

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ



DERİ VE ZÜHREVİ HASTALIKLAR
ANABİLİM DALI

MİKOZİS FUNGOİDESTE MİR-155 VE MİR-34A
EKSPRESYON DÜZEYİ

DR. NEVİN GÜLER

DANIŞMAN
PROF. DR. GÜNSELİ ÖZTÜRK

İZMİR

2019

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

DERİ VE ZÜHREVİ HASTALIKLAR
ANABİLİM DALI

MİKOZİS FUNGOİDESTE MİR-155 VE MİR-34A
EKSPRESYON DÜZEYİ

DR. NEVİN GÜLER

DANIŞMAN
PROF. DR. GÜNSELİ ÖZTÜRK

İZMİR

2019

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, gerek bilimsel gerek manevi anlamda her zaman desteğini gördüğüm, tezimin hazırlanmasında ilgisi ve deneyimleri ile beni destekleyen değerli hocam Prof. Dr. Günseli Öztürk'e;

Asistanlık sürecim boyunca yakın ilgi ve hoşgörü göstererek bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, mesleki bilgi ve becerilerimin gelişmesinde büyük katkıları olan değerli hocalarım Prof. Dr. Can Ceylan, Prof. Dr. Fezal Özdemir, Prof. Dr. İdil Ünal, Prof. Dr. Tuğrul Dereli, Prof. Dr. İlgen Ertam, Prof. Dr. Işıl Karaarslan, Doç. Dr. Bengü Gerçek Türk'e ve değerli uzmanımız Dr. Ayda Acar'a ;

Tezimi hazırlamamın her aşamasında bana yol gösteren, ilgisini ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Genetik Anabilim Dalı'ndan değerli hocalarım Prof. Dr. Muhsin Özgür Çoğulu ve Doç. Dr. Emin Karaca'ya, tezimin laboratuvar aşamasında bizzat yer alan ve özveriyle yardım eden değerli arkadaşım Dr. Anıl Kalyoncu'ya;

Tezimin histopatolojik değerlendirmesinde büyük katkıları olan, her zaman iyi niyetini ve desteğini hissettiğim Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'ndan değerli hocam Doç. Dr. Banu Yaman'a;

Tezimin istatistiksel değerlendirmesinde büyük katkıları olan Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'ndan değerli hocam Prof. Dr. Cumhuriyet Gündüz'e;

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım, dostlukları ve arkadaşlıkları ile bana destek olan tüm asistan arkadaşlarıma, birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum kliniğimizin tüm hemşire ve personellerine;

Hayatımın her aşamasında sevgisini ve fedakârlığını benden esirgemeyen, her zaman bana destek olan biricik anneme, babama ve bu süreçte yanımda olan tüm dostlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Nevin Güler

İzmir-2019

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖN SÖZ.....	
İÇİNDEKİLER.....	I
ÖZET.....	V
ABSTRACT.....	VII
TABLolar LİSTESİ.....	IX
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	X
KISALTMALAR LİSTESİ.....	XI
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Primer Kutanoöz Lenfomalar.....	3
2.1.1. Tanım ve Sınıflama.....	3
2.2.Mikozis Fungoides.....	5
2.2.1. Tarihçe.....	5
2.2.2. Epidemiyoloji.....	6
2.2.3. Etiyoloji.....	6
2.2.3.1. Genetik Faktörler.....	6
2.2.3.2. Çevresel Faktörler.....	7
2.2.3.3. İmmünolojik Faktörler.....	8
2.2.4. Klinik.....	9
2.2.4.1. Klasik Mikozis Fungoides (Alibert-Bazin Tipi)	9
2.2.4.1.1. Yama Evresi.....	9
2.2.4.1.2. Plak Evresi.....	10
2.2.4.1.3. Tümör Evresi.....	10
2.2.4.2. Mikozis Fungoides Klinik Varyantları.....	11
2.2.4.2.1. Eritrodermik MF.....	11
2.2.4.2.2. Hipopigmente MF.....	11
2.2.4.2.3. Hiperpigmente MF.....	12
2.2.4.2.4. Poikilodermik MF.....	12
2.2.4.2.5. Pigmente Purpurik Dermatoz Benzeri MF.....	12
2.2.4.2.6. Vezikülobüllöz/Dishidrotik MF.....	12
2.2.4.2.7. İktiyoiform MF.....	12

2.2.4.2.8. Siringotropik MF.....	12
2.2.4.2.9. Granülomatöz MF.....	13
2.2.4.2.10. Papüler MF.....	13
2.2.4.2.11. Pitiriyazis Likenoides Kronika (PLK) Benzeri MF.....	13
2.2.4.2.12. Mukozal (Oral) MF.....	13
2.2.4.2.13. Palmopantar MF.....	13
2.2.4.2.14. Hiperkeratotik / Verrüköz MF.....	13
2.2.4.2.15. Vegetatif / Papillomatöz MF.....	14
2.2.4.2.16. Püstüler MF.....	14
2.2.4.2.17. Gizli MF.....	14
2.2.4.3. Mikozis Fungoidesin Farklı Varyantları.....	14
2.2.4.3.1. Folikülotropik MF (F-MF)	14
2.2.4.3.2. Pagetoid Retiküloz.....	14
2.2.4.3.3. Granülomatöz Gevşek Deri.....	15
2.2.4.4. MF'nin Deri Dışı Tutulumu.....	15
2.2.4.5. MF ile İlişkili Hastalıklar.....	15
2.2.5. Tanı.....	15
2.2.5.1. Histopatoloji.....	17
2.2.5.2. İmmüfenotip.....	19
2.2.5.3. T Hücre Reseptörü (THR) Gen Rearanjmanı.....	20
2.2.5.4. Laboratuvar.....	20
2.2.6. Ayırıcı Tanı.....	20
2.2.7. Evreleme.....	21
2.2.8. Tedavi.....	24
2.2.8.1. Topikal Tedaviler.....	25
2.2.8.1.1. Topikal Kortikosteroidler.....	25
2.2.8.1.2. Topikal Nitrojen Mustard (Mekloreタミン Hidroklorid).....	25
2.2.8.1.3. Topikal Karmustin (Biskloroetilnitrozüre=BCNU).....	25
2.2.8.1.4. Topikal Retinoidler.....	25
2.2.8.1.5. İmiquimod.....	25
2.2.8.2. Fototerapi.....	26
2.2.8.2.1. Dar Bant UVB (dbUVB)	26
2.2.8.2.2. Psoralen + Ultraviyole A (PUVA) Fototerapisi.....	26

2.2.8.2.3. Excimer Lazer(308 nm)	26
2.2.8.2.4. Ekstrakorporeal Fotoforez (EKF)	26
2.2.8.3. Radyoterapi.....	27
2.2.8.3.1. Total Deri Elektron Beam Tedavisi (TSEB).....	27
2.2.8.4. Sistemik Tedaviler.....	27
2.2.8.4.1.İnterferon (IFN)	27
2.2.8.4.2. Retinoidler.....	27
2.2.8.4.3. Denilökin Diftitoks.....	28
2.2.8.4.4. Histon Deasetilaz (HDAC) İnhibitörleri.....	28
2.2.8.4.5. Monoklonal Antikorlar.....	28
2.2.8.4.6. Sistemik Kemoterapi.....	29
2.2.8.4.7. Hematopoetik Kök Hücre Transplantasyonu (HKHT).....	29
2.2.8.4.8. Yeni Tedavi Yöntemleri.....	29
2.2.9. Prognoz.....	31
2.3.MikroRNA (miRNA, miR).....	31
2.3.1. MikroRNA'ların Biyogenezi.....	31
2.3.2. MikroRNA'ların Fonksiyonları.....	33
2.3.3. Hastalıklarda MikroRNA.....	33
2.3.4. MikroRNA ve Kanser.....	34
2.3.5. MF'de MikroRNA.....	34
2.3.6. MiR-155.....	35
2.3.7. MiR-34a.....	35
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	37
3.1. Çalışma Grubu Seçimi.....	37
3.2. Parafinin Dokudan Uzaklaştırılması.....	38
3.3. Total RNA İzolasyonu.....	38
3.4. Real-Time Kantitatif Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-QPCR) ile miRNA Ekspresyon Analizi.....	39
3.4.1. Komplementer DNA (cDNA) Sentezi.....	39
3.4.2. Çalışmaya Dahil Edilen miRNA'lar.....	41
3.4.3. Real-Time RT-QPCR.....	41
3.4.4. Analiz.....	42
3.5. İstatistiksel Değerlendirme.....	42

4.BULGULAR.....	43
5.TARTIşMA.....	54
6.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	59
7.KAYNAKLAR.....	62
8.EKLER.....	



ÖZET

Amaç: Mikozis fungoides (MF), epidermotropik CD4⁺ T hücrelerinin monoklonal çoğalmasıyla karakterize, kutanöz T hücreli lenfomaların en sık görülen alt tipidir. MF'nin klasik tipi klinik olarak yama, plak ve tümör olmak üzere üç farklı evrede seyreder. Hastalığın yama evresinde histopatolojik bulgular belirleyici olmayabilir ve sıklıkla inflamatuvar dermatozlar ile karışabilir. Erken evrede tanı için tekrarlayan biyopsiler almak gerekebilir. Lezyonların başlangıcından itibaren kesin tanı konulana kadar ortalama 4-6 yıllık bir zaman geçmektedir. MF'nin etyopatogenezi halen net olarak bilinmemekle birlikte genetik, çevresel, enfeksiyöz ve immünolojik faktörlerin rol oynadığı kabul edilmektedir. Genetik çalışmalarda tümör baskılayıcı ve apoptozisi düzenleyici genlerde genetik ve epigenetik değişiklikler saptanmıştır. Literatürde kutanöz lenfomalarda epigenetik düzenleyicilerden biri olan miRNA'ların rolü ile ilgili yapılmış az sayıda çalışma yer almaktadır. MiR-155 ve miR-34a'nın MF'deki onkogenik rolünü destekleyen birkaç çalışma olmasına rağmen henüz güçlü verilere ulaşılamamıştır. Çalışmanın amacı; MF hastalarında ve kontrol grubunda deri biyopsi materyallerinde miR-155 ve miR-34a ekspresyonlarını analiz ederek MF hastaları ile kontrol grubunu ve ayrıca MF'nin farklı evrelerinde miRNA ekspresyon seviyelerini karşılaştırmak, hastalığın patogenezinin aydınlatılmasına katkı sağlamak ve MF'nin tanı ve tedavisinde bu mikroRNA'ların potansiyel biyobelirteç olarak kullanılabilmesi için gerekli verileri elde edebilmektir.

