

Malign Melanomlarda S-100 ve HMB -45 İle Yapılan İmmunohistokimyasal Bir Çalışma

Dr. Işın Soyuer¹, Dr. Olgun Kontaş¹, Dr. Yücel Tekin¹, Dr. Hüseyin Kafadar¹

ÖZET

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda sonbe yıl içerisinde tanı alan 27 malign melanomlu hastaya ait parafin bloklar yeniden değerlendirildi. Onaltı erkek, 11 kadın hastadan oluşan serimizde yaş ortalaması 58 idi. Onbeş hastada lezyon deride, dört hastada anal koralda, dört hastada gözde, iki hastada lenf bezinde, bir hastada pranazal sinüste, birinde damakta yerleşmiştir.

İmmünohistokimyasal çalışmada; 23 vaka HMB-45 antikoruna pozitif reaksiyon verirken, dört vakada boyanma olmadığı, 17 vakanın S-100 ile pozitif reaksiyon verdiği 10'unun ise boyanmadığı görüldü. HMB-45 ile S-100 antikorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$). Bu iki antikorun birbirlerine üstünlüğü gösterilemediğinden; malign melanomlu hastalarda tanıya yardım amacı ile kullanıldıklarında ikisinin birarada kullanımının faydalı olacağı sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler : Malign Melanom, HMB*45, S-100 protein

GİRİŞ

Malign melanom (MM) son derece taklitçi bir tümör olması nedeni ile; özellikle kötü diferansiye olduğunda, tanınması güç bir tümördür. MM tanısında, melaninin gösterilmesi için kullanılan Masson-Fontana ve diğer gümüş tabanlı histokimyasal boyalar ile, melanozomların elektron mikroskobu ile gösterilmesi tekniği geleneksel olarak kabul edilmektedir. İmmünohistokimyasal boyalar bu iki klasik yöntemden daha spesifik ve daha hızlı olması nedeni ile üstünlük göstermektedir (1).

S-100 protein ve HMB-45 antikorları MM belirleyicileri olarak bilinmektedir. MM vakalarının çoğunda S-100 ile reaksiyon olmasına rağmen, bu antikor melanom hücreleri için spesifik değildir (2). Benign nevüs hücreleri, Langerhans hücreleri, liposarkom, Kondrosarkom gibi pek çok sarkom türleri, nöral tümörler ve hatta bazı karsinom türleri de S-100 ile pozitif reaksiyon vermektedir (3).

HMB-45 antikoruna MM için çok daha spesifik bir belirleyicidir. HMB-45'in MM vakalarının %70-90'ında pozitif olması ve banyanın bazen yalnızca fokal alanlarda sınırlı kalması bu antikorun eksiklikleridir (1, 4, 5)

THE IMMUNOHISTOCHEMICAL EVALUATION OF S-100 AND HMB45 IN MALIGNANT MELANOMA

In this study twenty-seven cases of malignant melanoma which were diagnosed in Pathology Department of Erciyes University School of Medicine between 1991-1996 were studied. Sixteen cases were male and eleven cases were female and median age was 58. Fifteen cases were localized in skin, four cases in anal canal, four cases in eye, two cases in lymph nodes, one case in paranasal sinus and one case in palate.

Monoclonal antibodies to S-100 protein and HMB-45 and seventeen of 27 malignant melanoma contained S-100. At present was containing, HMB-45 appears to offer no great advantage over S-100 protein was containing in the analysis of malignant melanoma ($p>0.05$). S-100 protein and HMB-45 are useful markers in diagnosis of malignant melanoma when used together with morphologic and clinical data.

Key Words: Malignant Melanoma, HMB-45, S-100 protein.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada son beş yıl içerisinde Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı alan 27 MM vakası yeniden değerlendirildi. Tüm hastalara ait kimlik ve klinik bilgiler dosya arşivinden alındı. Parafin bloklarından yeni kesitler alınarak histolojik tanımlar doğrulandı. Kesitlerde hücre tipleri incelendi, deri ve mukozada yerleşmiş olan vakalarda Clark ve Breslow'a göre sınıflama yapıldı.

