

MALİNG MELANOMUN SİTOLOJİK ÖZELLİKLERİ

Cemil Ekinci*

Bülent Mızrak**

Hüseyin Üstün***

Malign melanom, tüm malignitelerin % 1 kadarını teşkil etmektedir (11). Bu vakaların yaklaşık % 85'i deride ortaya çıkmakta, diğer vakalarda göz, orofarenk, genital organlar, anüs ve özofagusta primer odak bulunmaktadır (1,2,3,11,12). Malign melanom biyolojik olarak çok değişik davranış biçimleri göstermektedir (7,8,11,15,16) : Çok malign davranarak kısa zamanda metastaz yapabilir, primer odak çok küçük iken veya regresyona uğramış haldeyken metastazlar gözlenebilir, ya da nisbeten sessiz davranarak yıllar sonra metastaz yapabilir. Bu durumda, lenf bezi veya diğer organlarda görülen kitlelere ince iğne aspirasyon biyopsisi ile tanı konulmasının sözkonusu olduğu söylenmektedir (7,10,16). İnce iğne aspirasyonu ile tanı verilmesi, 1950'li yıllardan sonra yaygınlaşan ve özellikle Kuzey Avrupa ülkelerinde kabul gören bir yöntemdir, bu yolla başta lenforetiküler sistem olmak üzere birçok organlara ulaşılarak malign lezyonlar tanınabilmektedir.

Yaymada, klasik olarak pigmentli hücrelerin bol miktarda görülmesi durumunda tanı konulması kolaydır, ancak hipomelanotik ve amelanotik vakalarda tanı güçleşebilir. İnce iğne aspirasyon biyopsisi ayrıca primer odağı bilinen lezyonlarda hastalığın seyrini takip ve kemoterapinin etkisini anlamak için de kullanılabilir (7,10). Öte yandan plevral effüzyonlarda, balgamda, beyin-omurilik sıvısı incelenmesinde, vajinal yaymada, özofagus fırçalama örneklerinde de malign melanomun sitolojik olarak tanınabilmesi mümkündür (1,2,3,4,6,12,13).

Bu çalışmada ince iğne aspirasyon biyopsileri ve imprint preparatlarında gözlenen malign melanom vakalarımıza dayanarak sitolojik özellikler tanımlanmış, amelanotik formlarda tanıya varabilmek için gerekli kriterler saptanmaya çalışılmış ve bulgularımız literatür verileriyle karşılaştırılmıştır.

* A.Ü. Tıp Fak. Patoloji Anabilim Dalı Doçenti

** A.Ü. Tıp Fak. Patoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi

*** A.Ü. Tıp Fak. Patoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi

MATERYAL ve METOD

Bu çalışmada A.Ü. Tıp Fakültesi Anabilim Dalında 1982-1987 yılları arasında incelenmiş olan malign melanom vakalarına ait sitolojik preparatlar değerlendirilerek bulunan sonuçlar tartışılmıştır. Lenf bezleri, yumuşak dokular ve karaciğerden ince iğne aspirasyon biyopsisiyle elde edilen yaymalar yanısıra biyopsi ve ameliyat materyallerinden hazırlanan imprint preparatları da gözden geçirilmiştir. Toplam 31 yaymanın 22'si aspirasyon, 9'u imprint materyalidir.

Aspirasyon tekniği : Görülen veya elle hissedilen lezyonlarda, 20 cc.'lik enjektöre bağlı 21 gauge iğne ile lezyona girilip birkaç kez emme işlemi yapılır, sonra iğne çıkarılır. Materyal kuru ve temiz bir lama püskürtülüp yayılarak kurutulur. Karaciğer ve derin doku yerleşimli lezyonlarda ise ultrasonografi yardımıyla kes'in lokalizasyon belirlenerek gene aynı şekilde lezyona girilerek aspirasyon yapılır. İmprint tekniğinde ise doku parçasının kansız ve nekrozsuz kısımlarına bir lam fazla bastırıp sürmeden dokundurular, lam gene havada kurutulur. Kurumuş olan lamlar May-Grünwald-Giemsma yöntemiyle boyanır. Bulgularda açıklanan sitolojik özelliklerin hepsi bu metoda göre tanımlanmıştır.

