

INVESTIGAREA VALORILOR SERICE
ALE SCF ÎN MELANOMUL MALIGN
SEROLOGICAL VALUES OF SCF INVESTIGATION
IN MALIGNANT MELANOMA

M. ALECU^{*,***}, GABRIELA COMAN^{*}, MARIA ILINCA^{**}, L. GELERIU^{***}, IONICA RĂDULESCU^{****},
ALINA MUȘETESCU^{*}

Rezumat

Stem cell factor (SCF, steel factor) este o citokină care influențează proliferarea, diferențierea și migrarea celulară prin cuplarea cu receptorul său specific c-kit, exprimat pe mai multe tipuri de celule inclusiv pe melanocite.

În melanomul malign SCF/c-kit favorizează proliferarea tumorală, menține melanocitele în condiții de diferențiere, fără să inducă apoptoza, favorizează metastazarea.

În studiul nostru am investigat prin ELISA valorile serologice ale SCF la 20 pacienți cu melanom malign, dintre care 12 cu melanom primar, cutanat și 8 cu melanom malign metastatic. În primul lot rezultatele au fost următoarele: un pacient cu valori crescute (1600pg/ml), 7 pacienți cu valori normale, 4 pacienți cu valori scăzute (450pg/ml, 500, 150, 580pg/ml)

În lotul al doilea rezultatele au fost următoarele: 6 cazuri cu valori scăzute (420, 510, 500, 480, 510, 520) și 2 cazuri cu valori normale. Rezultatele indică o scădere a valorilor serice ale SCF cel mai probabil prin consum crescut la nivel tumoral. Importanța SCF și a receptorului c-kit în proliferarea tumorală face ca aceste complexe să constituie o țintă terapeutică pentru blocarea proliferării tumorale melanocitare.

Cuvinte cheie: SCF(CD117), c-kit, melanom.

Summary

Stem cell factor (SCF, steel factor, CD117) is a cytokine that influences proliferation, differentiation and migration of cells by coupling with its specific receptor c-kit, expressed on different types of cells, including melanocytes.

In malignant melanoma, SCF promotes tumoral proliferation, maintain melanocytes in differentiated stage without producing apoptosis and promotes metastasis.

In our study we have investigated by ELISA, the serological values of SCF in 20 patients with malignant melanoma, 12 with primary melanoma and 8 with metastatic melanoma. First lot results were as follows: 1 patient with elicited value (1600 pg/ml), 7 patients with normal values, 4 patients with decreased values (450pg/ml, 500 pg/ml, 150 pg/ml, 580 pg/ml).

In the second lot, results were as follows : 6 cases with decreased values (420 pg/ml, 510, 500, 480, 510, 520 pg/ml) and 2 cases with normal values. Results indicate a decrease of the serological values of SCF most likely by consumption at the tumoral level.

The importance of SCF and c-kit receptor in tumoral proliferation, makes these complexes a therapeutic target for melanocyte tumoral proliferation blocking.

Key words: SCF (CD117), c-kit, melanoma.

DermatoVenerol. (Buc.), 56: 243-253

* Spitalul de Dermatologie Prof. Dr. Scarlat Longhin, București.

** Academia Tehnică Militară.

*** Spitalul Clinic Județean Sibiu.

**** Universitatea Titu Maiorescu, Facultatea de Medicină.

Citokinele sunt proteine cu moleculă mică ce modulează activitatea celulei țintă prin modificări la nivelul ARN celular și a sintezei proteice. Celulele țintă sunt celule diverse cu funcții imune sau neimune care exprimă în anumite condiții receptori specifici pentru numeroase tipuri de citokine.

Cuplarea unei citokine cu receptorul său specific, de obicei o proteină transmembranală a celulei țintă, este urmată de apariția unui semnal de transducție care influențează principalele procese celulare: creșterea, diferențierea, diviziunea, apoptoza și chiar secreția de alte citokine. Din acest motiv se spune că acțiunea citokinelor este în cascadă. Este important faptul că o citokină poate induce un anumit efect pe o celulă țintă a cărei intensitate depinde de mediul celulei respective, de contextul funcțional al celulei respective și chiar de acțiunea altor citokine asupra celulei respective. Multe citokine au pe suprafața celulei țintă, receptori de mare sau mai mică afinitate prin care se modulează intensitatea răspunsului. Numeroase tipuri celulare sunt surse de citokine, inclusiv melanocitele sau keratinocitele iar ținta acestor citokine poate fi reprezentată de numeroase și diverse celule situate în apropierea celulei țintă sau la distanță.

Studiul citokinelor și al răspunsului celulelor țintă la acțiunea acestora în condiții fiziologice a dus la o mai bună înțelegere a proceselor celulare normale și patologice inclusiv a proliferării tumorale. Astfel numeroase citokine au fost utilizate cu ținte terapeutice pentru limitarea sau modularea efectelor lor în diverse procese.