Gereç ve yöntemler: Çalışmaya Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Deri ve Zührevi Hastalıkları polikliniğine Ocak 2004 – Aralık 2018 tarihleri arasında başvuran yaşları 19-95 arasında değişen olgular dahil edilmiştir. Hasta grubu olarak klinik ve histopatolojik MF tanısı almış 40 hasta, kontrol grubu olarak MF dışı deri tümörü nedeniyle geniş reeksizyon yapılmış ve reeksizyon materyalinde tümör saptanmayan 40 olgu seçilmiştir. Çalışmada hasta ve kontrol grubunun arşivlenen eski biyopsi materyalleri kullanılmıştır. Hasta ve kontrol grubunun cinsiyet ve yaşı ile hasta grubunun hastalık süresi, lezyonların klinik tipi, histopatolojik bulgular ve mortalite değerlendirmeye alınmıştır. Örneklerden parafin uzaklaştırılarak total RNA izolasyonu, komplementer DNA (cDNA) sentezi yapılmış, Real-Time Kantitatif Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-QPCR) ile miR-155 ve miR-34a ekspresyonları saptanmıştır. Elde edilen sonuçların istatistiksel analizi $\Delta/\Delta C_t$ metodu ile gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Hasta grubunda kontrol grubuna göre miR-155 ekspresyonunda artış saptanmıştır. Klinik lezyonlara ve histopatolojik bulgulara göre ayrı ayrı gruplandırıldığında en büyük artışın plak lezyonları olan klinik grupta, histopatolojik olarak da plak evre MF hastalarında olduğu görülmüştür. Tümöral lezyonları olan klinik grup ve histopatolojik olarak tümör evre MF hastalarında ise miR-34a ekspresyonunda azalma olduğu saptanmıştır. Hastalık süresi uzadıkça miR-155 ekspresyonunda artış olduğu izlenmiştir. Hastalık süresi arttıkça plak lezyonları olan grupta miR-155; yama lezyonları olan grupta ise miR-34a kat değişimleri arasında anlamlı bir artış ($p<0,00001$, $p<0,0001$); tümöral lezyonları olan grupta da miR-34a kat değişimleri arasında anlamlı bir azalma saptanmıştır ($p<0,001$).

Sonuç: MiR-155'in ve miR-34a'nın yama evreden plak evreye geçişte etkili bir rolü olduğu ve bulgularımızın önceki çalışmaların sonuçlarından farklı olmasının nedeninin popülasyonlar arası genetik farklılıklar ile genler arasındaki etkileşimlere bağlı olabileceği düşünülmüştür. Hastalık süresinin uzaması ile mikroRNA ekspresyonlarında artış saptanması, lezyonlardaki klonal T hücre yoğunluğunun artışına bağlanmıştır. Hastalık süresine göre klinik gruplardaki mikroRNA ekspresyonlarının anlamlı düzeyde değişime uğraması, miR hedefli tedavilerin uygulanacağı hastaların seçiminde yol gösterici olabilir. Hastalık süresi ile mikroRNA ekspresyon değişimi arasındaki ilişkinin tam olarak değerlendirilebilmesi yapabilmek için daha ileri çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Kutanöz T hücreli lenfoma; mikozis fungoides; mikroRNA; PCR

ABSTRACT

Aim: Mycosis fungoides (MF) is the most common subtype of cutaneous T-cell lymphomas, characterized by monoclonal proliferation of epidermotropic CD4⁺ T cells. The classic type of MF is clinically seen in three different stages as patch, plaque and tumor. Histopathological findings may not be decisive in the patch stage of the disease and can often be confused with inflammatory dermatoses. It may be necessary to take recurrent biopsies for diagnosis at an early stage. An average time of 4-6 years passes from the onset of lesions until the definitive diagnosis is made. Although the etiopathogenesis of MF is not clearly known, it is accepted that genetic, environmental, infectious and immunological factors play a role. Genetic studies have shown genetic and epigenetic changes in tumor suppressor and apoptosis regulating genes. There are few studies in the literature about the role of miRNAs, one of the epigenetic regulators in cutaneous lymphomas. Although there are some studies supporting the oncogenic role of MiR-155 and miR-34a in MF, no strong data have been published yet. The aim of this study is; to analyze miR-155 and miR-34a expression levels in skin biopsy materials of MF patients and control group, to compare MF patients with control group, as well as to compare miRNA expression levels at different stages of MF, to contribute to the elucidation of the pathogenesis of the disease, to obtain the necessary data to use microRNAs as a potential biomarkers.

Material and Methods: The study included patients aged between 19-95 years who were admitted to Ege University Faculty of Medicine Hospital Dermatology and Venerology Outpatient Clinic between January 2004 and December 2018. The study group consisted of 40 patients who were clinically and histopathologically diagnosed with MF and as a control group, 40 patients who had a large re-excision due to non-MF skin tumor, without tumor in the re-excision material. Archived biopsy materials of the patient and control groups were used in the study. The gender and age of the patient and control groups and the duration of disease, clinical type, histopathological findings and mortality were evaluated. After removing paraffin from samples, total RNA isolation, complementary DNA (cDNA) synthesis were performed and miR-155 and miR-34a expressions were evaluated by Real-Time Quantitative Revers Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-QPCR). The statistical analysis of the obtained results was performed by $\Delta / \Delta Ct$ method.

Results: There was an increase in miR-155 expression in the patient group compared to the control group. When grouped separately according to clinical lesions and

histopathological findings, it was found that the greatest increase was in plaque lesions and histopathologically in patients with plaque stage MF. There was a decrease in the expression of miR-34a in clinical group with tumors, and histopathologically in patients with tumor stage MF. It was observed that miR-155 expression increased as the disease duration increased. As the disease duration increased, there was a significant increase in miR-155 fold changes in the group with plaque lesions and miR-34a fold changes in the group with patch lesions ($p < 0.00001$, $p < 0.0001$); there was a significant decrease in miR-34a fold changes in the group with tumoral lesions ($p < 0.001$).

Conclusion: It was thought that miR-155 and miR-34a may have effective roles in the transition from patch stage to plaque stage, and the difference between the results of previous studies may be related to genetic differences between populations and interactions between genes. An increase in microRNA expression with prolongation of disease duration was attributed to increased clonal T cell density in the lesions. Significant changes in microRNA expression in clinical groups according to the duration of disease may be guiding in the selection of patients in whom miR-targeted therapies will be administered. Further studies are needed to make a complete assessment of microRNA expression change according to disease duration.

Key words: Cutaneous T-cell lymphoma; mycosis fungoides; microRNA; PCR

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1: Primer deri lenfomalarının WHO/EORCT sınıflaması - 2005.....	4
Tablo 2: Primer deri lenfomalarının revize WHO/EORCT sınıflaması – 2018.....	5
Tablo 3: Erken evre MF tanısı için geliştirilen algoritma.....	16
Tablo 4: MF patolojik tanısında önerilen kriterler.....	17
Tablo 5: MF patolojik tanısında önerilen tanısal terminoloji.....	17
Tablo 6: Mikozis fungoideste klinik bulgulara göre ayırıcı tanılar.....	21
Tablo 7: MF’de lenf nodlarının (LN) histopatolojik olarak evrelemesi.....	22
Tablo 8: ISCL/EORTC (2007) tarafından revize edilen MF’nin TNMB sınıflaması.....	23
Tablo 9: ISCL/EORTC (2007) tarafından revize edilen MF’nin klinik evrelemesi.....	24
Tablo 10: MF’de evrelere göre tedavi şeması.....	30
Tablo 11: Reverse transkripsiyon ana karışım hazırlığı.....	40
Tablo 12: Termal döngü cihazı programı.....	40
Tablo 13: RT-QPCR karışım hazırlığı.....	41
Tablo 14: PCR cihazı protokolü.....	42
Tablo 15: Olguların demografik özellikleri.....	43
Tablo 16: Hasta grubunun klinik özellikleri.....	44
Tablo 17: Kontrol grubuna göre hasta grubunun miR-155 ve miR-34a ekspresyon profili....	45
Tablo 18: Kontrol grubuna göre erken evre ve ileri evre hastalıkta mir-155 ve mir-34a kat değişimleri.....	46
Tablo 19: Kontrol grubuna göre hasta klinik gruplarındaki miR-155 ve miR-34a ekspresyonlarının kat değişimleri	47
Tablo 20: Klinik yama lezyonları olan gruba göre plak ve tümöral lezyonları olan grubun miR-155 ve miR-34a kat değişimleri.....	48
Tablo 21: Klinik plak lezyonları olan gruba göre tümöral lezyonları olan grubun miR-155 ve miR-34a kat değişimleri.....	48
Tablo 22: Kontrol grubuna göre histopatolojik grupların miR-155 ve miR-34a kat değişimleri.....	50
Tablo 23: Kontrol grubuna göre hastalık süresi gruplarının miR-155 ve miR-34a kat değişimleri.....	51
Tablo 24: Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hastalık süresine göre klinik gruplarda miR-155 ve miR-34a kat değişimleri.....	52

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1: MiRNA biyogenezi.....	32
Şekil 2: Kontrol grubuna göre hasta grubundaki miR-155 ve miR-34a rölatif ekspresyon değerleri.....	45
Şekil 3: Kontrol grubuna göre erken evre ve ileri evre hastalıkta mir-155 ve mir-34a rölatif ekspresyon değerleri.....	46
Şekil 4: Kontrol grubuna göre hasta klinik gruplarındaki miR-155 ve miR-34a rölatif ekspresyon değerleri.....	47
Şekil 5 - 6: Klinik yama lezyonları olan gruba göre plak ve tümöral lezyonları olan grupların ve klinik plak lezyonları olan gruba göre tümöral lezyonları olan grubun miR-155 ve miR-34a rölatif ekspresyon düzeyleri.....	49
Şekil 7: Kontrol grubuna göre histopatolojik grupların miR-155 ve miR-34a rölatif ekspresyon değerleri.....	50
Şekil 8: Hastaların kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hastalık sürelerine göre miR-155 ve miR-34a rölatif ekspresyon düzeyleri.....	51
Şekil 9: Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hastalık süresine göre klinik gruplarda miR-155 ve miR-34a rölatif ekspresyon değerleri ve her bir klinik grubun kendi içinde hastalık süresine göre karşılaştırılması (tek yönlü varyans analizi [one-way ANOVA], *****: $p<0,00001$, ***: $p<0,0001$, **: $p<0,001$).....	53

