

ROLUL LDH ÎN STADIALIZAREA PACIENȚILOR CU MELANOM CUTANAT

LDH ROLE IN STADIALIZATION OF MALIGNANT MELANOMA

AMALIA ELENA ANGHIEL, ILINCA NICOLAE, SIMONA ROXANA GEORGESCU,
J. D. DIACONU*

București

Rezumat

Enzimele celulare s-au dovedit extrem de importante în aprecierea fenomenelor din boala neoplazică. În această categorie includem AST, ALT, GGT, CK, LDH. Melanomul cutanat reprezintă una dintre neoplaziile cu alterări semnificative ale unor enzime celulare, cu diferențe notabile în funcție de gradul invaziei loco-regionale sau la distanță.

Activitatea tisulară a LDH se corelează cu necesitățile metabolice ale celulelor tumorale și aprovizionarea cu sânge. Activitatea LDH este crescută în probele cu o densitate crescută a vaselor tumorale. Se atribuie o semnificație prognostică LDH în raport cu grosimea tumorii, nivelul Clark, prezența ulcerăției, invazia vasculară și instalarea hipercalcemiei PTH independente.

LDH este util în stadializarea melanomului cu metastaze viscerale.

Cuvinte cheie: LDH, enzime celulare, melanom.

Summary

Cellular enzymes are proved to be very important in appreciation of neoplastic disease phenomenas. In this category we include AST, ALT, GGT, CK, LDH. Cutaneous melanoma represents one of the malignancies with significant deterioration of cellular enzymes, with notable differences depending on the invasion degree loco-regional or at distance.

Tissue LDH activity correlates with the metabolic needs of tumor cells and blood supply. LDH activity is increased in samples with high density of tumor vessels. It is assign prognostic semnification for LDH according with tumor thickness, Clark level, presence of ulceration, vascular invasion and installation of PTH independente hypercalcaemia.

LDH is useful in staging melanoma with visceral metastases.

Key words: LDH, cellular enzyme, melanoma.

DermatoVenerol. (Buc.), 55: 333-339

Introducere

Numeroase teste de explorare biochimică utilizate în bolile neoplazice au valoare diagnostică/prognostică doar dacă sunt bine fundamentate din punct de vedere fiziopatologic. Urmărirea dinamică a comportamentului unor enzime celulare și interpretarea rezultatelor obținute pe baza observațiilor clinice și imagistice

Introduction

Many of biochemical tests used in neoplastic diseases exploration have diagnostic/prognostic value only if they are pathophysiological well based. Tracking cellular enzymes dynamic behavior and interpretation of results obtained based on clinical and imaging observations are usually in the right position to present a quite

* Spitalul Clinic de Dermato-Venerologie "Prof. Dr. Scarlat Longhin" București.

sunt, de regulă, în măsură să prezinte o imagine destul de apropiată de realitate a fenomenelor ce se petrec în boala canceroasă. O situație patologică caracterizată prin alterări semnificative ale activităților enzimice este melanomul cutanat (Sirott, Bajorin, all; 1993; Walenta S, Mueller-Kliese, all.; 2004). Creșterea enzimelor în ser (aminotransferaze: ALT și AST, gama glutamil transferaza: GGT, creatinkinaza: CK, lactat dehidrogenaza: LDH) depinde de:

- echipamentul enzimatic al organului lezat;
- localizarea intracelulară a enzimelor;
- gradul de vascularizație a tumorii și viteza de circulație la nivelul zonei lezate;
- prezența sau absența unei bariere inflamatorii;
- măsura în care celulele lezate vin în contact direct cu plasma;
- viteza de degradare a enzimelor ajunse în plasmă;

Obiectivul studiului

Este reprezentat de evaluarea rolului determinărilor serice a unor enzime celulare în diagnosticul, prognosticul și monitorizarea pacienților cu melanom cutanat. În plus s-a evaluat nivelul activității tisulare a LDH în leziuni pigmentare benigne și maligne în diferite etape ale evoluției bolii, cu scopul de a determina dacă activitatea tisulară a LDH se corelează cu nivelul seric al enzimei. Această asociere ar putea certifica rolul de marker al LDH în stadializarea pacienților cu melanom nivel IV.