Stem cell factor (SCF/steel factor, C-kit ligand, factor de creștere al mastocitelor, CD117) este o citokină care promovează proliferarea, diferențierea și supraviețuirea a numeroase tipuri de celule care exprimă pe suprafața lor receptorul c-kit. Astfel, o serie de celule cum ar fi celulele stem, celulele hematopoietice progenitorii și mature, melanocitele și celulele interstițiale Cajal sunt puternic influențate de această citokină. SCF și c-kit au o acțiune importantă și asupra celulelor cu proprietăți migratorii atât în viața adultă cât și în cea embrionară [1,2].

Ca structură chimică, SCF este un dimer, legat necovalent, glicozilat, cu 141 resturi de aminoacizi și 18,5 Kdal. Este produsă de celulele

Cytokines are small molecule proteins that modulate target cell activity by cell RNA and protein synthesis changes. Target cells are different types of cells with immune or non-immune functions expressing specific cell-surface receptors for various types of cytokines in certain conditions.

The cytokine binding with its specific receptor, usually a trans membrane target cell protein is followed by a transduction signal that influences main cell processes like growth, differentiation, division, apoptosis and even other cytokine release. Subsequent cascades of intracellular signaling alter cell functions by up or down regulation of several genes and their transcription factors. It is important that the effect of a particular cytokine on a target cell depend on the cell environment, its functional context the presence and abundance of complementary receptor on the cell surface, and other cytokines actions on the given cell. The intensity of the response may be modulated by the affinity of the cell surface receptors. Several cell types are cytokine releasing, including melanocytes or keratinocytes and diverse nearby or distant cell types represent the target of these cytokines.

The study of cytokines, target cells response of their action in physiological conditions, leads to a better normal and pathological cell processes understanding including tumoral proliferation. Thus, many cytokines were used like therapeutic targets in limiting or modulating their effects in different processes.

SCF (steel factor, c-kit ligand CD117, mast cell growth factor) is a cytokine that promotes proliferation, differentiation, and surviving of different types of cells expressing c-kit receptor on their membrane. Therefore, cells as stem cells, hematopoietic mature and progenitor cells melanocytes, and interstitial cells of Cajal are strongly influenced by this cytokine. SCF and c-kit have an important action on cells with migration properties both in adult life and in embryos [1,2].

SCF is a glycosylated, non-covalent dimer with 141 amino acids residues and 18,5Kdal. Bone marrow stromal cells, fibroblasts,

stromei medulare, fibroblaste, celule endoteliale, celule ale sistemului nervos, mastocite și keratinocite [1,2].

Se consideră că principala acțiune a SCF se exercită asupra celulelor stem, a celulelor progenitoare din măduva hematogenă și a melanocitelor. Astfel SCF promovează supraviețuirea celulelor stem, intrarea acestora, în ciclul celular, migrarea acestora. Promovează hematopoieza, acționând asupra limfocitelor T, determină formarea celulelor NK, crește numărul de celule prezentatoare de antigen. De asemenea SCF promovează proliferarea și invazia celulelor tumorale și este implicat în asigurarea microambientului tumoral [3].

SCF se găsește atât sub formă transmembranală cât și sub formă solubilă, ambele forme fiind fiziologic active.

Efectul SCF se realizează prin cuplarea cu receptorul său specific, c-kit respectiv receptorul pentru activarea tirozin kinazelor, enzime implicate în creșterea și diferențierea a numeroase tipuri de celule, inclusiv melanocitele. Dereglările (mutațiile genetice) de la nivelul c-kit au un rol important în proliferarea tumorală a melanocitelor, a cancerelor intestinale, pulmonare, neuroblastomelor, fără însă a se cunoaște exact rolul c-kit în tumorile solide [1,2,4].

În studiul nostru am investigat prezența formei solubile de SCF în serul pacienților cu melanom malign atât în formele cu tumoră primară cât și în faza de metastazare. Investigația SCF a fost asociată cu investigarea IL-10, o citokină care are o acțiune extrem de diversă, respectiv inhibă secreția de citokine, dar în culturi melanocitare stimulează proliferarea acestora. De asemenea reglează negativ expresia de ICAM (proteină de adeziune celulară) favorizând metastazarea.

Pacienți și investigații

Au fost investigați 20 de pacienți cu diagnosticul de melanom malign, cu vârsta cuprinsă între 35 și 61 de ani, dintre care 8 femei și 12 bărbați.

Pacienții au fost împărțiți în două loturi în funcție de forma clinică a melanomului malign. Lotul A a cuprins 12 pacienți cu diagnosticul de melanom malign, tumoră primară unică, cu

endothelial cells, neurons, mast cells, and keratinocytes produce it [1,2].

It is considered that the main action of SCF is exerted on stem cells, hematopoietic progenitor cells, and melanocytes. Thus, SCF promotes survival of stem cells, their cell cycle entrance, and their migration. It promotes hematopoiesis by acting on T lymphocytes, NK cell formation results, elicits the number of antigen presenting cells. In addition, SCF promotes proliferation and tumoral cells invasion being involved in tumoral microenvironment ensuring [3].

SCF may be found as transmembrane or as soluble form, both being biologically active.

