

**T.C
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Mikozis Fungoides Tanısında ve Hasta Prognoz
Öngörüsünde CD30, TOX, PD-1 ve CXCR-4
Antikorlarının Önemi**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. MEHMET ARDA İNAN**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. ÖZLEM ERDEM**

**ANKARA
TEMMUZ 2016**

**T.C
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Mikozis Fungoides Tanısında ve Hasta Prognoz
Öngörüsünde CD30, TOX, PD-1 ve CXCR-4
Antikorlarının Önemi**

UZMANLIK TEZİ

Dr. MEHMET ARDA İNAN

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. ÖZLEM ERDEM

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından SBE-01/2015-59 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA

TEMMUZ 2016

TEŞEKKÜR

Zor ve uzun bir süreç olan tez dönemimde desteğini ve emeğini esirgemeyen tez danışmanım Prof. Dr. Özlem Erdem’e çok teşekkür ederim.

Asistanlığım süresince, patolojiye dair bildikleri yanı sıra dostluklarını ve rehberliklerini esirgemeyen değerli hocalarım; Prof. Dr. Ömer Uluoğlu, Prof. Dr. Leyla Memiş, Prof. Dr. Ayşe Dursun, Prof. Dr. Gülen Akyol, Prof. Dr. Aylar Poyraz, Prof. Dr. Nalan Akyürek, Doç. Dr. İpek Işık Gönül, Doç. Dr. Güldal Esendağlı, Doç. Dr. Pınar Uyar Göçün ve Yrd. Doç. Dr. Özgür Ekinci’ye minnettarlığı bir borç bilirim.

Daima birlikte çalışmaktan gurur duyduğum araştırma görevlisi arkadaşlarıma, mesai arkadaşlarımız tüm laboratuvar, arşiv ve sekreterlik personeline, eşim Melis Altuğ İnan’a, aileme ve tıbbiyeli olmamı sağlayan amcam Prof. Dr. Levent Ertuğrul İnan’a en içten sevgilerimi ve saygılarımı sunarım.

Dr. Mehmet Arda İnan

Ankara, 2016

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ŞEKİLLER	v
RESİMLER	vi
TABLolar.....	vii
GRAFİKLER.....	viii
KISALTMALAR	ix
1 GİRİŞ.....	1
2 GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Derinin İnflamatuvar Hücresi Olarak Lenfosit.....	3
2.2 Tanım.....	4
2.3 Epidemiyoloji ve Etiyoloji.....	11
2.4 Etyopatogenez.....	12
2.5 İmmünohistokimya	16
2.6 Klinik	18
2.7 Evreleme ve Derecelendirme.....	18
2.8 Prognostik Faktörler	21
2.9 Tedavi	23
2.10 CD30.....	23

2.11	PD-1.....	24
2.12	CXCR-4.....	24
2.13	TOX.....	25
3	GEREÇ ve YÖNTEM.....	26
3.1	Olguların Seçilmesi.....	26
3.2	Morfolojik Parametreler.....	26
3.3	İmmünohistokimyasal Boyama.....	27
3.3.1	CD30.....	27
3.3.2	PD-1.....	27
3.3.3	CXCR-4.....	27
3.3.4	TOX.....	28
3.3.5	CD3, CD4 ve CD8.....	28
3.3.6	İmmünohistokimyasal Streptavidin- Biotin Boyama Yöntemi:.....	28
3.3.7	İmmünohistokimyasal Boyanmanın Değerlendirilmesi:.....	31
3.4	İstatistiksel İnceleme.....	34
4	BULGULAR.....	35
4.1	Seçilen Hastaların Lezyon, Demografik ve Parametrik Özellikleri.....	35
4.2	İmmünohistokimyasal Bulgular.....	39
4.2.1	CD30.....	39
4.2.2	PD-1.....	41

4.2.3	TOX ve CXCR-4.....	43
5	TARTIŞMA.....	44
7	SONUÇLAR	49
8	ÖZET	50
9	SUMMARY	51
10	KAYNAKLAR.....	52

ŞEKİLLER

Şekil 1: MF Patogenezinde Etkili Faktörler.	14
Şekil 2: Kemokin reseptörlerinin MF'deki yeri	14
Şekil 3: Kutanöz T hücreli lenfomalarındaki önemli moleküller	15



RESİMLER

Resim 1: Yoğun dermal ve intraepidermal komponent içeren atipik lenfositik infiltrasyonu.....	5
Resim 2: Küçük-orta büyüklükte, atipik "Serebriform" nükleuslu lenfositler (Kesikli oklar).....	9
Resim 3: Epidermotropizm gösteren atipik lenfositler (Kesikli oklar) ve Pautrier'in mikroabsesi (Kalın ok).	10
Resim 4: MF T lenfositlerinde CD4 ekspresyonu.....	17
Resim 5: MF T lenfositlerinde CD8 ekspresyonu.....	17
Resim 6: Tonsil foliküllerinde TOX-1 nükleer ekspresyonu	32
Resim 7: Kemik iliğinde sitoplazmik CXCR-4 ekspresyonu.....	32
Resim 8: Tonsil folikülünde sitoplazmik PD-1 ekspresyonu.....	33
Resim 9: Hodgkin Lenfoma'da CD30 membranöz ekspresyonu.....	33
Resim 10: CD30 eksprese eden atipik lenfositler. Sağ alt köşesinde büyük büyütme (x400) görüntüsü.	40
Resim 11: Dermiste PD-1 eksprese eden lenfositler	42

TABLÖLAR

Tablo 1: Erken mikozis fungoideste histopatolojik tanı kriterleri.....	6
Tablo 2: ISCL Erken Dönem MF Tanı Algoritması	8
Tablo 3: MF'nin ISCL/EORTC tarafından revize edilmiş klinik evrelendirmesi (16).	20
Tablo 4: TNMB Evrelemesine göre hasta sağkalım ortalamaları (20).	22

GRAFİKLER

Grafik 1: Hasta cinsiyet dağılımı.....	38
Grafik 2: Hasta yaş dağılımı.....	38
Grafik 3: CD30 Eksprese eden biyopsilerin dağılımı.	39
Grafik 4: PD-1 Eksprese eden biyopsilerin dağılımı.....	41



KISALTMALAR

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

AD: Anabilim Dalı

AEC: 3-amino-9Ethylcarbazole

CD: Cluster of Differentiation

CLA: Cutaneous Lymphoid Antigen

DAB: 3,3'-diaminobenzidinin

DBBHL: Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma

ELAM: Endothelial Leukocyte Adhesion Molecule

EORTC: European Organisation for Research and Treatment of Cancer

GÜTF: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi

H&E: Hematoksilen & Eozin

Ig: İmmünglobülin

IL: İnterlökin

INF: İnterferon

ISCL: International Society of Cutaneous Lymphoma

İHK: İmmünohistokimya

CLiPi: Kutanöz Lenfoma İnternasyonal Prognostik indeksi

KTHL: Kutanöz T Hücreli Lenfoma

LDH: Laktat Dehidrogenaz

MF: Mikozis Fungoides

PBS: Phosphate Buffer Saline

PTHL: Periferik T Hücreli Lenfoma

PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

SDF: Stromal cell-Derived Factor

SS: Sezary Sendromu

TCR: T Hücresi Reseptörü

Th1: Tip 1 Yardımcı T Hücresi

TİA: T-hücreli intraselüler antijeni

TMNB: Tumor Node Metastasis Blood

1 GİRİŞ

Mikozis fungoides (MF) kutanöz lenfomalar içerisinde, yaklaşık %50'lik oranı ile en sık görülen primer kutanöz lenfoma türüdür. Hodgkin dışı lenfoma türleri içerisinde ise %4'lük bir oranı oluşturur. Küçük/orta boyda, epidermotropik yardımcı T lenfositlerden oluşan bir tümör olarak tanımlanır. Amerika Birleşik Devletlerinde milyonda 9,6 insidansa sahip olan MF, beyaz ırkta diğer ırklara göre yaklaşık iki kat fazla görülmektedir. MF; lenfomatoid papulosis, anaplastik büyük hücreli lenfoma ve Hodgkin lenfoma gibi diğer hematolojik hastalıklarla birliktelik gösterebilir. Bu hastalıklar MF'den önce, onunla birlikte veya sonra gelişebilir. Bunun dışında MF, T veya B hücreli diğer Hodgkin dışı lenfomalarla da birlikte olabileceği gibi; MF'li hastalarda lenfomalar dışında diğer kanserlerin insidansında da artış olduğu bildirilmektedir (1, 2).

MF lezyonları klinik olarak yama şeklinde başlayıp plak ve tümör evrelerine progresyon gösterir. Özellikle yama evresinde klinik tanı zor olup ayırıcı tanıda birçok benign inflamatuvar dermatoz (kronik ekzema, psoriasis, pitriasis likenoides kronika gibi) yer alır. Klinik zorluklar yanı sıra erken evre lezyonların histopatolojik tanısı da zor olabilir; bir çok olguda ilk biyopsiler karakteristik bulguları içermeyip (epidermotropik serebriform lenfositler, Pautrier mikroabseleri gibi) spesifik olmayan değişiklikler gösterir. Özellikle erken dönemde deri biyopsilerinde izlenen infiltrat küçük lenfositlerden oluşmakta olup reaktif bir olaydan ayırım çok zor olabilir. Uygulanan ampirik kortikosteroid tedaviler tablonun biraz daha silinmesine neden olmakta ve doğru tanı bazen

yıllarca gecikmektedir. Günümüzde hem erken MF lezyonlarında hem de diğer benign inflamatuvar dermatozlarda bulunan reaktif T lenfositleri malign T lenfositlerden ayıran pozitif tümör belirleyicisi bulunmamaktadır. Ancak bazı belirleyicilerin kaybı ya da ekspresyonlarının azalması özellikle histopatolojik olarak tanı koymada destekleyici olarak kullanılmaktadır.

Bu çalışmada Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı alan ve Dermatoloji kliniğinde takipleri olan mikozis fungoides olgularında; rutin incelemelerde kullanılan CD3,CD4 ve CD8 ekspresyonları ile; erken dönem lezyonlarda tanı koymada daha spesifik bir belirteç olduğu bildirilen TOX ekspresyonunun karşılaştırılması yanı sıra erken dönem lezyonlarda CD 30 ekspresyonunun prognoz ile ilişkisi ve progresyonunda etkisi olduğu düşünülen CXCR4 ve PD-1 ekspresyonlarının erken dönemlerde immünohistokimyasal ekspresyonlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2 GENEL BİLGİLER

2.1 Derinin İnflamatuvar Hücresi Olarak Lenfosit

Deri vücudumuzun antijenlere ve patojenlere karşı ilk bariyerini oluşturmaktadır. Bu bariyer yapısı mekanik özelliklerini keratin sayesinde yerine getirirken, hücresel elemanlar olan lenfositler patojenlere karşı immün cevapta etkin rol oynamaktadırlar. 1978 yılında bunu ilk ortaya koyan Streilen'dir. Deri ile ilişkili lenfoid doku [Skin-Associated Lymphoid Tissue (SALT)] terimini bulan da o olmuştur (3). Deride mevcut T ve B lenfositler dendritik hücrelerin kontrolünde olup, onların hedef gösterdiği antijenlere karşı rol almaktadırlar. Dendritik hücreler yabancı antijenlerin yanı sıra, vücudun kendi antijenlerine karşı olan aktivitesini önlemekten de sorumludur (4).

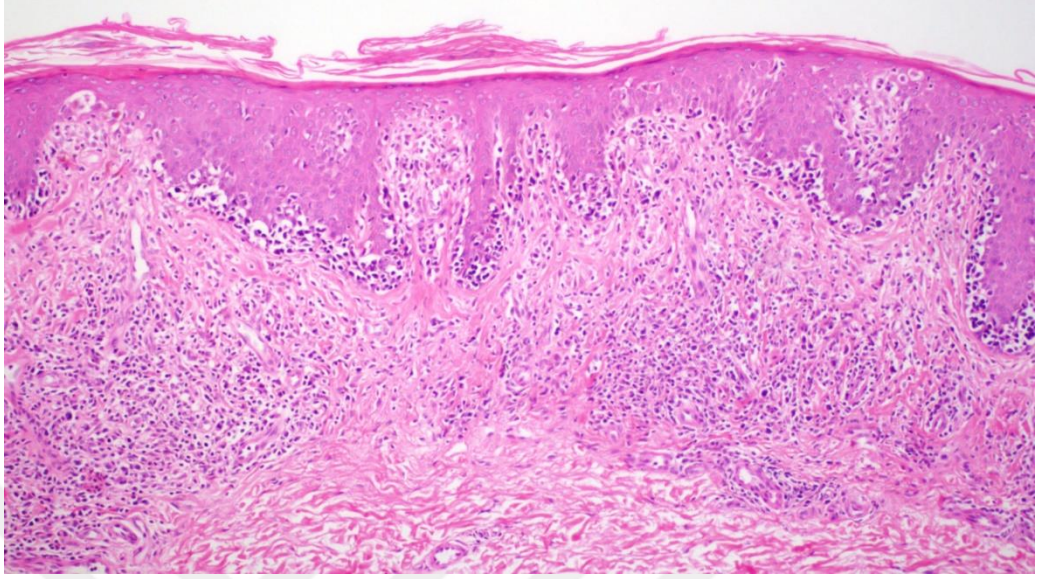
T Lenfositlerin antijen reseptörleri, antijenleri birer antijen-sunucu protein ve buna bağlı makromolekül fragmanı olarak antijen sunucu hücrelerin üzerinde tanılırlar. Bu antijen sunucu hücre yüzey proteinleri Sınıf I (HLA-A, B ve C) ve Sınıf II (HLA-D) majör doku uygunluk kompleksi molekülleridir. Bu proteinler, peptit yapısındaki antijenleri CD8+ ve CD4+ T hücrelere bağlar. CD1 molekülü de buna benzer biçimde peptit olmayan antijenleri farklı alt grup T hücrelerine bağlar. T hücre antijen reseptörleri α/β ya da γ/δ zincirlerinden oluşan heterodimerik protein yapılarıdır. T hücre antijen reseptörlerini kontrol eden genler intratimik diferansiasyon sürecinde rekombine olarak sonsuz bir T-hücre reseptör repertuarı oluşmasını sağlarlar. Bu sonsuz rekombinasyon yeteneği

doğadaki her peptit yapıda antijene karşı bir reseptör geliştirilmesine yardımcı olmaktadır.

Bazı bellek T hücreleri antijenle tanıştığı anatomik bölgeyi hatırlama kapasitesine sahip olup, periferik kan yoluyla sirkülasyona katılma yeteneğine sahiptir. Bellek T hücrelerinin bu yeteneğe sahip olanları kutanöz lenfosit antijeni (CLA) sayesinde tanınırlar. CLA pozitif T hücreler lenf nodunda üretilir ve inflamasyon sırasında deriye tekrar çağırılırlar. İşte bu CLA pozitif bellek T hücreleri, kutanöz T hücreli lenfomalarındaki başrol oyuncularıdır (5).