BULGULAR

Tablo 1'de görüldüğü gibi toplam 31 adet sitolojik materyal bulunmaktadır, 22 aspirasyon ve 9 imprint materyali mevcuttur. Toplam 23 hastanın ikisinden üç ayrı sitolojik materyal alınmış, dört hastadan ise ikişer kez sitolojik materyal elde edilmiştir. Gene Tablo 1'de sitolojik materyallerin alındığı organlar görülmektedir. Vakaların yaş ve

Tablo 1. Malign melanom tanısı verilen sitolojik materyallerin elde edilmiş şekilleri ve alındığı dokulara göre dağılımı.

Alındığı organ	Elde edilmiş şekli		Toplam
	Aspirasyon	İmprint	
Lenf bezi	8	1	9
Yumuşak doku	9	3	12
Göz	0	4	4
Karaciğer	5	0	5
Özofagus	0	1	1
Toplam	22	9	31

cins dağılımına bakılacak olursa; en çok hastanın 5. dekatta bulunduğu saptanmıştır (8 vaka ile). En az hasta ise 2. dekatta görülmüştür (1 vaka). Vakaların 15'i erkek, 8'i kadındır. En genç vaka 17 yaşında bir kız, en yaşlı hasta ise 68 yaşında bir kadındır. Aspirasyon yapılan vakaların üçünde hastaya ait doku kesitleri de incelenebilmiştir. ayrıca iki vakadaysa daha önceden çıkartılmış malign melanom öyküsü klinik tarafından bildirilmiştir.

Tablo 2. Malign melanomada sitolojik kriterlerin materyallere göre dağılımı.

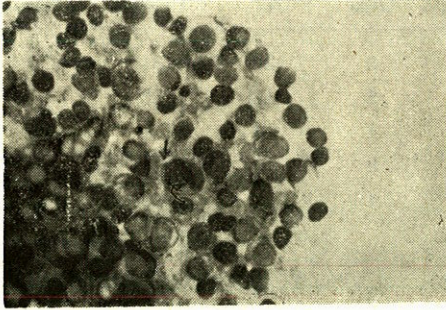
Sitolojik kriter	Çok miktarda	Orta	Az	Gözlenmeyen	
				Toplam	materyal
Mitoz	0	5	26	31	0
Intranükleer inklüzyon	6	2	15	23	8
Kümelene	0	1	3	4	25
Mülinükleasyon	9	6	16	31	0
Nükleol belirginliği	22	4	3	29	2
Baskın olan tümör hücre şekli					
Spindle hücre	6	4	3	13	18
Round hücre	8	7	16	31	0
Pleomorfik (poligonal)	19	5	2	26	5
Baskın olan tümör hücre büyüklüğü					
Küçük hücre				11	
Orta büyüklükte hücre				14	
Büyük hücre				6	
Yaymada melanin pigment varlığı	15	5	9	29	2
Tümöral hücrelerde baskın				17	
Makrofajlarda baskın olarak				10	
Zeminde serbest pigment				2	

Tablo 2'de malign melanomda değerlendirilen sitolojik kriterler ve bunların 31 vakaya göre dağılımı gözlenmektedir. Bu sitolojik kriterleri tek tek ele alacak olursak :

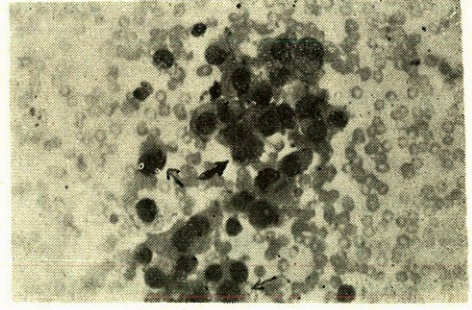
Malign melanomun sitolojik preparatlarında genel olarak dikkati çeken özelliklerin başta geleni anizositozistir. Hücrelerin küçük olanları 8-15 mikron arasında değişir, orta büyüklükte olanlar 15-30 mikron arasında olup büyük boyutlular 100 mikrona kadar büyüklükte

olabilir. Tablo 2 incelendiğinde yaymaların çoğunda orta büyüklükteki hücrelerin baskın olduğu görülür.