KISALTMALAR LİSTESİ

MF:	Mikozis fungoides
TNMB:	tümör-nod-metastaz-kan
miRNA, miR:	Mikro RNA
TS-miR:	tümör baskılayıcı miRNA
onkomiR:	onkogenik miRNA
KTHL:	kutanöz T hücreli lenfoma
EORTC:	Avrupa Kanser Araştırma ve Tedavi Organizasyonu
WHO:	Dünya Sağlık Örgütü
EBV:	Epstein-Barr virüsü
SS:	Sezary sendromunu
HLA:	insan lökosit antijen
STAT:	sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü
THR:	T hücre reseptör
Treg:	regülatuar T hücreleri
HTLV-1:	insan T-hücreli lösemi/lenfoma virüsü tip-1
PCR:	polimeraz zincir reaksiyonu
RT:	revers transkripsiyon
Staf. Aureus:	Staphylococcus aureus
CLA:	kutanöz lenfosit ilişkili antijen
TLR:	Toll-like reseptör
CTLA-4:	sitotoksik T lenfosit ilişkili antijen 4
F-MF:	folikülotropik MF
PUVA:	psoralen+ ultraviyole A
PLK:	Pitiriyazis Likenoides Kronika
LyP:	lenfomatoid papülozis
KABHL:	kutanöz anaplastik büyük hücreli lenfoma
T-MF:	Transforme MF
LDH:	laktat dehidrogenaz
LN:	lenf nodu
VYA:	vücut yüzey alanı
mSWAT:	modifiye hastalık şiddet skorlaması
FDA:	Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi

dbUVB: dar bant UVB

EKF: ekstrakorporeal fotokemoterapi

MED: minimal eritem dozu

MFD: minimal fototoksik doza

TSEB: total deri elektron beam tedavisi

IFN: interferon

RAR: retinoid A reseptörü

RXR: retinoid X reseptörü

HDAC: histon deasetilaz

MTX: metotreksat

HKHT: Hematopoetik Kök Hücre Transplantasyonu

mRNA: mesajcı RNA

tRNA: taşıyıcı RNA

rRNA: ribozomal RNA

ncRNA: proteine kodlanmayan RNA

pri-miRNA: primer transkript

pre-miRNA: prekürsör miRNA

RISC: RNA ile indüklenen susturma kompleksi

BİD: benign inflamatuvar dermatoz

PPFE: formalinle fikse edilmiş parafine gömülü

RT-QPCR: Real-Time Kantitatif Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu

cDNA: komplementer DNA

Ct: karşılaştırmalı eşik değer

AD: atopik dermatit

1. GİRİŞ

Mikozis fungoides (MF) kutanöz T hücreli lenfomaların en sık görülen alt tipidir. Epidermotropik CD4⁺ T hücrelerinin monoklonal çoğalmasıyla karakterizedir. Yavaş seyirli olup dekatlar içerisinde ilerleme gösterir. MF'in klasik tipi klinik olarak yama, plak ve tümör olmak üzere üç farklı evrede seyreder. Hastalığın evresi tedavinin planması ve prognozun belirlenmesi açısından önemlidir. Evrelendirme TNMB (Tümör-Nod-Metastaz-Kan) (2007) klinik evrelendirme sistemine göre yapılmakta; evre IA, IB ve IIA erken evre; Evre IIB, III ve IV ise ileri evre MF olarak kabul edilmektedir.

Hastalık yama evresinde tipik olarak güneş görmeyen gluteal alanlar ve gövdede lokalize, bazen kaşıntılı olabilen, değişken boyutlarda, eritemli, ince skuamlı yama tarzı lezyonlar ya da ince plaklar şeklinde gözlenir. Histopatolojik bulgular belirleyici olmayabilir ve sıklıkla atopik dermatit, mikoz ve ekzema gibi tanılarla karışabilir. Erken evrede tanı için tekrarlayan biyopsiler almak gerekebilir. Lezyonların başlangıcı ile kesin tanının konması arasında ortalama 4-6 yıllık bir zaman farkı olabilmektedir. Plak evresi, yama evresinden aylar, yıllar sonra başlayabileceği gibi hastalık doğrudan plaklar halinde de ortaya çıkabilir. Gövde, baş-boyun ve ekstremitelerde lokalize olabilen plaklar, keskin sınırlı, deriden hafif kabarık, kırmızıdan mor-kahverengine değişen renklerde olup, palpasyon ile indürasyon gösterirler. Palpasyon ile sıklıkla dermatopatik lenfadenopati saptanabilir. Tümör evresinde tümöral lezyonlar, varolan plaklar üzerinde gelişebildiği gibi doğrudan sağlam deride de ortaya çıkabilir ve hastalarda tipik olarak yama, plak ve tümörlerin birlikteliği gözlenir. Hastalığın ileri evrelerinde lenf nodlarında ve iç organlarda tutulum olabilir veya hastalık yüksek dereceli bir lenfoma türüne dönüşebilir. MF'in yıllık insidansı yaklaşık 100.000'de 0,5-1'dir. Genellikle 55-60 yaşları arasında görülür ancak çocuk ve adolesanlarda da gözlenebilmektedir.

MF'in etyopatogenezi halen net olarak bilinmemekle birlikte genetik, çevresel, enfeksiyöz ve immünolojik faktörlerin rol oynadığı kabul edilmektedir. Kimyasal ve metallerle herbisid ve insektisidlerin epidermiste antijenik bir uyarı başlatarak T hücrelerinde proliferatif bir yanıt oluşturmaları yanı sıra DNA hasarı meydana getirmeleriyle onkogenik genlerde mutasyon ve aşırı ekspresyona neden olabilecekleri düşünülmektedir. MF'te antijenik uyarım, başlangıç olayı olarak kabul edilmekle birlikte yer alan antijenlerin doğası bilinmemektedir. Genetik çalışmalarda tümör baskılayıcı ve apoptozisi düzenleyici genlerin ekspresyonlarında değişiklikler saptanmıştır.

Mikro RNA'lar (miRNA, miR), gen ekspresyonunun post-transkripsiyonel düzenlenmesinde işlev gören küçük kodlanmayan RNA'lardır. Dolayısıyla miRNA'lar hücrelerin gelişme, farklılaşma, çoğalma ve apoptozunda rol alırlar. Ayrıca birçok hastalığın patogenezinde anahtar rol oynarlar. Özellikle tümör baskılayıcı miRNA'lar (TS-miR) birçok kanserde susturulduğu halde, onkogenik miRNA'lar (onkomiR) kanserde aşırı eksprese olurlar. Kutanöz lenfomalarda miRNA'ların rolü ile ilgili yapılmış literatürde az sayıda çalışma yer almaktadır. MiR-155, karsinojen bir miRNA'dır. Hematopoez, immünite ve inflamasyon gibi çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerde önemli bir rol oynar. Sepsis ve viral enfeksiyonlarda, kardiyovasküler bozukluklarda, tiroid, pankreas ve göğüs kanseri gibi malignitelerde miR-155 ekspresyonunun değişikliğe uğradığı gözlenmiştir. B hücreli lenfoid maligniteler yanı sıra T hücreli lenfomalar ve özellikle MF'te de miR-155'in aşırı ekspresyonu gösterilmiştir. MiR-155'in hem proenflamatuvar hem de onkogenik fonksiyonlarının MF patogenezinde rol oynayabileceği düşünülmektedir. MiR-34a, akut ve kronik lösemide bir tümör baskılayıcı gen olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte gastrik kanser, beyin tümörleri, tümöral MF ve Myc geni ilişkili lenfoma hücrelerinde de onkogenik rolü bildirilmiştir. MiR-34a'nın global tümör baskılayıcı özelliğinden çok dokuya spesifik bir rolü bulunmaktadır. Tümöral MF tanılı hastalarda yapılan bir çalışmada elde edilen verilere dayanılarak miR-34a'nın aday bir kanserojen molekül olduğu vurgulanmıştır. MiR-34a'nın bu özelliğinin tümöral MF patogenezinde önemli rol oynayabileceği öne sürülmüştür.

Bu çalışmanın amacı; MF hastalarında ve kontrol grubunda deri biyopsi materyallerinde miRNA 155 ve miRNA34a ekspresyonlarını analiz ederek MF hastaları ile kontrol grubu ve ayrıca MF'in farklı evrelerinde miRNA ekspresyon seviyelerini karşılaştırmak, hastalığın patogenezinin açıklanmasında katkı sağlamak ve MF'in tanı ve tedavisinde bu miRNA'ların potansiyel biyobelirteç olarak kullanılabilmesi için gerekli verileri elde etmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Primer Kutanöz Lenfomalar

2.1.1. Tanım ve Sınıflama

Primer kutanöz lenfomalar, gastrointestinal sistem tümörlerinden sonra en sık görülen ektranodal non-Hodgkin lenfomalardır ve yıllık insidansı yaklaşık 1/100000 olarak bilinir (1). Tüm primer kutanöz lenfomaların %75-80'ini T hücreli lenfomalar oluştururken %20-25'ini B hücreli lenfomalar oluşturmaktadır (2). Primer kutanöz T hücreli lenfomalar (KTHL); deride bulunan klonal T lenfositlerinin neoplastik proliferasyonu ile karakterize, klinik, histolojik, immunfenotipik ve prognostik farklılıklarına göre çeşitli alt gruplara ayrılan bir hastalık grubudur (1).