Material și metodă

Studiul s-a efectuat prin randomizarea pacienților cu tumori benigne și maligne ale melanocitelor, comparativ cu lotul de control. Componența loturilor era următoarea:

- Lot control (206 subiecți);
- Lot nevi displazici (203 subiecți);
- Lot melanom subdivizat în:
 - Lot melanom non-invaziv (cu dezvoltarea strict locală) (177 subiecți);
 - Lot melanom invaziv (cu dezvoltare loco-regională și la distanță) (183 subiecți);

Pentru determinarea enzimelor s-au utilizat kituri standardizate de reactivi (Huma GmbH) și metode fotometrice de analiză (Huma Star 300). Recoltarea, transportul și conservarea probelor biologice s-a făcut în condiții identice. Intervalul de timp între recoltarea probelor de sânge și

realistic picture of the phenomena that occur in cancer disease. A pathological situation characterized by significant alterations of enzyme activities is cutaneous melanoma (Sirotta, Bajorin, ALL, 1993, Walenta S, Mueller-Kliese, all., 2004). Increased serum enzymes (amino-transferase: ALT and AST, gamma glutamyl transferase: GGT, creatine kinase: CK, lactate dehydrogenase: LDH) depends on:

- Enzymes equipment of damaged organ;
- Intracellular localization of enzymes;
- The degree of tumor vascularity and movement speed in the injured areas;
- Presence or absence of inflammatory barriers;
- The direct contact between damaged cells and plasma;
- Speed of degradation of plasma enzymes.

Study objective

It is represented by evaluation of cellular enzymes serum determinations role in diagnosis, prognosis and monitoring of patients with cutaneous melanoma. In addition was evaluated LDH tissue activity degree in benign and malignant pigmented lesions in different stages of disease development, in order to determine whether the tissue LDH activity correlates with serum levels of the enzyme. This combination could certify the marker role of LDH in staging IV level melanoma patients.

Material and method

The study was performed by randomising patients with benign and malignant melanocytes tumors, compared with the control group. Lots composition was as follows:

- Control group (206 subjects);
- Dysplastic naevi lot (203 subjects);
- Melanoma lot subdivided in:
 - Non-invasive melanoma lot (with local development) (177 subjects);
 - Invasive melanoma lot (with loco-regional development and at distance) (183 subjects);

To determine the enzymes are used standard reagent kits (Huma GmbH) and photometric methods of analysis (Huma Star 300). Harvesting, transportation and storage of biological samples was in the same conditions. The time between

separarea serului este de 30-40 minute. Enzimele au fost determinate la 2-3 ore de la recoltare. Activitatea enzimatică a LDH, AST, ALT, CK și GGT s-a exprimat în U/L. Extracția proteinelor tisulare s-a făcut imediat după realizarea intervenției chirurgicale. Activitatea LDH din tumori a fost exprimată procentual față de activitatea enzimatică detectată în țesutului sănătos peritumoral (considerat 100%).

Rezultatele au fost exprimate prin valoare medie și deviația medie standard. Diferențele cu valoare statistică între variabile biologice s-au apreciat pe baza $p(p < 0,05$ indică o semnificație statistică).

Rezultate

Potrivit datelor sintetizate în tabelul 1, peste 95% dintre persoanele cu nevi displazici prezintă valori normale pentru activitățile enzimatic determinate în ser (AST, ALT, GGT, CK, LDH). Variații nesemnificative ale enzimelor analizate s-au înregistrat și la pacienții cu melanom non-invaziv. Ca urmare, determinarea enzimelor celulare au valoare diagnostică redusă la pacienții cu melanom. O stare patologică particulară caracterizată prin creșterea remarcabilă în ser a enzimelor celulare este reprezentată de melanomul invaziv. Pacienții cu melanom invaziv (loco-regional și/sau la distanță) prezintă valori crescute pentru LDH în 23% din cazurile analizate (Tabel 1).

blood sampling and serum separation is 30-40 minutes. Enzymes were determined at 2 to 3 hours from harvesting. Enzymatic activity of LDH, AST, ALT, CK and GGT is expressed in U / L. Tissue protein extraction was done immediately after the surgery. LDH tumor activity was expressed as a percentage from detected healthy peritumoral tissue enzymatic activity (considered 100%).

Results were expressed as mean and standard deviation average. Differences with statistical value between biological variables were assessed by p ($p < 0.05$ indicates statistical significance).

