current state of melanoma diagnosis and treatment. *Cancer Biology & Therapy*, *20*(11), 1366–1379. https://doi.org/10.1080/15384047.2019.1640032

De Luca, E. V., Perino, F., Di Stefani, A., Coco, V., Fossati, B., & Peris, K. (2020). Lentigo maligna: diagnosis and treatment. *Giornale italiano di dermatologia e venereologia : organo ufficiale, Societa Italiana di Dermatologia e Sifilografia*, *155*(2), 179–189. https://doi.org/10.23736/S0392-0488.18.06003-0

Demierre, M. F., & Nathanson, L. (2003). Chemoprevention of melanoma: an unexplored strategy. *Journal of clinical oncology : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, *21*(1), 158–165. https://doi.org/10.1200/JCO.2003.07.173

Domingues, B., Lopes, J. M., Soares, P., & Pópulo, H. (2018). Melanoma treatment in review. ImmunoTargets and therapy, 7, 35–49. https://doi.org/10.2147/ITT.S134842

Duinkerken, C. W., Rohaan, M. W., de Weger, V. A., Lohuis, P. J. F. M., Latenstein, M. N., Theunissen, E. A. R., … & Zuur, C. L. (2019). Sensorineural Hearing Loss After Adoptive Cell Immunotherapy for Melanoma Using MART-1 Specific T Cells: A Case Report and Its Pathophysiology. Otology & neurotology : official publication of the American Otological Society, American Neurotology Society [and] European Academy of Otology and Neurotology, 40(7), e674–e678. https://doi.org/10.1097/MAO.0000000000002332

Elder, D. E., Bastian, B. C., Cree, I. A., Massi, D., & Scolyer, R. A. (2020). The 2018 World Health Organization Classification of Cutaneous, Mucosal, and Uveal Melanoma: Detailed Analysis of 9 Distinct Subtypes Defined by Their Evolutionary Pathway. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, *144*(4), 500–522. https://doi.org/10.5858/arpa.2019-0561-RA

Fargnoli, M. C., Gandini, S., Peris, K., Maisonneuve, P., & Raimondi, S. (2010). MC1R variants increase melanoma risk in families with CDKN2A mutations: a meta-analysis. *European Journal of Cancer (Oxford, England : 1990)*, *46*(8), 1413–1420. https://doi.org/10.1016/j.ejca.2010.01.027

Fears, T. R., Sagebiel, R. W., Halpern, A., Elder, D. E., Holly, E. A., Guerry, D., 4th, & Tucker, M. A. (2011). Sunbeds and sunlamps: who used them and their risk for melanoma. *Pigment Cell & Melanoma Research*, *24*(3), 574–581. https://doi.org/10.1111/j.1755-148X.2011.00842.x

Ferlay, J., Shin, H. R., Bray, F., Forman, D., Mathers, C., & Parkin, D. M. (2010). Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *International Journal of Cancer*, *127*(12), 2893–2917. https://doi.org/10.1002/ijc.25516

Ferlay, J., Colombet, M., Soerjomataram, I., Parkin, D. M., Piñeros, M., Znaor, A., & Bray, F. (2021). Cancer statistics for the year 2020: An overview. *International Journal of Cancer*, 10.1002/ijc.33588. Advance online publication. https://doi.org/10.1002/ijc.33588

Fogal, S., Carotti, M., Giaretta, L., Lanciai, F., Nogara, L., Bubacco, L., & Bergantino, E. (2015). Human tyrosinase produced in insect cells: a landmark for the screening of new drugs addressing its activity. *Molecular Biotechnology*, *57*(1), 45–57. https://doi.org/10.1007/s12033-014-9800-y

Fratta, E., Coral, S., Covre, A., Parisi, G., Colizzi, F., Danielli, R., … & Maio, M. (2011). The biology of cancer testis antigens: putative function, regulation and therapeutic potential. *Molecular Oncology*, *5*(2), 164–182. https://doi.org/10.1016/j.molonc.2011.02.001

Fukuda, K., Funakoshi, T., Sakurai, T., Nakamura, Y., Mori, M., Tanese, K., …& Kawakami, Y. (2017). Peptide-pulsed dendritic cell vaccine in combination with carboplatin and paclitaxel chemotherapy for stage IV melanoma. *Melanoma Research*, *27*(4), 326–334. https://doi.org/10.1097/CMR.0000000000000342

Garbe, C., Amaral, T., Peris, K., Hauschild, A., Arenberger, P., Basset-Seguin, N., … Lorigan, P., European Dermatology Forum (EDF), the European Association of Dermato-Oncology (EADO), and the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) (2022). European consensus-based interdisciplinary guideline for melanoma. Part 1: Diagnostics: Update 2022. *European Journal of Cancer (Oxford, England : 1990)*, *170*, 236–255. https://doi.org/10.1016/j.ejca.2022.03.008