The effect of SCF is achieved by its specific receptor coupling, c-kit, that is a tyrosine kinase activator, enzymes involved in growth and differentiation of many cell types, including melanocytes. Disorders of the c-kit (mutations) play an important role in tumoral proliferation of melanocytes, gut cancers, lung cancers, neuroblastomas without knowing exactly its role in solid tumors [1,2,4].

In our study, we have investigated the SCF soluble form presence in peripheral blood of the melanoma patients in primary tumor form or metastasis phase. SCF investigation was associated with IL-10 determination, a pleiotropic action cytokine that inhibits cytokine release but in melanocyte cultures is stimulating their proliferation. In addition, it down regulate ICAM expression (Adhesion molecule protein) favoring metastasis.

Patients and methods

Twenty patients with malignant melanoma diagnosis were investigated, aged between 35 and 61, 12 males and 8 women.

Patients were divided into two lots by their clinical form of malignant melanoma. Lot A included a total of 12 patients with malignant melanoma, unique tumor, strictly cutaneous localization.

The diagnosis was established clinically, histological, and imagistic. The TNM staging was: 2 cases in T1a (Clark III, Brelow < 1, without ulceration (3 cases in T2b *Clark IV, Breslow 1,01-2mm/ ulceration present).

localizare strict cutanată. Diagnosticul a fost stabilit clinic, histologic, imunohistologic și imagistic. Încadrarea în stadializarea TNM este următoarea : două cazuri încadrate în T1a (nivel Clark III, Breslow ≤ 1 , fără ulceratie), trei cazuri în T2b (Clark IV, Breslow 1,01-2mm/ ulceratie prezentă) și 5 cazuri în T3b (Clark IV, Breslow 2-4 mm/ ulceratie prezentă).

Lotul B a cuprins un număr de 8 pacienți cu diagnosticul de melanom malign cu metastaze cerebrale și la nivelul organelor interne.* În cazul acestor pacienți s-a procedat la excizia tumorii primare și a adenopatiei satelit/santinelă, au urmat terapie adjuvantă și după un interval de 4,8 luni(interval mediu pentru cei 8 pacienți) s-au depistat metastaze cerebrale (6 cazuri) și pulmonare (2 cazuri) Acești pacienți s-au încadrat în stadiul T1N1M1b. Diagnosticul a fost confirmat prin examen clinic, histologic, imunohistologic și imagistic atât la debut cât și în depistarea metastazelor.

Investigațiile efectuate au cuprins investigațiile uzuale pentru stabilirea diagnosticului de melanom malign primar sau metastatic, investigații imunologice pentru evidențierea statusului imun și investigații pentru afecțiunile intercurrente corespunzătoare vârstei.

S-au determinat în serul pacienților investigații următoarele citokine:

- SCF, forma serică prin metoda ELISA, valori de referință: 550-1450pg/ml
- IL-10 metoda ELISA, valori de referință: 2-24 pg/ml
- IL-6 metoda ELISA, valori de referință: 5-15 pg/ml

În cazul pacienților cu tumori primare determinările de SCF, IL-10 și IL-6 s-au realizat la depistarea afecțiunii, iar în cazul pacienților din lotul B determinările de citokine s-au efectuat preoperator (excizia paleativă a metastazei cerebrale) în absența tratamentelor adjuvante. Determinările de citokine s-au efectuat cu acordul pacienților investigați.

***Pacienții au fost investigați în Clinica de Neurochirurgie a Institutului de Boli Cerebrovasculare , condusă de Academician Prof. Dr. Dănăilă Leon căruia îi aducem mulțumirile cuvenite**

Lot B included a total of 8 patients with malignant melanoma with brain and internal organs metastasis.* In these patients, primary tumor has been excised with the sentinel lymph node, adjuvant therapy has been made and after 4,8 months (media for these 8 patients) brain metastasis were detected in 6 cases and lung metastasis in the other two. All these patients were in T1N1M1b stadium. The diagnosis was confirmed by clinical, histological, immunohistological and imagistic examination both at the beginning and metastasis stage.

Usual malignant melanoma investigations were performed for diagnosis establishment, immunological investigations for immune status and age related intercurrent affections.

The following cytokines were serologically investigated :

- SCF, serological form, by ELISA technique, reference range : 550-1450 pg/ml
- IL-10, serological form, by ELISA technique, reference range: 2-24 pg/ml
- IL-6, serological form, by ELISA technique, reference range: 5-15 pg/ml

In primary tumor patients, determinations of SCF, IL-10 and IL-6 were performed at the disease detection and in lot B cytokine determinations were performed before surgery (palliative brain metastasis excision) without adjuvant therapies. All determinations were made with patients consent.

Results

The results for serological SCF investigation were differentiated by the lot of study.

Lot A , 12 patients with unique tumor presented the following results: 1 case with elicited values, 7 cases with normal values and 4 cases with decreased values, all results are presented in table 1. The media of the obtained values was 640pg/ml. The media under the reference value was of 400 pg/ml.

