

Metastatik Malign Melanomlu Hastalarda TNF- ve Eritropoeitin Prognostik Faktör Olarak Değerli mi?

ARE TNF- AND ERYTHROPOIETIN VALUABLE PROGNOSTIC FACTORS IN METASTATIC MELANOMA?

* Tıbbi Biyolog, Hilal Oğuz, ** Dr. Hakan Çamlıca, *** Dr. Derya Duranyıldız, **** Dr. Faruk Taş,
* Dr. Vildan Yasasever,

* İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü Temel Onkoloji ABD, Kanser Biyokimyası Bilim Dalı, ** İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü Prevanatif Onkoloji ABD, *** İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü Temel Onkoloji ABD, **** İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü Klinik Onkoloji ABD, ***** İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü Müdürü

ÖZET

Malign melanom son yıllarda sıklığı gittikçe artan ve prognozu kötü tümörlerden biridir. Hızla metastaz yapar ve yaşam süresi kısadır. Metastazlı olgularda ortalama sağkalım yaklaşık yedi aydır ve beş yıllık sağkalım sadece %5 civarındadır. Çalışmamızda metastatik malign melanomda prognostik faktör olduğu düşünülen TNF- ve eritropoeitin (EPO) serum düzeyleri 16 metastatik melanomlu hastada ELISA yöntemi ile belirlenmiş, 20 kişilik sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Veriler istatistiksel olarak Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir. TNF- testinde, kontrol grubu ile hastalar arasında anlamlı fark bulunamamıştır ($p=0,741$). EPO düzeyleri kontrol grubunda düşük iken hasta grubunda yüksektir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0,033$). EPO düzeyleri hemogloblin düzeyi ile ilişkilidir. Araştırılan TNF- ve EPO parametreleri elde edilen sonuçlara göre prognostik faktör olarak değer taşımamaktadır.

Anahtar kelimeler: metastatik malign melanom, TNF- , eritropoeitin,

SUMMARY

The incidence of malignant melanoma has increased in recent years and its prognosis is poor. Metastasis of melanoma is fast and the survey is short. The median survival is approximately 7 months and only 5% of patients will be alive 5 years after diagnosis. In our study the serum levels of TNF- and erythropoietin were investigated in 16 metastatic malignant melanoma patients and 20 healthy controls. Statistical significance was determined by Mann-Whitney U test. The serum levels of TNF- between the patients and healthy controls were not significantly different ($p=0,741$). Statistically, the serum levels of EPO were significantly higher in patients than the healthy controls ($p=0,033$). When the findings are investigated, TNF- and EPO levels are not valuable prognostic factors in malignant melanoma.

Key words: metastatic malignant melanoma, TNF- , erythropoietin

GİRİŞ

Malign melanom son yıllarda sıklığı gittikçe artan tümörlerden biridir. Hızla metastaz yapar ve metastazlı olguların yaşam süresi kısadır. Metastaz yapmış malign melanom hastalarının prognozları oldukça kötüdür. Ortalama sağkalımları yaklaşık yedi aydır ve beş yıllık sağkalım sadece %5 civarındadır⁽¹⁾. Mevcut tedavi modaliteleri hastaların ancak çok azında etkilidir.⁽²⁾

Şimdiye kadar metastatik malign melanomun kötü prognozuyla ilişkili olduğu düşünülen pek çok faktörle ilgili çalışmalar yapılmıştır⁽²⁻⁶⁾. Çalışmamızda da metastatik malign melanomda prognostik faktör olduğu düşünülen Tümör Nekrozis Faktör - (TNF-) ve Eritropoeitin (EPO) düzeyleri araştırılmış ve değişiklikleri belirlenmeye çalışılmıştır.

TNF- , makrofaj, monosit, lenfosit, keratinosit, endotel hücreleri gibi pek çok kaynağı olan, 233

Tablo 1. Metastatik malign melanomlu hastalar ile kontrol grubuna ait TNF- ve EPO düzeyleri.