Hastaların tümüne ait parafin bloklarından 5-7 mikron kalınlığında kesitler hazırlanarak streptavidin-biotin alkalen fosfat yöntemi ile poliklonal S-100 (Zymed) ve HMB-45 (Zymed) antikorları kullanılarak immünohistokimyasal boyama uygulandı. Elde edilen sonuçlar Fisher'in ki-kare testine göre karşılaştırılarak yorumlandı.

BULGULAR

Yirmiyedi vakada oluşan serimizde 16 erkek, 11 kadın hasta bulunmaktaydı. Hastaların yaş ortalaması 58 idi. Onbeş hastada tümör deride, dört hastada anal kanalda, dört hastada gözde, iki hastada lenf bezinde bir hastada paranazal sinüste, birinde üst damakta yerleşmiştir.

Vakalarımızın 15'inde tümör deride yerleşmişti. Bu hastalar-

¹ Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Kayseri

la ilgili tüm bilgiler Tablo 1'de özetlenmiştir. Daha önce kliniğimiz dışında MM tanısı almış olan hastadan bize gönderilen materyal MM'un beyin metastazı olduğu için Tablo 1'de yer almamaktadır. Diğer 12 hastada ise tümörün yeri, S-100 ve HMB-45 antikorları ile boyanma özellikleri Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 1'de kolayca izlenebileceği gibi; derde yerleşen 15 MM vakasından 11'i nodüler MM, ikisi lentigo MM, biri yüzeyle yayılan MM tanısı almıştır. Üç hastada lezyon yüz cildinde, bir hastada kulak derisinde, bir hastada konjunktivada, diğerlerinde ise ekstremitelerde yerleşmiştir. Hücre tipleri açısından değerlendirildiklerinde; sekizinde epitelyal, ikisinde içi hücrelerin hakim olduğu, beş vakada ise her iki hücre tipinin birarada olduğu görülmüştür. Clark'a göre yapılan histolojik evrelemede evre I'de hiç hastamız bulunmaz iken; evre II'de iki, evre III'de üç, evre IV'de üç, evre V'de dört hastamız bulunmaktadır. Breslow'a göre evre I'de hastamız yoktur evre II'de iki, evre III'de 12 hastamız vardır.

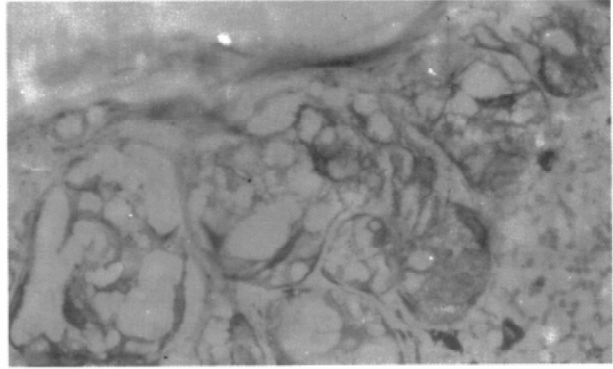
Deri dışında yerleşmiş olan MM vakaları ile ilgili bilgiler ve bu tümörlerin S-100 ve HMB-45 antikorları ile boyanma özellikleri Tablo II'de özetlenmiştir.

Deri ve deri dışında yerleşen MM vakalarının S-100 ve HMB-45 antikorları ile boyanma özellikleri Tablo III'de karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Resim 1 ve 2).

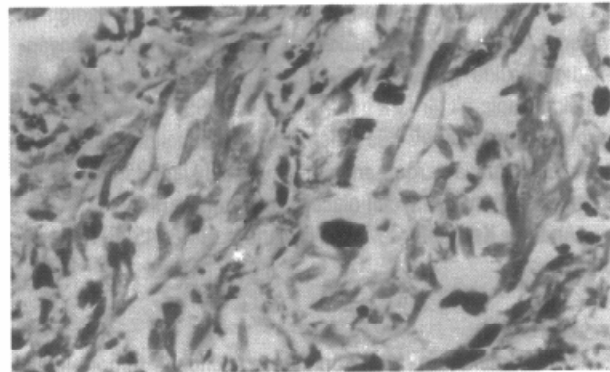
TARTIŞMA

S-100 protein asidik nitelikte kalsiyum bağlama özelliği olan bir proteindir. Sinir sistemine spesifik bir protein olmasına rağmen, çeşitli nöral olmayan hücrelerde de (Langerhans hücreleri, melanositler, kondrositler ve bu hücrelerden kaynaklanan tümör hücreleri gibi) pozitif reaksiyon vermektedir⁽³⁾.