Gershenwald, J. E., Scolyer, R. A., Hess, K. R., Sondak, V. K., Long, G. V., Ross, M. I., …& for members of the American Joint Committee on Cancer Melanoma Expert Panel and the International Melanoma Database and Discovery Platform (2017). Melanoma staging: Evidence-based changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, *67*(6), 472–492. https://doi.org/10.3322/caac.21409

Ghanem, G., & Fabrice, J. (2011). Tyrosinase related protein 1 (TYRP1/gp75) in human cutaneous melanoma. *Molecular Oncology*, *5*(2), 150–155. https://doi.org/10.1016/j.molonc.2011.01.006

Gordon, L. G., Rodriguez-Acevedo, A. J., Køster, B., Guy, G. P., Jr, Sinclair, C., Van Deventer, E., & Green, A. C. (2020). Association of Indoor Tanning Regulations With Health and Economic Outcomes in North America and Europe. *JAMA Dermatology*, *156*(4), 401–410. https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2020.0001

Grimaldi, A. M., Simeone, E., Festino, L., Vanella, V., Strudel, M., & Ascierto, P. A. (2017). MEK Inhibitors in the Treatment of Metastatic Melanoma and Solid Tumors. *American Journal of Clinical Dermatology*, *18*(6), 745–754. https://doi.org/10.1007/s40257-017-0292-y

Hansen, C. B., Wadge, L. M., Lowstuter, K., Boucher, K., & Leachman, S. A. (2004). Clinical germline genetic testing for melanoma. *The Lancet. Oncology*, *5*(5), 314–319. https://doi.org/10.1016/S1470-2045(04)01469-X

Harris, G. R., Shea, C. R., Horenstein, M. G., Reed, J. A., Burchette, J. L., Jr, & Prieto, V. G. (1999). Desmoplastic (sclerotic) nevus: an underrecognized entity that resembles dermatofibroma and desmoplastic melanoma. *The American Journal of Surgical Pathology*, *23*(7), 786–794. https://doi.org/10.1097/00000478-199907000-00006

Hassani, M., Akdeniz, D., Doğan, T., Tuncer, S., Yazıcı, H. (2022). Uveal Malıgn Melanoma Hastalarının Serum/ Plazmasında Yüksek Mir-454 Ekspresyonu. *Sağlık Bilimlerinde İleri Araştırmalar Dergisi* 5: 14-19

Heasley, D. D., Toda, S., & Mihm, M. C., Jr (1996). Pathology of malignant melanoma. *The Surgical Clinics of North America*, *76*(6), 1223–1255. https://doi.org/10.1016/s0039-6109(05)70512-0

Helgadottir, H., Ghiorzo, P., van Doorn, R., Puig, S., Levin, M., Kefford, R., …& Jönsson, G. (2020). Efficacy of novel immunotherapy regimens in patients with metastatic melanoma with germline *CDKN2A* mutations. *Journal of Medical Genetics*, *57*(5), 316–321. https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2018-105610

Hoashi, T., Watabe, H., Muller, J., Yamaguchi, Y., Vieira, W. D., & Hearing, V. J. (2005). MART-1 is required for the function of the melanosomal matrix protein PMEL17/GP100 and the maturation of melanosomes. *The Journal of Biological Chemistry*, *280*(14), 14006–14016. https://doi.org/10.1074/jbc.M413692200

Huang, F. W., Hodis, E., Xu, M. J., Kryukov, G. V., Chin, L., & Garraway, L. A. (2013). Highly recurrent TERT promoter mutations in human melanoma. *Science (New York, N.Y.)*, *339*(6122), 957–959. https://doi.org/10.1126/science.1229259

In 't Hout, F. E., Haydu, L. E., Murali, R., Bonenkamp, J. J., Thompson, J. F., & Scolyer, R. A. (2012). Prognostic importance of the extent of ulceration in patients with clinically localized cutaneous melanoma. *Annals of Surgery*, *255*(6), 1165–1170. https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e31824c4b0b

Jedlička, M., Feglarová, T., Janstová, L., Hortová-Kohoutková, M., & Frič, J. (2022). Lactate from the tumor microenvironment - A key obstacle in NK cell-based immunotherapies. *Frontiers in Immunology*, *13*, 932055. https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.932055

Jungbluth, A. A., & Busam, K. J. (2019). Immunohistochemistry for the Diagnosis of Melanocytic Proliferations. *Pathology of Melanocytic Tumors*, 348–363. doi:10.1016/b978-0-323-37457-6.00029-8

Karahan, Z. S., Aras, M., & Sütlü, T. (2023). TCR-NK Cells: A Novel Source for Adoptive Immunotherapy of Cancer. Turkish journal of haematology : official journal of Turkish Society of Haematology, 40(1), 1–10. https://doi.org/10.4274/tjh.galenos.2022.2022.0534

Kim, H. Y., Yoon, J. H., Cho, E. B., Park, E. J., Kim, K. H., & Kim, K. J. (2015). A case of spitzoid melanoma. *Annals of Dermatology*, *27*(2), 206–209. https://doi.org/10.5021/ad.2015.27.2.206

Krantz, B. A., Dave, N., Komatsubara, K. M., Marr, B. P., & Carvajal, R. D. (2017). Uveal melanoma: epidemiology, etiology, and treatment of primary disease. *Clinical Ophthalmology (Auckland, N.Z.)*, *11*, 279–289. https://doi.org/10.2147/OPTH.S89591

Liu, Y., & Sheikh, M. S. (2014). Melanoma: Molecular Pathogenesis and Therapeutic Management. *Molecular and Cellular Pharmacology*, 6(3), 228.