	TNF- (mIU/mL) x ± sd;m	EPO (mIU/mL) x ± sd;m
Malign Melanom (n=16)	66,6±12,7; 64,95	66,6±71,4; 31,85
Kontrol (n=20)	68,2±13,2; 64,25	27,1±4,8; 25,25
p değeri	=0,741	=0,033

aminoasitten oluşan 26 kDa ağırlığında bir transmembran proteinidir⁽⁷⁾. Bu molekül, enflamasyon ve apoptozis de önemli rol oynamasının dışında tümörün progresyonunda da görevlidir⁽⁷⁻¹¹⁾. Birçok araştırmada metastatik malign melanomlu hastalarda TNF- düzeyinin anlamlı olarak yüksek bulunduğu gösterilmiştir^(12,13).

EPO, 165 aminoasitten oluşan, özellikle böbreklerde sentezlenen, kemik iliğindeki eritrosit öncü hücrelerinin yaşaması ve büyümesi için gerekli glikoprotein yapılı bir hormondur^(14,15). Bu hormon, hipoksi veya kanama ile kan kaybı durumlarında hemoglobin sentezini artırır, eritropoezi ve eritrositlerin kana geçişini hızlandırır. Kanser, AIDS ve romatoid artrit gibi kronik hastalıklarda serum EPO düzeylerinin azaldığı bildirilmektedir⁽¹⁶⁾. EPO'nun solid tümörlü hastalardaki anemideki yerini göstermek amacıyla yapılan bir çalışmada ise anemik kanser hastalarında EPO salınımının artmış olduğu da belirtilmiştir⁽¹⁷⁾.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamız Ocak 2003-Ocak 2004 tarihleri arasında İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü'ne başvurmuş 16 metastatik malign melanomlu hasta ve 20 kişilik sağlıklı kontrol grubu ile yapılmıştır. 10 tanesi erkek, 6 tanesi kadın olan hastaların yaş ortalaması 51 (27-72)'dir. Hastaların tanıları patolojik olarak konmuş ve AJCC 2002 sınıflandırma sistemine dayalı olarak evrelemeleri yapılmıştır. Buna göre hastaların 2 tanesi M1A evresinde iken 14 tanesi ise M1C evresindedir. 2 hastanın lokal, 3 hastanın akciğer ve 11 hastanın diğer organlarında metastazı vardır. 6 hastada tek metastaz varken 10 hastada multipl metastaz gözlenmiştir. Hastaların 11'inde hemoglobin (Hb) düzeyleri normaldir.

Hastalardan, tedavi öncesi alınan kanlardan ayrılan serumlar, gerekli test sayısı tamamlanınca kadar -20°C'de saklanmıştır.

TNF- ve EPO düzeyleri çift antikor sandöviç enzim immünassay tekniği ile (R&D Systems, Inc.Minneapolis, USA) çalışılmıştır. Standartlar, hasta ve kontrol grubuna ait örnekler, monoklonal antikor kaplı kuyucuklarda konjugat eklenerek inkübasyona bırakılmıştır. Yıkama ile bağlanmayan antijenin ortamdaki uzaklaştırılmasından sonra bağlanan antikordan farklı olan enzim işaretli ikinci antikor ilave edilmiştir. Yıkama işleminden sonra enzimin substratı eklenerek oluşturulan renk reaksiyonu durdurma solüsyonu ilavesiyle sona erdirilip uygun dalga boyunda (SLT Labinstruments, Austria) absorpsiyon okunmuştur. Değerleri bilinen standartlar kullanılarak çizilen standart eğriden her bir örneğe ait TNF- ve EPO değerleri kantitatif olarak belirlenmiştir.

Veriler istatistiksel olarak Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Tablo 1'e göre kontrol grubunun TNF- ortalama değeri ile hasta grubunun TNF- ortalama değeri arasında fark bulunmadığı için istatistiksel olarak anlamlılık da bulunmamıştır (p= 0,741).