Isobe ve arkadaşları⁽⁶⁾ S-100 proteinin beyinden izole edilen tek bir protein olmadığını birbirine benzer en az üç proteinin karışımı olduğunu ortaya çıkarmışlardır. Bu alt tipler S-100 a, S-100 b olup ayrıca alt grupları da içerir. Bu alt gruplar ise; α (S-100a), $\alpha\beta$ (S-100a), $\beta\beta$ (S-100b) dir. ve subunitler borderline MM'larda invazivliğin derecesini belirlemek için kullanılır⁽⁷⁾. Poliklonal S-100 protein antikor melanositik nevüs ve MM'larda değeri kanıtlanmış diagnostik bir araçtır ve son çalışmalarda MM için oldukça sensitif olduğu da ortaya çıkarılmıştır^(4,5). S-100 antikor melanositik hücreler için spesifik olmadığı gibi malignitenin derecesini belirlemede de yetersiz kalmaktadır. Poliklonal S-100 reaktivitesi tüm nevüs ve melanom hücrelerinde uniform olarak gösterilmesine rağmen, monoklonal anti S-100x ve monoklonal anti S-100 β reaktivitesi sıradan "junctional nevüs" ve sıradan "compaund nevüsün" junctional adalarında ya yoktur, yad da nadiren bulunur. bununla birlikte displastik nevüsde aynı konponentlerde monoklonal anti S-100 β reaktivitesi artmıştır, monoklonal anti S-100 β reaktivitesi bulunmaz. MM'ların süperfisyol formlarında vertikal gelişim veya invaziv davranış başlayınca kadar anti S-100 β non-reaktif özellik göstermektedir.



Resim 1 :Deride yerleşen Lentigo Malign Melanom vakasında S-100 antikor Pozitifliği



Resim 2 : Nodüler Malign Melanom vakasında HMB-45 antikor pozitifliği

Nodüler MM'da monoklonal anti S-100 α ve monoklonal ant S-100 β reaktivitesi bulunmaktadır^(6,7).

Biz kendi serimizde poliklonal S-100 antikor kullandık. Tablo III'de de izlenebileceği gibi 17 vaka S-100 ile pozitif boyanırken on hastada ayniantikor ile boyanma olmadı. S-100 antikor ile reaksiyon vermeyen hastalarda onu primer, bir metastatik MM idi. HMB-45 antikor ile reaksiyon veren 23 vaka bulunmaktadır. Dört vakada ise aynı antikor ile reaksiyon bulunmamaktadır. HMB-45 antikor ile reaksiyon vermeyen hastaların tümü primer MM hastasıdır. Bu sonuçlar istatistiksel yöntemler ile karşılaştırıldıklarında; MM vakalarında S-100 ve HMB-45 antikorlarının boyanma özellikleri arasında bir fark bulunamamıştır. Bu sonuçları literatür ile karşılaştıracak olursak; 56 vakalık bir seride vakaların %90'nından fazlası HMB-45 antikor ile pozitif boyanmıştır⁽⁸⁾. Bizim vakalarımızda bu oran %78'dir. Poliklonal S-100 ve HMB-45 antikorları ile yapılan 144 vakalık bir başka çalışmada ise, S-100 ile vakaların tümü boyanırken HMB-45 ile

SIRA NO	BİYOPSİ NO	HİSTOLOJİK TANI	TÜMÖRÜN YERİ	HÜCRE TİPİ	CLARK' A GÖRE	BRESLOW 'A GÖRE	S-100	HMB-45
1	659-95	NODÜLER	SOL EL	İÇSİ	III	II	+	+
2	1388-92	NODÜLER	SAĞ EL	MİKS	IV	III	-	+
3	3585-93	NODÜLER	SOL EL	MİKS	IV	III	+	+
4	735-91	NODÜLER	SOL BACAK	EPİTELYAL	III	III	+	+
5	1318-91	NODÜLER	SOL BACAK	MİKS	V	III	--	+
6	2164-91	NODÜLER	SAĞ AYAK	EPİTELYAL	V	III	--	+
7	1039-93	NODÜLER	SAĞ AYAK	EPİTELYAL	IV	III	+	+
8	4168-93	NODÜLER	SAĞ AYAK	İÇSİ	IV	III	+	--
9	4954-93	NODÜLER	SOL KULAK	MİKS	V	III	+	+
10	5229-92	SS MM	SAĞ YANAK	EPİTELYAL	II	III	+	+
11	436-93	LENTİGO	SAĞ YANAK	MİKS	III	II	--	+
12	5001-93	LENTİGO	YÜZ	EPİTELYAL	II	I	+	+
13	3025-91	**	KONJONKTİVA	EPİTELYAL	**	III	+	--
14	5289-93	NODÜLER	YÜZ	EPİTELYAL	IV	III	+	+
15	1438-93	NODÜLER	SOL BACAK	EPİTELYAL	V	III	+	+