Results

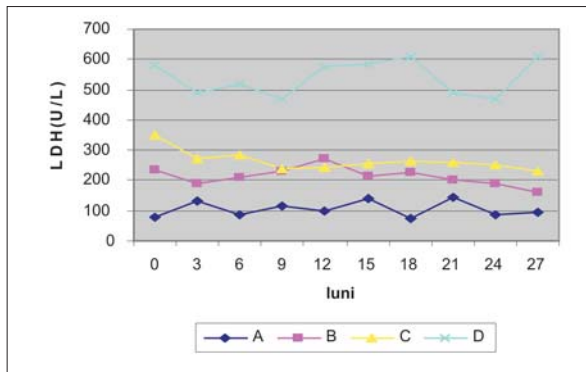
According to dates synthesized in table 1, over 95% of people with dysplastic nevi have normal values of serum enzymes activities (AST, ALT, GGT, CK, LDH). Insignificant variations of analyzed enzymes were in patients with non-invasive melanoma. Therefore, determining the cellular enzymes have low diagnostic value in melanoma patients. A private medical condition characterized by remarkable growth of serum enzymes is the invasive melanoma. Patients with invasive melanoma (loco-regional and / or at distance) has elevated LDH in 23% of analyzed cases (Table 1).

Tabelul 1. Comportarea unor enzime celulare la pacienții cu melanom cutanat

Lot de studiu	Nr. subiecți	Parametri biochimici				
		AST (U/L)	ALT (U/L)	GGT (U/L)	CK (U/L)	LDH (U/L)
Control	206	16,3+/-12,5	15,2+/-11,5	19,3+/-15,1	54,1+/-39,2	318,4+/-53,2
Nevi displazici	203	17,1+/-14,1	17,9+/-12,4	20,4+/-10,4	49,6+/-20,7	376,8+/-83,1
Melanom non-invaziv	177	21,8+/-18,1	20,7+/-17,5	26,3+/-	55,1+/-36,2	406,6+/-109,5
Melanom	183	34,1+/-27,2	39,2+/-23,2	29,8+/-26,1	54,8+/-41,2	496,6+/-218,5

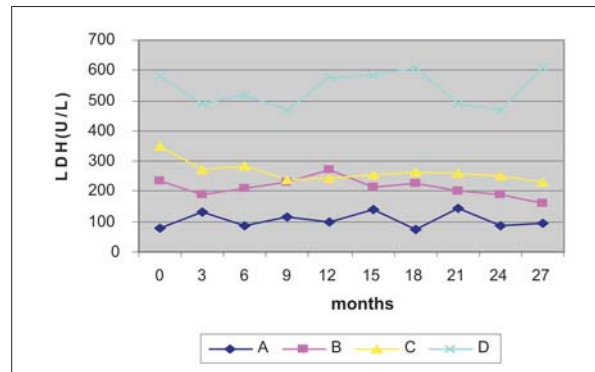
Table 1. Behavior of cellular enzymes in patients with cutaneous melanoma cells

Study lot	Subjects number	Biochemical parameters				
		AST (U/L)	ALT (U/L)	GGT (U/L)	CK (U/L)	LDH (U/L)
Control	206	16,3+/-12,5	15,2+/-11,5	19,3+/-15,1	54,1+/-39,2	318,4+/-53,2
Dysplastic naevi	203	17,1+/-14,1	17,9+/-12,4	20,4+/-10,4	49,6+/-20,7	376,8+/-83,1
Non-invasive melanoma	177	21,8+/-18,1	20,7+/-17,5	26,3+/-	55,1+/-36,2	406,6+/-109,5
Invasive melanoma	183	34,1+/-27,2	39,2+/-23,2	29,8+/-26,1	54,8+/-41,2	496,6+/-218,5



A - Control; B - Nevi displazici; C - Melanom neinvaziv; D - Melanom invaziv.