EPO düzeyleri kontrol grubunda düşük iken hasta grubunda yüksektir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır (p= 0,033).

Çalışmada serum TNF- ve EPO düzeylerinden sadece EPO'nun hemoglobin ile ilişkili olduğu bulunmuştur (p=0,001).

TNF- ve EPO düzeyleri ile yaş, cinsiyet, hastalığın evresi, metastaz yeri ve sayısı gibi parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır.

Buna karşılık sağkalım üzerinde prognostik faktör olarak hastaların performansı (p=0,008), kilo kaybı (p=0,0004) ve kemoterapiye cevap (p= 0,013) arasında istatistiksel anlamlılık gözlenmiştir.

TARTIŞMA

Çalışmada kilo kaybı, düşük hemoglobin düzeyi ve kemoterapiye cevabın durumu metastatik malign melanomlu hastalarda sağkalımı etkileyen prognostik faktörler olarak bulunurken, hasta sayısının az olması nedeniyle metastazların yeri ve metastaz sayıları prognostik faktör olarak belirlenememiştir. Hasta sayısı artırılarak yapılacak olan bir çalışmada bu iki parametrenin de prognostik açıdan önemli olacağı düşünülmektedir.

Kettelhack ve arkadaşları⁽¹⁷⁾ solid tümörlü hasta-

larda sıklıkla anemi gelişmesini incelemişler ve serum EPO düzeylerinin arttığını gözlemişlerdir. EPO'nun sekresyonunun veya ekspresyonunun solid tümörlerde artış nedeni tam anlamıyla açıklığa kavuşturulamamıştır. EPO'nun esas fonksiyonu olan eritropoezi uyarmanın dışında bazı başka rolleri olduğu da bildirilmiş. EPO'nun malign tümörün büyümesi ve yaşaması için gerekli olduğu, EPO sinyalinin baskılanmasının umut verici bir tedavi olabileceği düşünülmektedir⁽¹⁸⁾. Selzer ve arkadaşları⁽¹⁹⁾ EPO reseptörünün malign melanom için progresyon belirleyicisi olabileceğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada da metastatik malign melanom hastalarında EPO düzeylerinin kontrol grubuna göre artmış olduğu ve literatürle benzer şekilde hemoglobin miktarı ile ters orantılı olduğu gösterilmiştir. Çalışmada da hasta grubunun EPO düzeyi, kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır. Bu sonuç, metastatik malign melanomlu hastalarda anemi belirlenmesiyle doğru orantılıdır.

Çalışmamızda serum TNF- α düzeylerinin hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel fark bulunmamıştır. Cubillos ve arkadaşlarının⁽¹³⁾ melanoma hücre dizileriyle yaptıkları deneysel fare çalışmasında TNF'in lipoprotein sakkarit enjeksiyonundan sonra serum düzeyinin düştüğünü ve akciğer metastazlarının 7-14 gün içinde azaldığını gözlemişlerdir. Bu çalışmanın sonucuna göre TNF aktivitesinin baskılanmasıyla metastaz sayısının azalabileceği görüşüne varmışlardır. Bu çalışma deneysel bir çalışmadır ve insanlara uyumluluğu ancak %15-20 arasında olabilir. Bu yüzden TNF- α aktivitesinin lipoprotein sakkaritle veya bu molekülü içeren başka bir madde ile baskılanabileceğini gösteren çok insan araştırması vardır. Çalışmamızda da kemoterapi alan hastalarda TNF- α düzeyinin baskılanmadığını düşünmekteyiz.

Fakat hastaların kilo kaybı ve performansı ile TNF- α aktivitesi arasında ilişki bulunması ise TNF- α 'nın tümör progresyonunda yeri olduğunu düşündürmektedir.