Deri lenfomalarının ilk tanım ve sınıflamaları; Avrupa'da Kiel, Amerika'da Rappaport, Lukes, Collins ve Çalışma Formülasyonu sınıflamalarıdır. Sistemik lenfomaların morfolojik özellikleri esas alınarak yapılmıştır. Klinik, histolojik, immünfenotipik ve moleküler genetik bilgiler dikkate alınarak yapılan ilk sınıflama ise Uluslararası Lenfoma Çalışma Grubu tarafından 1994 yılında yayınlanan yenilenmiş Avrupa-Amerika Lenfoma (REAL) sınıflamasıdır (3). Deri lenfomalarının sistemik lenfomalardan daha farklı klinik özelliklere ve prognoza sahip olduğunun gözlenmesi üzerine Avrupa Kanseri Araştırma ve Tedavi Organizasyonu (EORTC) tarafından 1997 yılında "primer kutanöz lenfoma" tanımlaması ve bu başlık altında yeni bir sınıflama yapılmıştır. Buna göre; primer deri lenfoması, evrelemeye yönelik değerlendirmelerin yapılarak lenfoma tanısının konulduğu sırada ve sonraki 6 ay içinde deri dışı tutulumun bulunmadığı derinin non-Hodgkin lenfoması şeklinde tanımlanmıştır (4).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından 1999 yılında yapılan lenfoid ve hematopoetik doku tümörlerinin sınıflamasında da yine primer deri lenfomaları ayrı bir antite olarak kabul edilmiştir (5). Hem EORTC hem de WHO sınıflamalarında bazı eksiklikler saptanması üzerine, Eylül 2003'te Lyon'da ve Ocak 2004'te Zürih'te yapılan konsensus toplantıları sonucunda 2005'te ortak bir WHO/EORCT sınıflaması yapılmıştır (Tablo 1) (6). WHO tarafından 2008'de kutanöz lenfomaların sınıflandırması yeniden düzenlenmiş ve daha sonra 2016 yılında revize edilmiştir (7,8). Son olarak Eylül 2018'de ise WHO/EORCT sınıflaması revize edilerek yayınlanmıştır (Tablo 2) (9). Revize edilen sınıflamada primer kutanöz periferik T hücreli lenfoma grubuna, primer kutanöz akral CD8⁺ T hücreli lenfoma

dâhil edilmiştir. Yine aynı grupta yer alan “primer kutanöz CD4⁺ küçük/orta pleomorfik T hücreli lenfoma”, klinik gidişin yavaş olması ve belirsiz malignite potansiyeli nedeniyle “primer kutanöz CD4⁺ küçük/orta T hücreli lenfoproliferatif hastalık” olarak değiştirilmiştir. Primer kutanöz CD30⁺ lenfoproliferatif hastalıklar grubunda yer alan lenfomatoid papülozisin yeni varyantları tanımlanmıştır. Ayrıca sınıflandırmaya kronik aktif *Epstein-Barr* virüsü (EBV) hastalığının bir deri formu olan hidroa vacciniforme benzeri lenfoproliferatif hastalık da eklenmiştir. Kutanöz B hücreli lenfomaların sınıflamasına da EBV pozitif mukokutanöz ülser eklenmiş ve primer kutanöz marjinal zon B hücreli lenfomanın spesifik klinik özellikleri tanımlanmıştır (9).

Tablo 1: Primer deri lenfomalarının WHO/EORCT sınıflaması – 2005 (6)

T ve NK Hücreli Deri Lenfomaları
Mikozis fungoides MF varyantları ve alt tipleri ✓ Folikülotropik MF ✓ Pajetoid retikülozis ✓ Granülomatöz gevşek deri Sezary sendromu Erişkin T hücreli lösemi/lenfoma Primer kutanöz CD30 ⁺ lenfoproliferatif hastalıklar ✓ Primer kutanöz anaplastik büyük hücreli lenfoma ✓ Lenfomatoid papülozis Subkutan pannikülit benzeri T hücreli lenfoma Ekstranodal NK/T hücreli lenfoma, nazal tip Primer kutanöz periferik T hücreli lenfoma, başka türlü sınıflanamayan ✓ Primer kutanöz agresif epidermotropik CD8⁺ T hücreli lenfoma (geçici antite) ✓ Kutanöz γ/δ T hücreli lenfoma (geçici antite) Primer kutanöz CD4 ⁺ küçük/orta pleomorfik T hücreli lenfoma (geçici antite)
B Hücreli Deri Lenfomaları
Primer kutanöz marjinal zon B hücreli lenfoma Primer kutanöz foliküler merkez hücreli lenfoma Primer kutanöz diffüz büyük B hücreli lenfoma, bacak tipi Primer kutanöz diffüz büyük B hücreli lenfoma, diğer ✓ İntravasküler büyük B hücreli lenfoma
Prekürsör Hematolojik Neoplazi
CD4 ⁺ /CD56 ⁺ hematodermik neoplazi (Blastik NK hücreli lenfoma)

Tablo 2: Primer deri lenfomalarının revize WHO/EORCT sınıflaması – 2018 (9)

Kutanöz T Hücreli Lenfomalar
Mikozis fungoides
MF varyantları
✓ Folikülotropik MF
✓ Pajetoid retikülozis
✓ Granümatöz gevşek deri
Sezary sendromu
Erişkin T hücreli lösemi/lenfoma
Primer kutanöz CD30 ⁺ lenfoproliferatif hastalıklar
✓ Primer kutanöz anaplastik büyük hücreli lenfoma
✓ Lenfomatoid papülozis
Subkutan pannikülit benzeri T hücreli lenfoma
Ekstranodal NK/T hücreli lenfoma, nazal tip
Kronik aktif EBV enfeksiyonu
Primer kutanöz periferik T hücreli lenfoma, nadir alt tipleri
✓ Primer kutanöz γ/δ T hücreli lenfoma
✓ Primer kutanöz agresif epidermotropik CD8 ⁺ T hücreli lenfoma (geçici antite)
✓ Primer kutanöz CD4 ⁺ küçük/orta T hücreli lenfoproliferatif hastalık (geçici antite)
✓ Primer kutanöz akral CD8 ⁺ T hücreli lenfoma (geçici antite)
Primer kutanöz periferik T hücreli lenfoma, başka türlü sınıflandırılmayan
Kutanöz B Hücreli Lenfomalar
Primer kutanöz marjinal zon lenfoma
Primer kutanöz foliküler merkez hücreli lenfoma
Primer kutanöz diffüz büyük B hücreli lenfoma, bacak tipi
EBV ⁺ mukokutanöz ülser (geçici antite)
İntravasküler büyük B hücreli lenfoma

2.2. Mikozis Fungoides

2.2.1. Tarihçe

MF ilk olarak 1806 yılında Fransız hekim Jean Louis Alibert tarafından tanımlanmıştır. Tümöral evresinde mantara benzeyen lezyonların olması nedeniyle “mycosis fungoides” olarak isimlendirilmiştir. Sonradan fungal etkenle ilişkisi olmayan bir lenfoma olduğu anlaşılmasına rağmen yanlış isimlendirme halen devam etmektedir. Bazin 1870 yılında ilk “çok aşamalı model” örneği olarak hastalığın premikotik, plak ve tümör evrelerini

açıklamıştır. Vidal ve Brocq tarafından 1885 yılında klasik seyirden farklı olarak ani oluşan tümöral kitlelerle karakterize olan “mycosis fungoides d’emblem” ve Besnier ve Hallopeau tarafından 1892 yılında da MF’nin eritrodermik formu tanımlanmıştır. Sezary ve Bouvrain 1938 yılında kaşıntılı eritrodermi, jeneralize lenfadenopati ve periferik kanda nükleusu aşırı kıvrımlı Sezary hücreleri triadı ile Sezary sendromunu (SS); Edelson ve Lutzner ise 1975 yılında MF ve SS’nu birlikte kutanöz T hücreli lenfoma olarak ilk kez kullanmışlardır. Günümüzde KTHL’lerin primer deri lenfomalarının geniş bir grubunu oluşturduğu bilinmektedir (10).

2.2.2. Epidemiyoloji

Mikozis fungoides, primer kutanöz lenfomaların en sık görülenidir (11). Tüm Non-Hodgkin lenfomaların yaklaşık %1’ini oluşturan MF’nin yıllık insidansı 0.5-1/100.000’dir. Tipik olarak 55-60 yaş arası gözlenmekle birlikte çocuk ve yetişkin dönemlerde de ortaya çıkabilir. Hastalık erkeklerde kadınlara oranla daha sık izlenir (E/K: 1.6-2/1) (12). Hastaların çoğu erken evrededir. Anadolu ve arkadaşları 113 MF’li hastayı içeren çalışmalarında olguların %89.4’ünün erken evre (evre IA, IB, IIA) olduğunu bildirmişlerdir (13).

2.2.3. Etiyoloji

MF’in kronik antijenik uyarıma bağlı olarak deride bellek tipi T helper hücrelerin birikimi ve klonal çoğalması ile geliştiğine inanılmaktadır. Bugüne kadar bu olası antijenleri tanımlamak için yapılan çalışmalarda kesin bir neden saptanamamıştır. Hastalıkta çeşitli genetik, çevresel ve immünolojik faktörlerin neden olabileceği suçlanmaktadır (12).

2.2.3.1. Genetik Faktörler

MF kalıtsal bir hastalık olmamakla birlikte bazı vakalarda genetik eğilim rol oynayabilir ve literatürde ailesel MF olguları bildirilmiştir (14). Yapılan çalışmalarda bazı insan lökosit antijen (HLA) tipleri MF ile ilişkilendirilmiştir. MF’li hastalarda HLADR5 allel ekspresyonunda artış saptanmıştır (15). Ayrıca yapılan iki çalışmada HLA DRB1*11 ve HLA-DQB1*03’ün MF ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (15,16).

MF’de DNA onarım genleri, onkogenler, tümör supresör genleri ve apoptoz ile ilişkili genlerde değişiklikler gözlenmiştir. JUNB ve sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü (STAT) gibi transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunun artması hastalık progresyonunda etkili bulunmuştur (17,18). Ayrıca MF hücrelerinin; T hücre reseptör (THR) sinyalini, NFAT ve NF-KB aktivasyonunu ve JAK/STAT sinyalini düzenleyen yollarda

eşzamanlı genetik değişiklikler taşıdıkları gösterilmiştir. Bu genetik değişiklikler ve çevresel faktörlerin bir sonucu olarak, MF'deki neoplastik hücrelerin fenotipi; foliküler helper T hücreleri (PD1, CXCL13, ICOS1), regülatuvar T hücreleri (Treg) (CD4, CD25, FOXP3), T-helper 1, T-helper 2 ve T-helper 17 hücreleri dahil olmak üzere farklı T hücre popülasyonlarını karakterize eden markırları barındırmaktadır (19). MF'de p15, p16, NAV3, PTEN ve p53 genlerindeki mutasyonlar veya allelik kayba uğraması plak evreden tümör evreye progresyonla ilişkili bulunmuştur (20). Ayrıca CDKN2a gen mutasyonunun da ileri evre MF ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (21).