Fig. 1. Dinamica LDH seric la pacienții cu melanom cutanat



A - Control; B - Dysplastic naevi; C - Non-invasive melanoma; D - Invasive melanoma

Fig. 1. Dynamics of serum LDH in patients with cutaneous melanoma

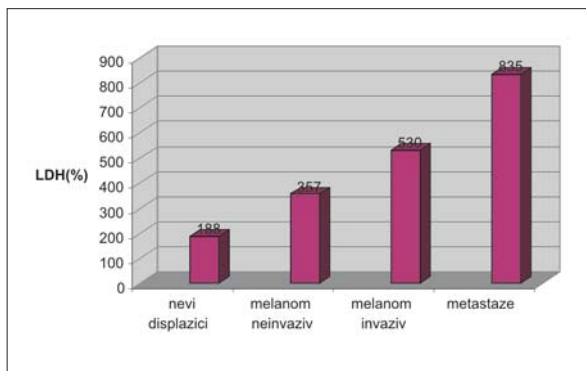


Fig. 2: Nivelul activității enzimactice a LDH în țesutul tumoral versus țesutul sănătos

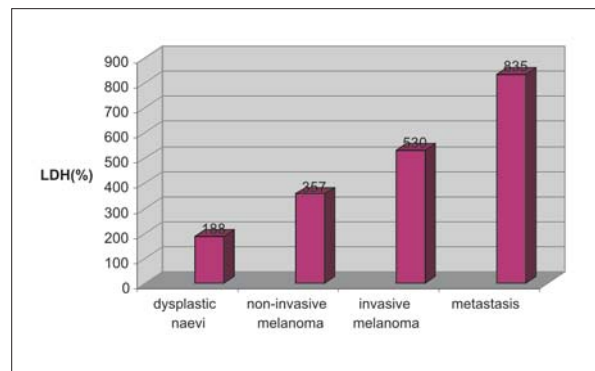


Fig. 2. The level LDH enzymatic activity in tumor tissue versus healthy tissue.

Urmărirea în dinamică a valorilor serice ale LDH s-a dovedit utilă în monitorizarea evoluției bolii sub tratament (figura 1). Valori normale ale LDH seric la începutul tratamentului adjuvant (chimioterapie/interferon/alte) se asociază cu o evoluție bună, fără recurențe, valori crescute ale LDH la pacienții cu metastaze se asociază cu progresia bolii (Fig. 1, D).

Creșterea activității enzimactice în ser depinde de echipamentul enzimatic ale țesutului lezat, amploarea evenimentelor metabolice și inflamatorii, neoangiogenează. Determinarea activității tisulare a reliefat diferențe semnificative între valoarea LDH în țesutul normal și țesutul tumoral. Astfel, LDH prezintă creștere de 0,88 ori în nevi displazici, 3,57 ori în melanomul noninvaziv, 5,3 ori în melanomul invaziv și 8,35 în metastaze versus țesut normal peritumoral (Fig. 2).

Dynamic tracking of serum LDH values was proved useful in disease monitoring evolution under treatment (Figure 1). Normal LDH serum levels at the beginning of adjuvant treatment (chemotherapy/interferon/others) are associated with a good evolution, without recurrences, elevated LDH in patients with metastases is associated with disease progression (Figure 1, D).

Serum enzyme activity increase depends on the enzyme equipment of damaged tissue, the extent of metabolic and inflammatory events, neoangiogenesis. Determination of tissue activity highlighted significant differences between LDH values in normal tissue and tumor tissue. Thus, LDH is increase 0.88 times in dysplastic naevi, 3.57 times in non-invasive melanoma, 5.3 times in invasive melanoma and 8.35 times in metastases versus peritumoral normal tissue (Fig. 2).

Discuții

Procesul de transformare malignă a melanocitelor declanșează o serie de fenomene locale, fără repercursiuni asupra activității enzimatică din torentul circulator a unor enzime tisulare (AST, ALT, GGT, CK, LDH, Tabel 1). Intervenția terapeutică efectuată cât mai precoce asigură utilizarea mecanismelor de redresare a organismului,

- AST (aspartat-aminotransferaza, E.C.2.6.1.1) prezentă în citoplasma și mitocondriile hepatocitelor oferă informații asupra metabolismului hepatic;
- ALT (L-alanin-2-oxalo-glutarat aminotransferaza, E.C.2.6.1.2) situată în cantități mari în citoplasma hepatocitelor; prezintă creșteri în perioada evolutivității melanomului cu metastaze hepatice;
- GGT (L-gama-glutamil transferaza, E.C.2.3.2.2), localizată în mitocondriile hepatocitare oscilează paralel cu AST;
- CK (ATP: creatin-N-fosfotransferaza, E.C.2.7.3.2), prezentă în citoplasma și mitocondriile din miocard, mușchi și creier nu prezintă variații serice semnificative în patologia melanocitară. Variații moderate, de 25-30%, prezintă în faza postoperatorie a pacientului cu melanom;
- LDH (L-lactat-NAD⁺ oxidoreductaza, E.C.1.1.1.27), prezentă în toate celulele organismului, aduce importante date în prognosticul unui melanom evolutiv. S-au semnalat variații serice notabile în melanomul cu metastaze viscerale.