Lopes, J., Rodrigues, C. M. P., Gaspar, M. M., & Reis, C. P. (2022). Melanoma Management: From Epidemiology to Treatment and Latest Advances. *Cancers*, *14*(19), 4652. https://doi.org/10.3390/cancers14194652

Luke, J. J., & Schwartz, G. K. (2013). Chemotherapy in the management of advanced cutaneous malignant melanoma. *Clinics in Dermatology*, *31*(3), 290–297. https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2012.08.016

Marofi, F., Motavalli, R., Safonov, V. A., Thangavelu, L., Yumashev, A. V., Alexander, M., … & Khiavi, F. M. (2021). CAR T cells in solid tumors: challenges and opportunities. *Stem Cell Research & Therapy*, *12*(1), 81. https://doi.org/10.1186/s13287-020-02128-1

Merkel, E. A., & Gerami, P. (2017). Malignant melanoma of sun-protected sites: a review of clinical, histological, and molecular features. *Laboratory Investigation; A Journal of Technical Methods and Pathology*, *97*(6), 630–635. https://doi.org/10.1038/labinvest.2016.147

Middleton, M. R., McAlpine, C., Woodcock, V. K., Corrie, P., Infante, J. R., Steven, N. M., & Sznol, M. (2020). Tebentafusp, A TCR/Anti-CD3 Bispecific Fusion Protein Targeting gp100, Potently Activated Antitumor Immune Responses in Patients with Metastatic Melanoma. Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research, 26(22), 5869–5878. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-20-1247

Mihic-Probst, D., Mnich, C. D., Oberholzer, P. A., Seifert, B., Sasse, B., Moch, H., & Dummer, R. (2006). p16 expression in primary malignant melanoma is associated with prognosis and lymph node status. International journal of cancer, 118(9), 2262–2268. https://doi.org/10.1002/ijc.21608

Moreira, R. S., Bicker, J., Musicco, F., Persichetti, A., & Pereira, A. M. P. T. (2020). Anti-PD-1 immunotherapy in advanced metastatic melanoma: State of the art and future challenges. *Life Sciences*, *240*, 117093. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.117093

Morton, L. T., Wachsmann, T. L. A., Meeuwsen, M. H., Wouters, A. K., Remst, D. F. G., van Loenen, M. M., … & Heemskerk, M. H. M. (2022). T cell receptor engineering of primary NK cells to therapeutically target tumors and tumor immune evasion. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, *10*(3), e003715. https://doi.org/10.1136/jitc-2021-003715

Newcomer, K., Robbins, K. J., Perone, J., Hinojosa, F. L., Chen, D., Jones, S., … & Tyler, D. S. (2022). Malignant melanoma: evolving practice management in an era of increasingly effective systemic therapies. *Current Problems in Surgery*, *59*(1), 101030. https://doi.org/10.1016/j.cpsurg.2021.101030

Nicolson, N. G., & Han, D. (2019). Desmoplastic melanoma. *Journal of Surgical Oncology*, *119*(2), 208–215. https://doi.org/10.1002/jso.25317

Ozaydın-Yavuz, G., & Yavuz, İ.H., (2014). Melanositik Nevusler. *Van Tıp Dergisi,* Cilt:21, Sayı:4, Ekim/2014

Pak, B. J., Chu, W., Lu, S. J., Kerbel, R. S., & Ben-David, Y. (2001). Lineage-specific mechanism of drug and radiation resistance in melanoma mediated by tyrosinase-related protein 2. *Cancer Metastasis Reviews*, *20*(1-2), 27–32. https://doi.org/10.1023/a:1013175516793

Parlak , A., Çayırlı, M., Parlak, N., Ekinci, E. (2014). Melanoma Genel Bakış. *Konuralp Tıp Dergisi*, 6(1), 22-27.