2.2.3.2. Çevresel Faktörler

MF'nin, çeşitli allerjenlere ve çevresel ajanlara uzun süreli maruziyet, kronik deri hastalıkları ve viral enfeksiyonlarla ilişkili olduğu öne sürülmüştür (22). Etiyolojiye yönelik yapılan ilk epidemiyolojik çalışmalarda cam, çömlek, seramik işçiliği ile petrokimya, tekstil, makine ve metal sanayisinde çalışanlarda MF sıklığında artış olduğu bildirilmiş, ancak bu durum sonraki geniş vaka kontrollü çalışmalarla desteklenmemiştir (23,24). Bir çalışmada çiftçi, boyacı ve marangozlarda MF'nin daha fazla görüldüğü bildirilmiştir (25). Aromatik ve halojen hidrokarbonlar ile pestisitlere maruziyetin de etiyolojide rol oynadığı düşünülmüştür (20).

Etiyolojisinde kronik antijenik uyarının rol oynadığı düşünülen MF'de viral etkenlerden insan T-hücreli lösemi/lenfoma virüsü tip-1 (HTLV-1) üzerinde durulmuştur. Erişkin T hücreli lösemi/lenfomanın aksine MF'de polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), southern blot ve revers transkripsiyon (RT) yöntemleri ile yapılan analizlerde virüs tespit edilememiştir (26-28). EBV'nin lenfoproliferatif hastalıklar ve Burkitt lenfoma ile ilişkisi nedeni ile MF etiyolojisinde de olası bir etken olabileceği düşünülmüştür (12). *Sitomegalovirüs* ve *Herpes Simpleks* virüsün ise MF etiyolojisindeki rolünün kanıt düzeyi minimaldir (29-31). HIV enfekte ve organ transplantasyonu yapılan MF hastalarında immunsupresyon ya da immunsupresif tedavinin, MF etiyolojisinde sorumlu olabileceği öne sürülmüştür (30,32,33). *Staphylococcus aureus* (Staf. Aureus) ve ilişkili enterotoksinlerin MF'nin etiyolojisinde potansiyel bir rol oynadığı düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada MF'li hastaların %70'inde kan veya deri kültürlerinde *Staf. aureus* üremesi saptanmıştır (12). Ayrıca bir çalışmada da antibiyoterapi ile klinik düzelme görülen eritrodermik MF'li hastalarda yüksek oranda *S. aureus* kolonizasyonu bulunmuştur (34).

Yapılan bir çalışmada 40 yıldan fazla sigara içiminin, vücut kütle indeksinin 30'un üzerinde olmasının ve aile bireylerinde multipl myelom olmasının MF için risk faktörleri olabileceği bildirilmiştir (25). Bazı vaka bildirileri ve çalışmalarda da antiepileptikler, antidepresanlar, tiazid grubu anti hipertansifler ve TNF- α inhibitörlerinin MF benzeri döküntüye neden olduğu raporlanmıştır (35-38).

2.2.3.3. İmmünolojik Faktörler

Mikosiz fungoideste malign T hücreleri diğer T hücrelerinden kutanöz lenfosit ilişkili antijen (CLA) olarak adlandırılan kendine özgü bir hücre yüzeyi reseptörü ile ayırt edilir. MF'deki malign T hücrelerinin CLA ve CCR4 gibi sitokin reseptörlerini ile CCR4 için ligand görevi gören CCL17 ve CCL22'yi yüksek oranda eksprese ettikleri gösterilmiştir (20). B7 ve CD40 gibi antijen sunucu hücre ligandları ile bunların T hücredeki karşılığı olan CD28 ve CD40L ekspresyonlarının da MF lezyonlarında arttığı gösterilmiştir (39,40). Ayrıca psoriasis ve alerjik kontakt dermatit gibi inflamatuvar deri hastalıklarında olduğu gibi MF hastalarında da keratinositler tarafından eksprese edilen Toll-like reseptör (TLR) 2, 4, 9'da artış olduğu bildirilmiştir (41,42).

MF'deki neoplastik T hücreleri bellek tipi matür T helper hücreleri olup CD3⁺, CD4⁺, CD5⁺, CD45RO⁺, CD8⁻ özellik gösterirler. Nadiren CD4⁻, CD8⁺ matür sitotoksik T hücre fenotipi de görülebilir (6). Yapılan çalışmalarda CD8⁺ sitotoksik T hücrelerinin MF'ye karşı antitümör yanıtta önemli rol oynadığı ve daha iyi prognozla ilişkili olduğu bildirilmiştir (43,44). CD8⁺ T hücreleri antitümör etkilerini, direkt sitotoksik etkiyle interferon- γ gibi sitokinler salgılayarak gösterirler. Tümör hücre lizisine perforin, giranzim, T hücre kontrollü intrasellüler antijen içeren sitotoksik granüllerin salınımı ve Fas ligand ekspresyonu aracılık eder. Her iki yolak da kaspaz-3 aktivasyonu ve tümör hücre ölümüne neden olur (44). Erken evre MF hastalarında yüksek derecede Fas ekspresyonu saptanırken ileri evre ve agresif seyir gösteren hastalarda ekspresyonda azalma izlenmiştir (45,46).

Tümör yükünün artışına paralel olarak artan sitotoksik T lenfosit ilişkili antijen 4 (CTLA-4) ekspresyonu, Th1 sitokinler tarafından inhibe edilmektedir. Bu nedenle geliştirilen monoklonal CTLA-4 antikoru (ipilimumab) MF'de immunoterapi olarak kullanılabilmektedir (47,48).

Hastalığın progresyonuyla sitokin ekspresyon profili değişikliğe uğramaktadır. Yapılan bir çalışmada plak dönem lezyonlarda Th1 sitokinlerin (IL2, IL12, IFN- γ ve TNF- β),

tümöral dönem lezyonlarda ise Th2 sitokinlerin (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13) düzeyleri daha yüksek bulunmuştur. Hastalık progresyon gösterdikçe sitokin profili Th1'den Th2'ye değişmekte ve tümör hücrelerinin antitümör immün cevaptan kaçışında da Th2 sitokinlerin rol oynadığı düşünülmektedir (49).

2.2.4. Klinik

MF klasik olarak gövde, gluteal ve aksiller bölgeler ile ekstremiteler proksimalleri gibi güneş görmeyen alanlarda ortaya çıkar. Eritemli yama, plak ve daha nadiren tümöral oluşumlar ile karakterizedir. Hastalık genellikle yamadan plağa, plaktan tümöre doğru progresyon göstermektedir. Bazı hastalarda eritrodermiye progresyon da izlenebilir. Değişen sayı ve boyutlarda olabilen lezyonlarda pullanma ve kaşıntı şikayeti eşlik edebilir. Lezyonların merkezi kısımlardan iyileşmesi ve periferik doğru yayılması sonucunda anüler, semianüler veya serpiginöz görünüm oluşabilir. Hastalık yıllar veya dekadlar süren yavaş progresyon gösterir. Çoğu zaman sadece deriye sınırlı kalmakla birlikte bazı olgularda lenf nodu ve sistemik tutulum da görülebilir (50).

Klinik olarak yama, plak ve tümör evrelerinden oluşan klasik tipi yanı sıra inflamatuvar dermatozları taklit eden birçok klinik ve/veya histopatolojik varyantı tanımlanmıştır. Bunlar; eritrodermik, hipopigmente, hiperpigmente, poikilodermik, pigmente purpurik dermatoz ve pitiriyasis likenoides kronika benzeri, vezikülobüllöz/dishidrotik, iktiyoziform, siringotropik, granümatöz, papüller, mukozal, palmoplantar, hiperkeratotik/verrukoöz, vegetatif/papillomatöz, püstüler ve gizli MF'dir (51-53). Bu varyantların klasik MF'ninkine benzer klinik davranış sergilemeleri nedeniyle 2017 revize WHO sınıflamasında ayrı ayrı sınıflandırılmamıştır. Ayırt edici klinikopatolojik özellikleri, klinik seyirleri ve prognozları nedeniyle sadece folikülotropik MF (F-MF), pagetoid retiküloz ve granümatöz gevşek deri MF'nin farklı varyantları olarak kabul edilmiştir (8).

2.2.4.1. Klasik Mikozis Fungoides (Alibert-Bazin Tipi)

Alibert ve Bazin tarafından tanımlanan ve hastalığın en sık görülen bu tipinde farklı tipte lezyonlar bir arada bulunabilir. Yama ve plaklar birlikte bulunduğu plak evresi, plak ve tümörler bir arada görüldüğünde de tümör evre MF olarak kabul edilir (22).

2.2.4.1.1. Yama Evresi

Hastalığın başlangıç evresinde sıklıkla gözlenen yama tarzı lezyonlar, çok ince skuamli, hafif atrofik ve eritematöz, keskin sınırlı, yuvarlak, oval veya polisiklik şekillerde,

farklı sayı ve boyutlarda olabilen, infiltrate olmayan lezyonlardır. Genellikle intertriginöz ve gluteal bölgeler başta olmak üzere gövde, meme ve ekstremiteler üst kısımları gibi güneş görmeyen alanlarda izlenir. Genital bölge ve mukoza tutulumu sıklıkla gözlenmez. Lezyonlar çoğunlukla asemptomatik olmakla birlikte bazen hafif kaşıntı eşlik edebilir (6). Epidermis atrofisi ve elastik lif kaybı, lezyonların buruşuk görünmesine neden olur ve “parşomen benzeri” veya “sigara kağıdı benzeri” olarak tanımlanırlar (22). Yama evresi lezyonlarında spontan gerileme gözlenebilir (54).

2.2.4.1.2. Plak Evresi

Plak lezyonlar, yama lezyonların üzerinden aylar ya da yıllar sonra başlayabileceği gibi direkt olarak sağlam deriden de gelişebilir. Lezyonlar keskin sınırlı, deriden hafif kabarık, kolaylıkla palpe edilebilen, eritemli, skuamlı, kahverengi-kırmızı renktedir. Hastalarda genellikle şiddetli kaşıntı görülür (22). Plak lezyonlarda da spontan gerileme olabilir. Büyük lezyonlar merkezi kısımlardaki iyileşmeye bağlı olarak zamanla anüler, polisiklik ve at nalı şeklini alabilirler. Yüzde yerleşen infiltrate plaklar “aslan yüzü görünümü”ne neden olabilir. Kılı alanlarda gelişen plaklarda ise alopesi ve kistler gelişebilir. Ülsere olabilen, bazen ağrının da eşlik edebildiği lezyonlarda bakteriyel enfeksiyon gelişebilir. Bu dönemde çoğunlukla dermatopatik olan lenfadenopati izlenebilir (1).