Lot B , 8 patients cu malignant melanoma metastases, presented for SCF the following results: 2 cases with normal values, 6 cases with decreased values, presented in table 2. Media for serological values of SCF was of 517 pg/ml. In patients under inferior limit of reference , 6 cases,

Rezultate

Rezultatele obținute la investigarea valorilor serice ale SCF-forma solubilă au fost diferențiate în funcție de loturile de studiu.

Lotul A care a cuprins 12 pacienți cu melanom tumoră primară, a prezentat rezultatele: 1 caz cu valori crescute, 7 cazuri cu valori normale și 4 cazuri cu valori scăzute, rezultate prezentate în tabelul 1. Media valorilor obținute este 640 pg/ml. Media valorilor sub limita de referință a fost de 400pg/ml.

Lotul B care a cuprins 8 pacienți cu metastaze de melanom a prezentat la investigarea serologică a SCF următoarele rezultate: 2 cazuri cu valori normale și 6 cazuri cu valori scăzute, rezultate prezentate în tabelul 2. Media valorilor serologice ale SCF a fost de 517 pg/ml. La pacienții cu valori sub limita inferioară a intervalului de referință, 6 cazuri, media valorilor obținute a fost de 490 pg/ml.

Investigarea valorilor serice ale IL-10 a evidențiat la lotul A valori crescute în 5 cazuri și normale în 7 cazuri. Media valorilor obținute a fost de 22 pg/ml iar media la cei 5 pacienți cu valori peste limita intervalului de referință a fost de 35,6 pg/ml. Pacienții din lotul B au evidențiat valori crescute ale IL-6 în 6 cazuri, media la acești pacienți a fost de 408 pg/ml ; media generală a lotului B fiind de 35,5 pg/ml.

Discuții

Ca și alte numeroase citokine, SCF are un rol esențial în supraviețuirea, creșterea și diferențierea a numeroase tipuri de celule. Astfel SCF controlează o serie de procese care au la bază proliferarea celulară normală cum ar fi: hematopoieza, melanogeneza, gametogeneza, creșterea și diferențierea celulelor mastocitare [3]. Mai mult, SCF este implicat în migrarea unor celule în viața embrionară și adultă.

Se cunoaște faptul că citokinele implicate în proliferarea celulară normală au un rol important în proliferarea tumorală. În multe cazuri, o dereglare a factorilor de proliferare celulară normală este urmată de o proliferare benignă sau malignă a celulelor țintă.

În cazul SCF celulele țintă sunt celulele care exprimă pe suprafața lor receptorul specific pentru SCF respectiv receptorul c-kit. Acest

the media of the obtained values was of 490 pg/ml.

IL-10 serological values investigation revealed in lot A 5 cases with elicited values (with media of 35,6pg/ml) and 7 cases with normal values (with media of 22 pg/ml).

Lot B patients revealed increased values for IL-6 in 6 cases, with media of 408 pg/ml. The general media for lot B was of 35,3 pg/ml.

Discussions

Such as other cytokines, SCF presents an essential role in surviving, growth and differentiation of some other type of cells. Thus SCF is controlling processes based on normal cell proliferation such as: hematopoiesis , melanogenesis, gametogenesis, growth and differentiation of mast cells [3]. Moreover, SCF is involved in cells migration in adult life or embryos. It is known that cytokines involved in normal cell proliferation has an important role in tumoral proliferation. In many cases, a cell proliferation factors disorder is followed by benign or malignant proliferation of the target cells.

In SCF case , the target cells are expressing c-kit specific receptor for SCF. This receptor is expressed on progenitor hematopoietic cells, mast cells, endothelial cells, glomerular epithelia, germinative testicular cells, melanocytes. For now, it is well known that endothelial cells and fibroblasts are expressing both c-kit and SCF and there is an autocrine stimulation of these cells , they may stimulate themselves by SCF/c-kit [5,6].

At the skin level, SCF is produced by endothelial cells, fibroblasts, keratinocytes.

Melanocytes from basal stratum are inconstantly and rare expressing SCF and c-kit both, but SCF is a strong mitogen for melanoblasts, culture melanocytes and even in vivo melanocytes. Thus, in the case of inconstantly and reduces SCF producing melanocytes , but also strongly influenced by this, we may considere an paracrine stimulation present [7,8,9].