Hücre büyüklüğünden sonra gelen özellik hücrelerin şekilleridir. Hücreler görünümüne göre başlıca üç kategoriye ayrılabilir : iğsi şekilli (füziform), yuvarlak hücreli (round) ve pleomorfik (poligonal) tipler. Yaymalarda genel olarak bu hücre tiplerinden bir veya ikisi baskın olabilirse de arandığında tüm tiplere ait hücreler bulunabilir. Yuvarlak hücreli tipte üniform hücre karakteristikleri gözlenir (Resim 1 ve 2), ancak hücrelerin büyüklükleri vakadan vakaya değişebilir.



Resim 1 - Malign melanom, yuvarlak hücreli tip. Oldukça üniform görünümlü tümör hücrelerinde nisbeten dar bir sitoplazma seçiliyor. Ortada binükleer bir hücre görülüyor (ok) (May-Grünwald-Giemsa, 250x).



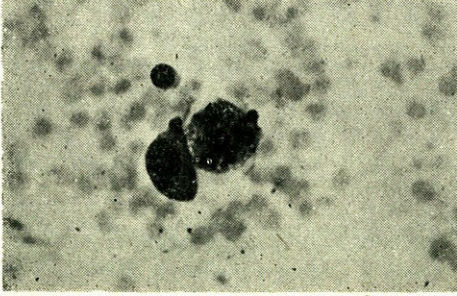
Resim 2 - Malign melanom, yuvarlak hücreli tip. Nükleuslarda belirgin nükleoller dikkati çekiyor (ince oklar). Sitoplazmada toz gibi pigment görülüyor (kalın ok) (May-Grünwald-Giemsa, 250x).

Pleomorfik görünümlü hücrelerin baskın olduğu durumlarda anizozitosis çok daha belirgindir. Geniş, soluk bir sitoplazma gözlenir, bunun içinde değişik büyüklükte olabilen oval veya yuvarlak nükleuslar vardır (Resim 3,4 ve 5). Sitoplazmada, miktarı azdan çoğa değişebilen ve görünümü ince, toz gibi zerrelere kadar değişik olabilen pigment varlığı saptanır; pigment bazen hücresel detayları örtecek düzeyde olabilir (Resim 2,3 ve 6).

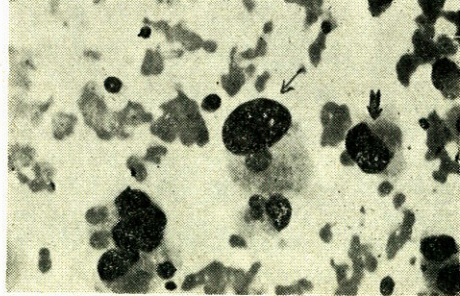
Füziform hücre tipini ele alacak olursak (Resim 7), hücreler nisbeten küçüktür. Tüm bu görünümlere karşın genel olarak nükleer yapılar birbirine benzer : genel olarak yuvarlaktır, düzgün bir nükleer membran bulunur. Belirgin nükleol çoğu vakada dikkati çeker. Kromatin yapısı ince granüler veya dantel benzeridir. Nükleusta en dikkat çekici özellik intranükleer inklüzyon (vakuol) bulunmasıdır ve

vakaların çoğunda izlenir (Resim 4 ve 5). Bu vakuol içinde eozinofilik bir madde bulunabilir.

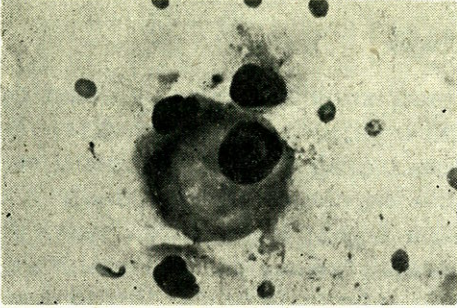
Malign melanom hücrelerinde kohezyonun az olması nedeniyle hücreler genellikle tek tek bulunur, ancak kümeler oluşturduğu da gözlenebilir (Resim 8).