2.2 Tanım

Primer kutanöz lenfomalar heterojen bir grup olup, hem T hem B hücreli lenfomaları içerdiğinden, geçmişten bugüne tanı ve sınıflandırması zor antitelerden oluşan bir hastalık grubu olmuştur. Bu grubun içerisinde yer alan MF'ye, Fransız dermatolog Alibert, 1806 yılında tropik bir enfeksiyon hastalığı olan Frambezi veya halk arasında bilinen adıyla “Verem Dutu”na benzerliği nedeniyle “Pian Fungoide” ismini vermiştir. 1835 yılına gelindiğinde Alibert, bu hastalığın mantar benzeri lezyonlarına ithafen “Mycosis Fungoides” terimini ortaya atmıştır. 20.yy sonlarında klinik olarak plak, yama ve tümör olmak üzere 3 klasik evresi olduğu anlaşılan ve çeşitli varyantları olduğu kabul edilen MF hastalığında ortak olan bulgu, T hücre membran proteinlerine sahip hücrelerin deriyi infiltre etmesidir (1). Bu infiltrasyon dermal kollajenden başlayıp epidermis en üst tabakalarına kadar ilerleyebilir (Resim 1).



Resim 1: Yoğun dermal ve intraepidermal komponent içeren atipik lenfositik infiltrasyonu.

MF T lenfositleri küçük-orta büyüklükte olup, pleomorfik nükleuslarla karakterlidir. Bu pleomorfik nükleuslar zaman zaman “serebriform” olarak isimlendirilir (Resim 2). Epidermotropizm yani epidermise doğru yönelim gösteren bu lenfositler, MF’nin başlıca morfolojik görünümünü oluşturur (Resim 3). MF hastalığının karakteristik özelliği olarak klasik kitaplara geçen Pautrier’in mikroapseleri, intraepidermal bir lenfosit koleksiyonu olup, yama evresindeki vakaların ancak küçük bir oranında görülebilmektedir (Resim 3) (6).

Erken MF tanısı için kesin histopatolojik kriterler tanımlanmış olmakla birlikte birçok olguda kesin tanı hastalığın klinik özellikleri ile dikkatli korelasyon yapıldıktan sonra konulabilmektedir. Özellikle farklı tipte lokal tedaviler uygulandıktan sonra alınan biyopsilerde lezyonun histopatolojik özelliklerinde değişmeye bağlı olarak tanı zorlukları yaşanmaktadır. Genel bir kural olarak;

morfolojik olarak farklı lezyonlardan, birden fazla biyopsi alınması önerilmektedir. Eğer tekrar biyopsi gerekirse, 2 hafta süreyle lokal tedavi uygulaması kesilerek, sonrasında rekürren lezyondan biyopsi alınması genellikle uygulanan yöntemdir (7).

MF'nin erken lezyonlarında, olguların çoğunda, genişlemiş papiller dermiste yama tarzında likenoid veya bant tarzında infiltrat görülür. Epidermis normal, hiperplastik veya atrofik olabilir. Küçük lenfositler baskın olup atipik lenfositler olguların azında görülebilir. Epidermotropizm gösteren tek lenfositler sık görülmekle birlikte Pautrier mikroabseleri nadirdir. Tanısal ipuçları arasında; üst dermiste bulunan lenfositlerden hafifçe daha büyük nükleuslu epidermotropik lenfositler, halo içeren atipik lenfositler, epidermis bazal tabakası boyunca dizilim gösteren lenfositler (baziller epidermotropizm) ve birçok intraepidermal lenfositin belirgin spongiöz olmaksızın varlığı (disproportionate epidermotropism) yer almaktadır. Papiller dermis orta- belirgin fibrozis ve bant gibi ya da yama tarzında likenoid lenfositik infiltrasyon içerir. İnflamatuar hücreler arasında eozinofil bulunabilir (Tablo 1).

Tablo 1: Erken mikozis fungoideste histopatolojik tanı kriterleri.

EPİDERMİS
İntraepidermal lenfosit toplulukları (Pautrier mikroabseleri)
Dermoepidermal bileşke boyunca dizilen lenfositler
Dermisdeki lenfositlerden daha büyük intraepidermal lenfositler
Halolu nükleuslu intraepidermal lenfositler
Hafif spongiözün eşlik ettiği epidermotropik lenfositler (disproportionate epidermotropizm)
DERMİS
Hafif fibrozis ve kaba kollajen demetlerle genişlemiş papiller dermis
Bant benzeri veya yama tarzında likenoid lenfosit infiltrasyonu

MF'nin ileri evrelerinde birçok büyük hücre (immünoblastlar, büyük pleomorfik hücreler veya büyük anaplastik hücreler) içeren lezyonlar gelişebilir. MF'de büyük hücre transformasyonu, infiltratın %25'den fazlasını oluşturan büyük hücrelerin veya mikroskopik nodül yapan büyük hücrelerin varlığı ile tanımlanır. Tümör evresindeki hastaların %50'sinde büyük hücre transformasyonu saptanır. Plak ve son derece nadir olarak da yama evresindeki lezyonlarda büyük hücreler görülmekle birlikte bu hastalarda genellikle başka bir bölgede eşlik eden tümör ya da plaklar vardır.

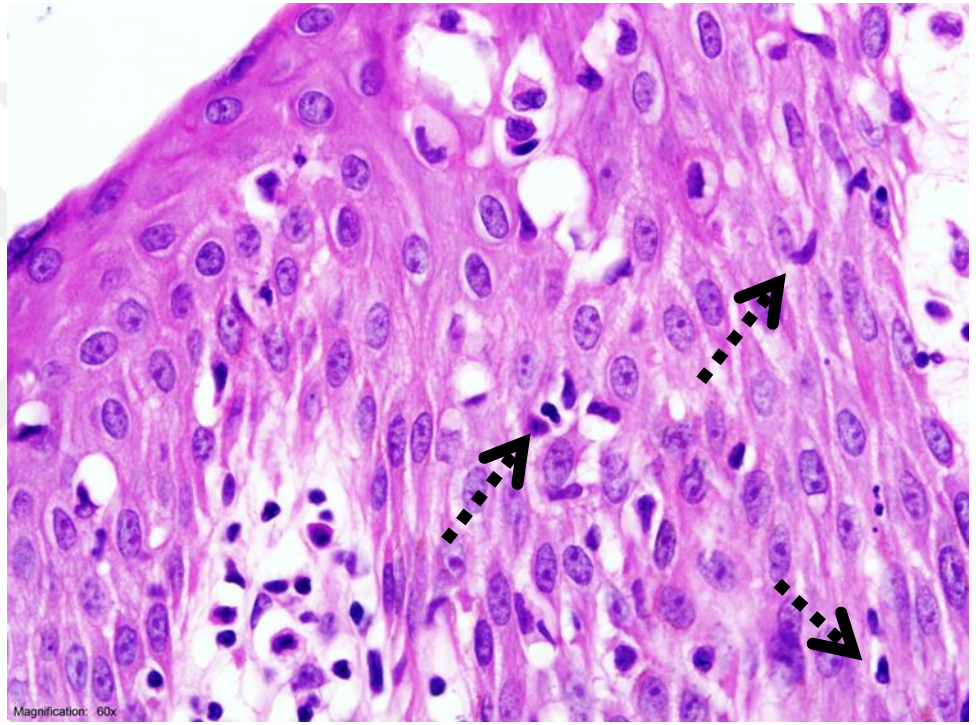
Büyük hücre morfolojisi gösteren tümörlerin CD30 ekspresyonu değişkendir. Transforme MF'lerde CD30 negatifliğinin kötü prognozla ilişkili olduğu bildirilmektedir (7).

Histolojik görünümün her zaman tanısal bulguları içermemesi nedeni ile International Society for Cutaneous Lymphomas (ISCL) 2005 yılında bir algoritma hazırlayarak puanlama üzerinden erken evre MF vakalarında tanı vermeyi kolaylaştırmaya çalışmıştır. Tablo 2'de bu puanlama sistemi görülmektedir. Bu tabloya göre 4 ve üzerinde puan alan hastaların, MF olarak kabul edilmesi önerilmektedir (8).

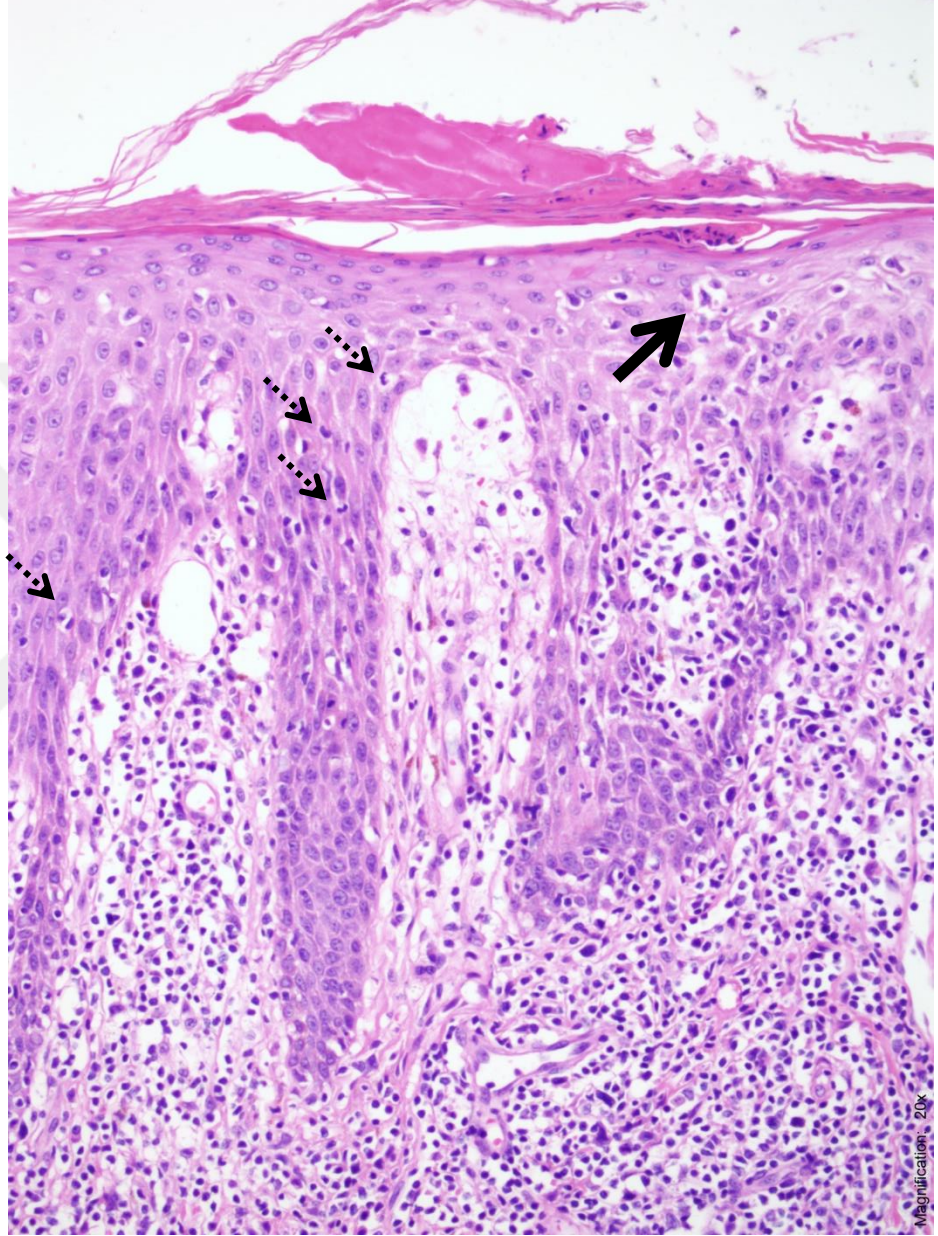
Çoğu olguda MF tanısı karmaşık skorlama sistemleri ve algoritmalara gerek kalmadan doğru klinikopatolojik korelasyon ile koyulabilmektedir.

Tablo 2: ISCL Erken Dönem MF Tanı Algoritması

Kriterler	Skorlama Sistemi
Klinik	
<i>Temel Kriter</i>	Temel kriter ve iki ek kriter için 2 puan
Persistan ve/veya progresif yama / ince plak	Temel kriter ve bir ek kriter için 1 puan
<i>Ek Kriterler</i>	
1) Güneş görmeyen lokalizasyon	
2) Büyüklük ve şekil farklılığı	
3) Poikiloderma	
Histopatoloji	
<i>Temel Kriter</i>	Temel kriter ve iki ek kriter için 2 puan
Süperfisyal lenfoid infiltrat	Temel kriter ve bir ek kriter için 1 puan
<i>Ek Kriterler</i>	
1) Spongios olmadan epidermotropizm	
2) Lenfoid atipi	
Moleküler Biyolojik Testler	
1) Klonal TCR gen rearanjmanı	Klonalite için 1 puan
İmmünopatolojik Testler	
1) <50% CD2+, CD3+, ve/veya CD5+ T hücreleri	Bir veya daha fazla kriter için 1 puan
2) <10% CD7+ T hücreleri	
3) Epidermal/dermal infiltratta CD2, CD3, CD5 veya CD7 uyumsuzluğu	



Resim 2: Küçük-orta büyüklükte, atipik "serebriform" nükleuslu lenfositler (Kesikli oklar)



Resim 3: Epidermotropizm gösteren atipik lenfositler (Kesikli oklar) ve Pautrier'in mikroabsesi (Kalın ok).

2.3 Epidemiyoloji ve Etiyoloji

Klasik MF, kutanöz T hücreli lenfomaların en sık görülen tipi olup, Hodgkin dışı lenfomaların %4'ünü oluşturmaktadır. KTHL'ların yaklaşık %53'ü MF ve Sezary Sendromudur (SS) (9). Amerika Birleşik Devletleri (ABD) verilerine göre bir önceki on yıla göre artışın aşikâr olduğu izlenirken, MF'nin yıllık insidansı milyonda 9,6'dır. Hastaların çoğunluğu 55-60 yaş arasında olup, erkeklerin 2:1 oranında baskın olduğu da görülmektedir. Her ne kadar yaşı daha ileri hastalarda beklense de çocukluk ve ergenlik döneminde de MF görülebilmektedir. Hastaların büyük çoğunluğunu (yaklaşık 2/3'ünü) beyaz ırk oluştururken, sıralama siyahi, latin ve asya kökenli şeklinde azalarak devam etmektedir (1).

MF etiyojisi tam olarak açığa çıkartılamamış olmakla birlikte çeşitli hipotezler mevcuttur. Bu hipotezlerden bazıları ailevi geçişin de desteği ve genetik mekanizmaların ortaya konmasıyla genetik bozuklukların ön planda olduğunu savunur. Uzun süreler boyunca maruz kalınmış çevresel etkenlerin MF etiyojisinde yer alabileceği de çok uzun yıllardan beri düşünülmektedir. CMV seropozitivitesi MF hastalarında yüksek sıklıkta görülen bir bulgu olup, MF patogenezinde rolü olabileceği araştırılmaktadır (6).