Parlar, A., Sayitoglu, E. C., Ozkazanc, D., Georgoudaki, A. M., Pamukcu, C., Aras, M., Josey, B. J., Chrobok, M., Branecki, S., Zahedimaram, P., Ikromzoda, L., Alici, E., Erman, B., Duru, A. D., & Sutlu, T. (2019). Engineering antigen-specific NK cell lines against the melanoma-associated antigen tyrosinase via TCR gene transfer. European journal of immunology, 49(8), 1278–1290. https://doi.org/10.1002/eji.201948140

Pasquali, E., García-Borrón, J. C., Fargnoli, M. C., Gandini, S., Maisonneuve, P., Bagnardi, V., … Dwyer, T., M-SKIP Study Group (2015). MC1R variants increased the risk of sporadic cutaneous melanoma in darker-pigmented Caucasians: a pooled-analysis from the M-SKIP project. *International Journal of Cancer*, *136*(3), 618–631. https://doi.org/10.1002/ijc.29018

Patel, P. M., Ottensmeier, C. H., Mulatero, C., Lorigan, P., Plummer, R., Pandha, H., … & Durrant, L. G. (2018). Targeting gp100 and TRP-2 with a DNA vaccine: Incorporating T cell epitopes with a human IgG1 antibody induces potent T cell responses that are associated with favourable clinical outcome in a phase I/II trial. Oncoimmunology, 7(6), e1433516. https://doi.org/10.1080/2162402X.2018.1433516

Pitcovski, J., Shahar, E., Aizenshtein, E., & Gorodetsky, R. (2017). Melanoma antigens and related immunological markers. *Critical reviews in Oncology/Hematology*, *115*, 36–49. https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2017.05.001

Plaza, J. A., Suster, D., & Perez-Montiel, D. (2007). Expression of immunohistochemical markers in primary and metastatic malignant melanoma: a comparative study in 70 patients using a tissue microarray technique. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology : AIMM*, *15*(4), 421–425. https://doi.org/10.1097/PAI.0b013e318032ea5d

Poojary, M., Jishnu, P. V., & Kabekkodu, S. P. (2020). Prognostic Value of Melanoma-Associated Antigen-A (MAGE-A) Gene Expression in Various Human Cancers: A Systematic Review and Meta-analysis of 7428 Patients and 44 Studies. *Molecular Diagnosis & Therapy*, *24*(5), 537–555. https://doi.org/10.1007/s40291-020-00476-5

Puig, S., Potrony, M., Cuellar, F., Puig-Butille, J. A., Carrera, C., Aguilera, P., … Badenas, C. (2016). Characterization of individuals at high risk of developing melanoma in Latin America: bases for genetic counseling in melanoma. *Genetics in Medicine : Official Journal of the American College of Medical Genetics*, *18*(7), 727–736. https://doi.org/10.1038/gim.2015.160

Ramos-Herberth, F. I., Karamchandani, J., Kim, J., & Dadras, S. S. (2010). SOX10 immunostaining distinguishes desmoplastic melanoma from excision scar. *Journal of Cutaneous Pathology*, *37*(9), 944–952. https://doi.org/10.1111/j.1600-0560.2010.01568.x

Rantala, E. S., Hernberg, M. M., Piperno-Neumann, S., Grossniklaus, H. E., & Kivelä, T. T. (2022). Metastatic uveal melanoma: The final frontier. *Progress in Retinal and Eye Research*, *90*, 101041. https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2022.101041

Rastrelli, M., Tropea, S., Rossi, C. R., & Alaibac, M. (2014). Melanoma: epidemiology, risk factors, pathogenesis, diagnosis and classification. *In Vivo (Athens, Greece)*, *28*(6), 1005–1011.

Read, J., Wadt, K. A., & Hayward, N. K. (2016). Melanoma genetics. *Journal of Medical Genetics*, *53*(1), 1–14. https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2015-103150

Ribeiro Moura Brasil Arnaut, J., Dos Santos Guimarães, I., Evangelista Dos Santos, A. C., de Moraes Lino da Silva, F., Machado, J. R., & de Melo, A. C. (2021). Molecular landscape of Hereditary Melanoma. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, *164*, 103425. https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2021.103425

Rohaan, M. W., Wilgenhof, S., & Haanen, J. B. A. G. (2019). Adoptive cellular therapies: the current landscape. *Virchows Archiv : an International Journal of Pathology*, *474*(4), 449–461. https://doi.org/10.1007/s00428-018-2484-0

Rohaan, M. W., Gomez-Eerland, R., van den Berg, J. H., Geukes Foppen, M. H., van Zon, M., Raud, B., … & Haanen, J. B. A. G. (2022). MART-1 TCR gene-modified peripheral blood T cells for the treatment of metastatic melanoma: a phase I/IIa clinical trial. Immuno-oncology technology, 15, 100089. https://doi.org/10.1016/j.iotech.2022.100089

Saginala, K., Barsouk, A., Aluru, J. S., Rawla, P., & Barsouk, A. (2021). Epidemiology of Melanoma. *Medical Sciences (Basel, Switzerland)*, *9*(4), 63. https://doi.org/10.3390/medsci9040063

Sample, A., & He, Y. Y. (2018). Mechanisms and prevention of UV-induced melanoma. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, *34*(1), 13–24. https://doi.org/10.1111/phpp.12329

Sang, M., Wang, L., Ding, C., Zhou, X., Wang, B., Wang, L., … & Shan, B. (2011). Melanoma-associated antigen genes - an update. *Cancer Letters*, *302*(2), 85–90. https://doi.org/10.1016/j.canlet.2010.10.021