2.2.4.1.3. Tümör Evresi

Tümöral lezyonlar, genellikle plak ve yama lezyonların üzerinden gelişse de doğrudan sağlam deri üzerinden de ortaya çıkabilir. Sıklıkla yüz ve kıvrım bölgelerinde yerleşim gösteren kırmızı-kahve veya morumsu renkte, düz yüzeyle ve ülsere olmaya meyilli bu lezyonlarda sekonder enfeksiyon gelişebilir. Bu evredeki hastalarda lenf nodu ve iç organ tutulumu önemli derecede artış gösterir. Ancak nadiren de olsa spontan gerileme gözlenebilir (12).

Öncü lezyonlar olmaksızın doğrudan hızla büyüyen büyük tümöral lezyonların geliştiği ve “tumor d’emblem” olarak isimlendirilen vakaların son yıllarda primer kutanöz lenfomaların diğer varyantları (pleomorfik, orta veya büyük hücreli, CD30⁺ veya CD30⁻ T hücreli lenfoma) olduğu kabul edilmektedir. Dolayısıyla direk tümöral lezyonlarla başlangıcın görülmesi MF tanısından uzaklaştırmaktadır (12,51).

2.2.4.2. Mikozis Fungoides Klinik Varyantları

2.2.4.2.1. Eritrodermik MF

Vücut yüzey alanının %80'inden fazlasının eritem ya da skuamla kaplanması ile karakterize olan eritrodermik MF, doğrudan gelişebileceği gibi yama ve plak tarzı lezyonların progresyonuyla da ortaya çıkabilir. Belirgin olarak eritem, ödem, deskuamasyon ve yer yer likenifikasyonun izlendiği hastalarda şiddetli kaşıntı gözlenir. Kıvrım yerlerinde sıklıkla simetrik sağlam deri adacıkları izlenir. Yüz tutulumunda deri kıvrımlarının belirginleşmesi ile “aslan yüzü” görünümü oluşabilir. Alopesi, palmoplantar hiperkeratoz, fissürler, onikodistrofi ve ektropiyon eşlik edebilir (51). Lenf bezlerinde büyüme ve periferik kanda atipik hücrelerin görülmesiyle tablo SS ile karışabilse de eritrodermik MF’de kanda atipik hücre oranı %5’in altındadır. Eritrodermik MF’de histopatolojik incelemede klasik MF bulguları gözlenir (55).

Önceleri MF’in bir varyantı olarak bilinen SS, 2005 yılında WHO-EORTC primer kutanöz lenfoma sınıflamasında ayrı bir hastalık olarak kabul edilmiştir (6). Prognozu eritrodermik MF’ye göre daha kötüdür ve 5 yıllık sağ kalım oranı yaklaşık %20’dir. Hastalığın başlangıcında öncü MF lezyonları izlenmez. Jeneralize lenfadenopati eşlik edebilir ancak kesin kriter değildir. SS tanısı için eritrodermiye ek olarak aşağıdaki kriterlerden en az 1 tanesinin olması gerekmektedir:

- 1- periferik kanda $\geq 1000/\text{mm}^3$ Sezary hücresi (kıvrımlı nükselusa sahip CD4^+ T hücresi) olması,
- 2- immunofenotipik özellikler ($\text{CD4}/\text{CD8} \geq 10$, CD7 kaybı $> \%40$, CD26 kaybı $> \%30$),
- 3- periferik kanda moleküler ya da sitogenetik yöntemle gösterilen T hücre klonalitesinden bir ya da daha fazlasının görülmesi (56).

2.2.4.2.2. Hipopigmente MF

Hipopigmente MF daha çok deri rengi koyu olan kişilerde ve çocuklarda görülmektedir. Keskin sınırlı, ince skuamlı, hipopigmente yama tarzı lezyonlar sıklıkla gövde ve pelvik bölgelerde yerleşir. Klinik olarak pitiriazis versikolor, vitiligo, pitiriazis simpleks alba ile karıştırılabilir. Histopatolojik bulgular MF’nin yama evresi ile benzerdir. MF lezyonlarındaki hipopigmentasyonun nedeni tam olarak bilinmemektedir. CD8^+ olan olgularda lezyonların vitiligo ile benzer patogenetik mekanizmalarla geliştiği öne sürülmektedir (20,22).

2.2.4.2.3. Hiperpigmente MF

MF çok nadir de olsa sadece hiperpigmente lezyonlarla karşımıza çıkabilir. Jeneralize hiperpigmente yamalar görüldüğü zaman tabloya “melanoeritrodermi” adı verilir (22).

2.2.4.2.4. Poikilodermik MF

Atrofi, telenjektazi, hipo-hiperpigmentasyon ve kuruluk ile karakterize plak lezyonların izlendiği bu form, klasik olarak poikiloderma vaskülare atrofikans olarak adlandırılmaktadır. Sıklıkla mammarial ve gluteal bölgelerde tutulum görülür. Vücudun diğer alanlarında MF’nin tipik yama ve plak lezyonları eşlik edebilir. Prognozu iyidir (57).

2.2.4.2.5. Pigmente Purpurik Dermatoz Benzeri MF

Persistan pigmente purpurik lezyonlar ile karakterizedir. Bu purpurik görünüm ekstrasvaze olmuş eritrositlerden kaynaklanmaktadır. Histopatolojik olarak likenoid purpura ve liken aureusdan ayırımı zor olduğundan klinikopatolojik korelasyon önem taşır (58).

2.2.4.2.6. Vezikülobüllöz/Dishidrotik MF

Klinik olarak normal deride, eritemli zeminde veya klasik MF lezyonları üzerinde çok sayıda gevşek vezikül veya büller şeklinde gözlenir. Bazı hastalarda da klasik MF lezyonları gelişmeden önce tedaviye yanıt vermeyen dishidrotik lezyonlar şeklinde ortaya çıkar. Genellikle yaşlı hastalarda izlenir. Daha çok gövde ve ekstremiteler tutulumu görülür. Gevşek büllerde Nikolsky fenomeni pozitif olabilir. Büller subkorneal, intraepidermal ve subepidermal yerleşimli olabilir. Bül varlığı kötü prognoz göstergesi olup hastaların yaklaşık yarısı bir yıl içinde kaybedilmektedir (10,51)

2.2.4.2.7. İktiyoziform MF

Ekstremitelerde daha sık olmak üzere tüm vücut yüzeyinde tipik kuru, skuamlı bazen hafif eritrodermik olabilen lezyonlar izlenir. Sıklıkla komedon benzeri lezyonlar ve foliküler keratotik papüller de eşlik edebilir. Şiddetli kaşıntıya bağlı ekskoriasyonların izlenebildiği bu tabloda klasik MF lezyonları da görülebilir (51).

2.2.4.2.8. Siringotropik MF

Ter bezlerinin küçük serebriform CD4⁺ T hücreleriyle infiltrasyonu sonucu follikül harabiyeti ve perifolliküler tutulum gözlenir. Kliniğinde kırmızı-kahverengi veya deri

renginde olabilen papül ve plaklar izlenir. Tutulan alanlarda alopesi ve bazen anhidrosis görülebilir. Nadiren ülserasyon gelişebilir (50,51).

2.2.4.2.9. Granülomatöz MF

MF'nin nadir bir varyantı olup granülomatöz reaksiyon ile karakterizedir. Tüm MF vakalarının yaklaşık %4'ünü oluşturur ve genellikle erişkinlerde görülür. Yama, plak ve tümöral lezyonların üzerinde gelişebilir. Granülomatöz MF'nin seyri yavaş olup sıklıkla tedaviye dirençlidir (59).

2.2.4.2.10. Papüler MF

Klasik yama ve plak lezyonlar görülmezken küçük papüller izlenir. Hastalığın tipik bulgularının yokluğu tanıda zorluğa neden olmaktadır. Klinik olarak lenfomatoid papülozisin B tipine çok benzeyen papüler MF'de lezyonlar spontan gerilemez (60).

2.2.4.2.11. Pitiriazis Likenoides Kronika (PLK) Benzeri MF

Sıklıkla çocuklarda izlenen kronik seyirli MF formudur. Olguların çoğunda CD8⁺ T hücre hakimdir. Bazı olgularda MF öncesinde PLK varlığı bildirilmiştir (61,62).

2.2.4.2.12. Mukozal (Oral) MF

MF'de mukozal tutulum nadirdir. Dil, damak, jinja ve bukkal mukoza en sık tutulum bölgeleridir. Prognozu kötü olup oral lezyonları olan hastalar 1-3 yıl kaybedilmektedir. Histopatolojisinde MF'nin tipik özellikleri izlenir. Tedavide lokal radyoterapi ya da kemoterapi tercih edilmektedir (51,63).

2.2.4.2.13. Palmoplantar MF

MF'in sadece palmoplantar alanı tutan ya da bu bölgelerden başlayarak kol ve ayaklara da yayılan formudur. Anüler hiperpigmente yama ve plaklar, hiperkeratotik ya da verrüköz lezyonlar, veziküler, püstüler veya dishidrotik lezyonlar, psoriasiform lezyonlar, ülserasyon veya tırnak distrofisi izlenebilir. Histopatolojik bulgular tipik MF bulguları ile uyumludur. Kesin tanıya monoklonal THR gen rearanjmanı ile gidilir. Klinik seyir iyidir (10,50,51).

2.2.4.2.14. Hiperkeratotik / Verrüköz MF

Yüz, gövde ve bacaklarda hiperkeratotik ve verrüköz plaklar ile karakterizedir. Klasik MF lezyonları veya palmoplantar tutulum da eşlik edebilir (10,51).

2.2.4.2.15. Vegetatif / Papillomatöz MF

Koltuk altları, kasıklar ve göğüs altları ile boyunda ortaya çıkan vegetatif/papillomatöz lezyonlarla karakterize olan bu MF varyantı, akantozis nigrikans benzeri MF olarak da isimlendirilmektedir (51).

2.2.4.2.16. Püstüler MF

Palmopantar alana sınırlı veya jeneralize olabilen püstüler lezyonlar ile karakterizedir. Püstüler lezyonların gelişiminde IL-8'in önemli rol oynadığı bildirilmiştir (51).