Tablo 1 : Deride yerleşen Malign Melanom vakaları ve S-100, HMB-45 antikorları ile boyanma özellikleri.

SIRA NO	BİYOPSİ NO	TÜMÖRÜN YERİ	S-100	HMB-45
1	4033-92	SOL GÖZ	+	+
2	2977-92	SOL GÖZ	-	+
3	2106-94	SAĞ GÖZ	-	+
4	1797-93	PARANAZAL SİNUS	+	-
5	4933-93	ÜST DAMAK	+	+
6	1938-91	LENF BEZİ	-	+
7	5021-94	LENF BEZİ	+	+
8	3420-94	REKTUM	+	+
9	4975-94	REKTUM	-	+
10	5228-96	REKTUM	-	+
11	5116-95	REKTUM	-	+
12	4230-92	SAĞ AYAK-BEYİN	+	-

Tablo 2 : Deri Dışında yerleşen Malign Melanom vakaları ve S-100, HMB-45 antikorları ile Boyanma özellikleri

%92'sinin boyandığı bildirilmiştir ⁽¹³⁾. Bizim serimizde S-100 ile boyanma oranı %61,5'tur. Bu konuda yapılan çalışmalardan birinde poliklonal S-100 ile yapılan boyanın oaha diffüz, HMB-45'in ise yama tarzında fakat daha kuvvetli olduğu bildirilmiştir (9). Bizim çalışmamızda her iki antikortüm alanları diffüz olarak boyandığı ve boyanma şiddeti açısından her ikisi arasında fark bulunmadığı görüldü.

Vakalarımız içinde göz yerleşimi olan dört hasta bulunmaktadır. S-100 iki, HMB-45 iki hastada pozitif boyandı. Bu hastalardan üçünde lezyon korneaya birinde konjonktivaya yerleşmişti. Konjonktivada yerleşen 23 MM vakasını inceleyen bir çalışma S-100 ve HMB-45 antikorlarının birbirine üstünlük göstermediği saptanmıştır ⁽¹⁰⁾. Konjonktivanın melanositik lezyonlarını inceleyen diğer bir makalede ise primer benign melanositik lezyonlarda özellikle intraepitelyal ve junctional komponentin HMB-45 ile pozitif boyandığı, MM vakalarında ise epitelyal, junctional ve

subepitelyal hücrelerinin tümünün HMB-45 ile pozitif boyandığı saptanmıştır. S-100 konjonktivanın pigment lezyonlarında tüm melanositleri boyamaktadır ⁽¹¹⁾.

HMB-45 uyarılmış melanositlere karşı yüksek derecede spesifite göstermekle birlikte, proliferen olan melanositlerin benign ya da malign olduğunu ayırt edememektedir ⁽¹¹⁾.

Hastalarımızdan dördünde tümör rektumda yerleşmişti. Bu hastaların biri hariç tümünde S-100 negatos iken HMB-45 dört vakada da pozitif boyandı. MM için rektum nadir bir yerleşim yeridir. Bu nedenle özellikle pigmenti az olan lezyonlarda S-100 ve HMB-45 antikorları tanı için faydalıdır ⁽¹²⁾.