Schwarz T. (2008). 25 years of UV-induced immunosuppression mediated by T cells-from disregarded T suppressor cells to highly respected regulatory T cells. *Photochemistry and Photobiology*, *84*(1), 10–18. https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2007.00223.x

Shiravand, Y., Khodadadi, F., Kashani, S. M. A., Hosseini-Fard, S. R., Hosseini, S., Sadeghirad, H., … & Kulasinghe, A. (2022). Immune Checkpoint Inhibitors in Cancer Therapy. *Current Oncology (Toronto, Ont.)*, *29*(5), 3044–3060. https://doi.org/10.3390/curroncol29050247

Sidiropoulos, M., Sholl, L. M., Obregon, R., Guitart, J., & Gerami, P. (2014). Desmoplastic nevus of chronically sun-damaged skin: an entity to be distinguished from desmoplastic melanoma. *The American Journal of Dermatopathology*, *36*(8), 629–634. https://doi.org/10.1097/DAD.0000000000000069

Simonetti, O., Molinelli, E., Brisigotti, V., Brancorsini, D., Talevi, D., & Offidani, A. (2021). Primary Dermal Melanoma: A Rare Clinicopathological Variant Mimicking Metastatic Melanoma. *Dermatopathology (Basel, Switzerland)*, *8*(1), 29–32. https://doi.org/10.3390/dermatopathology8010005

Skala, S. L., Arps, D. P., Zhao, L., Cha, K. B., Wang, M., Harms, P. W., …& Chan, M. P. (2018). Comprehensive histopathological comparison of epidermotropic/dermal metastatic melanoma and primary nodular melanoma. *Histopathology*, *72*(3), 472–480. https://doi.org/10.1111/his.13384

Slominski, R. M., Sarna, T., Płonka, P. M., Raman, C., Brożyna, A. A., & Slominski, A. T. (2022). Melanoma, Melanin, and Melanogenesis: The Yin and Yang Relationship. *Frontiers in Oncology*, *12*, 842496. https://doi.org/10.3389/fonc.2022.842496

Smith, L. K., Arabi, S., Lelliott, E. J., McArthur, G. A., & Sheppard, K. E. (2020). Obesity and the Impact on Cutaneous Melanoma: Friend or Foe?. *Cancers*, *12*(6), 1583. https://doi.org/10.3390/cancers12061583

Strobel, S. B., Machiraju, D., Hülsmeyer, I., Becker, J. C., Paschen, A., Jäger, D., Wels, W. S., Bachmann, M., & Hassel, J. C. (2021). Expression of Potential Targets for Cell-Based Therapies on Melanoma Cells. Life (Basel, Switzerland), 11(4), 269. https://doi.org/10.3390/life11040269

Tarlan, B., & Kıratlı, H. (2016). Uveal Melanoma: Current Trends in Diagnosis and Management. *Turkish Journal of Ophthalmology*, *46*(3), 123–137. https://doi.org/10.4274/tjo.37431

Thomas, R., Al-Khadairi, G., Roelands, J., Hendrickx, W., Dermime, S., Bedognetti, D., & Decock, J. (2018). NY-ESO-1 Based Immunotherapy of Cancer: Current Perspectives. *Frontiers in Immunology*, *9*, 947. https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00947

Tonorezos, E. S., Friedman, D. N., Barnea, D., Bosscha, M. I., Chantada, G., Dommering, C. J., … Abramson, D. H. (2020). Recommendations for Long-Term Follow-up of Adults with Heritable Retinoblastoma. *Ophthalmology*, *127*(11), 1549–1557. https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2020.05.024

Tsao, H., Bevona, C., Goggins, W., & Quinn, T. (2003). The transformation rate of moles (melanocytic nevi) into cutaneous melanoma: a population-based estimate. *Archives of Dermatology*, *139*(3), 282–288. https://doi.org/10.1001/archderm.139.3.282

Walterscheid, J. P., Nghiem, D. X., & Ullrich, S. E. (2002). Determining the role of cytokines in UV-induced immunomodulation. *Methods (San Diego, Calif.)*, *28*(1), 71–78. https://doi.org/10.1016/s1046-2023(02)00212-8

Wang, Y., Zhao, Y., & Ma, S. (2016). Racial differences in six major subtypes of melanoma: descriptive epidemiology. *BMC Cancer*, *16*(1), 691. https://doi.org/10.1186/s12885-016-2747-6

Winge-Main, A. K., Wälchli, S., & Inderberg, E. M. (2020). T cell receptor therapy against melanoma-Immunotherapy for the future?. *Scandinavian Journal of Immunology*, *92*(4), e12927. https://doi.org/10.1111/sji.12927

Wong, D. J., & Ribas, A. (2016). Targeted Therapy for Melanoma. *Cancer Treatment and Research*, *167*, 251–262. https://doi.org/10.1007/978-3-319-22539-5_10