2.4 Etyopatogenez

Patogenezde 3 temel nokta üzerinde durulmaktadır (Şekil 1);

2.4.1.1 Derinin mikroçevre koşulları:

MF'in kronik inflamasyon zemininde geliştiğine dair bir fikir mevcuttur. İnflamatuvar zemini oluşturan hücreler; antijen sunmakla görevli dendritik hücrelerin yanı sıra reaktif T hücreleri, makrofajlar, mast hücreleri ve plazma hücrelerinden de oluşmaktadır. Erken MF lezyonlarında, dendritik hücrelerin toplanması ve belki de anti-tümöral cevap olarak ortamda çok sayıda reaktif CD8 (+) sitotoksik T lenfositin varlığı izlenmektedir. İleri MF lezyonlarında ise MF hücrelerinin regülatör ve sitotoksik T hücresi fenotipi göstermeleri, immün cevapta azalmaya ve çevre inflamatuvar hücrelerin apoptozisine neden olmaktadır (10).

2.4.1.2 Epidermotropizm gösteren malign T hücrelerinin sahip olduğu kemokinler, sitokinler ve adhezyon molekülleri:

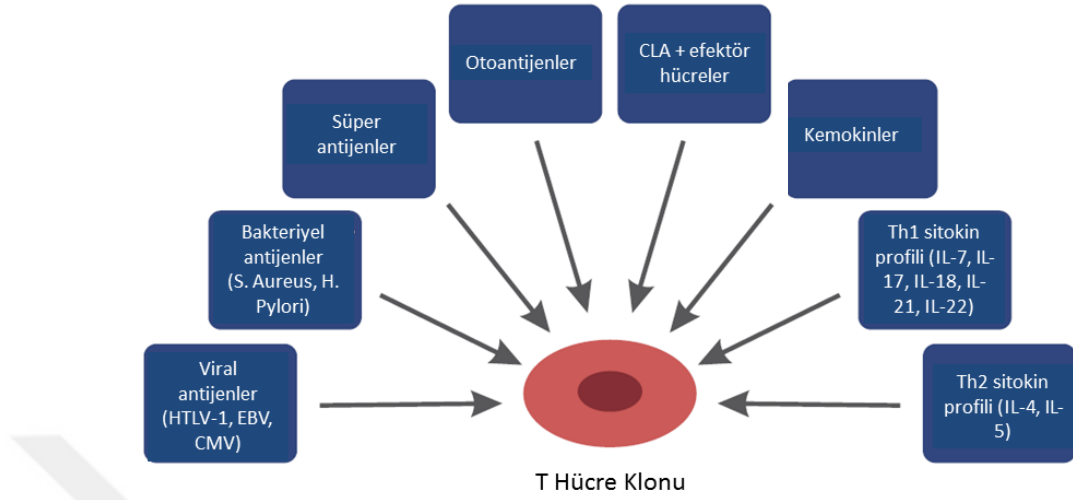
MF'ye dair önceden yapılan çalışmalar göstermiştir ki MF hücreleri neredeyse her zaman CD4 fenotipi göstermektedirler ve yine neredeyse her zaman hücre yüzeylerindeki CLA'larda artış mevcuttur. CLA'nın endotel üzerindeki ligandı, endotelyal lökosit adhezyon molekülü (ELAM)-1'dir. ELAM-1, papiller dermisteki endotel hücrelerinin yüzeyinde mevcuttur ve MF hücrelerinin CLA ekspresyon artışı, bu hücrelerin dermal endotele bağlanmaları ve deriye disemine olmalarında etkindir. CLA pozitif MF hücreleri hafıza belirteçleri olan CD45RO gibi molekülleri üreterek yardımcı T hücrelerinin klonal artışına neden

olmaktadır. Lezyon T hücreleri, B7 ve CD40 gibi antijen sunucu hücre belirteçleri üreterek otokrin bir stimülatör etki yaratırlar (1). MF’de görülen, deriye yerleşmiş malign T hücreleri CCR4 ve CCR10 kemokin reseptörlerini eksprese ederler. Bu reseptörler de CLA’lar gibi endotel hücrelerine, keratinositlere ve/veya Langerhans hücrelerine bağlanarak dermise ve epidermise migrasyonda etkilidirler (Şekil 2)(9).

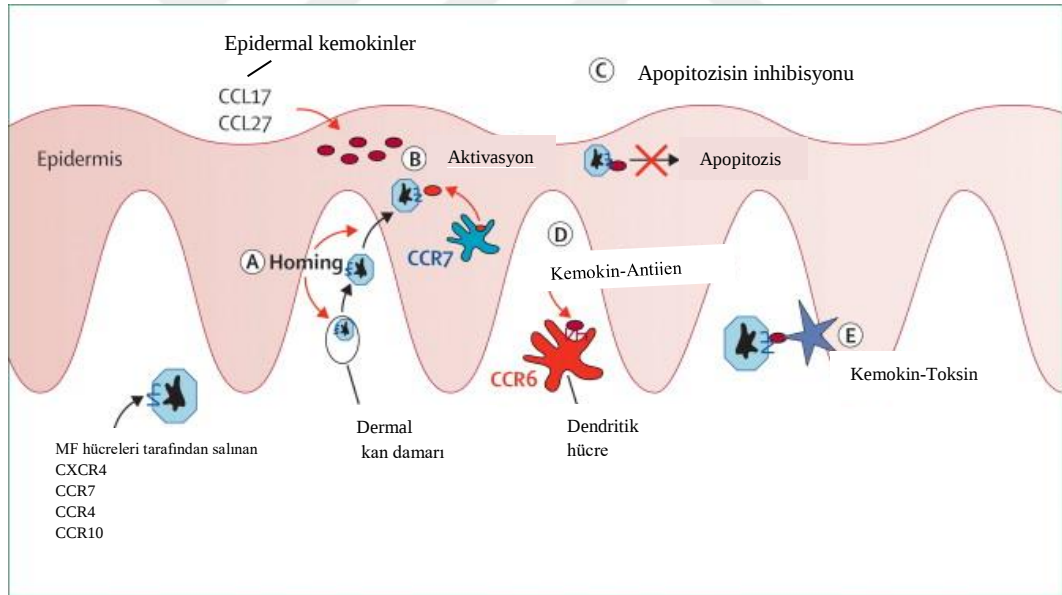
2.4.1.3 Erken evre ve ileri evre MF’de farklı sitokinlerin ve T hücre alt tiplerinin görev alması:

Erken evre MF’de interlökin (IL) 2, IL-12 ve interferon (INF) γ eksprese eden Th1 sitokin profili izlenmektedir. İleri evre MF’de ise Th1’den, Th2’ye doğru profil değişikliği olur. IL-4, IL-5, IL-10 ve IL-13 Th2’lerden salınan sitokinlerdir. İleri evre MF’de görülen Th2 yönündeki kayma IL-4 ve IL-13’ün artması ile sonuçlanır. Bu sitokinler Th1 hücre cevabını baskılamaktadır. Diğer Th2 sitokinleri ile birlikte de periferik eozinofili, kanda yükselmiş immünglobülin (Ig) E düzeyi, eritrodermi ve immünsüpresyon ile ilişkilidir. Özellikle SS hastalarında bu immünsüpresyona bağlı sekonder bakteriyel enfeksiyonlara rastlanabilmektedir (10).

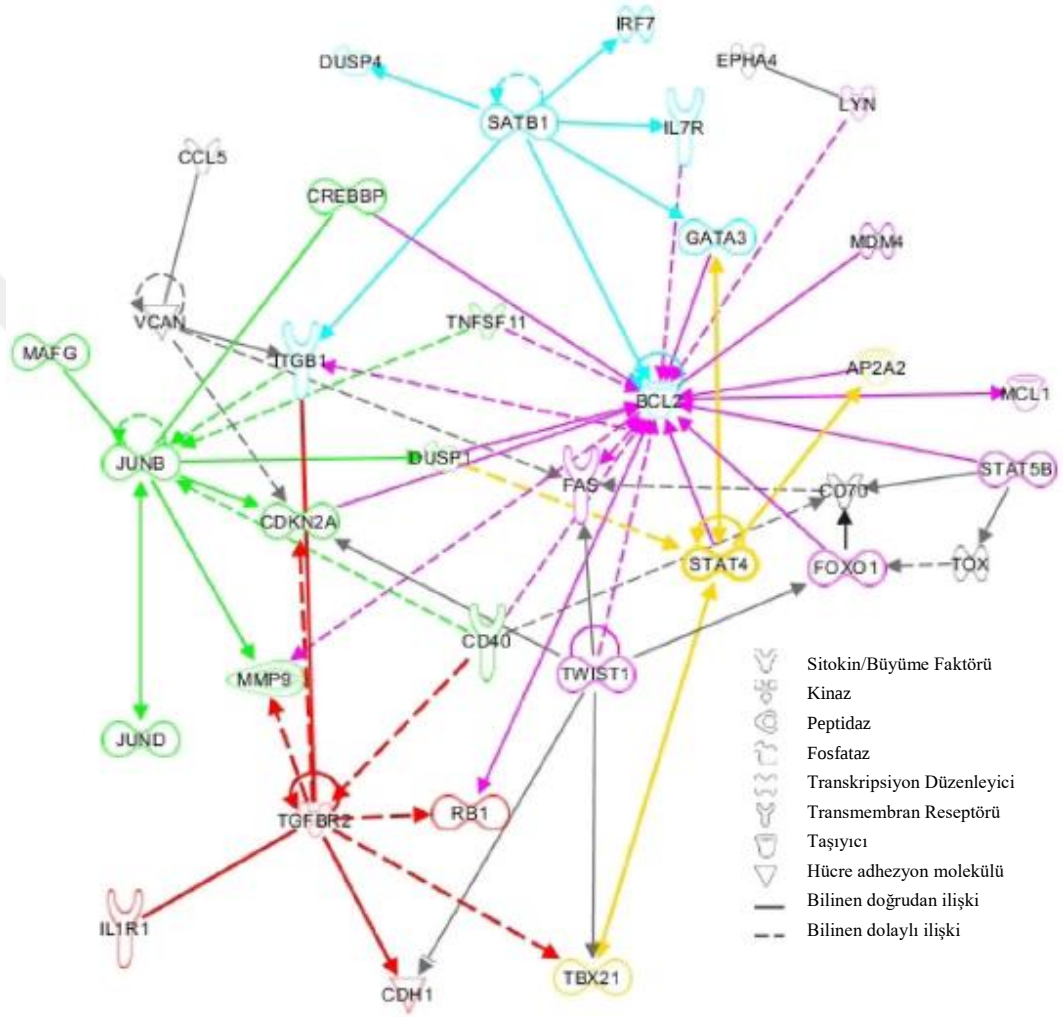
Şekil 3’de izlenen önemli genlerin ekspresyonlarının aberrant azalması ya da artması kutanöz T hücreli lenfoma hücrelerinin aktivasyonla indüklenen hücre ölümü ve apoptozisinin azalmasına, hücre motilitesi ve çoğalmasının artmasına, Th2 yönünde diferansiasyonun ve immün aktivasyonun artışına neden olmaktadır (11).



Şekil 1: MF Patogenezinde Etkili Faktörler (12).



Şekil 2: Kemokin reseptörlerinin MF'deki yeri (13). (A) Epidermise göç, yerleşme [Homing] (B) Antijen sunucu hücreler aracılığı ile aktivasyon (C) PI3K ve Akt aracılığı ile apoptozisin engellenmesi (D) Kemokin-Antijen füzyon proteinlerinin dendritik hücreler tarafından tanınması ve antitümöral aktivite başlangıcı (E) Kemokin-Toksin molekülleri sayesinde MF hücrelerinin doğrudan öldürülmesi



Şekil 3: Kutanöz T hücreli lenfomalarındaki önemli moleküller (11).

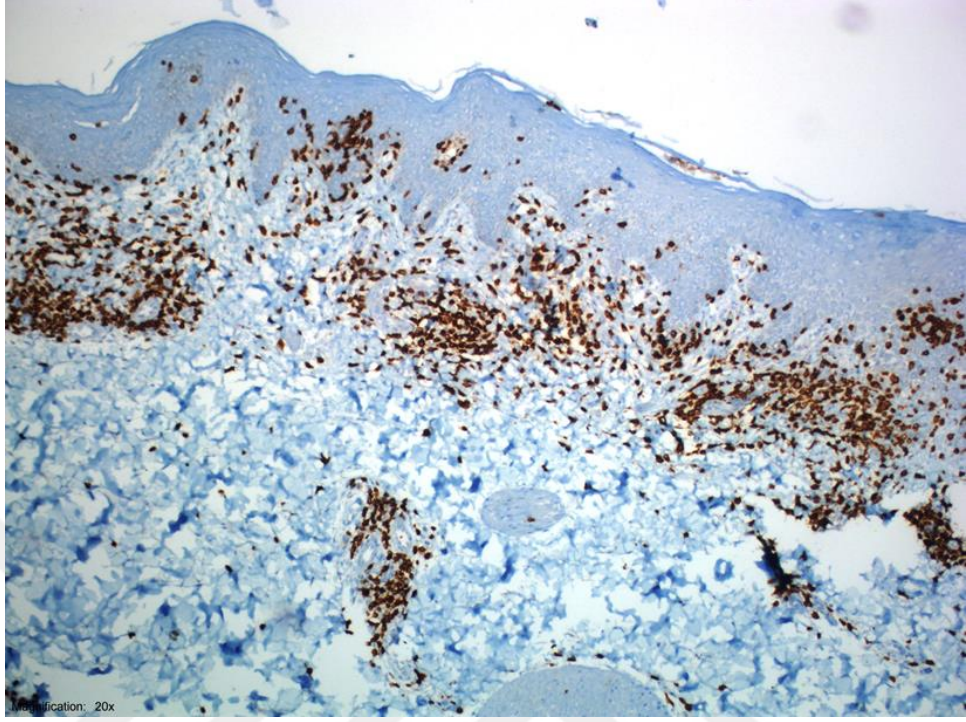
2.5 İmmünohistokimya

Mikozis fungoides α/β T-yardımcı hafıza lenfositlerin infiltrasyonu ile karakterlidir ($\beta F1^+$, $TCR\gamma^+$, $CD3^+$, $CD4^+$, $CD5^+$, $CD8^+$, $CD45Ro^+$, $TIA-1^+$). Olguların azı sitotoksik T hücre fenotipi ($\beta F1^+$, $TCR\gamma^+$, $CD3^+$, $CD4^+$, $CD5^+$, $CD8^+$, $TIA-1^+$) veya γ/δ T hücre fenotipi ($\beta F1^+$, $TCR\gamma^+$, $CD3^+$, $CD4^+$, $CD5^+$, $CD8^+$, $TIA-1^+$) gösterir ancak bunun klinik ve/veya prognostik önemi olmadığı bildirilmektedir (Resim 4 ve Resim 5) (14).