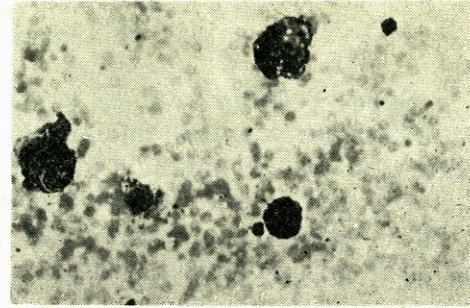
Resim 3 - Malign melanom, pleomorfik tip. Geniş sitoplazma içinde kaba granüller tarzında pigment varlığı görülüyor. Yanlarında bir lenfosit bulunuyor (May-Grünwald-Giemsa, 400x).



Resim 4 - Malign melanom, pleomorfik tip. Bir hücrede intranükleer inklüzyon görülüyor (ince ok). Kenarda binükleer bir hücre var (kalın ok) (May-Grünwald-Giemsa, 400x).



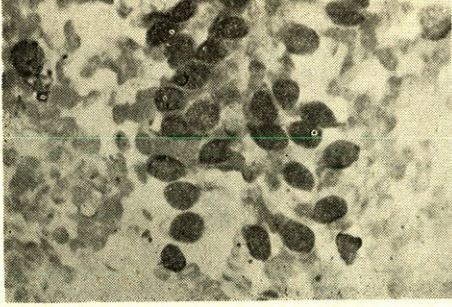
Resim 5 - Malign melanom, pleomorfik tip. Çok geniş sitoplazmalı hücrede keskin sınırlı intranükleer inklüzyon görülüyor, sitoplazmada pigment izlenmiyor (May-Grünwald-Giemsa, 400x).



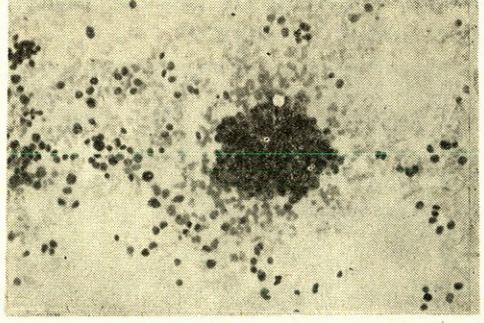
Resim 6 - Malign melanom. Hücrelerde aşırı pigment varlığına bağlı olarak hücresel detayların seçilemediği görülüyor (May-Grünwald-Giemsa, 250x).

Aspirasyon materyallerine verilen tanıları incelediğimizde bir lenf bezi aspirasyonuna medüller meme karsinomu metastazı denildiğini gördük. Ancak bu vakada yeniden gönderilen aspirasyon materyali ile ilk yaymaları dikkatle incelediğimizde intrasitoplazmik melanin pigmenti görülmektedir. Bu şekilde 22 aspirasyonda tümör tiplen-

dirme hatası % 4,5 bulunmaktadır. Öte yandan yaymaların tekrar gözden geçirilmesi sonucu hiçbir vakada false pozitif veya false negatif tanı verilmediği gözlenmektedir.



Resim 7 - Malign melanom, füziform tip. İğsi şekilli hücreler gevşek kümelenme oluşturuyor. Kenarda (ok) muhtemelen parçalanmış bir melanofaj sitoplazması içinde yer alan pigment izleniyor (May-Grünwald-Giemsa, 400x).



Resim 8 - Malign melanom. Seyrek olarak izlenen kümelenme yanısıra hücrelerin tek tek durduğu görülüyor (May-Grünwald-Giemsa, 100x).