In tumoral proliferation case, the sense of SCF/c-kit axis seems to be ambiguous , or harder

Tabel 1

Nr. crt.	Nume	Vârsta (ani)	Sex	Formă clinică	Stadializare	SCF Pg/ml	IL-10 Pg/ml	IL-6 Pg/ml	Localizare
1	RT	35	M	Acral	T ₁ a	690	20	15	Gambă
2	PS	47	F	Nodular	T ₁ b	700	18	10	Torace
3	DS	52	M	Acral	T ₁ a	670	12	10	Gambă
4	CP	57	M	Extindere superficială	T ₂ b	450	30	20	Gambă
5	CI	60	M	Nodulară	T ₂ b	590	8	25	Brațe
6	VD	49	M	Nodulară	T ₂ b	630	8	10	Torace
7	RA	59	M	Nodulară	T ₁ b ₄	500	10	25	Brațe
8	AC	47	F	Nodulară	T ₁ b	620	10	30	Gambă
9	MO	49	F	Nodulară	T ₂ b ₄	150	30	20	Torace
10	OP	52	M	Nodulară	T ₁ b ₄	500	40	20	Torace
11	RD	50	F	Nodulară	T ₂ b	1600	38	20	Torace
12	IG	47	F	Nodulară	T2b3	580	40	25	Torace

Table 1

No	Name	Age (years)	Sex	Clinical form	Stadium	SCF Pg/ml	IL-10 Pg/ml	IL-6 Pg/ml	Localization
1	RT	35	M	Acral	T1a	690	20	15	Gambă
2	PS	47	F	Nodular	T1b	700	18	10	Torace
3	DS	52	M	Acral	T1a	670	12	10	Gambă
4	CP	57	M	Superficial extension	T2b	450	30	20	Gambă
5	CI	60	M	Nodular	T2b	590	8	25	Brațe
6	VD	49	M	Nodular	T2b	630	8	10	Torace
7	RA	59	M	Nodular	T1b4	500	10	25	Brațe
8	AC	47	F	Nodular	T1b	620	10	30	Gambă
9	MO	49	F	Nodular	T2b4	150	30	20	Torace
10	OP	52	M	Nodular	T1b4	500	40	20	Torace
11	RD	50	F	Nodular	T2b	1600	38	20	Torace
12	IG	47	F	Nodulară	T2b3	580	40	25	Torace

receptor este exprimat pe celulele progenitoare hematopoietice, celulele mastocitare, endoteliale vasculare, epiteliul glomerular, celulele germinative testiculare, melanocite. Până în prezent se știe cu certitudine că celulele endoteliale și fibroblastele exprimă atât c-kit cât și SCF și există o stimulare autocrină a acestor celule în sensul că aceste celule se pot autostimula prin intermediul SCF/c-kit [5,6].

La nivelul pielii, SCF este produs de celulele endoteliale, fibroblaste, keratinocite. Melanocitele din stratul bazal exprimă rar și inconstant atât SCF cât și receptorul c-kit, dar SCF este un puternic mitogen pentru melanoblaste, melanocite în cultură și chiar melanocite in vivo. Astfel, în cazul melanocitelor care produc puțin și inconstant SCF, dar sunt puternic influențate de acesta, se poate considera că există o stimulare paracrină [7,8,9].

to understand. A series of carcinomas such as breast cancer, colorectal carcinoma, small cells lung carcinoma, neuroblastoma and genital organs tumors, osteosarcoma, express SCF and c-kit at the same time, massively contributing to tumoral growth [5].

In some other types of carcinomas such as thyroid, breast carcinoma, progression to malignant phenotype is associated with c-kit expression decrease so the action of SCF/c-kit axis [7].

In malignant melanoma it was demonstrated that c-kit is weakly expressed on tumoral melanocytes in cell cultures while SCF is constantly present in lesions including tumors. Investigation of SCF and c-kit presence in primary melanomas shows a large variability, the expression of these proteins varied between 5%

Tabel 2

Nr. crt	Nume	Vârsta (ani)	Sex	TNM	Forma clinică	SCF Pg-ml	IL-10 Pg-ml	IL-6 Pg-ml
1	BR	47	F	T ₁ N ₂ M ₁ c	Metastază cerebrală	420	30	20.
2	ID	50	M	T ₁ N ₂ M ₁ c	Metastază cerebrală	510	40	25
3	CS	52	F	T ₁ N ₂ M ₁ c	Metastază cerebrală	500	20	25
4	PI	61	M	T ₁ N ₂ M ₁ c	Metastază cerebrală	480	45	30
5	PD	58	M	T ₁ N ₂ M ₁ b	Metastază pulmonară	580	50	40
6	OD	56	M	T ₁ N ₂ M ₁ c	Metastază cerebrală	510	50	25
7	RE	59	F	T ₁ N ₂ M ₁ c	Metastază pulmonară	620	20	20
8	IT	58	F	T ₁ N ₂ M ₁ c	Metastază cerebrală	520	30	35

Table 2

No	Name	Age (years)	Sex	TNM	Clinical form	SCF Pg-ml	IL-10 Pg-ml	IL-6 Pg-ml
1	BR	47	F	T ₁ N ₂ M ₁ c	Brain metastasis	420	30	20.
2	ID	50	M	T ₁ N ₂ M ₁ c	Brain metastasis	510	40	25
3	CS	52	F	T ₁ N ₂ M ₁ c	Brain metastasis	500	20	25
4	PI	61	M	T ₁ N ₂ M ₁ c	Brain metastasis	480	45	30
5	PD	58	M	T ₁ N ₂ M ₁ b	Lung metastasis	580	50	40
6	OD	56	M	T ₁ N ₂ M ₁ c	Brain metastasis	510	50	25
7	RE	59	F	T ₁ N ₂ M ₁ c	Lung metastasis	620	20	20
8	IT	58	F	T ₁ N ₂ M ₁ c	Brain metastasis	520	30	35

În cazul proliferării tumorale rolul axei SCF/c-kit pare să fie ambiguu, sau mai greu de înțeles. Astfel, o serie de carcinoame cum ar fi cancerul mamar, carcinomul colorectal, cancerul pulmonar cu celule mici, neuroblastomul și tumorile organelor genitale, osteosarcomul, exprimă atât c-kit cât și SCF simultan și în exces, contribuind masiv la progresia tumorală [5].