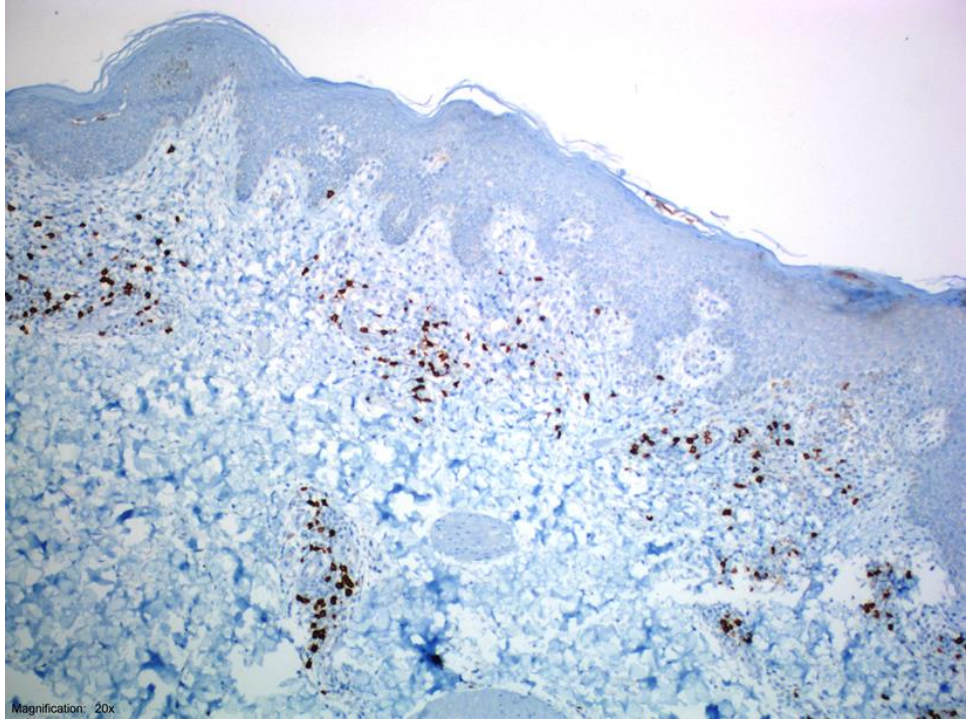
Hastalığın ileri evrelerinde pan-T hücre antijenlerinde (kısmen) ($CD2$, $CD3$, $CD5$) ve/veya $CD4/CD8$ ekspresyonunda kayıp olabilir. Pan-T hücre belirteçlerinde kayıp MF tanısı için yardımcı bir bulgu olsa da hastalığın erken lezyonlarında çok nadirdir. Nadiren erken mikozis fungoides aberrant $CD4^+/CD8^+$ ya da $CD4^+/CD8^+$ fenotipi gösterebilir.

Sitotoksik fenotip gösteren olgular dışında T-hücresi intraselüler antijeni ($TIA-1$), granzim B ve perforin gibi sitotoksik belirleyiciler MF'de negatiftir. Tümör evresinde konvansiyonel Th fenotipi gösteren olgularda, $TIA-1$ pozitifliği olabileceği bildirilmektedir. $CD56$, sitotoksik fenotip gösteren olgularda pozitif iken konvansiyonel $CD4^+$ MF olgularında nadiren pozitifdir.

Çok nadir olarak aberrant B hücre antijeni $CD20$, neoplastik T hücrelerden eksprese edilebilir. Özellikle büyük hücre transformasyonu olan olgularda aberrant ekspresyon sıklığı artmaktadır. Bu gibi olgularda $CD79a$, $PAX-5$ gibi diğer B hücre belirteçlerinin negatif, T hücre belirteçlerinin pozitif olması MF tanısını destekleyen bulgulardır (7).



Resim 4: MF T lenfositlerinde CD4 ekspresyonu.



Resim 5: MF T lenfositlerinde CD8 ekspresyonu.

2.6 Klinik

MF erken döneminde, kabarık olmayan, yama ve plak şeklinde eritematöz deri lezyonları gözlenir ve bu dönem yıllarca sürebilir. Lezyonlar, güneş görmeyen alanlarda daha sık olmakla birlikte keskin sınırlıdırlar ve benign bir inflamatuvar dermatozu taklit ederler. İlerleyen dönemde MF hücreleri tabakalar oluşturmaya başlar ve kalın plaklar ve/veya tümör haline gelmiş lezyonlar oluştururlar. Bu lezyonlar daha geniş deri yüzeylerine yayılır.

İleri evre MF vakalarında lenf bezlerine, periferik kana ve iç organlara disseminasyon görülebilir. Periferik kana çıkış, lösemik form MF olarak isimlendirilir. Sezary Sendromu (SS), de-novo gelişen; lösemik form MF'den ayrı bir hastalık olarak düşünülmektedir. SS günümüzde, prognozu daha kötü seyreden, santral hafıza T hücrelerinden gelişen, farklı bir periferik T hücreli lenfoma olarak sınıflandırılmaktadır (15).

2.7 Evreleme ve Derecelendirme

Evrelendirmede kullanılan TNMB (Tumor, node, metastasis, blood) evreleme sistemi 2007 yılında ISCL (International Society of Cutaneous Lymphoma) ve EORTC (European Organisation for Research and Treatment of Cancer) tarafından revize edilerek ortaya konmuştur (Tablo 3) (16). Sadece yama veya plak şeklinde lezyonu olan hastalar Evre I'dir. Evre I hastalar lezyonun tüm vücut derisindeki dağılım oranına göre tekrar ikiye ayrılır. Deri yüzeyinin; %10'undan azı tutulmuşsa veya T1 ise Evre IA, %10'undan fazlası tutulmuşsa veya T2 ise Evre IB olarak değerlendirilir. Vücut yüzey oranı tahmininde pratik

yaklaşım, el ayasının vücut yüzeyinin yaklaşık %1'ini oluşturduğu bilgisinden hareketle yapılabilir.

Günümüz evreleme ve tanı algoritmalarında lenf bezi örnekleme rutin değildir ancak anormal bir lenf bezi saptanması durumunda bu bezin, tamamıyla eksizyonunun patolojik incelemesi önerilir. Anormal lenf bezleri çap olarak 1,5cm'den büyük boyutta, etrafa yapışık ve sert olarak ele gelen kitle şeklinde tarif edilebilir. Lenf bezi tutulumunu patolojik olarak evrelendiren iki sistem mevcuttur. Birincisi Hollanda Sistemi, büyük serebriform çekirdekli ($>7,5\mu\text{m}$) hücrelerin lenf bezinin ne kadarını tuttuğu ile belirlenir. İkincisi NCI-VA Sistemi, atipik lenfositlerin miktarı ve lenf bezinin ne kadarını tuttuğu ile belirlenir. Yama veya plak evresinde lezyonları olan ve yapısını korumuş ancak anormal lenf bezi bulunduran hastalar evre IIA kabul edilir.

Lezyonları tümör şeklinde olan (T3), eritrodermik (T4), parsiyel veya komplet anormal lenf bezi tutulumu olan (N3), organ metastazı olan (M1) veya lösemik infiltrasyon görülen (B2) hastalar, “ileri evre” hastalarıdır (17).

Tablo 3: MF'in ISCL/EORTC tarafından revize edilmiş klinik evrelendirmesi (16).

TNMB Evresi	
Deri	
T1	Derinin %10'undan <u>azını</u> tutan sınırlı yama, papül ya da plak
T1a	Sadece yama lezyonu
T1b	Plak +/- yama lezyonu
T2	Derinin %10'undan <u>fazlasını</u> tutan sınırlı yama, papül ya da plak
T2a	Sadece yama lezyonu
T2b	Plak +/- yama lezyonu
T3	Bir veya birden fazla tümör (Çapı en az 1cm veya üzerinde)
T4	Vücut yüzeyinin %80'den fazlasını kaplayan eritem
Lenf Bezi	
N0	Anormal lenf bezi yok / Biyopsiye gerek yok
N1	Klinik anormal periferik lenf bezi var; Hollanda Evresi 1 ya da NCI evresi LN0-2
N1a	Klonal TCR rearanjmanı negatif
N1b	Klonal TCR rearanjmanı pozitif
N2	Klinik anormal periferik lenf bezi var; Hollanda Evresi 2 yada NCI evresi LN3
N2a	Klonal TCR rearanjmanı negatif
N2b	Klonal TCR rearanjmanı pozitif
N3	Klinik anormal periferik lenf bezi var; Hollanda Evresi 3-4 yada NCI evresi LN4, rearanjman negatif veya pozitif
Nx	Klinik anormal periferik lenf bezi var; patolojik doğrulaması yok
Organ Tutulumu	
M0	Organ tutulumu yok
M1	Organ tutulumu var (Patolojik doğrulaması yapılmış)
Kan	
B0	Belirgin periferik kan tutulumu yok; %5'in altında periferik kanda atipik lenfosit mevcut olabilir.
B0a	Klonal TCR rearanjmanı negatif
B0b	Klonal TCR rearanjmanı pozitif
B1	Kanda düşük tümör yükü; periferik kanda %5'in üstünde atipik lenfosit mevcut ancak B2'yi karşılamayacak miktarda
B1a	Klonal TCR rearanjmanı negatif
B1b	Klonal TCR rearanjmanı pozitif
B2	Kanda yüksek tümör yükü; 1µL'de 1000'den fazla atipik lenfosit mevcut

2.8 Prognostik Faktörler

MF uzun sağkalımlar ile karakterli düşük dereceli bir malignitedir ve kutanöz hastalığın, ekstrakutanöz yayılımı yıllar hatta dekatlar alabilir. Tümör gelişimi ya da büyük hücre transformasyonu hastalığın terminal evrelere geldiğini gösterir. Hastaların çoğu ileri evrelere progresyon göstermez ve MF dışı nedenlerle eks olurlar. Hastaların sadece %15-20'sinin MF nedeni ile öldüğü bildirilmektedir (18). Özellikle evre IA/IB olan hastalarda yıllık tümör evresine progresyon insidansı %1-2'dir.

En önemli prognostik göstergeler arasında tanı anındaki evre, ilk tedaviden sonra komplet remisyon olmaması, yaş, serum LDH seviyesi ve ırk sayılmaktadır. Büyük hücre transformasyonu, plakların çok olması, foliküllerin tutulumu, dermopatik nodlar daha kötü prognozla birliktelik gösterir. Transforme mikozis fungoideste CD30 negatifliği ve foliküler tutulumun kötü progostik kriterler olduğu bildirilmektedir (7).

Kutanöz Lenfoma İnternasyonel Prognostik indeksi (CLiPi) MF ve SS hastalarında prognozu değerlendirmek için geliştirilmiştir. Erken evrelerde; erkek cinsiyet, yaşın 60'ın üzerinde olması, plakların olması, kıl foliküllerinin tutulumu ve evre N1/Nx kötü prognoz göstergeleridir. İleri evre hastalarda ise erkek cinsiyet, yaşın 60'ın üzerinde olması, evre B1/B2 ve N2/3 ve visseral tutulum kötü prognostik göstergelerdir.

Evre IA hastaların yaşam beklentileri normal nüfus ile aynıdır (19). Evre I ve evre IIa hastalar “sınırlı evre” hastalarıdır ve yaşam beklentileri on yıllarla ölçülmektedir (17). Histolojik olarak görülen büyük hücre transformasyonunun %25’in üzerinde olmasının ve klonal TCR rearanjmanları saptanmasının kötü prognozla ilişkili olduğu bildirilmektedir (17, 19).

TNMB evrelemesine göre hasta sağkalım ortalamaları tablo 4’de gösterilmektedir.

Tablo 4: TNMB Evrelemesine göre hasta sağkalım ortalamaları (20).

Evre	TNMB Sınıflaması				Ortalama sağkalım (yıl)	10 Yıl		
	T	N	M	B		Sağkalım (%)	Hastalık Spesifik Sağkalım (%)	Hastalık Progresyon Riski (%)
IA	1	0	0	0,1	35,5	88	95	12
IB	2	0	0	0,1	21,5	70	77	38
IIA	1/2	1	0	0,1	15,8	52	67	33
IIB	3	0-2	0	0,1	4,7	34	42	58
IIIA	4	0-2	0	0	4,7	37	45	62
IIIB	4	0-2	0	1	3,4	25	45	73
IVA1	1-4	0-2	0	2	3,8	18	20	83
IVA2	1-4	3	0	0-2	2,1	15	20	80
IVB	1-4	0-3	1	0-2	1,4	18 (5 yıllık)	18 (5 yıllık)	82 (5 yıllık)

2.9 Tedavi

Erken evre MF hastalarında lezyonlara yönelik tedavi yöntemleri kullanılmakta ya da yakın takiplerle hastaların durumu izlenmektedir. Deriye yönelik tedavi yöntemleri radyasyon ya da multiajan kemoterapi protokolleri içerebilmektedir (17). Psoralen ve ultraviyole ışığın birlikte kullanıldığı “PUVA tedavileri”, topikal nitrojen mustard, interferon, elektron ışını tedavisi, fotoferez ve radyoterapi kullanılabilen tedavi ajanlarıdır. Sistemik kemoterapiler ileri evre hastalarda kullanılmaktadır (21).

2.10 CD30

Tip I transmembran glikoprotein moleküllerinden biri olan CD30, 1. Kromozomun kısa kolunda kodlanmaktadır. TNF süper ailesinin bir üyesi olan CD30, hücre büyümesi ve hayatta kalması yolağında önem taşır. Bu yolak büyük ölçüde NF- κ B yolağının aktivasyonuna dayanır. Normal ya da inflame dokularda CD30 ekspresyonu orta/büyük büyüklükte aktive B ve/veya T lenfositlerde izlenir. Lenfoproliferatif hastalıklar içerisinde Hodgkin lenfoma ve anaplastik büyük hücreli lenfoma en iyi bilenen, ekspresyonunun izlendiği antitelerdir. Brentuximab Vedotin ismi verilen ilaç bir anti CD30 monoklonal antikoru olup son yıllarda tedavi alternatifi oluşturmaktadır (22, 23).

MF’de CD30 ekspresyonu, büyük hücre transformasyonu gösteren hücrelerde daha çok beklenmektedir.

2.11 PD-1

T hücreli immünitinin baskılanmasını sağlayan yolaklardan, B7 ailesinin reseptörlerinden olan PD-1(CD279)'e B7-H1 ve B7-DC molekülleri bağlanmaktadır. PD-1 normal veya reaktif lenfoid dokularda germinal merkez ilişkili T hücrelerinde eksprese edilir (24). PD-1'in kaybı immünitinin baskılanmasının ortadan kalkmasına dolayısı ile otoimmün hastalıkların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. PD-1'in, foliküler yardımcı T hücrelerinde eksprese edildiğinden, anjioimmünoblastik T hücreli lenfoma ve primer kutanöz küçük-orta T hücreli lenfoma tiplerinde ekspresyonu olduğu gösterilmiştir. SS'li hastaların periferik kandaki T hücrelerinde ekspresyonu olduğu gösterilen PD-1'in, MF hücrelerindeki ekspresyonu araştırılmaktadır (25).