TARTIŞMA

Şimdiye kadar malign melanomun sitolojik tanımlanması çeşitli yazarlarca, çeşitli materyallerde bildirilmiştir (1,4,6,9,13,14). Bu literatürler incelendiğinde tanının esas olarak melanin pigmenti varlığı ve/veya hastanın klinik öyküsüne dayandığı görülmektedir. Melanin pigmenti May-Grünwald-Giemse boyalı yaymalarda mavi/yeşil-siyah görünümündedir; hematoksileneozin boyasında (ve Papanicolau boyasında) kahverengi olarak görülmektedir (8,10,16). Pigment tümör hücrelerinde bulunabileceği gibi makrofajlarda (melanofajlarda) da fagosite edilmiş şekilde ve preparat zemininde serbest olarak da bulunabilir. Gene tüm bu görüldüğü yerlerde toz gibi, ince granüler veya daha sıklıkla olduğu gibi kaba granüller tarzında izlenebilir. Melaninin makrofajlarca yutulmuş hemosiderin pigmentinden ve cisimciklerden ayrılması gerekmektedir, bu genellikle kolayca yapılabilir. Hemosiderin pigmenti, May-Grünwald-Giemsa boyasında kahverenginin tonlarında izlenir ve daima ince, toz gibi görünümündedir. Ayrıca ayırımın daha iyi yapılabilmesi için Prusya mavisini boyasıyla demir araştırılabilir. Bunun dışında dekolorize edilen yaymalara Masson-Fontana boyası uygulanarak melanin araştırılabilir (9,10).

Vakalarımızın ikisinde olduğu gibi melanin pigmenti bulunmayan durumlarda (amelanotik form) tümör hücre morfolojisini tanımak önemlidir. Vakalarımızın birinde 10 sene önce malign melanom nedeniyle göz enükleasyonu öyküsü, diğerinde ise doku kesitleri tanıyı desteklemektedir. Yaymada hücrelerin tek tek dökülmesi ve ancak seyrek kümeler bulunması ilk dikkati çeken özellik olmalıdır; bu hem epitelyal hem mezankimal tümörlerin sitolojik görünümünü anımsatmaktadır (16). Hücreler çeşitli boyutlarda olabilir, yaymada bunların hepsi birarada görülebilmekle birlikte temel olarak bir grubun baskın olduğu izlenir. Yaymada dikkatli tarama sonucunda mitotik figürler hemen daima bulunur, ancak genel olarak az miktardadır.

Hücreler iğsi, yuvarlak veya poligonal olabilir, gene bu formlardan birisi yaymada baskın olarak izlenir. Yuvarlak hücreli olan vakalarda bazen büyük nukleuslar ve küresel bir sitoplazma bulunur. Daha büyük hücreli olanlardaysa sitoplazma geniştir, nukleus eksantrik yerleşimlidir. Belirgin nukleoller dikkat çekici olabilir. Hücrelerin genel görünümü gland epitelinin anımsatabilirse de herhangi bir dizilim örneği bulunmaz. Poligonal tipe ait yaymalarda binükleer ve multinükleer hücrelere daha sık rastlanır, belirgin nukleol bu hücrelerde de dikkat çekici olabilir. İğsi tipe ait olanlardaysa hücreler, yassı hücreli karsinomda görülen «fiber cell» kadar uzun değildir, görünümleri atipik fibroblastlara benzer. Burada hatırlanması gereken nokta, alkolde tesbit edilerek Papanicolau yöntemiyle boyanan yaymalarda hücrelerin genel olarak daha küçük boyutlarda olacağıdır.

Mülnükleasyon, vakalarımızın hemen hepsinde değişik miktarlarda gözlenmiştir. Yaymalar dikkatle taranırsa binükleer hücreler her zaman görülecektir, çift nukleuslar eksantrik yerleşimli olur ve sitoplazma açık eozinofiliktir. Öte yandan dev ve eozinofilik nukleoller mevcuttur. Nukleolleri böyle görülmeyen vakalarda bile nukleol orta büyütmeye görülebilecek niteliktedir.

Kriterlerden en önemlisi sayılan intranükleer inklüzyonlar sitoplazmik, organel içeren inklüzyonlardır (9). Bilindiği gibi bu tür inklüzyonlar benign ve malign karaciğer parankim hücreleri, böbrek tubulus epitelinde görülmesinin yanısıra papiller tiroid karsinomları başta olmak üzere malign lezyonlarda da görülür (8,10,16). Vakalarımızın yirmiüçünde bu tür inklüzyonlar, değişik derecelerde olmak üzere saptanmıştır. Bazı yazarlar pigment ile inklüzyonun birlikte olmadığını söyler (16). Ancak bu iki özelliği taşıyan hücreler aynı yay-

mada bulunabilir, fakat hücreler tümörün farklı kısımlarından dökülür, nitekim vakalarımızın dokusu bulunan üçünden bu özellik saptanabilmiştir.