2.2.4.2.17. Gizli MF

Klinik olarak görünür herhangi bir lezyon olmamasına karşın alınan deri biyopsisinde histopatolojik ve immunofenotipik olarak MF'nin tespit edildiği vakalardır. (64).

2.2.4.3. Mikozis Fungoidesin Farklı Varyantları

Klinikopatolojik olarak klasik MF lezyonlarından farklı özelliklere sahip oldukları için ayrı değerlendirilmeleri önerilmiştir.

2.2.4.3.1. Folikülotropik MF (F-MF)

MF'nin farklı varyantlarından en sık görülenidir. Literatürde pilotropik MF, folliküler MF, follikülosentrik MF, MF ile ilişkili folliküler müsinöz gibi isimlendirmeleri de bulunmaktadır. Saçlı deriyi tutan formu MF ile ilişkili folliküler müsinöz şeklinde isimlendirilmektedir. Erkeklerde 4-5 kat daha fazla görülmektedir. Klinik olarak; akneiform ve komedonal lezyonlar, epidermal kistler, folliküler papüller, folliküler keratoz, eritemli plaklar ve etkilenen alanlarda alopesi izlenir. Lezyonlar şiddetli kaşıntılıdır. Sıklıkla yüz, boyun ve gövde üst bölümü tutulur. Klasik MF'ye göre daha agresif seyirli ve tedavilere dirençlidir. FMF, daha genç yaşta ve genellikle tek lezyon şeklinde gözlenen ve prognozu iyi olan idiopatik folliküler müsinözden ayırt edilmelidir. (65).

2.2.4.3.2. Pagetoid Retiküloz

İlk olarak 1939 yılında Woringer ve Kolopp tarafından “izole eritemli, skuamlı, polisiklik plaklar” şeklinde tanımlanmış olan pagetoid retiküloz, genellikle ekstremitelere lokalize plak lezyonlarla karakterizedir. Hastalık yavaş seyirlidir. Pagetoid retiküloz teriminin hastalığın sadece lokalize tipi (Woringer-Kolopp tipi) için kullanılması önerilmektedir. Jeneralize tipi (Ketrone-Goodman tipi) artık günümüzde agresif epidermotropik CD8⁺ KTHL,

kutanöz gama/delta T hücreli lenfoma ya da tümöral evre MF olarak kabul edilmektedir (66,67).

2.2.4.3.3. Granülomatöz Gevşek Deri

Granülomatöz gevşek deri, MF'nin oldukça nadir gözlenen bir varyantıdır. Aksiller ve inguinal bölgelerde lokalize, yavaş gelişen, atrofik görünümlü, büyük, gevşek ve sarkma gösteren lezyonlarla seyreder. Tipik olarak adölesan ve genç yetişkinleri etkileyen hastalık sıklıkla erkeklerde görülür. Olguların 1/3'ünde Hodgkin lenfoma, bir kısmında da klasik MF ile birliktelik gösterilmiştir (51,57).

2.2.4.4. MF'nin Deri Dışı Tutulumu

Deri dışı tutulum, lenf nodları ve/veya iç organların tutulumu şeklindedir ve derideki MF lezyonlarının yaygınlığı ile paralellik gösterir. Deri dışı tutulum hemen her zaman bölgesel lenfadenopati ile başlar. Lenf nodu tutulumu dermatopatik ya da neoplastik olabilir. Dermatopatik lenfadenopati reaktif bir tablodur ve kaşıntılı dermatozların çoğunda görülebilir (68). Gerçek deri dışı tutulumu göstermediğinden hastalığın prognozunu etkilemez. Hastaların bir bölümünde geç dönemde, lenf nodunda neoplastik T hücre infiltrasyonu ile neoplastik lenfadenopati gelişebilir ve bu durum hastalığın prognozunda önem taşır. Hastalığın ileri evrelerinde kemik iliği tutulumu da görülebilir (3). İç organlardan ise en sık akciğer, dalak, karaciğer ve gastrointestinal sistem tutulumu gözlenir (11).

2.2.4.5. MF ile İlişkili Hastalıklar

MF, lenfomatoid papülozis (LyP) ve CD30⁺ kutanöz anaplastik büyük hücreli lenfoma (KABHL)'yı kapsayan CD30⁺ lenfoproliferatif hastalıklar ile Hodgkin lenfoma gibi hematolojik hastalıklarla birlikte görülebilir(69). Bu hastalıkların başlangıcı MF'den önce, MF ile birlikte ya da MF'den sonra olabilir. MF ve bu ilişkili lenfomalarda aynı neoplastik T hücre klonunun saptandığı bildirilmektedir (70). Tümör evresindeki MF lezyonunun LyP ya da KABHL lezyonlarından ayrımı zordur. MF lezyonlarının hematolojik hastalıklar dışında malign melanom, seboreik keratoz ve melanositik nevüslerle de birlikteliği bildirilmiştir (71,72).

2.2.5. Tanı

MF'nin tanısı klinik, histopatolojik ve moleküler bulguların kombinasyonuna ve tekrarlayan biyopsilerle uzun süreli takibe dayanmaktadır (73). Tanıdaki zorluğu gidermek

için 2005 yılında Uluslararası Lenfoma Birliği (Pimpinelli ve arkadaşları) tarafından bir algoritma önerilmiştir. Bu algoritma, erken dönem MF tanısını için klinik, histopatolojik, moleküler biyolojik ve immünopatolojik yöntemlerin kombine edildiği bir skrlama sistemidir (Tablo 3) (74).

Tablo 3: Erken evre MF tanısı için geliştirilen algoritma (74)

ERKEN EVRE MF TANISI: 4 PUAN řARTI			
	Kriterler	Major (2 puan)	Minör (1 puan)
Klinik	Ana kriter: Persistan ve/veya progresif yamalar/ince plaklar Ek kriterler: 1-Güneře maruz kalmayan bölgeler 2-Boyut/şekil deęiřkenlikleri 3-Poikiloderma	Ana kriter + 2 ek kriter (2 puan)	Ana kriter + 1 ek kriter (1 puan)
Histopatoloji	Ana kriter: Yüzeyel lenfoid infiltrasyon Ek kriterler: 1-Spongiosis olmaksızın epidermotropizm 2-Lenfoid atipi	Ana kriter + 2 ek kriter (2 puan)	Ana kriter + 1 ek kriter (1 puan)
Moleküler biyoloji	Klonal T-hücre reseptör genlerinin yeniden düzenlenmesi		Klonalite (1 puan)
İmmnopatoloji	1- CD2 ⁺ , CD3 ⁺ ve/veya CD5 ⁺ hücreler < % 50 2- CD7 ⁺ hücreler < % 10 3- CD2, CD3, CD5 veya CD7 için epidermal/dermal diskordans		1 veya daha fazla kriter (1 puan)

Tablo 4: MF patolojik tanısında önerilen kriterler (75)

MF Patolojik Tanısında Önerilen Kriterler
Mayor Kriterler
- Küçük büyütmede infiltrasyon yoğunluğu (0-3 puan) - Orta büyütmede epidermotropizm tipi ve yoğunluğu (0-3 puan) - Büyük büyütmede lenfosit atipisi (0-3 puan)
Minör Kriterler
- Papiller dermiste retiküler/telimsi fibroplazi (1 puan) - İntraepidermal atipik lenfositlerin varlığı (1-2 puan) - İnflamatuvar özellikler (papiller dermis ödemi, miks inflamatuvar infiltrasyon, spongiosis, endotel şişkinliği ve nötrofil marginasyonu) olmaksızın lenfositik infiltrasyon (1 puan)

Tablo 5: MF patolojik tanısında önerilen tanısal terminoloji (75)

MF Patolojik Tanısında Önerilen Tanısal Terminoloji	
Tanı Kriterleri	Toplam Skor
I. Perivasküler/interfaz dermatit veya diğer bir spesifik tanı (MF değildir)	0-2 puan
II. Atipik lenfoid infiltrasyon (MF dışlanamaz)	3-4 puan
III. Atipik lenfoid infiltrasyon (MF düşündüren)	5-6 puan
IV. MF ile uyumludur	≥ 7 puan

2.2.5.1. Histopatoloji

MF, küçük-orta boyutlu pleomorfik (serebriform) T lenfositlerin proliferasyonu ile karakterize bir kutanöz T hücreli lenfomadır (22). Papiller dermiste değişen oranda lenfosit infiltrasyonu ve bu hücrelerin epidermise ilerlemesi (epidermotropizm) ile karakterizedir. Klasik MF lezyonlarında görülen histopatolojik bulgular; süperfisiyel dermiste band tarzında lenfositik infiltrasyon, epidermotropizm ve atipik hücrelerin intraepidermal kümelenmesi sonucunda ortaya çıkan Pautrier mikroabseleridir (6). 2001 yılında Guitart ve arkadaşları tarafından patoloji raporlarının standardize edilmesi amacıyla patolojik kriterlere dayalı bir puanlama sistemi oluşturulmuş, hesaplanan puana göre de histopatolojik tanı önerilerinde bulunulmuştur (Tablo 4 - 5) (75).

MF’de lezyonun klinik evresine göre histopatolojik bulgular değişiklik göstermektedir.

Yama Evresi: Papiller dermiste az sayıda lenfosit infiltrasyonu görülür. İnfiltrasyon yüzeyel perivasküler alanda kümelenme oluşturur. Epidermisin bazal tabakasında ise lineer kümelenme oluşturan az sayıda lenfosit izlenir. Bu lenfositlerin çevrelerinde sıklıkla şeffaf halo bulunur, ancak spongioz yoktur veya çok azdır. Pautrier mikroabsesi görülmesi beklenmez (6). Epidermiste hafif akantozis yanında poikilodermik ve atrofik lezyonlarda incelme de görülür (76). Papiller dermiste rastgele dağılmış kollajen bantlardan oluşan fibrozis vardır. Bazı olgularda liken planus benzeri likenoid reaksiyon görülür. Ancak burada liken planustan farklı olarak atipik lenfositler, plazma hücreleri ve eozinofiller izlenir (69).