Malign melanom, akciğer kanseri, mesane tümörlerinde tedavi etkinliği araştırılan anti PD-1 ajanlarının (nivolumab, pembrolizumab vb.) periferik T hücreli lenfomalarda tedavi etkinliği ile ilgili deneysel çalışmalar mevcuttur.

2.12 CXCR-4

2. Kromozomda kodlanan G protein eşlenikli bir reseptör olan CXCR-4, stromal hücre kaynaklı faktör 1 (SDF-1) ve ubiquitin bağlanması ile işlev görmektedir. CXCR-4 tümör ve mikroçevre ilişkisi bakımından son yılların gözde belirteçlerinden biridir. Sağlıklı dokuda CXCR-4 ekspresyonu oldukça az iken çok sayıda tümörde (meme kanseri, kolorektal karsinomlar, özefageal kanserler, baş boyun tümörleri, renal tümörler, akciğer kanseri, melanom, jinekolojik maligniteler vs.) ekspresyonu araştırılmıştır. MF'de rol alan neoplastik hücrelerin mikroçevreleri ile olan ilişkileri ve deriye tropizm göstermelerinin nedeni olarak

CXCR-4 reseptörü ve ona bağlanan CXCL-12'nin rolü olduğunun yanı sıra, MF hücrelerinin çoğalmalarını indükledikleri ve tümöre geçiş aşamalarında etkin rol aldıkları düşünülmektedir (26).

CXCR-4 antagonisti Plerixafor ilacı Amerikan yiyecek ve ilaç dairesinden (FDA) onay alarak Hodgkin dışı lenfomalarda ve multipl myelom hastalarında kullanılmaya başlanmıştır (27).

2.13 TOX

TOX timosit seçimi ilişkili HMG-box'ın kısaltmasıdır yani TOX, bir High Mobility Group (HMG) ailesi DNA bağlayıcı nükleer proteinidir. Esasen timusu terk etmeden önceki CD4+T hücrelerinde sentezlenir ve timusu terk etmeden önce ekspresyonu baskılanır. Sağlıklı insanların periferik lenfoid dokularında TOX'a ait mRNA veya proteinler çok düşük seviyelerdedir. Son yıllarda akciğer kanseri, meme kanseri ve lösemilerde TOX ekspresyonunu arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (28). Erken çalışmalar MF hücrelerinin TOX'u, benign inflamatuvar dermatozlara göre belirgin olarak yüksek eksprese ettiğini göstermiştir. Özellikle erken evre MF vakalarında tanıya yardımcı olabileceği umuduyla TOX için çalışmalar yürütülmeye devam edilmektedir.

3 GEREÇ ve YÖNTEM

3.1 Olguların Seçilmesi

Çalışmaya Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 2008-2015 yılları arasında, histopatolojik bulgular ve/veya klinikopatolojik korelasyon ile MF tanısı almış hastaların hazır parafin blokları alınmıştır. Bahsi geçen hastaların hastanemiz Dermatoloji AD'de yıllar içinde takipte olanları ve birden çok biyopsisi olanları tercih edilmiştir. Yıllar içinde bu hastaların lezyonlarının progresyonu ve prognozunu öngörmek adına MF tanısı verilen ilk biyopsiler çalışmaya alınmıştır. İlk biyopsinin bloğunun bulunamaması ya da dokunun yeterli olmaması gibi teknik aksaklıklar durumunda hastanın bir sonraki biyopsisi çalışmaya alınmıştır. Hasta biyopsilerine ait veriler ve hastaların klinik bilgileri hastane otomasyon sisteminden alınmıştır.

Çalışma için Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 12 Ekim 2015 tarihinde 16 numaralı karar ile yerel etik kurul onayı alınmıştır.

3.2 Morfolojik Parametreler

Histopatolojik değerlendirme; %10'luk formaldehit içerisinde fikse edilmiş, rutin doku takibi uygulanarak parafine gömülmüş, Hematoksilen-Eozin (H&E) ve CD3, CD4, CD8 immünhistokimya boyaları ile boyanmış arşiv preperatlarından yapılmıştır.

Kesitler ışık mikroskobunda (Olympus Bx50), x12,5, x40, x100, x200, x400 (objektif lens x 10x oküler lens) büyütmelemlerde incelenmiştir.

Biyopsilerde araştırmanın verimliliğini artırmak adına inflamasyonu orta-yüksek derecede olan, belirgin epidermotropizm gösteren intraepidermal lenfositozu yüksek veya belirgin dermal perivasküler mononükleer inflamasyon barındıran biyopsiler tercih edilmiştir. Seçilen bloklardan CD30, PD-1, CXCR-4, TOX ekspresyonunu göstermek için immünhistokimyasal aşağıda yazılı prosedürler uygulanmıştır.

3.3 İmmünhistokimyasal Boyama

3.3.1 CD30

CD30 antikorunun ekspresyonunu belirlemek için streptavidin-biotin üçlü indirekt immünperoksidaz yöntemi kullanılarak boyama yapılmıştır. CD30 ekspresyonu için CD30 (Fare monoklonal, klon: Ber-H2, 1:40 dilüsyon, DAKO, Danimarka) antikoru kullanılmıştır. Antikor pozitif kontrolü olarak tonsil dokusu kullanılmıştır.

3.3.2 PD-1

PD-1 antikorunun ekspresyonunu belirlemek için streptavidin-biotin üçlü indirekt immünperoksidaz yöntemi kullanılarak boyama yapılmıştır. PD-1 ekspresyonu için PD-1 / CD279 (Tavşan monoklonal, klon: SP269, 1:100 dilüsyon, Spring Bioscience, ABD) antikoru kullanılmıştır. Antikor pozitif kontrolü olarak tonsil dokusu kullanılmıştır.

3.3.3 CXCR-4

CXCR-4 antikorunun ekspresyonunu belirlemek için streptavidin-biotin üçlü indirekt immünperoksidaz yöntemi kullanılarak boyama yapılmıştır. CXCR-

4 ekspresyonu için CXCR-4 (Tavşan poliklonal, klon: H-118, 1:50 dilüsyon, Santa Cruz Biotechnology, Inc., ABD) antikoru kullanılmıştır. Antikor pozitif kontrolü olarak kemik iliği dokusu kullanılmıştır.

3.3.4 TOX

TOX antikorunun ekspresyonunu belirlemek için streptavidin-biotin üçlü indirekt immünperoksidaz yöntemi kullanılarak boyama yapılmıştır. TOX ekspresyonu için Anti-TOX1 (Tavşan poliklonal, klon: ab155768, 1:100 dilüsyon, abcam, ABD) antikoru kullanılmıştır. Antikor pozitif kontrolü olarak tonsil dokusu kullanılmıştır.

3.3.5 CD3, CD4 ve CD8

CD3, CD4 ve CD8 antikorlarının ekspresyonunu belirlemek için streptavidin-biotin üçlü indirekt immünperoksidaz yöntemi kullanılarak boyama yapılmıştır. CD3 ekspresyonu için (Tavşan monoklonal, klon: 2GV6, kullanıma hazır, Ventana, ABD), CD4 ekspresyonu için (Tavşan monoklonal, klon: SP35, kullanıma hazır, Ventana, ABD), CD8 ekspresyonu için (Tavşan monoklonal, klon: SP57, kullanıma hazır, Ventana, ABD) antikorları kullanılmıştır. Antikor pozitif kontrolü olarak tonsil dokusu kullanılmıştır.

3.3.6 İmmünohistokimyasal Streptavidin- Biotin Boyama Yöntemi:

CD30 ve PD-1 boyaları için parafin bloklardan hazırlanan 4 mikrometre kalınlığında kesitler pozitif şarjlı lamlara alınmıştır. Kesitler deparafinizasyondan sonra Ventana-XT kapalı boyama cihazında boyanmıştır. Biotinlenmiş bağlayıcı (sekonder) antikor olarak, ticari olarak kullanıma hazır kitler şeklinde,

streptavidin-biotin kompleksi ve kromojen olarak ultraView Universal Alkaline Phosphatase Red (Fast-Red) kullanılmıştır. CD3, CD4 ve CD8 için kromojen olarak DAB kullanılmıştır.

TOX ve CXCR-4 için parafin bloklardan hazırlanan 4 mikrometre kalınlığında kesitler pozitif şarjlı lamlara alınmıştır. Kesitler aşağıdaki prosedüre uygun manuel yöntemle boyanmıştır.

CXCR-4 için TOX'tan farklı olarak antijen retrieval basamağında sitrat buffer pH 6,0 yerine Tris-EDTA pH 9,0 kullanılmış ve süre 85°C'de 15 dakika ile sınırlanmıştır. Primer antikor ile inkübasyon süresi bir saat yeterli olmuştur. DAB yerine AEC kromojen olarak kullanılmıştır.

İmmünohistokimyasal Streptavidin-Biotin Boyama Yöntemi:

1. Pozitif şarjlı lamlar 80 santigrat derecelik etüvde yarım saat bekletilmiştir.
2. 20 dakika ksilende bekletilip berraklaştırılmıştır.
3. %100'lük alkolden geçirilerek dokuların hidrasyonu sağlanmıştır.
4. Alkollerden arındırmak (dehidratasyon) için distile su ile çalkalanmıştır.
5. Lamlar mikrodalgaya dayanıklı özel şalelerde pH 6,0 sitrat buffer solüsyonu içerisine sıralanarak mikrodalga fırında, yüksek derecede (85°C 10 dk. ve 70°C 10 dk.) inkübe edilmiştir. Daha sonra oda ısısında 30 dk. Soğumaya bırakılmıştır.
6. Kesitler 3 kez distile sudan geçirilmiştir.

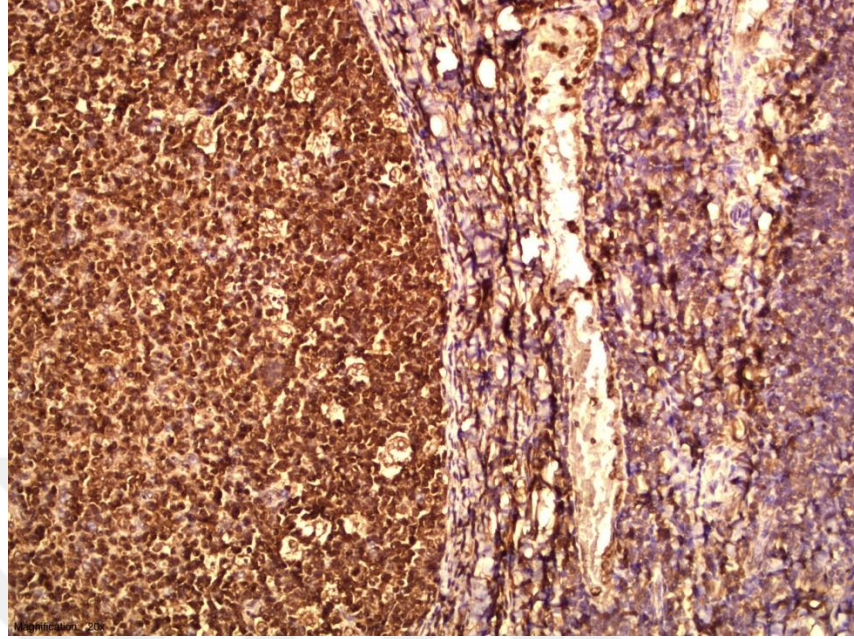
7. Dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesini ortadan kaldırmak için, kesitlere %3'lük hidrojen peroksit çözeltisi damlatılıp 5 dakika bekletilmiştir.
8. Distile suda 2dk.'lık sürelerle iki kere yıkanmışlardır.
9. pH 7,2-7,4 PBS (0,01 M Phosphate Buffer Saline) içinde 2dk. Bekletilmiştir.
10. Lam üzerinde doku harici alanlar kurulandıktan sonra primer antikor damlatılarak kapalı bir kap içerisinde nemini kaybetmeyecek şekilde bir gece bekletilmiştir.
11. PBS'de 2'şer dk. 3 kez yıkanmışlardır.
12. Biotinlenmiş sekonder antikor damlatılmış 10 dakika beklenmiştir.
13. PBS'de 2'şer dk. 3 kez yıkanmışlardır.
14. Streptavidin damlatılmış 10 dakika beklenmiştir.
15. PBS'de 2'şer dk. 3 kez yıkanmışlardır.
16. 1mL'e suya üç farklı solüsyondan oluşan DAB kromojenleri sıraya uygun olarak karıştırılmıştır (AEC 1mL'ye bir damla). DAB kesitlerin üzerinde dokuyu kaplayacak şekilde damlatılmıştır. Yaklaşık 5 dk. Bekletilmiştir. Kesitlerin çok koyulaşmasını önlemek için rengi göz ile kontrol altında tutulmuştur.
17. Distile su ile yıkanmıştır.
18. Harris Hematoksilen'de 1 dk. Bekletilmiştir (AEC için Mayer Hematoksilen)

19. Şebeke suyunda yıkanmıştır (AEC'li kesitlerin üzerine bu basamaktan sonra PBS damlatılmıştır).
20. Alkole daldırılıp çıkarılarak entellan ile kapatılmıştır (AEC'li kesitler alkole daldırılmadan su bazlı entellan ile kapatılmıştır).

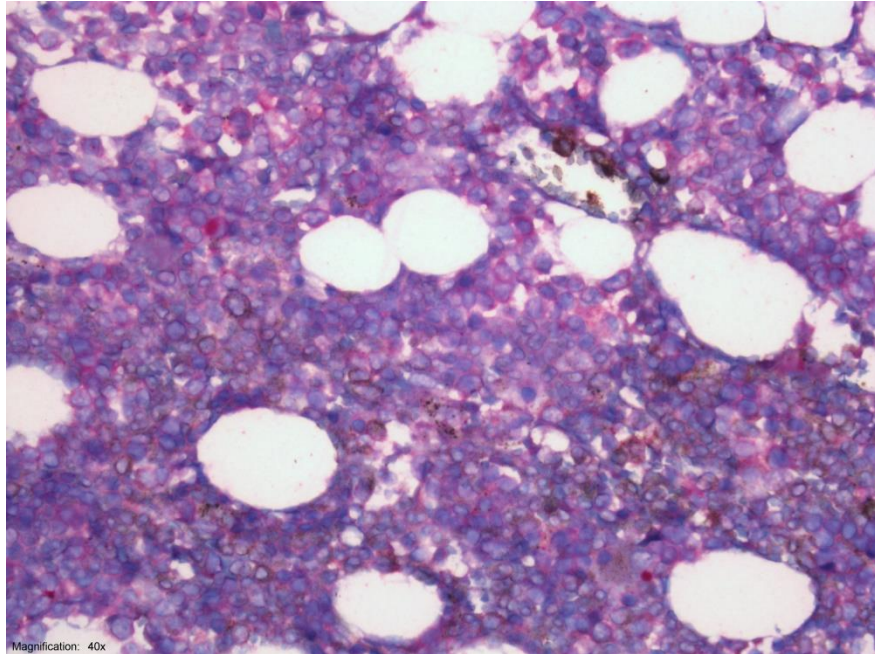
3.3.7 İmmünohistokimyasal Boyanmanın Değerlendirilmesi:

Ekspresyonu nükleer olan TOX, membranöz olan CD30 ve sitoplazmik olan PD-1 ile CXCR-4 için mononükleer atipik hücre popülasyonunun boyanması yüzdelenerek incelenmiştir. Boyanmanın %10'undan azında görülmesi veya hiç boyanmanın olmaması negatif, %10 ile %100 arasındaki boyanma yüzdeleri halinde not edilmiştir.