Activitățile tisulare ale LDH se corelează cu necesitățile metabolice ale celulelor tumorale și aprovizionarea cu sânge. Progresia de la hiperplazie la neoplazie este însoțită de intensificarea sintezei de proteină. LDH se corelează cu neoangiogeneza tumorală, migrarea celulelor canceroase și a celulelor infiltratului inflamator la situsul tumoral. Activitatea LDH tisulară este crescută în probele cu o densitate crescută a vaselor tumorale și densitatea mastocitelor. Se obține o semnificație prognostică a LDH în raport cu densitatea mastocitelor, a microvaselor și concentrația calciului.

În faza creșterii orizontale, melanomul se caracterizează prin faza avasculară cu valori normale ale LDH. În faza de dezvoltare verticală, celulele tumorale invadează straturile inferioare ale dermului și metastazarea devine probabilă. Melanomul dobândește o rețea vasculară, moment în care o proporție mai mare de celule

Discussions

Melanocytes malignant transformation process triggeres some local phenomena, without repercussions on the enzymatic activity of certain tissue enzymes from circulatory torrent (AST, ALT, GGT, CK, LDH, Table 1). Therapeutic intervention made as early as we can ensures the use of the body recovery mechanisms.

- AST (aspartate aminotransferase, EC2.6.1.1) present in cytoplasm and mitochondria of hepatocytes offers information about liver metabolism;
- ALT (L-alanine-2-oxalo-glutaric aminotransferase, EC2.6.1.2) located large amounts in hepatocytes cytoplasm; increases during evolution melanoma with liver metastases;
- GGT (L-gamma-glutamyl transferase, EC2.3.2.2), located in hepatocytes mitochondria; varies parallel with AST;
- CK (ATP: creatine-N-phosphotransferase, EC2.7.3.2) present in cytoplasm and mitochondria of the myocardium, muscle and brain do not show significant changes in serum of melanocytic pathology. Moderate variation, 25-30% are in the melanoma patient's postoperative;
- LDH (L-lactate-NAD⁺ oxidoreductaza, EC1.1.1.27), present in all the body cells, brings important data about evolutionary melanoma prognosis. Important serum variation were observed in visceral metastatic melanoma.

Tissue activities of LDH correlates with metabolic needs of tumor cells and blood supply. Progression from hyperplasia to neoplasia is accompanied by increased protein synthesis. LDH correlates with tumor neoangiogenesis, migration of the tumor cells and inflammatory cells to the catalytic tumor. LDH activity is increased in samples with a high density of tumor vessels and the density of mast cells. LDH prognostic significance is obtained based on mast cells, microvassels density and calcium concentration.

In horizontal growth phase, melanoma is characterized by avascular phase with normal LDH values phase. In the vertical development phase, tumor cells invade the lower layers of the dermis and metastasis is likely. Melanoma acquires a vascular network, now a higher proportion of tumor cells and blood cells develop LDH. For melanoma has been described a

tumorale și celule sanguine elaborează LDH. Pentru melanom a fost descrisă o corelație între LDH, angiogeneză amplificată, prognosticul bolii, grosimea tumorii, rata crescută de recurențe și hipercalcemia PTH independentă (Anghel A., Nicolae, 2010; Nicolae I., Anghel A, 2009).