Xie, Y., Akpinarli, A., Maris, C., Hipkiss, E. L., Lane, M., Kwon, E. K., … & Antony, P. A. (2010). Naive tumor-specific CD4(+) T cells differentiated in vivo eradicate established melanoma. The Journal of experimental medicine, 207(3), 651–667. https://doi.org/10.1084/jem.20091921

You, W., Henneberg, R., Coventry, B. J., & Henneberg, M. (2022). Cutaneous malignant melanoma incidence is strongly associated with European depigmented skin type regardless of ambient ultraviolet radiation levels: evidence from Worldwide population-based data. *AIMS Public Health*, *9*(2), 378–402. https://doi.org/10.3934/publichealth.2022026

Zaal, L. H., Mooi, W. J., Sillevis Smitt, J. H., & van der Horst, C. M. (2004). Classification of congenital melanocytic naevi and malignant transformation: a review of the literature. *British Journal of Plastic Surgery*, *57*(8), 707–719. https://doi.org/10.1016/j.bjps.2004.04.022

Zajac, P., Schultz-Thater, E., Tornillo, L., Sadowski, C., Trella, E., Mengus, C., …& Spagnoli, G. C. (2017). MAGE-A Antigens and Cancer Immunotherapy. Frontiers in medicine, 4, 18. https://doi.org/10.3389/fmed.2017.00018

Zembowicz, A., & Phadke, P. A. (2011). Blue nevi and variants: an update. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, *135*(3), 327–336. https://doi.org/10.5858/2009-0733-RA.1

Zhang, A. J., Rush, P. S., Tsao, H., & Duncan, L. M. (2019). BRCA1-associated protein (BAP1)-inactivated melanocytic tumors. *Journal of Cutaneous Pathology*, *46*(12), 965–972. https://doi.org/10.1111/cup.13530

7. SİMGELER VE KISALTMALAR

ACD	Adenokortikal displazi protein homoloğu
ACT	Adoptif hücre tedavisi
AJCC	Amerikan ortak kanser komitesi
ALM	Akral lentijinöz melanom
BAP-1	BRCA-1 ile ilişkili protein-1
BIM	Beden kitle indeksi
BN	Mavi nevüs
BRCA2	Meme kanseri tip 2 duyarlılık geni
CAR	Kimerik antijen reseptörü
CBN	Hücresel mavi nevüsler
CDK4	Siklin bağımlı kinaz 4
CDKN2A	Siklin bağımlı inhibitör 2A
CN	Konjenital nevüs
CSD	Kümülatif güneş hasarı
CTA	Kanser testis antijen
CTLA4	Sitotoksik T lenfosit antijen 4
CXCL10	Kemokin ligandı 10
CXCR3	Kemokin reseptörü 3
DH	Dendritik hücre
DM	Desmoplastik melanom
DNA	Deoksiribonükleik asit
ERK	Hücre dışı sinyal ile düzenlenen kinaz
GVHD	Graft versus host hastalığı
HİV	İnsan immün yetmezlik virüsü
HLA	İnsan lökosit antijen
IACR	Uluslararası kanser araştırma ajansı
ICI	İmmün kontrol noktası inhibitörleri
IHC	İmmünohistokimya
IL	İnterlökin
IN	İntradermal nevüs
JN	Junctional nevüs
KN	Kompaund nevüs
LH	Langerhans hücre
LMM	Lentigo malign melanom
MAPK	Mitojen ile aktive edilen kinaz
MBN	Mavi nevüs türevli melanomlar
MC1R	Melanokortin reseptör 1
MDA	Melanosit farklılaşma antijeni
MITF	Mikroftalmi-ilişkili transkripsiyon faktörü
Mm	Milimetre
MM	Malign melanom
MRI	Manyetik rezonans görüntüleme
MSS	Merkezi sinir sistemi
NER	Nükleotid eksizyon onarımı
NIH	Ulusal sağlık enstitisu
NK	Doğal öldürücü hücre

NM	Nodüler melanom
OOG	Oftalmolojik onkoloji grubu
PD-1	Programlanmış hücre ölümü-1
PET-CT	Pozitron emisyon tomografisi
POT-1	Telomer-1'in korunması
PTEN	Fosfatidilinositol 3, 4 ,5- trisfosfat 3-fosfataz ve dual spesifik fosfataz
RAS	Retiküler aktivasyon sistemi
RGP	Radyal büyüme fazı
SM	Spizoid melanom
SNL	Sentinel lenf nodu
STL	Sitotoksik T lenfosit
SUMO	Küçük übikütin benzeri değiştirici
TAA	Tümör ilişkili antijen
TERF2IP	Telomerik tekrar bağlama faktörü 2 etkileşimli proteini
TERT	Telomeraz RT
THR	T hücre reseptörü
TİL	Tümör infiltre lenfosit
TNM	Tümör- lenf nodu- metastaz
TP53	Tümör protein 53
UM	Üveal melanom
UV	Mor ve ötesi ışınları
WHO	Dünya sağlık örgütü
YYM	Yüzey yayılan melanom