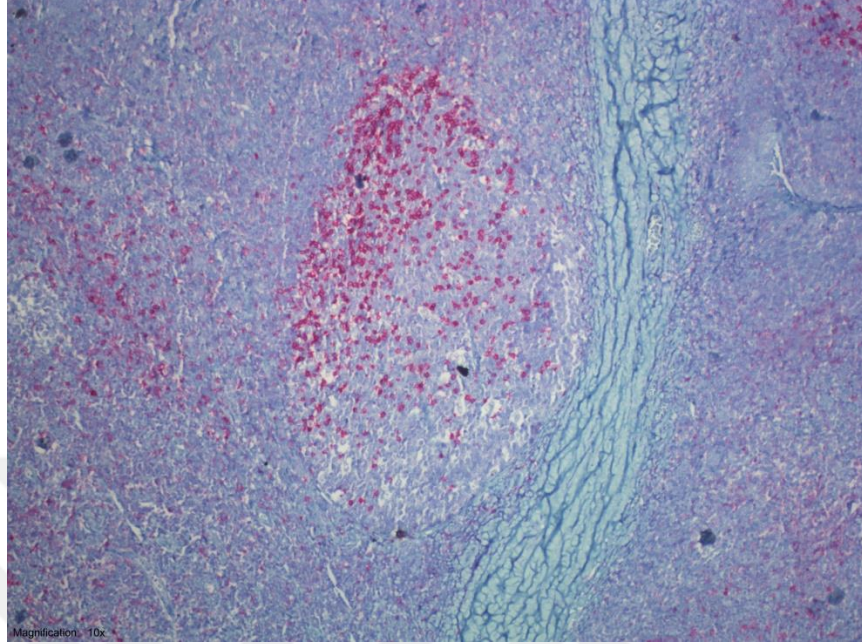
CD3, CD4 ve CD8 ekspresyonları dermal ve epidermal komponentte yeniden incelenerek ekspresyon yüzdesi değerlendirilmiştir.



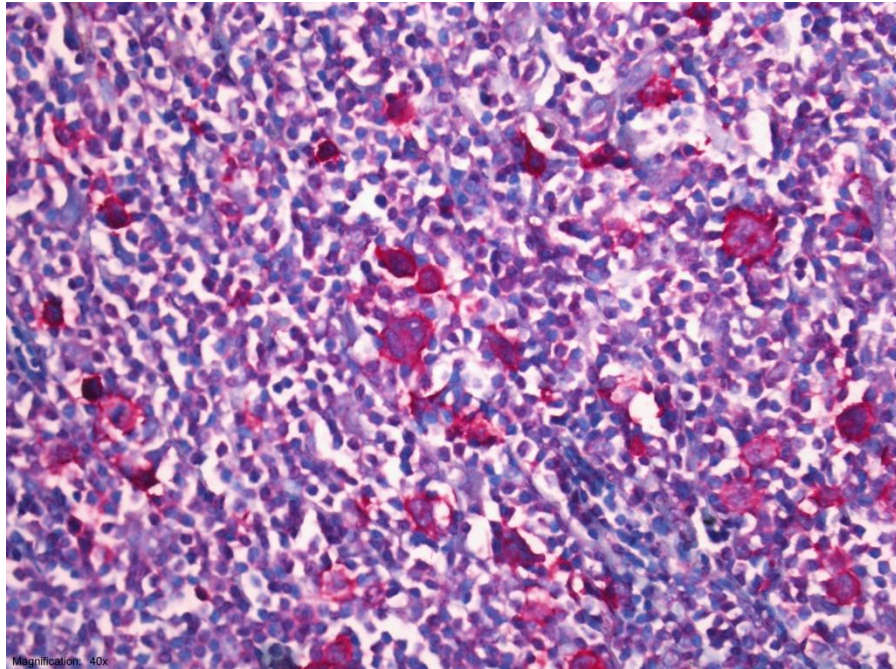
Resim 6: Tonsil foliküllerinde TOX-1 nükleer ekspresyonu



Resim 7: Kemik iliğinde sitoplazmik CXCR-4 ekspresyonu



Resim 8: Tonsil folikülünde sitoplazmik PD-1 ekspresyonu



Resim 9: Hodgkin Lenfoma vakasında CD30 membranöz ekspresyonu

3.4 İstatistiksel İnceleme

Araştırma verisi “SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 23.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) aracılığıyla bilgisayar ortamına yüklenmiş ve değerlendirilmiştir. Kategorik değişkenlerin değerlendirilmesinde niteliksel veriler için Pearson Ki-Kare testi uygulanmıştır. 5’ten az değeri olan kategorik değişkenlerin değerlendirilmesinde Fisher’s exact test kullanılmıştır. İstatistik anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak kabul edilmiştir.

4 BULGULAR

4.1 Seçilen Hastaların Lezyon, Demografik ve Parametrik Özellikleri

Çalışmada GÜTF Tıbbi Patoloji AD’de tanı almış 119 olgu değerlendirilmiştir. Bu 119 olgu ve biyopsileri; 2008-2015 yılları arasında hastane otomasyon sistemine kayıtlı patoloji raporları arasında yapılan metin taramaları sonucu bulunan 185 hasta, 1228 biyopsi arasından seçilmiştir. Biyopsilerin parafin bloklarının AD arşivinde bulunanları; hastalara ait ilk biyopsileri olmaları, birden fazla sayıda biyopsi aldırılmış olmaları, biyopsilerinin en az bir tanesinde MF tanısı veya MF ile uyumlu mikroskopik bulgulara sahip olması kistaslarına göre çalışmaya alınmıştır.

119 hastanın içerisinde 102’sinin (%86) tanı alan ilk biyopsisi çalışma için tam koşulları sağlamış olup, 17’sinin (%14) ilk biyopsisi kistasları taşımadığından bir sonraki biyopsisi çalışmaya alınmıştır. Üç hastanın aynı anda alınan ancak farklı lokalizasyondaki iki biyopsisi birden çalışılmıştır. Bu biyopsilerden boyanması yüksek olan istatistiksel değerlendirmeye katılmıştır. Takipte bulunan 119 hastanın 2008-2016 yılları arasında toplam biyopsi sayısı 824’tür. Hastalara ait ortalama biyopsi sayısı 6,92 iken en az biyopsiye sahip hastanın 2, en çok biyopsiye sahip hastanın 18 biyopsisi mevcuttur.

Olguların ortalama takip süreleri 4,06 yıldır. En uzun takip süresine sahip hasta 9 yıl takip edilmiştir. En kısa takip süresine sahip hasta tanıdan 3 ay sonra eks olmuştur.

72 (%60) hastanın son kontrolü 2016 yılında yapılmış olup, 47 (%40) hastanın son muayenesi 2016'dan önceki yıllardadır. Son muayene tarihi 2015 olan 21 (%18), 2014 olan 11 (%10), 2013 olan 5 (%4), 2012 olan 7 (%5), 2011 olan 1 (%1) ve 2008 olan 2 (%2) hasta mevcuttur.

Olguların biyopsilerine göre hastalıksız takip dönemi ortalama 2,4 yıldır. Bu hastalıksız takip döneminin en uzun olduğu 7 yıla sahip 6 hasta mevcuttur. 16 hastanın biyopsilerine göre hastalıksız takip dönemi mevcut değildir.

Olguların 75'i (%63) erkek, 44'ü (%37) kadın cinsiyettedir.

Olguların ortalama yaşları 53'tür. En küçük yaştaki olgu 21, en büyük yaştaki olgu 81 yaşındadır. Pediatrik MF vakamız yoktur.

Bu 119 hastanın incelemeye aldığımız biyopsilerinin aldığı lokalizasyonların en başında 49 biyopsi (%41) ile karın bölgesi gelmektedir. Sırası ile 21 sırt (%18), 15 bacak (%13), 11 uyluk (%9), 7 kol (%6), 5 gluteal (%4), 2 omuz (%2) ve birer adet sakral, fontal, boyun, göğüs bölgelerinden (%3) biyopsi alınmıştır. 5 Biyopsinin nereden alındığı belirtilmemiştir (%4).

Biyopsilerin 111'inde (%93) tanı anında immünohistokimyasal olarak CD3, CD4 ve CD8 ekspresyonu değerlendirilmiştir. Sekiz biyopside (%7) ise tanı hematoksilen&eozen kesitlerin değerlendirilmesi ile verilmiş, infiltrasyonun profiline bakılmamıştır. Bu olguların da CD3, CD4 ve CD8 ekspresyonları çalışma sırasında eklenerek tekrar değerlendirilmiştir. İmmünohistokimyasal olarak tüm olgularda hem intraepidermal hem de dermal infiltrasyonda yaygın CD3 ekspresyonu mevcuttur. Dermal ve intraepidermal CD4 ve CD8 ekspresyonları

ayrı ayrı değerlendirilerek oranlanmıştır. Hem intraepidermal hem de dermal CD4/CD8 oranı 113 olguda artmış olup; 6 olguda benzer oranlarda CD4 ve CD8 ekspresyonu saptanmıştır.

Çalışmaya alınan biyopsilerin alınma şekillerinin 61'ini (%51) insizyonel biyopsiler oluştururken, kalanını sırası ile 55 (%46) punch, 2 (%2) eksizyonel, 1 (%1) shave biyopsi oluşturmaktadır.

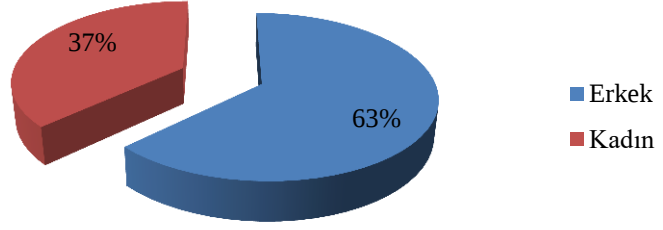
Biyopsi alınanların, lezyonlarının klinik görünümleri 52 (%43) hastada belirtilirken, 67 hastada (%57) belirtilmemiştir. Tarifi yapılan hastaların 24'ü (%20) plak, 18'i (%15) yama, 6'sı (%5) makül, 3'ü (%2) papül ve biri (%1) tümördür.

Histopatolojik olarak 8 olgu folikülotropik MF tanısı almıştır. 5 olguda büyük hücre transformasyonu (BHT) mevcuttur. 3 olgu pigmente purprik dermatoz benzeri MF tanısı almıştır. BHT izlenen hastalardan biri ileri dönemde ALK(-) anaplastik büyük hücreli lenfomaya dönüşmüştür.

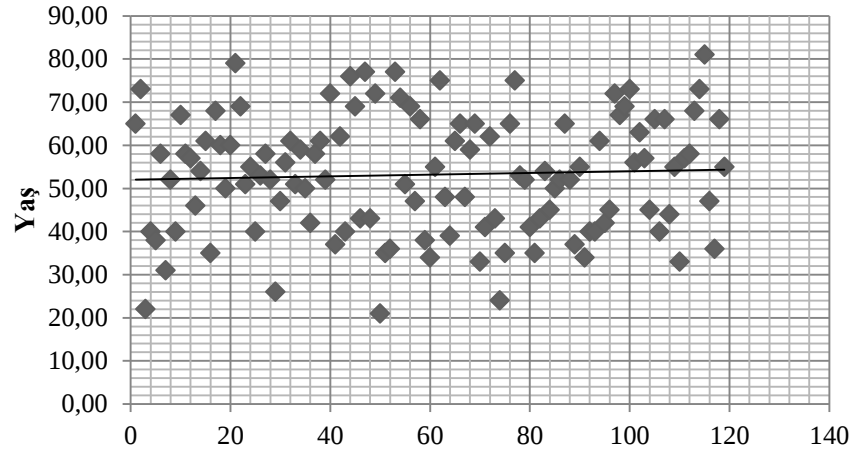
Hastaların 76'sinin (%64) takip eden biyopsilerinden biri MF tanısı almış, 43'ünün (%36) ise takip biyopsilerinde MF'ye rastlanmamıştır.

Çalışmaya alınan 119 hastadan 7'si yaşamamaktadır. Hastalardan 6'sının ölüm nedeni MF'ye bağlı iken birinin ölüm nedeni MF dışı bir malignitedir.

Hastaların 38'inin dUVB (%32), 10'unun fototerapi (%8) ve 1'inin radyoterapi (%1) aldığı bilinmektedir. 70 hastanın (%59) tedavisi hakkında bilgi mevcut değildir.