Hiç melanin bulunmayan vakalarda yaymalar mültipl myelom, az diferansiye adenokarsinom, akciğerin dev hücreli karsinomu, pleomorfik rabdoyosarkoma vs. ye benzeyebilir. Ancak malign melanom hücrelerinde herhangi bir dizilim örneğinin bulunmaması, belirgin nukleol izlenmesi ve intranükleer inklüzyonların bulunması malign melanomu düşündürür (6,16). Öte yandan binükleer formların bulunuşu ve belirgin nukleoller Reed-Sternberg hücrelerini anımsatabilir, ancak diğer hücreler ve zemin elemanları böyle bir karışıklığı engeller. Bizim bir vakamızda lenf bezinde gözlenen metastatik tümör hücrelerine medüller meme karsinomu tanısı verilmişti. Burada belirgin nukleol olması, hücrelerin tek tek düşmesi bu hataya yol açmıştır, ancak tekrarlanan aspirasyonda az miktarda hücrede pigment bulunması doğru tanıya götürmüştür. İlk yaymada seyrek inklüzyon bulunuşu dikkate alınmalıydı.

Seride dikkat çekici bir özellik beş vakanın karaciğer aspiratlarında tanınmış olmasıdır. Bilindiği gibi malign melanom vücutta her yere metastaz yapabilir (II). Hepatosellüler karsinomda da intranükleer inklüzyonların bulunuşu ve gene sitoplazmada safra pigmentinin bulunuşu bir karışıklığa yol açabilir (5). Fakat hepatosellüler karsinomda nukleusun daha santral yerleşimi, sitoplazmanın boyanma özellikleri, hücrelerin trabeküler dizilim örneği göstermesi ve safra pigmentinin daha açık boyanması yardımcı olacaktır. Tümör böbreklere de metastaz yapabilir ve idrar sedimentinde tümör hücreleri gözlenebilir (14). Ancak burada hatırlanması gereken bir özellik, tümör bulunmadan da tubulus epitellerinde melanin pigmenti gözlenebileceğidir.

İnce iğne aspirasyon biyopsisi ile intraoküler malign melanomaların da tanınabileceği bildirilmektedir (3,6,13). Gerek ön kamara sıvısından, gerekse tümörden direkt aspirasyon yapılarak preoperatif kesin tanı verilebilmektedir. Malign melanom klinikte metastatik karsinom, spindle cell nevus, koroidal hemanjiom ve subretinal kanama ile karışabilir.

Malign melanomda sitolojik incelemenin diğer bir yönünü imprint preparatları teşkil eder. Biyopsi ve ameliyat materyallerinden hazırlanan imprint materyali özellikle frozen section'da önemli bir yere sahiptir (15). Ancak regresyon gösteren vakalarda lama az hüc-

re düşebileceği ve tanının güçleşebileceği gözden uzak tutulmamalıdır. Ayrıca vajinal yaymalar, fırçalama örnekleri ve BOS incelenmesinde de metastatik veya primer malign melanomun tanınabilmesi mümkündür (2,4,8.)

Böylece sitolojik inceleme yöntemleriyle basit ve kolay bir şekilde primer lezyon tanısı konularak lezyonun biyopsi yapılmadan tek bir seferde geniş olarak rezeksiyonu mümkündür (10). Ayrıca primer odak bilinmeyen vakalarda da ilkin metastazın saptanarak tanıya varılması söz konusudur. Bunun yanında kemoterapi uygulanan hastalarda klinik gidişin takibi, sitolojik inceleme ile kolay bir şekilde gerçekleştirilebilir.