8. EKLER

Etik kurul kararı

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	**Malign Melanom Hastalarında Tümör ile İlişkili Antijenlerin Belirlenmesi**

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 2011-KAEK-26
	AÇIK ADRESİ	Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Rektörlük Binası Kat.1 Görükle Kampüsü Nilüfer/ Bursa
	TELEFON	
	FAKS	
	E-POSTA	

BAŞVURU BİLGİLERİ	SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof.Dr.Haluk Barbaros Oral			
	SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ				
	YARDIMCI ARAŞTIRMACININ UNVANI/ADI/SOYADI	-Prof.Dr.Emel Bülbül Başkan -Prof.Dr.Ramazan Kahveci -Prof.Dr.Şaduman Balaban Adım -Prof.Dr.Türkkan evrensel -MSc.Mehmet Karaçay			
	YARDIMCI ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ				
	DESTEKLEYİCİ	TÜBİTAK 1003			
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Prospektif araştırma/Retrospektif araştırma			
	ARAŞTIRMANIN YAPILIŞ AMACI	Doktora tez çalışması			
	ARAŞTIRMANIN BAŞLAMA TARİHİ/ SÜRESİ	06.01.2020 / 2 yıl			
	GÖNÜLLÜ/DOSYA SAYISI	30+300			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐

	Belge Adı	Tarihi	Dili
DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR İÇİN BAŞVURU FORMU	28.11.2019	Türkçe
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FROMU (hasta grubu)	28.11.2019	Türkçe
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FROMU (hasta kontrol grubu)	28.11.2019	Türkçe

	Belge Adı		Açıklama
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	ARAŞTIRMA BÜTÇE FORMU	☒	
	ARAŞTIRICILAR İÇİN TAAHHÜTNAME FORMU	☒	
	PROSPEKTİF ÖZELLİKLİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMA TAAHHÜTNAMESİ	☒	
	IKU klavuzunun okunduğuna dair taahhütname	☒	
	SONUÇ ÖZET RAPORU	☐	
	DİĞER:	☒	Araştırma ilk başvuru ön yazısı (28.11.2019), hasta listesi, sorumlu araştırmacı özgeçmişi, araştırıcılar tarafından imzalanmış Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesi, literatür

Sayfa 1

Etik kurul kararının devamı

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Malign Melanom Hastalarında Tümör ile İlişkili Antijenlerin Belirlenmesi

KARAR BİLGİLERİ

Karar No: 2019-20/9 **Tarih: 04 Aralık 2019**

Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak değerlendirildi.

1-Araştırmanın yapılmasının uygun olduğuna,

2- Araştırmanın yürütülmesi sırasında Etik kurul kaşesi bulunan "Onam" formlarının kullanılması ve bu formun çalışmaya katılan gönüllülere çalışma hakkında sözlü bilgi verilmesi sonrasında eksiksiz bir şekilde doldurulmasına,

3-Araştırmanın başlama tarihinin bildirilmesi ve araştırma tamamlandığında özet bir sonuç raporunun hazırlanarak kurulumuza iletilmesine,

4-Araştırma protokolünde ve başvuru formunda yapılacak tüm değişiklikler için Etik Kuruldan izin alınması gerektiğinin sorumlu araştırıcılara iletilmesine toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI/ADI SOYADI	Prof.Dr.Mustafa HACIMUSTAFAOĞLU

ÜYELER

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof.Dr.Mustafa HACIMUSTAFAOĞLU Başkan	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları		E☒	K☐	E☐	H☒	E☒	H☐	
Prof.Dr.Elif BAŞAĞAN MOĞOL Başkan Yardımcısı	Anesteziyoloji		E☐	K☒	E☐	H☒	E☐	H☒	
Prof.Dr.Mehmet CANSEV Üye	Farmakoloji		E☒	K☐	E☐	H☒	E☒	H☐	
Doç.Dr.Alpaslan TÜRKKAN Üye	Halk Sağlığı		E☒	K☐	E☐	H☒	E☒	H☐	
Doç.Dr.Pınar VURAL Üye	Psikiyatri		E☐	K☒	E☐	H☒	E☒	H☐	
Doç.Dr.Hilal ÖZKAN Üye	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları		E☐	K☒	E☐	H☒	E☒	H☐	
Doç.Dr.Hasan ARI Üye	Kardiyoloji		E☒	K☐	E☐	H☒	E☐	H☒	
Doç.Dr.Kağan HUYSAL Üye	Biyokimya		E☒	K☐	E☐	H☒	E☒	H☐	
Doktor Öğretim Üyesi Çiğdem Mine YILMAZ Üye	Hukuk		E☐	K☒	E☐	H☒	E☒	H☐	
Doktor Öğretim Üyesi Engin SAĞDİLEK Üye	Biyofizik		E☒	K☐	E☐	H☒	E☒	H☐	
Doktor Öğretim Üyesi Sezer ERER KAFA Üye	Tıp Tarihi ve Etik		E☐	K☒	E☐	H☒	E☒	H☐	
Selen MİĞAL Üye	Sağlık mesleği mensubu olmayan üye		E☐	K☒	E☐	H☒	E☒	H☐	