Grafik 1: Hasta cinsiyet dağılımı

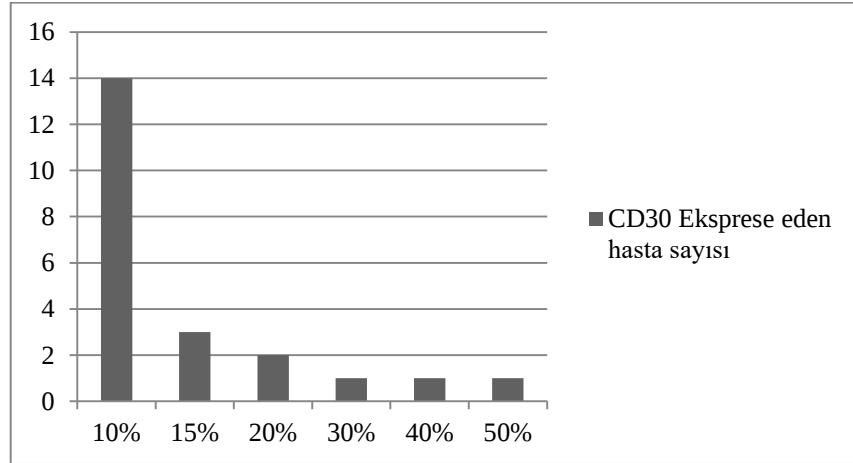


Grafik 2: Hasta yaş dağılımı

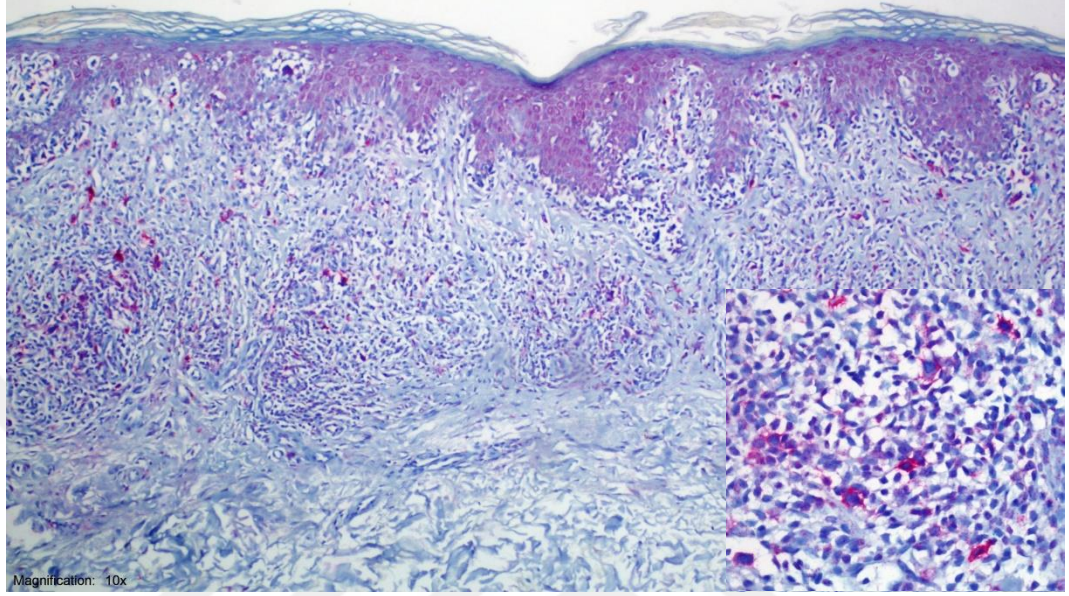
4.2 İmmünohistokimyasal Bulgular

4.2.1 CD30

Vakaların 27'sinde (%22,6) CD30 ile boyanma görülmüştür. 92 (%77,4) biyopside ise CD30 ile boyanma görülmemiştir. Boyanma görülen vakalarda en fazla yüzde 50'lik bir değer izlenmektedir. 14 vakada %10 oranında boyanma görülmüştür. Sırası ile 3 hastada %15, 2 hastada %20, birer hastada %30, %40 ve %50'lik boyanmalar mevcuttur (Grafik 3). CD30 ile %10'un üzerinde boyanma görülenlerin 21'inde (%77,8) nüks izlenirken; 6'sında (%22,2) nüks izlenmemiştir (Grafik 2). İstatistiksel olarak CD30 eksprese eden ve etmeyen olgularda nüks açısından anlamlı fark yoktur ($p>0.05$)



Grafik 3: CD30 Eksprese eden biyopsilerin dağılımı.

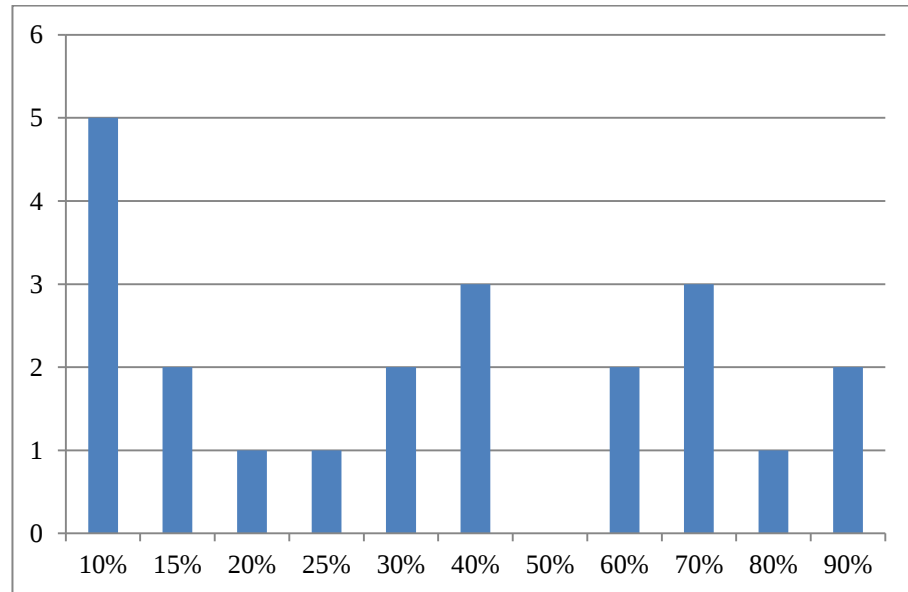


Resim 10: CD30 eksprese eden intraepidermal ve dermal atipik lenfositler. Sağ alt köşede büyük büyütme (x400) görüntüsü.

CD 30 ekspresyonunun yüksek olarak izlendiği olgulara bakıldığında; %40 boyanma görülen hastanın sonraki biyopsilerinde büyük hücre transformasyonu gösterdiği izlenmektedir. %50 boyanma gösteren vakanın takip biyopsisinde büyük hücre transformasyonu mevcut değildir.

4.2.2 PD-1

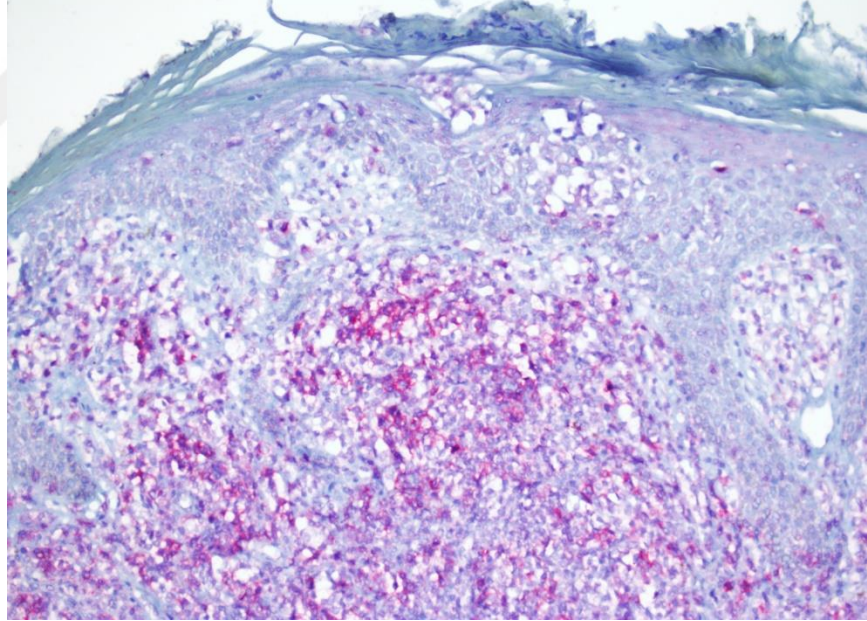
Vakaların 22'sinde (%18) PD-1 ile boyanma görülmüştür. 97 (%82) biyopside ise PD-1 ile boyanma görülmemiştir. PD-1 ile %10'un üzerinde boyanma görülenlerin 16'sında (%72.7) nüks izlenirken; 6'sında (%27,3) nüks izlenmemiştir. Boyanma görülen vakalarda en fazla yüzde 90'lık bir değer izlenmektedir. 5 vakada %10 oranında boyanma görülmüştür. Sırası ile 2 hastada %15, 1 hastada %20, bir hastada %25, 2 hastada %30, 3 hastada % 40, 2 hastada %60, 3 hastada %70, 1 hastada %80 ve 1 hastada %90'lık boyanmalar mevcuttur (Grafik 4) . Çalışmaya alınan hastalardan, MF nedeniyle eksitus olan 6 hastanın 4'ünde PD-1 ile %10'un üzerinde boyanma izlenmiştir. Eksitus olan hastaların boyanma oranları %90, %60 ve ikisinin ki %30 şeklindedir.



Grafik 4: PD-1 Eksprese eden biyopsilerin dağılımı.

Nüks olan hasta grubunun PD-1 ekspresyon değeri ile nüks olmayan hasta grubunun ekspresyon değeri arasında anlamlı fark yoktur ($p=0,338$).

Eks olan hastalar ile yaşayan hastaların PD-1 boyanmaları karşılaştırıldığında, PD-1 ile %10'nun üzerinde boyanma görülen hastaların kötü prognoz gösterdikleri ve PD-1 eksprese eden ve etmeyen grup arasında sağ kalımın istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdiği bulunmuştur ($p=0,007$).



Resim 11: Dermiste PD-1 eksprese eden lenfositler

4.2.3 TOX ve CXCR-4

Pozitif kontrollerinde diffüz nükleer pozitifliğin elde edildiği TOX ve sitoplazmik pozitifliğin elde edildiği CXCR-4 antikorlarının arşivden çıkarılan hazır parafin bloklardan hazırlanan kesitlerde optimal boyanması mümkün olamamıştır. Hazır olarak alınan deneysel immünohistokimya antikorlarının optimizasyonunda gerek üretici firmaların gösterdiği yollar, gerek rutinde kullanılan boyama sistemleri denenmiş ancak MF vakalarında atipik lenfositlerde anlamlı boyanma elde edilmemiştir. Bu nedenlerle bu antikorların değerlendirilmesi çalışma dışı bırakılmıştır.

5 TARTIŞMA

MF, sessiz seyirli, şiddetli klinik tablolara neden olmayan ancak uzun yıllar hastaları takibe zorlayan düşük dereceli bir malignitedir. Bir periferik T hücreli lenfoma olmasına rağmen inflamatuvar dermatozlarla benzerlikleri uzun yıllar antitelerin ayırımını zorlaştırmıştır. Hatta “Parapsöriazis” gibi terimler bile zaman zaman kullanılmıştır.

MF hastalığının bu zor ayırıcı tanısını yapmayı kolaylaştıracak ve bu uzun yıllar takip gerektiren, maliyeti yüksek, hasta memnuniyeti düşük hastalıkta belirleyici klinik ve patolojik parametreleri belirlemek önemli olmuştur.

Günümüze kadar gelen çalışmalarda MF hastalarında “prognostik” belirteç olarak en kuvvetli gösterge hastanın TNMB evresi olarak kabul edilmektedir. TNMB evrelemesinde aynı evredeki hastaların seyrinde farklılıkların gözlenmesi, yardımcı araçlara ihtiyaç olduğunu göstermiştir. Özellikle T1 evresinde olan hastaların öngörülebilmesi için destek olacak araçlara ihtiyaç vardır. Bu araçlardan kötü gidişatı gösterecek klinik prognostik belirteçler olarak erkek cinsiyet ve ileri yaş uzun zamandır bilinmektedir. Folikülotropik MF’nin kötü seyir gösterdiği de bilinen bir gerçektir. Serumda yüksek LDH seviyesi ve kanda eozinofilinin kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Patolojik prognoz belirteci olarak ise büyük hücre transformasyonunun ve CD30 pozitifliğinin olduğunu gösteren araştırmalar mevcuttur (29).

CD30 hücreyi apoptozise götüren yollardan birinde ara basamaktadır. Greisser ve ark.'larının 2005 yılında yaptıkları bir çalışmada CD30'un ilişkili olduğu hücre apoptoz mekanizmalarının Bax, Bcl-x ve Bcl-2 gibi çeşitli yollar üzerinden olduğu gösterilmiştir. CD30 (+) kutanöz lenfoproliferatif hastalıklar grubunun tamamında CD30 pozitif olmasına rağmen; CD30 ile ilişkili bu diğer yolların hücre içindeki sayıları ve yerleri, CD30'un yönlendirdiği apoptoz ve dolayısıyla spontan regresyonun farklı gözlenmesine neden olmaktadır. MF hücrelerinde ise Bax sayısının yüksek olmasına rağmen etkinliğinin düşük olduğu belirtilmektedir (30). Bax'ın hücredeki miktarı ile MF hücreleri arasında CD30(+)'liğinin heterojen dağılımının, hastaların heterojenitesini açıklayabileceği düşünülmektedir.

Scarisbrick ve arkadaşlarının, 1275 ileri evre MF ve SS olgularından oluşan serilerinde 10 aday belirtecin prognostik önemi konusunda yaptıkları çalışmada, CD30 eksprese edenler ile etmeyenler arasında sağ kalım yönünden anlamlı farkın olmadığı belirtilmiştir (31). Bu çalışmanın önemli noktası sadece ileri evre MF ve SS hastalarının örnekleme alınmış olmasıdır. Scarisbrick ve ark.'nın 100 erken evre MF olgusundan oluşan vakasının incelenmesinde büyük hücre transformasyonuna eşlik etmesi nedeni ile CD30 ekspresyonunun kötü prognoza işaret edebileceği düşünülse de sağkalım oranlarında bir farklılık yaratmadığı gözlenmiştir (32). Bu bulgu 119 olgudan oluşan bu çalışmanın sonuçları ile uyumludur. Benner ve ark.'nın 130 hastada transforme (büyük hücre transformasyonu) MF hücrelerinde, CD30 ekspresyonunun sağkalım üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmalarında ise CD30 negatifliğinin sağ kalımı düşürdüğü

bildirilmektedir (33). Talpur ve ark.'nın 187 transforme MF olgularından oluşan çalışmada ise, CD30 pozitif T hücrelerinde MF'nin T evresi arttıkça ekspresyonunun arttığı ve CD30 ekspresyonunun %10'nun üzerinde boyanmasının büyük hücre transformasyonunu gösterdiği ancak kötü prognoza değil iyi prognoza işaret ettiği belirtilmiştir (34). Bizim çalışmamızda az sayıda büyük hücre transformasyonu olan olgu olması nedeni ile istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilememiştir. Büyük hücre transformasyonu olan daha çok sayıda olgudan oluşan çalışmalarda, CD30 ekspresyonu ile nüks karşılaştırılarak daha etkin sonuçların elde edilebileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda CD30 oranı yüksek olan vakalardan biri Talpur ve ark.'nın işaret ettiği gibi zaman içerisinde alınan biyopsilerinde lenfomatoid papüllozis ve MF tanıları almıştır. CD30 (+) periferik T hücreli kutanöz lenfomaların sınıflandırmasında MF'nin yeri belki de bir spektrum olarak değerlendirilmeli ve keskin sınırlar düşünülmemelidir.

Anti-CD30 monoklonal antikorların, deneysel çalışmalarında etkin oldukları gösterilmeye başlanmış ve ileride CD30 (+) MF vakalarında kullanıma girebilecekleri beklenmektedir (35). Bu nedenle özellikle agresif klinik seyir gösteren CD30(+) MF vakalarının ayırt edilmesinin, hastalara tedavi olanağı sunulması açısından önem taşıdığı düşünülmektedir.

Hücre zarı moleküllerinden PD-1'in rolü bir süredir periferik T hücreli lenfomalar da dâhil bir grup tümörde araştırılmaktadır. Hodgkin dışı lenfomalarda

PD-1'e yönelik antikörlerin kullanımı kutanöz T hücreli lenfomalarda da bu ajanların tedavide etkin olup olmadığını araştırmayı zorunlu kılmıştır.