Studii anterioare au arătat că niveluri crescute ale lactat dehidrogenazei serice (LDH) sunt asociate cu prognostic negativ. Nivelul seric al LDH este cunoscut a fi cel mai specific marker de boală progresivă la pacienții cu nivel IV de către Comisia Americană Interdisciplinară pentru studiul melanomului. Rolul major al LDH în homeostazia celulară normală este de a consolida cataliza din piruvat la lactat pentru a produce adenozin trifosfat (ATP), mecanismul principal în cele mai multe melanoame datorită schimbărilor în metabolismul glucozei notate drept efect Warburg (în mod normal cea mai importantă sursă de ATP este din metabolismul aerob al glucozei în cadrul ciclului Krebs). LDH-5 este cel mai eficient izotip în această conversie. Valori crescute ale LDH în interiorul celulelor apar în mare măsură datorită reglării printr-un factor de transcripție "factor α hipoxic indus" care la rândul său este reglat de hipoxie și de răspunsul reticulului endoplasmatic la stres indus de hipoxie, hipocalcemie și alte cereri ale proliferării maligne. Reticulul endoplasmatic, cel mai expus stresului, în acest context, declanșează căi bine definite ale răspunsului proteic, activate de proteine precum ATF6, PERK, IRE, precum și mecanisme compensatorii ce includ reglarea prin GRP78 (proteina de reglare a glucozei) și Mcl-1, proteină din familia Bcl-2. Studiile au arătat scăderea nivelurilor Bcl-2 cu progresia melanomului. (Hersey P, Zhang XD, all.; 2008).

Rezultatele arată că exprimarea LDH-5 este strans legată de evoluția tumorilor melanocitare, fiind rareori detectabilă în nevi, dar puternic exprimată în melanomul primar de grosime crescută și în melanomul metastatic. Expresia LDH-5 a fost legată de markeri de prognostic bine stabiliți, cum ar fi grosimea, nivelul Clark, ulcerarea, rata mitotică și confirmă faptul că LDH este un indicator al gradului de malignitate în melanom. De o importanță potențial terapeutică a fost constatarea că nivelul LDH-5 a fost puternic corelată cu expresia unor proteine antiapoptotice Bcl-XL și MCL-1 dar nu Bcl-2. A fost descrisă o corelație importantă cu exprimarea MCL-1, de mare interes, după cum studii in vitro

correlație între LDH, enhanced angiogenesis, prognosis, tumor thickness, high rate of recurrences and PTH independent hypercalcemia (Anghel A., Nicholas, 2010 Nicholas I. Anghel, 2009).

Previous studies have shown that high levels of serum lactate dehydrogenase (LDH) are associated with negative prognosis. Serum levels of LDH is known to be the most specific marker of progressive disease in patients with level IV by the Mixt American Committee for the Study of melanoma. The major role of LDH in normal cellular homeostasis is to enhance catalysis of pyruvate to lactate for producing adenosine triphosphate (ATP), the main mechanism in the most melanomas due to the changes in glucose metabolism noted as Warburg effect (normally the most important ATP source in the aerobic metabolism of glucose from the Krebs cycle). LDH-5 is the most effective isotype in this conversion. Elevated LDH inside the cells appear due to regulation by a transcription factor „ α factor hypoxic induced „, which in his turn is regulated by hypoxia and endoplasmic reticulum stress response induced by hypoxia, hypocalcemia and other demands of malignant proliferation. Endoplasmic reticulum, the most exposed to stress, in this context, trigger clearly defined pathways of the protein response, activated by proteins such as ATF6, PERK, IRE, and compensatory mechanisms that includes regulation of the GRP78 (glucose regulating protein) and MCL-1, Bcl-2 family protein. Studies have shown decreased levels of Bcl-2 with progression of melanoma. (Hersey P, Zhang XD, all., 2008)

The results show that LDH-5 expression is intimately related to developments of the melanocytic tumors, is barely detectable in naevi but strong expressed in primary thick melanoma and metastatic melanoma. LDH-5 expression was related with well established prognostic markers such as thick, Clark level, ulceration, mitotic rate and confirm that LDH is an indicator of malignancy degree in melanoma. The therapeutic potential importance was the findings that LDH-5 was strongly correlated with antiapoptotic protein such as Bcl-XL and MCL-1 but not Bcl-2. Was described a significant correlation with expression of MCL-1, with great interest as in vitro studies have shown that MCL-1 is an

au arătat că MCL-1 este o proteină antiapoptotică principală ce protejează reticulul endoplasmatic de stresul indus de apoptoză, figurand noi posibilități terapeutice antiapoptotice (Zhuang L, Lee CS, Scolyer, all.; 2007). LDH-5 a fost asociată în mod pozitiv cu GRP78 ca răspuns la stres al reticulului endoplasmatic. LDH s-a dovedit a fi implicat în rezistența celulelor melanomului la agenții chimioterapici, precum și în progresia acestui tip tumoral (Zhuang L, Scolyer RA, Lee CS, et all.; 2009). Gena ce codifică Bcl-2 este inhibată de factorul de transcripție Gadd 153, care este activat de reticulul endoplasmatic de stres. MCL-1 crește în contextul sus menționat printr-un mecanism incomplet elucidat.