În cazul altor tipuri de carcinoame cum ar fi carcinoamele tiroidiene, sau chiar unele forme de carcinoame mamare, progresia către fenotipul malign este asociată cu scăderea expresiei c-kit deci implică a acțiunii axei SCF/ c-kit [7].

and 90%. The degree of SCF and c-kit expression is minimum in melanomas in situ and elicits in melanoma metastases.

The co expression of SCF and c-kit on the same melanoma lesion is appreciated at 28% by Giehl and collaborators while SCF is expressed in 76% and c-kit in 84% [10].

Most of the authors consider that 20% of melanomas, at most, are c-kit and SCF expressing and Prignano F. and col. are considering that only a minority of metastasis' melanomas are expressing both those proteins [11].

În cazul melanomului malign s-a demonstrat că c-kit este puțin exprimat pe melanocitele tumorale în culturi celulare în timp ce SCF este prezent constant pe leziunile melanocitare inclusiv tumorale. Investigarea prezenței c-kit și SCF în melanoamele primare evidențiază o mare variabilitate în sensul că expresia acestor proteine a variat între 5% și 90%. Gradul de expresie a SCF și c-kit este minim în cazul melanoamelor in situ și crește în metastazele de melanom. Coexpresia SCF și c-kit pe aceleași leziuni de melanom este apreciată de Giehl și colaboratorii la un procent de 28% în timp ce SCF este exprimat în procent de 76% iar c-kit de 84% [10].

Majoritatea autorilor apreciază că cel mult 20% din melanoame exprimă c-kit și SCF iar Perignano F. și colaboratorii, consideră că numai o minoritate din melanoamele metastatice exprimă aceste proteine [11].

În prezent, se consideră că SCF prin intermediul receptorului c-kit este capabil să mențină atât celulele de melanom malign cât și celulele melanocitare metastatice în condiții de diferențiere fără să inducă apoptoza favorizând proliferarea tumorală [4]. Alte studii efectuate pe linii de melanocite tumorale din melanom malign uveal au arătat că stimularea excesivă a acestor celule cu SCF nu duce la creșterea proliferării tumorale. Explicația pare să fie legată de c-kit care poate fi puțin exprimat la aceste celule, poate prezenta mutații sau să existe mutații la nivelul genelor braf. Acest fapt sugerează că stimularea celulelor tumorale prin intermediul axei SCF-c-kit necesită funcționarea optimă a acestor celule, fără prezențe în exces sau absențe ale SCF sau c-kit [12]. Pe de altă parte, s-a demonstrat în culturi celulare la nivelul exonilor 9,11, 13 și 17 din c-kit că aceștia conferă o independență de SCF în sensul că c-kit mutant se poate autoactiva în absența SCF [12,13,14].

În studiul nostru am investigat valorile serice ale SCF circulant, forma activă a SCF, capabilă să se cupleze cu c-kit pe orice celulă care îl exprimă, inclusiv pe celulele tumorale melanocitare. În lotul de pacienți cu melanom primar valorile SCF au fost normale în 7 cazuri, scăzute în 4 și crescute într-un singur caz. Aceste valori nu au putut fi corelate cu stadializarea tumorii sau cu valorile serice ale IL-10 și IL-6. De altfel numărul pacienților cu scădere a SCF nu este semnificativ.

Now, it is considered that SCF is able to maintain both malignant melanoma cells and metastases in differentiated status without inducing apoptosis and favoring tumoral proliferation [4]. The explanation appears to be linked to c-kit that may be less expressed on these cells, it may be mutated or there may be mutation in braf genes. This suggests that the tumoral cells stimulation by SCF-c-kit axis requests the optimum function of these cells without exceeds or absence of SCF or c-kit [12].

On the other hand, it was demonstrated in cell cultures, in c-kit exons 9,11,13 and 17 that these are offering a c-kit independence, the mutant c-kit may be auto activated in SCF absence [12,13,14].

In our study we have investigated serological values of circulating SCF, active form of SCF, able to link to every c-kit expressing cell, including melanocyte tumoral cells. .

In primary melanoma patients the values of SCF were normal in 7 cases, decreased in 4 and elicited in one case. These values could not be correlated with tumor stadialization or serological values of IL10 and IL6. In fact the number of patients with SCF decrease is not significant. Neither is the number of IL-10 increased values patients. IL-6 is increased in 8 cases without correlation with SCF or IL-10.