Oral mukozadaki MM ve blue nevüs vakalarını inceleyen bir çalışmada epitelyal olan hücrelerde HMB-45'in, içsi hücrelerde ise S-100'un daha çok boyandığı tesbit edilmiştir ⁽⁶⁾. Bizim hastalarımız içinde yer alan üst damak yerleşimli MM vakasın-

TÜMÖRÜN YERİ	S-100		HMB-45	
	-	+	-	+
DERİDE YERLEŞEN MM	4	10	1	13
DERİ DIŞINDA YERLEŞEN MM	6	7	3	10
TOPLAM HASTA SAYISI	10	17	4	23

Tablo 3 : MM vakalarında tümör yerleşim yeri ve S-100, HMB-45 antikorları ile boyanma özellikleri

da hücreler iğsi özelliklerde idi ve literatür ile uyumlu olarak S-100 ile pozitif boyandı.

Nazal ve paranasal sinüsden kaynaklanan MM, tüm MM'lerin %1'den azını oluşturmaktadır (13). Bu bölgede melanomlar özellikle nazal septumu tercih etmektedirler, prognozları kötüdür. Nazal ve paranasal sinüslerden kaynaklı üç vakanın sunulduğu bir çalışmada tüm biyopsilerde S-100 ve

HMB-45 ile boyanma olduğu belirtilmiştir. Bizim vakamızda S-100 pozitif, HMB-45 ise negatif boyandı.

HMB-45 ve S-100 antikorları kullanılarak yapılan tüm çalışmaların ortak sonucu; MM vakalarında S-100'ün daha sensitif, HMB-45'in ise daha spesifik olduğudur (2, 3, 6, 7, 9, 11). Bu nedenle MM düşünülen bir vakada; S-100 ve HMB-45 antikorlarının bir arada kullanımı tanı için daha yardımcı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Damjanov I, Linder J. Enderson's Pathology 10th. ed. St. Louis: Mosby, 150-12.
2. Wick MR, Swanson PE, Rocamora A. Recognition of Malinant Melanoma by Monoclonal Antibody HMB-45. Journal of Cutaneous Pathology 1988;15:201-207.
3. Cho KH, Hashimoto K, Taniguchi Y, Pietruk T, Zarbo R, An T. Immunohistochemical Study of melanocytic Nevus and Malignant Melanoma With Monoclonal antibodies Against S-100 Subunit. Cancer 1990; 66:765-771.
4. Ben-Izhak O, Stark O, Levy R, Bergman R, Lichtig C., Epithelial Markets in Malignant Melanoma, American Journal of Dermatopathology 1994; 16: 241-246.
5. Gazist D, Daniels TE. Oral melanocytic lesions: differences in expression of HMB-45 and S-100 antigens in round and spindle cells of malignant and benign lesions. Journal of Oral Pathology and Medicine 1994; 23:60-64.
6. Gazist D, Daniels TE. Oral melanocytic lesions: Differences in expression of HMB-45 and S-100 antigens in round and spindle cells of malignant and benign lesions. Journal of Oral Pathology and Medicine 1994; 23:60-64.
7. Isobe T, Okuyama T. The amino-acid sequence of the subunit in bovine brain. Eur J Biochem 1981; 116:79-86. Isobe T, Ishioka N, Okuyama T, structural relation of two S-100 proteins in bovine brain. Eur J Biochem 1981; 115:469-474.
8. Duray PH, Palazzo J, Gown AM, Ohuchi N. melanoma cell heterogeneity. A study of two monoclonal antibodies compared with S-100 protein in paraffin sections. Cancer 1988; 61:2460-2468.
9. Fernando SS, Johnson S, Bate J. Immunohistochemical analysis of cutaneous malignant melanoma: comparison of S-100 protein, HMB-45 and HMB-45. J Clin Pathol 1994;26:16-19.
10. Mc Donnell JM, Sun YY, Wagner D. HMB-45 immunohistochemical staining of conjunctival melanocytic lesions. Ophthalmology 1991;98:453-458.
11. Steuhl KP, Rohrbach JM, Knorr M. Distribution of melanoma associated antigens (HMB-45 and S-100) in benign and malignant melanocytic tumors of the conjunctiva. Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde 1991;199:187-191.
12. Cope R, Debow JM. Malignant melanoma of the anal canal. apropos of 8 patients and review of the literature. Chirurgie 1991; 117:431-436.
13. Valerdez S, Martín J, Coloma M, Palacin A. Primer malignant melanomas of the nasal fossae. Acta Otorinolaringologia Espanola 1992; 43:105-108.