ÖZET

Bu çalışmada altı yıllık bir süre içinde gözlenen malign melanom vakalarına ait sitolojik preparatlar değerlendirilmiştir. Yirmi üç hastadan toplam 31 adet yayma preparat elde edilmiştir, 22 aspirasyon ve 9 imprint materyali bulunmaktadır. Vakaların onbeşi erkek, sekizi kadındır. Sitolojik materyaller lenf bezi, yumuşak doku, göz, karaciğer ve özofagustaki lezyonlardan hazırlanmıştır. Aspirasyon yapılan vakaların üçünde doku kesitleri de incelenebilmiş, ikisinde ise çıkarılmış malign melanom öyküsü alınmıştır. İki vakanın yaymalarında hiç pigment saptanmamıştır. Bulgularımıza dayanarak malign melanomda sitolojik kriterler tesbit edilmeye çalışılmıştır. Amelanotik vakalarda intranükleer inklüzyon mevcudiyeti önemli bir kriterdir. İnce iğne aspirasyonu yoluyla sitolojik incelemenin malign melanomlu hastaların takibinde ve primeri bilinmeyen lezyonlarda tanı koymada faydalı bir yöntem olduğu düşünülmektedir.

SUMMARY

Cytologic Features of Malignant Melanoma

In this study we evaluated smears of malignant melanoma cases observed during six years. Total 31 cytologic specimens were obtained from 23 patients. There were 22 aspirates and 9 touch preparations (imprints). Of these cases 15 were male and 8 female. Biopsy sites from 23 cases of malignant melanoma included lymph node, soft tissues, eye, liver, and esophagus. There were also histologic slides of 3 cases among the aspirations, and a history of formerly resected malignant melanoma in 2 cases. No pigment was observed in 2 cases.

Based on our findings, we attempt to delineate the cytologic features of malignant melanoma. In amelanotic cases presence of intranuclear inclusions is a helpful feature. It has been thought that fine-needle aspiration biopsy technique is useful in the follow-up of malignant melanoma and in the primary diagnosis of metastatic cases.

LİTERATÜR

1. Aldovini D, Detassis C, Pisciole F : Primary malignant melanoma of the esophagus. Brush cytology and histogenesis. *Acta Cytol*; 27 : 65-68, 1983.
2. Broderick PA, Allegra SR, Corvese N : Primary malignant melanoma of the esophagus : A case report. *Acta Cytol*; 16 : 159-164, 1972.
3. Czerniak B, Woyke S et al : Fine needle aspiration cytology of intraocular malignant melanoma. *Acta Cytol*; 27 : 157-165, 1983.
4. Ehrmann RL, Younge PA, Lerch VL : The exfoliative cytology and histogenesis of an early primary malignant melanoma of the vagina. *Acta Cytol*; 6 : 245-254, 1962.
5. Ekinci C, Mızrak B Dökmeci : Karaciğer lezyonlarında ince iğne aspirasyon biyopsisinin değeri. *AÜTF Mecmuası*; 3 : 252-264, 1986.
6. Folberg R, Augsburg JJ et al : Fine-needle aspirates of uveal melanomas and prognosis. *Am J Ophthalmol*; 100 : 654-657, 1985.
7. Friedman M, Forgiene H et al : Needle aspiration of metastatic melanoma. *Acta Cytol*; 24 : 7-15, 1980.
8. Hajdu SI, Savino A : Cytologic diagnosis of malignant melanoma. *Acta Cytol*; 17 : 320-327, 1973.
9. Kapila K, Chopra P et al : Cytologic diagnosis of amelanotic melanoma. *Acta Cytol*; 29 : 498-499, 1985.
10. Kline TS, Kannan V : Aspiration biopsy cytology and melanoma. *Am J Clin Pathol*; 77 : 597-601, 1982.
11. Lever WF : Malignant melanoma. In the *Histopathology of the skin*. pp. 706-718. 6th edition. JB Lippincott Co. 1983.
12. Linthicum CM : Primary malignant melanoma of the vagina. A case report. *Acta Cytol*; 15 : 179-181, 1971.
13. Naib ZM : Cytology of ocular lesions. *Acta Cytol*; 16 : 178-185, 1972.
14. Piva AE, Koss LG : Cytologic diagnosis of metastatic malignant melanoma in urinary sediment. *Acta Cytol*; 8 : 398-402, 1964.
15. Shafir R, Hiss J et al : Imprint cytology in the intraoperative diagnosis of malignant melanoma. *Acta Cytol*; 27 : 255-257, 1983.
16. Yamada T, Itou U et al : Cytologic diagnosis of malignant melanoma. *Acta Cytol*; 16 : 70-76, 1972.