*:Toplantıda Bulunma

Sayfa 2

9. TEŞEKKÜR

Yüksek lisans ve doktora eğitimim süresince bilimsel bilgi birikimi, engin yaşam deneyimi, bilimsel çalışma disiplininin yanı sıra duygu, mantık ve çalışma ciddiyetini profesyonelce dengeleyen kişiliği ve yaklaşımı ile örnek aldığım, merak-araştırma gücümü diriltip yolumu açık tutan, uygun çalışma ortamının oluşturulmasında maddi ve manevi desteğini esirgemeyen Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Haluk Barbaros ORAL'a sevgi ve minnetle şükranlarımı sunarım.

Doktora eğitimim süresince deneysel çalışmalarımda bilgi ve deneyimini paylaşan, laboratuvar çalışmalarımda desteğini esirgemeyen Bölümümüz Öğretim Üyelerinden, Dr. Diğdem YÖYEN ERMİŞ'e katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Sıcakkanlılığı, samimi yaklaşımı, moral desteği ve katkıları için İmmünoloji Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Dr. Salih Haldun BAL'a teşekkür ederim.

Doktora öğrenim sürecimde derslerinden oldukça keyif aldığım Değerli Hocam Sayın Prof. Dr. Arzu YILMAZTEPE ORAL'a çok teşekkür ederim.

İnsancıl ve sevecen yaklaşımı, içtenliği, yardım severliği ile öğrenim hayatıma katkılarından dolayı İmmünoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Hocam Sayın Prof. Dr. Ferah BUDAK'a şükranlarımı sunarım.

Doktora tez çalışmamda patolojik verilerin yorumlanması ve değerlendirmeleri konusunda yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Şaduman BALABAN ADIM 'a saygılarımı arz ederim.

Barbaros Hocamla ortak projelerinde birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum Ana Proje Yürütücüsü Dr. Öğretim Üyesi Sayın Tolga SÜTLÜ'ye çok teşekkür ederim.

Doktora tez sürecimde hasta örneklerimin fotoğraflanması aşamasında, laboratuvar olanaklarını kullanmama izin veren Dr. Öğr. Üyesi Seçil AKSOY'a teşekkürlerimi sunarım.

İmmünoloji Anabilim dalı lisansüstü öğrencilerinden Fatma DOMBAZ-ÖZBEY, Onur ETGÜ, Gözde ARSLAN ve isimlerini sayamadığım tüm lisansüstü öğrenci arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

İmmünoloji rutin laboratuvarı çalışanlarından Figen AYMAK ve Deniz GÜLKAYA ve Özge AKTAŞ'a çok teşekkür ederim.

Ortak proje çalışmalarımızda beraber çalışmaktan inanılmaz zevk aldığım Sütlü Lab üyelerinden Elif Çelik ve Dr. Mertkaya ARAS'a çok teşekkür ederim.

Yaşadığım deprem felaketi nedeniyle beni evinde misafir eden ve tez çalışmamdaki hasta bilgilerine erişmemde yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşım Dr. Sidar İLİK'e çok teşekkür ederim.

Yaşadığım deprem felaketi nedeniyle maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen Türk İmmünoloji Derneği'ne minnet ve şükranlarımı sunarım.

Çalışmamıza maddi katkıda bulunan TUBITAK'a (218S910 nolu 1003 projesi ''Melanom antijenlerine spesifik T hücresi reseptörleri ile modifiye edilen Doğal Öldürücü hücrelerin kanser aşısı olarak geliştirilmesi'') teşekkür ederim.

YÖK 100/2000 öncelikli alan burs desteklerinden dolayı Yüksek Öğretim Kurumu'na teşekkür ederim.

Bilime olan heves ve inancımı hiçbir zaman kırmayıp, beni her zaman yüreklendiren maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen değerli annem Şükran KARAÇAY, babam Sami KARAÇAY ve kardeşim Dr. Mert KARAÇAY'a sonsuz teşekkür ederim.

10. ÖZGEÇMİŞ

Mehmet KARAÇAY, lisans öğrenimini 2013 yılında Uludağ Üniversitesi Biyoloji Bölümünü'nde tamamlamıştır. 2017 yılında Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik yüksek lisans programını bitirmiştir. Aynı yıl içersinde Bursa Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nde Tıp-İmmünoloji doktora programına başlamış ve bu süre zarfında bir çok projede çalışma imkanına ulaşmıştır. Tümör immünolojisinin yanı sıra deneysel otoimmün hastalıklarda gen ve hücresel bazlı tedavi yöntemlerini içeren birçok projede yer almıştır. Yurt içi ve uluslararası indekslerde taranan dergilerde yer alan araştırma çalışmaları bulunmaktadır. Hatay'da ikamet etmektedir.