PD-1 normal veya reaktif lenf nodundaki germinal merkez ilişkili yardımcı T hücrelerinde ve bazı reaktif T hücrelerinde eksprese edilmektedir. PD-1; PD-L1 ve PD-L2 hücre zarı proteinleri ile ilişkiye geçerek T hücre aktivitesini baskılar, böylece otoimmün aktiviteyi önlemiş olur (36). Wada ve ark.'larının yaptığı çalışmada 30 MF olgusunu 15'inde ve 11 SS'nin 8'inde PD-1 pozitifliği gözlenmiştir (24). Çetinözmen ve ark.'nın 60 MF vakası içeren serilerinde PD-1 boyanma oranını %13 olarak bildirilmektedir (25). Kantekure ve ark.'larının yaptığı 26 plak, yama veya tümör evresinde MF vakasının biyopsileri incelendiği bir çalışmada ise PD-1'in erken yama ve plak evresindeki tüm lezyonlarda eksprese olduğu buna karşılık tümör fazına geçen MF vakalarında boyanmanın azaldığı bildirilmektedir (36). Ogunrinade ve ark.'ları bir olgu sunumunda PD-1 ekspresyonu yüksek izlenen bir hastanın kötü prognozla gittiğini vurgulamaktadır. Olgu sunumunda sonradan kötü prognozla ilişkili olabileceği ilişkilendirilen hastaya ait diğer bulgular ise PD-1 kuvvetli ekspresyonu, CD30 negatifliği ve büyük hücre transformasyonudur (37).

Bizim çalışmamızda vakaların %22'sinde PD-1 ile pozitif boyanma görülmektedir. Nüks olan ve olmayan olgularda PD-1 ekspresyonu yönünden fark saptanmamakla birlikte, sağ kalım durumuna bakıldığında PD-1 ekspresyonu olan olgularda sağkalımın azaldığı dikkati çekmektedir. Çetinözmen ve ark.'nın çalışmasında (25) neoplastik hücrelerin %50'sinin üzerindeki boyanmaları pozitif kabul edilmiş iken bizim çalışmamızda %10 ve üzerindeki boyanmalar pozitif

kabul edilmiştir. Çalışmamızda ve literatürde değişen oranlarda PD-1 pozitifliğinin izlenmesi, bu belirtecin belirli bir alt sınır değerinin henüz oluşturulmadığını ve daha fazla sayıda hasta üzerinde çalışılarak ortalama değerlerinin tespitinin gerektiğini göstermektedir. Çalışmamızda MF nedeni ile eks olan 6 olgunun 4'ünde %30'un üzeri oranda PD-1 ekspresyonu izlenirken, diğerlerinde ekspresyon görülmemektedir. İstatistiksel olarak anlamlılık nüks açısından gözlenmemesine rağmen; PD-1 ekspresyonu ile sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki gözlenmesi; PD-1 ekspresyonu gösteren vakaların kötü prognoz açısından yakın takibe alınması gerektiğini düşündürmektedir.

7 SONUÇLAR

1. Çalışmamızda CD30 boyanan biyopsilere sahip hastaların, CD30 boyanmayan biyopsilere sahip hastalar arasında göre nüks açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($P > 0,05$).
2. Büyük hücre transformasyonu içeren biyopsilerden sadece birinde (%20) CD30 ile boyanma mevcuttur.
3. Büyük hücre transformasyonu gösteren hastalardan sadece biri eks olmuştur.
4. Eksitus ile sonuçlanan hastaların sadece birinde CD30 pozitif boyanmıştır.
5. PD-1 boyanan biyopsilerle, PD-1 boyanmayan biyopsilere sahip hastalar için nüks açısından anlamlı fark bulunamamıştır ($P=0,296$).
6. Eksitus ile sonuçlanan hastalarda PD-1 ekspresyonu, sağ kalan hastalara göre yüksek çıkmıştır ve istatistiksel olarak anlamlıdır ($P=0,007$).
7. Eksitus ile sonuçlanan hastaların biyopsilerinin %18,2'si PD-1 pozitifdir.

8 ÖZET

MİKOZİS FUNGOİDES TANISINDA VE HASTA PROGNOZ ÖNGÜRÜSÜNDE CD30, TOX, PD-1 VE CXCR-4 ANTİKORLARININ ÖNEMİ

Erken dönem mikozis fungoides lezyonlarının histopatolojik tanısının konulması ayırıcı tanı zorlukları ve çok benzer morfolojik görünümler nedeni ile oldukça zordur. Tanı koymayı kolaylaştıracak ve hastaların yıllar süren takiplerinde yol göstermeye yardımcı olacak immünohistokimyasal belirteçler araştırılmaktadır.

Çalışmamızda GÜTF Tıbbi Patoloji AD'de 2008-2016 yılları arasında tanı almış 119 MF hastasının hazır parafin blokları ve boyalı lamları üzerinden yapılan incelemelerle hastaların tanısını koymaya yardımcı olacak TOX antikoru ve prognoz öngörüsünde bulunabilecek CD30, PD-1 ve CXCR-4 antikorları çalışılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre CD30 ile nüks ve sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut değildir. PD-1 ile %10'un üzerinde boyanma gösteren biyopsiye sahip hastalarda, PD-1 negatif olgulara göre nüks açısından anlamlı fark saptanamamakla birlikte; PD-1 ekspresyonu olan olgulara sağ kalımın negatif olgulara göre daha düşük olduğu görülmüştür. CXCR-4 ve TOX antikorları ile biyopsilerde immünohistokimyasal olarak sağlıklı boyanma elde edilememesi nedeni ile çalışma dışı bırakılmıştır.

119 olgudan oluşan bu çalışmada immünohistokimyasal olarak CD30 ekspresyonunun nüks ve sağ kalıma etkisi gösterilememekle birlikte, CD30 ve PD-1'in klinik olarak agresif seyreden MF olgularında klinik takibe yol gösterebileceği düşünülmektedir.

9 SUMMARY

THE IMPORTANCE OF CD30, TOX, PD-1, AND CXCR-4 EXPRESION IN THE DIAGNOSÍS AND PROGRESSION OF MYCOSIS FUNGOIDES

Due to histologic appearances that can be very similar with benign inflammatory skin diseases the diagnosis of early stage mycosis fungoides can be very painful. There has been always a quest for immunohistochemical markers that would help to diagnose and to foresee the long-term outcome of the patient.

In our study we applied the CD30, TOX, PD-1, and CXCR-4 immunohistochemical markers to paraffin tissue blocks of 119 patients that were collected at the host institute between the years 2008 and 2016. The results showed that there was no statistically significant difference between CD30 positivity over 10% and a tendency for recurrence and survival. PD-1 expression over 10% had no statistically significant difference for tendency of recurrence but on the other hand statistically significant results for poor survival has been shown. It was unable to stain properly the CXCR-4 and TOX antibodies immunohistochemically so they were excluded from the research.

Although this research which has 119 patients was unable to show the effects of CD30 expression for recurrence and survival; CD30 and PD-1 are markers that can make guidance for the clinical follow-up of aggressive MF cases.

10 KAYNAKLAR

1. Mahalingam M, Reddy VB. Mycosis Fungoides, Then and Now... Have We Travelled? *Advances in anatomic pathology*. 2015;22(6):376-83.
2. Huang KP, Weinstock MA, Clarke CA, McMillan A, Hoppe RT, Kim YH. Second lymphomas and other malignant neoplasms in patients with mycosis fungoides and Sezary syndrome: evidence from population-based and clinical cohorts. *Archives of dermatology*. 2007;143(1):45-50.
3. Streilein JW. Skin-associated lymphoid tissues (SALT): origins and functions. *Journal of Investigative Dermatology*. 1983;80.
4. Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature*. 1998;392(6673):245-52.
5. Robert C, Kupper TS. Inflammatory Skin Diseases, T Cells, and Immune Surveillance. *New England Journal of Medicine*. 1999;341(24):1817-28.
6. Cerroni L, Gatter K, Kerl H. *An Illustrated Guide to Skin Lymphoma*: Wiley; 2008.
7. Cerroni L. *Skin Lymphoma: The Illustrated Guide*: Wiley; 2014.

8. Pimpinelli N, Olsen EA, Santucci M, Vonderheid E, Haeffner AC, Stevens S, et al. Defining early mycosis fungoides. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2005;53(6):1053-63.
9. Rubio Gonzalez B, Zain J, Rosen ST, Querfeld C. Tumor microenvironment in mycosis fungoides and Sezary syndrome. *Current opinion in oncology*. 2016;28(1):88-96.
10. Jawed SI, Myskowski PL, Horwitz S, Moskowitz A, Querfeld C. Primary cutaneous T-cell lymphoma (mycosis fungoides and Sezary syndrome): part I. Diagnosis: clinical and histopathologic features and new molecular and biologic markers. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2014;70(2):205.e1-16; quiz 21-2.
11. Dulmage BO, Geskin LJ. Lessons learned from gene expression profiling of cutaneous T-cell lymphoma. *The British journal of dermatology*. 2013;169(6):1188-97.
12. Sokolowska-Wojdylo M, Olek-Hrab K, Ruckemann-Dziurdzinska K. Primary cutaneous lymphomas: diagnosis and treatment. *Postepy dermatologii i alergologii*. 2015;32(5):368-83.
13. Hwang ST, Janik JE, Jaffe ES, Wilson WH. Mycosis fungoides and Sezary syndrome. *The Lancet*. 371(9616):945-57.

14. Massone C, Crisman G, Kerl H, Cerroni L. The prognosis of early mycosis fungoides is not influenced by phenotype and T-cell clonality. *The British journal of dermatology*. 2008;159(4):881-6.
15. Litvinov IV, Netchiporouk E, Cordeiro B, Dore MA, Moreau L, Pehr K, et al. The Use of Transcriptional Profiling to Improve Personalized Diagnosis and Management of Cutaneous T-cell Lymphoma (CTCL). *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2015;21(12):2820-9.
16. Olsen E, Vonderheid E, Pimpinelli N, Willemze R, Kim Y, Knobler R, et al. Revisions to the staging and classification of mycosis fungoides and Sezary syndrome: a proposal of the International Society for Cutaneous Lymphomas (ISCL) and the cutaneous lymphoma task force of the European Organization of Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Blood*. 2007;110(6):1713-22.
17. Wilcox RA. Cutaneous T-cell lymphoma: 2016 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *American journal of hematology*. 2016;91(1):151-65.
18. Zackheim HS, Amin S, Kashani-Sabet M, McMillan A. Prognosis in cutaneous T-cell lymphoma by skin stage: long-term survival in 489 patients. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 1999;40(3):418-25.

19. Swerdlow SH, Cancer IAFRo, Organization WH. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues: International Agency for Research on Cancer; 2008.
20. Agar NS, Wedgeworth E, Crichton S, Mitchell TJ, Cox M, Ferreira S, et al. Survival outcomes and prognostic factors in mycosis fungoides/Sezary syndrome: validation of the revised International Society for Cutaneous Lymphomas/European Organisation for Research and Treatment of Cancer staging proposal. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2010;28(31):4730-9.
21. Ferry JA. Extranodal Lymphomas: Elsevier Health Sciences; 2011.
22. Horie R, Watanabe T. CD30: expression and function in health and disease. *Seminars in immunology*. 1998;10(6):457-70.
23. Sabattini E, Pizzi M, Tabanelli V, Baldin P, Sacchetti CS, Agostinelli C, et al. CD30 expression in peripheral T-cell lymphomas. *Haematologica*. 2013;98(8):e81-e2.
24. Wada DA, Wilcox RA, Harrington SM, Kwon ED, Ansell SM, Comfere NI. Programmed death 1 is expressed in cutaneous infiltrates of mycosis fungoides and Sezary syndrome. *American journal of hematology*. 2011;86(3):325-7.

25. Cetinozman F, Jansen PM, Vermeer MH, Willemze R. Differential expression of programmed death-1 (PD-1) in Sezary syndrome and mycosis fungoides. *Archives of dermatology*. 2012;148(12):1379-85.
26. Daggett RN, Kurata M, Abe S, Onishi I, Miura K, Sawada Y, et al. Expression dynamics of CXCL12 and CXCR4 during the progression of mycosis fungoides. *The British journal of dermatology*. 2014;171(4):722-31.
27. Zhao H, Guo L, Zhao H, Zhao J, Weng H, Zhao B. CXCR4 over-expression and survival in cancer: a system review and meta-analysis. *Oncotarget*. 2015;6(7):5022-40.
28. Yu X, Luo Y, Liu J, Liu Y, Sun Q. TOX acts an oncological role in mycosis fungoides. *PloS one*. 2015;10(3):e0117479.
29. Hughes CF, Newland K, McCormack C, Lade S, Prince HM. Mycosis fungoides and Sezary syndrome: Current challenges in assessment, management and prognostic markers. *The Australasian journal of dermatology*. 2015.
30. Greisser J, Doebebling U, Roos M, Mueller B, Schmid M, Burg G, et al. Apoptosis in CD30-positive lymphoproliferative disorders of the skin. *Experimental Dermatology*. 2005;14(5):380-5.

31. Scarisbrick JJ, Prince HM, Vermeer MH, Quaglino P, Horwitz S, Porcu P, et al. Cutaneous Lymphoma International Consortium Study of Outcome in Advanced Stages of Mycosis Fungoides and Sezary Syndrome: Effect of Specific Prognostic Markers on Survival and Development of a Prognostic Model. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2015;33(32):3766-73.

32. Scarisbrick JJ, Kim YH, Whittaker SJ, Wood GS, Vermeer MH, Prince HM, et al. Prognostic factors, prognostic indices and staging in mycosis fungoides and Sezary syndrome: where are we now? *The British journal of dermatology*. 2014;170(6):1226-36.

33. Benner MF, Jansen PM, Vermeer MH, Willemze R. Prognostic factors in transformed mycosis fungoides: a retrospective analysis of 100 cases. *Blood*. 2012;119(7):1643-9.

34. Talpur R, Sui D, Gangar P, Dabaja BS, Duvic M. Retrospective Analysis of Prognostic Factors in 187 Cases of Transformed Mycosis Fungoides. *Clinical lymphoma, myeloma & leukemia*. 2016;16(1):49-56.

35. Francisco JA, Cervený CG, Meyer DL, Mixan BJ, Klussman K, Chace DF, et al. cAC10-vcMMAE, an anti-CD30–monomethyl auristatin E conjugate with potent and selective antitumor activity. *Blood*. 2003;102(4):1458-65.

36. Kantekure K, Yang Y, Raghunath P, Schaffer A, Woetmann A, Zhang Q, et al. Expression patterns of the immunosuppressive proteins PD-1/CD279 and PD-L1/CD274 at different stages of cutaneous T-cell lymphoma (CTCL)/mycosis fungoides (MF). *The American Journal of dermatopathology*. 2012;34(1):126-8.
37. Ogunrinade O, Ahn CS, Gergis U, Yassin AH, Magro C. Cutaneous lymphocyte antigen expression loss and PD1 positivity in early cutaneous lesions of rapidly progressive mycosis fungoides. *Clinical case reports*. 2014;2(5):209-18.