The results in this lot of patients suggests that localized tumoral proliferation yet not cause changes in SCF and IL-10 values or these changes are less significant.

IL-6 showing elevated in half of cases may be influenced by many factors including tumoral proliferation but it has no important significance.

In lot B, with internal organs metastasis patients, shows a paradoxical decrease of SCF production and an elicited IL-10 in 6 cases. An elicited SCF value was expected to stimulate proliferation and migration of melanocytes.

The decrease of SCF may be produced by decrease of SCF production, which is unlikely, or by increasing consumption within the tumoral melanocytes. Also the decrease of soluble form of SCF may be explained by increasing share of bound SCF to the detriment of the free form. Otherwise by increasing autocrine stimulation of

Nici numărul pacienților cu valori crescute ale IL-10 nu este semnificativ. IL-6 este crescut în 8 cazuri dar fără o corelație cu SCF sau IL-10.

Rezultatele obținute la investigarea valorilor serice ale SCF la acest lot sugerează faptul că proliferarea localizată a celulelor melanocitare tumorale nu produce încă modificări ale valorilor SCF și IL-10 în ser sau că acestea sunt puțin semnificative.

IL-6 care prezintă valori crescute în jumătate din cazuri poate fi influențată de numeroși factori inclusiv proliferarea tumorală dar nu are o semnificație deosebită. În cazul lotului B, care grupează pacienții cu metastaze în organele interne se evidențiază o scădere paradoxală a valorilor SCF și o creștere a valorilor IL-10 în 6 cazuri. Era de așteptat ca să existe o creștere a valorilor serice ale SCF care să stimuleze proliferarea și migrarea melanocitelor.

Scăderea valorilor serice ale SCF se poate produce prin scăderea producției de SCF, ceea ce este puțin probabil, sau prin creșterea consumului de SCF la nivelul melanocitelor tumorale. De asemenea scăderea SCF solubil poate fi explicată prin creșterea ponderii SCF legat în detrimentul celui solubil. Sau altfel spus prin creșterea stimulării autocrine a melanocitelor tumorale în detrimentul celei paracrine. Este foarte posibil ca în cursul dezvoltării tumorilor melanocitare stimularea autocrină să devină dominantă în detrimentul celei paracrine.

Creșterea valorilor IL-10 în peste jumătate din cazuri sugerează implicarea acestei citokine în scăparea de sub supravegherea imunologică a celulelor melanocitare.

IL-10 este produsă de celulele tumorale, inclusiv celulele melanocitare, inhibând secreția de citokine Th1 dar și de GM-CSF și posibil SCF. IL-10 este un factor de creștere, prin mecanism autocrin, pentru celulele tumorale, inclusiv melanocitare, blocând recunoașterea imună ceea ce duce la protejarea celulelor tumorale de elementele efectoare ale sistemului imun. Este greu de apreciat dacă secreția masivă de IL-10 poate fi un factor care determină scăderea valorilor serice de SCF.

IL-6 este o citokină de fază acută care intervine în numeroase procese tumorale și netumorale. În unele cazuri acționează sinergic

tumoral melanocytes to the detriment of paracrine stimulation. It is very likely that in the course of melanocyte tumoral growth autocrine stimulation to become dominant.

The increase of the IL-10 values in more than half a cases suggests the involvement of the cytokine in melanocyte cells immune surveillance escape.

IL-10 is produced by tumoral cells, including melanocytes, inhibiting Th1 cytokines secretion but also GM-CSF and possibly SCF. IL-10 is a growth factor, by autocrine mechanism, for tumoral cells, including melanocytes, blocking immune recognition and favoring tumoral cells protection against immune effectors.

Is difficult to asses whether the massive secretion of IL-10 may be a factor that lowers serological values of SCF.

IL-6 is a heat shock cytokine involved in several tumoral and non tumoral processes. In some cases it acts synergic with SCF but on different receptors. The elicited values of IL-6 in most of the patients suggests a non specific immune activation.

Overall the SCF evolution does not seems to correlate to IL-10 and IL-6 suggesting that this cytokine presents a more nuanced action dependent on the stage of the tumor.

Conclusions

SCF is a cytokine involved in growth, differentiation and migration of cells expressing c-kit receptor, including melanocytes. At the same time, SCF promotes tumoral melanocytes proliferation, also c-kit expressing.

In primary melanoma, serological values of SCF are normal suggesting that in this phase of malignant melanoma SCF is produced in small quantities by skin cells and acting only on tumoral melanocytes. IL-10, as a pro tumoral factor, by many types of actions, also presents normal values.

It may be considere that the activation of these cytokines is taken place only at the tumoral level of melanocytes.

In metastatic melanoma, SCF values are decreased, most likely through direct consumption at the tumoral level. IL-10, non

cu SCF dar pe receptori diferiți. Valorile IL-6 crescute la majoritatea pacienților sugerează o activare nespecifică a sistemului imun.

În ansamblu evoluția SCF pare să nu se coreleze cu IL-10 și IL-6 sugerând că această citokină are un mod de acțiune în procesul tumoral mult mai nuanțat și dependent de stadiul de evoluție al tumorii.