Sinteza LDH-5 în melanomul malign identifică un fenotip care este asociat cu proteine de reglare ce stimulează sinteza unor factori ce protejează împotriva apoptozei celulelor melanomului. Astfel sunt lansate noi orizonturi terapeutice ce vizează inhibarea de proteine antiapoptotice cum ar fi GRP 78 și MCL-1 (Zhuang L, Scolyer RA, Lee CS, et all.; 2009).

În concluzie, LDH se corelează cu procesul metastatic, profilul terapeutic și rata de supraviețuire a pacienților cu melanom.

antiapoptotic protein that protects the endoplasmic reticulum from stress induced by apoptosis, shown new antiapoptotic therapy possibilities (Zhuang L Lee CS, Scolyer, all., 2007). LDH-5 was positively associated with GRP78 in endoplasmic reticulum response to stress. LDH was found to be involved in melanoma cell resistance to chemotherapeutic agents and progression of this type of tumor (Zhuang L, Scolyer RA, Lee CS, et all., 2009). Gene encoding Bcl-2 is inhibited by transcription factor Gadd 153, which is activated by stress endoplasmic reticulum. MCL-1 rise in this context in a mechanism incompletely understood.

LDH-5 synthesis in melanoma identified a phenotype which is associated with proteins that stimulate the synthesis of control factors that protects against melanoma cell apoptosis. Thus is launched new therapeutic horizons by inhibition of antiapoptotic proteins such as GRP 78 and MCL-1 (Zhuang L, Scolyer RA, Lee CS, et all., 2009).

In conclusion, LDH correlates with the metastatic process, therapeutic profile and survival in patient with melanoma.

Intrat în redacție: 17.09.2010

Received: 17.09.2010

Bibliografie/Bibliography

1. Anghel A., Nicolae I etc.. - Rolul calciului în fiziologia și patologia melanocitului. *Revista Societății Romane de Dermatologie*, Nr. 5, 2010, 299-312.
2. Balch CM, Buzaid AC, Soong SJ, et al. - Final version of the American Joint Committee on Cancer staging system for cutaneous melanoma. *J Clin Oncol* 2001; 19 :3635-3648.
3. Hersey P, Zhang XD. Adaptation to ER stress as a driver of malignancy and resistance to therapy in human melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res* 2008; 21 :358-367.
4. Jiang CC, Lucas K, Avery-Kiejda KA, et al. - Up-regulation of Mcl-1 is critical for survival of human melanoma cells upon ER stress. *Cancer Res* 2008; 68 :6708-6717.
5. Meral R, Duranyildiz D, Tas F, et al. - Prognostic significance of melanoma inhibiting activity levels in malignant melanoma. *Melanoma Res* 2001; 11 :627-632.
6. Nicolae I., Anghel A., etc. - Aspecte legate de homeostazia calciului în melanomul malign. *Revista Societății Romane de Dermatologie*, Nr. 2, 2009, 115-119.
7. Nicolae I., Anghel A., etc. - Managementul pacienților cu hipercalcemie tumorală. *Revista Societății Romane de Dermatologie*, Nr. 3, 2009, 161-164.
8. Sirott MN, Bajorin DF, Wong GY, et al. - Prognostic factors in patients with metastatic malignant melanoma. A multivariate analysis. *Cancer* 1993; 72:3091-3098.
9. Walenta S, Mueller-Kliese WF. - Lactate: mirror and motor of tumor malignancy. *Semin Radiat Oncol* 2004; 14: 267-274.
10. Zhuang L, Lee CS, Scolyer RA, et al. - Mcl-1, Bcl-XL and Stat3 expression are associated with progression of melanoma whereas Bcl-2, AP-2 and MITF levels decrease during progression of melanoma. *Mod Pathol* 2007; 20: 416-426.
11. Zhuang L, Scolyer RA, Lee CS, et al. - Expression of glucose-regulated stress protein GRP78 is related to progression of melanoma. *Histopathology* 2009; 54 :462-470.

Adresă de corespondență:
Mailing address:

amalia.anghel@yahoo.com