Ocvirk ve arkadaşları 68 metastatik malign melanomalı hastada TNF- α düzeylerini incelemişler ve 69 kişilik kontrol grubuna oranla daha düşük bulmuşlardır. Çalışmamızda hasta grubunun TNF- α aritmetik ortalama değeri 66,6 mIU/mL, kontrol grubunun değeri 68,2 mIU/mL bulunmasına rağmen hasta sayısının az olmasından dolayı istatistiksel anlamlılık bulunmamıştır. Hasta sayısı artırılarak yapılacak çalışmanın literatürle uyumlu olacağı kabul edilmektedir.

Araştırılan TNF- α ve EPO parametreleri elde edilen sonuçlara göre prognostik faktör olarak değer taşımamaktadır.

KAYNAKLAR

1. Balch CM, Reintgen DS, Kirkwood JM, et al. Cutaneous melanoma. In: DeVita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA, eds. Cancer: Principles and practice of oncology, 5th ed. 1997, Philadelphia, Lippincott Raven.
2. Manola J, Atkins M, Ibrahim J, Kirkwood J. Prognostic factors in metastatic melanoma: a pooled analysis of Eastern Cooperative Oncology Group Trials. J Clin Oncol 2000; 18:3782-3793.
3. Presant CA, Bartolucci AA. Prognostic factors in metastatic malignant melanoma: the Southeastern Cancer Study Group experience. Cancer 1982; 49:2192-2196.
4. Ryan L, Kramar A, Borden E. Prognostic factors in metastatic melanoma. Cancer 1993; 71:2995-3005.
5. Falkson CI, Falkson HC. Prognostic factors in metastatic malignant melanoma. Oncology 1998; 55:59-64.
6. Eton O, Legha SS, Moon TE, Buzaid AC, et al. Prognostic factors for survival of patients treated systemically for disseminated melanoma. J Clin Oncol 1998; 16:1103-1111.
7. MacEwan, DJ. Brit J Pharmacol 2002; 135:855.
8. Kwon, B. et al. Curr Opin Immunol 1999; 11:340.
9. Idriss, H.T. and J.H. Naismith. Microsc Res Tech 2000; 50:184.
10. Sedgwick, J.D. et al. Immunol. Today 2000; 21:110.
11. Szlosarek PW, Balkwill FR. Tumour necrosis factor alpha: a potential target for the therapy of solid tumours. Lancet Oncol 2003; 4:565,573.
12. Ocvirk J, Stabic B, Rudolf Z, Galvani V, Curin- Serbec V. Serum values of tumour necrosis factor -alpha and of soluble tumour necrosis factor-R55 in melanoma patients. Melanoma Res 2000; 10:253-258.
13. Cubillos S, scallon B, Feldmann M, Taylor P. Effect of blocking TNF on IL-6 levels and metastases in a B16-BL6 melanoma/mouse model. Anticancer Res 1997; 17:2207-2211.
14. Jelkmann W. Biology of erythropoietin. Clin Investig. 1994; 72(6 Suppl):S3-10.
15. Indiveri F, Murdaca G. Immunogenicity of erythropoietin and other growth factors. Rev Clin Exp Hematol. 2002; Suppl 1:7-11.
16. Leng HM, Albrecht CF, Kidson SH, Folb PI. Erythropoietin production in anemia associated with experimental cancer. Exp Hematol. 1999 May; 27(5):806-10.
17. Kettelhack C, Schoter D, Matthias D, Schlag PM. Serum erythropoietin levels in patients with solid tumours. Eur J Cancer. 1994; 30A(9):1289-91.
18. Yasuda Y, Fujita Y, Matsuo T, Koinuma S, Hara S, Tazaki A, Onozaki M, Hashimoto M, Musha T, Ogawa K, Fujita H, Nakamura Y, Shiozaki H, Utsumi H. Erythropoietin regulates tumour growth of human malignancies. Carcinogenesis. 2003, 24:1021-1029.
19. Selzer E, Wacheck V, Kodym R, Schlagbauer-Wadl H, Schlegel W, Pehamberger H, Jansen B. Erythropoietin receptor expression in human melanoma cells. Melanoma Res. 2000; 10:421-426