Concluzii

SCF este o citokină implicată în creșterea, diferențierea și migrarea celulelor care exprimă receptorul c-kit, inclusiv melanocitele. Totodată, SCF promovează proliferarea melanocitelor tumorale care exprimă receptorul c-kit.

În melanomul primar, valorile serice ale SCF sunt normale sugerând faptul că în această fază de evoluție a melanomului malign SCF este produs de celulele din piele în cantități mici, acționând numai la nivelul celulelor tumorale melanocitare. Interleukina 10, ca factor protumoral, prin mai multe tipuri de acțiuni, prezintă de asemenea valori normale. Se poate considera că activitatea acestor citokine are loc numai la nivelul melanocitelor tumorale.

În melanomul metastatic, valorile serice ale SCF sunt scăzute cel mai probabil prin consum crescut la nivel tumoral. IL-10 care nu acționează direct pe melanocit (decât în mică măsură) prezintă valori crescute, favorizând proliferarea tumorală.

Interleukina 6 ca citokină de fază acută este crescută în ambele stări ale melanomului malign și nu se poate asocia o semnificație deosebită.

Variația valorilor serice a SCF evidențiază importanța axei citokinelor în proliferarea melanocitară.

directly acting on melanocytes (or a small measure) presents increased values favoring tumoral proliferation.

Interleukine 6 as a heat shock cytokine it is increased in both phases of melanoma and it can not assign a special significance.

Variation of serological values of SCF emphasize the importance of cytokine axis in melanocyte proliferation.

Received: 8.08.2011

Intrat în redacție: 8.08.2011

Bibliografie/Bibliography

1. ASHMAN L.K. – The biology of the stem cell factor and its receptor c-kit. *Int. J. Biochem Cell Biology*, 1999, 31(10), 1037-1051.
2. LARAMIE A., DROBNJAK M., GERALD W. et. Al. – Expression of c-kit and c-kit ligand proteins in normal human tissues. *J. Histochem. Cytochem* 1994, 42, 1417-1425.
3. HUANG B., LEI Z., ZHANG G.M. – SCF mediated mast cell infiltration and activation exacerbate the inflammation and immunosuppression in tumor microenvironment. *Blood*, 2008, 15, 124(4) 1269-1279.
4. QIU F.H., ROY P., BROWN K. et.al. – Primary structure of c-kit relationship with the CSF-1PDGF, receptor kinase family-oncogenic activation of c-kit involves deletion of extra cellular domain and c terminus. *EMBOJ*, 1998, 7, 1003-1011.
5. LENNARTSSON J., RONNSTRAND L. – The stem cell factor receptor/c-kit as a drug in cancer. *Current Cancer Drug Targets* 2006, 6, 561-571.
6. KRYSTAL G.W., HINES S.J., ORGAN G.R. – Autocrine growth of small cell lung cancer mediated by co expression of c-kit and stem cell factor. *Cancer Res.* 1996, 56, 370-376.
7. HUANG S., LUCA M., GUTMAN M., et al. – Enforces c-kit expression renders highly metastatic human melanomas cells, susceptible to stem cell factor induced apoptosis and inhibits their tumorigenic and metastatic potential. *Oncogene*, 1996, 13, 2339-2347.
8. TAKAHASHI H., SAITOH K., KISHI H., et. Al. – Immunohistochemical localization of SCF with comparison of its receptor c-kit proto-oncogene product (c-kit) in melanocytic tumors. *Virchows Arch.* 1995, 427, 283-289
9. GRICHNIC J.M., BURCH J.A., BURCHETTE J. et. Al. – The SCF/c-kit pathway plays a critical role in the control of normal human melanocyte homeostasis. *J. Invest. Dermatol.* 1998, 111, 233-237.
10. GIEHL K.A., NAGALE U., VOLKENANDT M., BERKING C. – Protein expression of melanocyte growth factors (bFGF,SCF) and their receptors (FGFR-1, c-kit) in nevi and melanoma. *J. of Cutaneous Pathol.* 2006, 34(1), 7-14
11. PRIGNANO F., GERLINI G., SALVATORI B., et.al. – Stem cell factor affects tumour progression markers in metastatic melanoma cells. *Clin. Exp. Metastasis*, 2006, 23, 177-186.
12. LEFEVRE G., GLOTIN ANNE LISE, CALIPEL A. et. Al. – Roles of stem cell factor/ c-kit and effects of Glivec[®] STI571 in human uveal melanoma cell tumorigenesis. *The Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279 (30), 31769-31779.
13. MARKKU M., JERZY L., C-kit (CD117) : a review on expression in normal and neoplastic tissues and mutation and their clinicopathologic correlation. *AQm. J. Pathol.* 13,(3), 1643-1647
14. CURTIN J.A., BUSAM K., PINKER D., BASTIAN B.C. – Somatic activation of kit in distinct subtypes of melanoma. *J. of Clinical Oncology*, 2008, 24, (26), 4340-4345