Plak Evresi: Epidermiste parakeratotik hiperkeratoz gözlenir. Lenfosit infiltrasyonu bu evrede daha yoğundur ve serebriform nüveli atipik lenfositler daha sık izlenir. Atipik lenfositlerin epidermis içine uzanmasıyla oluşan belirgin epidermotropizm görülür. Dermoepidermal bileşkede periferlerinde halo izlenebilen lenfositlerden oluşan yoğun bir infiltrasyon izlenir. Pautrier mikroabseleri karakteristik bir bulgudur ve vakaların yarısında görülebilmektedir. Spongioz hafiftir. Üst dermiste band tarzında infiltrasyon oluşturan atipik lenfositler, derin retiküler dermise uzanabilir. Atipik lenfositlerin yanı sıra eozinofil ve plazmositler de görülebilir. Kronik lezyonlarda papiller dermiste fibrozis eşlik edebilir (77,78).

Tümör Evresi: Epidermotropizm ve Pautrier mikroabseleri karakteristik olarak azalmıştır. Daha çok büyük boyutta olmak üzere çeşitli boyutlarda ve veziküler nükleusa sahip neoplastik hücreler sayıca artmıştır ve plemorfik bir görünüm oluşur. Neoplastik hücreler, retiküler dermiste daha yoğun olmakla birlikte tüm dermisi tutabilir ve subkutan yağ dokusuna kadar ilerleyebilir. Nodüler ya da diffüz şekilde olabilen infiltrasyonda eozinofiller, plazma hücreleri ve makrofajlar bulunabilir. Atipik lenfositlerin reaktif hücrelere oranı artmıştır ve mitoz sıklıkla izlenir (51,79).

Transforme MF (T-MF): Geç evre MF tanılı hastalarda, infiltrasyonun %25’den fazlasını büyük ve çentikli lenfositlerin (immünoblastlar, büyük pleomorfik hücreler ve büyük anaplastik hücreler) oluşturmaları ya da mikroskobik nodüller oluşturan büyük hücrelerin varlığı “transforme MF” olarak isimlendirilmektedir (65). Büyük hücre transformasyonu, tümöral evredeki MF hastalarının yarısından fazlasında izlenir ancak yama ve plak

lezyonlarda da görülebilir(80). Büyük hücre transformasyonu kötü prognozu gösterir. Bu hücreler CD30⁺ veya CD30⁻ olabilir ve CD30⁻ olgularda daha agresif seyir izlenir (81,82).

Eritrodermik MF: Klasik MF histopatolojisine sahip olmasına rağmen parakeratoz, akantoz, dermal papilla fibrozisi ve telenjektaziler daha sıktır. Epidermotropizm daha az görülür (83). Perivasküler lenfosit infiltrasyonu belirgin olarak izlenir. Kronik kaşıntıya sekonder epidermiste psoriasiform hiperplazi gözlenebilir (3).

Folikülotropik MF (F-MF): Neoplastik infiltrasyon, epidermisten çok deri eklerinde görülmektedir. Kıl foliküllerini infiltre eden yoğun lenfositik infiltrasyon izlenirken genellikle foliküller arasındaki deri tutulmaz. Foliküllerde kistik dilatasyon, keratin tıkaçları ve foliküler epitelde mün birikimi görülür (84). Folikül epiteli ile ekrin ter bezlerinde belirgin infiltrasyon izlenen ve klinikte alopesinin eşlik ettiği olgular siringotropik MF olarak adlandırılmaktadır (85).

Pagetoid Retiküloz: Lokalize pagetoid retikülozda (Woringer-Kolopp hastalığı) belirgin hiperkeratoz ve epidermotropizm gözlenir. Eosinofilden yoksun az hücreli dermal infiltrat izlenir. Lenfositlerin proliferasyon oranı (>%30), yama ve plak dönem MF'ye göre (>%10) daha fazladır (51).

Granülomatöz Gevşek Deri: Üst ve orta dermiste diffuz veya bant şeklinde atipik lenfosit infiltrasyonu ve epidermotropizm görülür. Lenfositleri fagosite eden ve sitoplazmalarında dejenere elastik fibriller bulunan tipik çelenk benzeri dev hücreler izlenir. Perivasküler, lenf nodları çevresinde veya iç organlarda multinükleer dev hücrelerin izlendiği granülomatöz reaksiyon görülebilir (51).

2.2.5.2. İmmünotip

Monoklonal antikorlar kullanılarak lenfoid antijen ekspresyon tayini yapılır (78). MF'de görülen infiltrasyonun karakteristik hücresi T helper bellek hücresi olup CD3⁺, CD4⁺, CD5⁺, CD45RO⁺, CD8⁻ özellik gösterir. Bazı vakalarda CD8⁺/CD4⁻, CD8⁺/CD4⁺ veya CD8⁻/CD4⁻ özellik görülebilir, ancak bunun prognostik açıdan bir önemi yoktur (80). Geç evre lezyonlarda daha fazla olmak üzere T hücre belirteçlerinin (CD2, CD3, CD5) kaybı MF tanısı için spesifik bir bulgudur. Ancak CD7'de ekspresyon kaybı, inflamatuvar dermatozlarda da görülebilmektedir (74). Plak ve tümöral lezyonlarda daha sık olmak üzere MF'de tüm evrelerde neoplastik T hücrelerinde CD30 ekspresyonu izlenebilir. CD30⁺'liği yama/plak

lezyonlarda kötü prognoz belirteci olarak düşünülmesine karşın T-MF’de sağkalım oranını artırdığı belirtilmiştir (86,87).

2.2.5.3. T Hücre Reseptörü (THR) Gen Rearanjmanı

T hücre klonalitesinin moleküler biyolojik yöntemlerle araştırılmasında THR gen rearanjmanı (klonal yeniden düzenlenme) aranır. THR gen rearanjmanı plak ve tümöral lezyonlarda sıkça karşılaşılrken erken evre yama lezyonların sadece %50’sinde görülür (88,89). Liken planus ve liken sklerozus gibi çeşitli benign dermatozlarda da T lenfosit monoklonal toplulukları görülebilmektedir (90-92). THR, sabit ve değişken bölgelerden oluşan dört alt parçası (α , β , γ ve δ) olan bir glikoproteindir. THR’nin iki tipi sabit bölgelerine (α/β ve γ/δ heterodimerleri) göre ayırt edilmektedir (93). Southern blot ve PCR yöntemleri ile THR gen analizi yapılmaktadır. Southern blot ile β THR; PCR tekniği ile de γ THR gen analizi yapılır. MF’deki tümöral hücrelerde genellikle $\alpha\beta$ THR gen ekspresyonu gözlenir. Ancak γ THR geni lenfositlerde hem $\gamma\delta$ hem de $\alpha\beta$ THR gen ekspresyonu için yeniden düzenlenir. Ayrıca γ THR gen analizi, β THR gen analizine göre daha kolaydır (1,94).

2.2.5.4. Laboratuvar

MF’de tanısal değeri olan bir laboratuvar bulgusu olmamakla birlikte periferik kanda eosinofili, IgE artışı ve laktat dehidrogenaz (LDH) yüksekliği izlenir ve bu değerlerin prognostik açıdan önemli olduğu bildirilmiştir (95-98). Ayrıca beta 2 mikroglobulin yüksekliği de yine hastalık progresyonuyla uyumlu ve düşük sağ kalım oranıyla ilişkili bulunmuştur (98,99).

2.2.6. Ayırıcı Tanı

MF’nin klinik bulgulara göre ayırıcı tanısında birçok hastalık akla gelmelidir (Tablo 6). MF varyantlarından hipopigmente MF başlıca pitiriyazis versikolor, pitiriyazis alba, vitiligo ve lepra ile; poikilodermik MF ise dermatomiyozit ve Civatte’ın poikiloderması ile ayırıcı tanıya girer. MF’nin likenoid varyantı; liken planus, liken planus benzeri keratozis, lupus, likenoid ilaç reaksiyonu veya PLK gibi diğer likenoid reaksiyonlar ile ortak özellikler gösterebilir (22,52,80).

MF’de histopatolojik olarak granüloma anulare, figüre eritemler, liken planus, PLK, sarkoidoz ve morfea benzeri görünüm izlenebilir ve bu nedenle bazen MF tanısı atlanabilir (52). Ayrıca böcek ısırığı ve/veya sokması, psödolenfoma, kronik aktinik dermatit, nodüler skabiyez, sekonder sifiliz, fungal enfeksiyonlar, liken skleroatrofikus, liken striatus, likenoid

keratoz, pigmente purpurik dermatoz ve konnektif doku hastalıkları gibi tabloların histopatolojik özellikleri MF ile benzerlik gösterebilmektedir. Histopatolojik olarak MF'ye benzeyen diğer epidermotropik kutanöz T hücreli lenfomalar da MF'nin ayırıcı tanısında yer almaktadır (79).

Tablo 6: Mikozis fungoideste klinik bulgulara göre ayırıcı tanılar

Yama evre MF	Plak evre MF	Tümöral evre MF	Eritrodermik MF
- Pityriazis rosea - Dermatofitozlar - Pitiriyazis versikolor - Ekzema - Psoriasis	- Psoriasis - Numuler ekzema - Tinea korporis	- Lenfositoma kutis - Psödolenfoma - Kutanöz B hücreli lenfomalar - Kutanöz metastaz - Derin mikozlar - Atipik mikobakteriyel enfeksiyonlar - Lepra - Leishmaniasis	- Seboreik dermatit - Psoriasis - Pitiriyazis rubra pilaris - Atopik dermatit - İlaç erüpsiyonu

2.2.7. Evreleme

MF'de evreleme, klinik seyri belirlemede, tedavi yaklaşımında ve hastalık takibinde yol göstericidir. Evrelemede dermatolojik ve fizik muayene bulguları, tam kan sayımı, periferik yayma, LDH düzeyi, lenf nodu (LN) muayenesi, göğüs, abdomen ve pelvis ultrasonografisi ve gerektiğinde bilgisayarlı tomografi sonuçları önemlidir (100). LN tutulumu, neoplastik tutulum ya da reaktif lenfadenopati şeklinde olabilir. LN muayanesinde palpe edilen nodlar sert, fikse veya 1,5 cm'den büyük ise drene olunan bölgedeki en büyük LN eksize edilerek histopatolojik olarak incelenmelidir (Tablo 7) (76).

MF evrelemesinde en sık ISCL ve EORTC tarafından 2007 yılında revize edilen tümör-nod-metastaz-kan (TNMB) evreleme sistemi kullanılmaktadır (Tablo 8 - 9) (76). Evre IA, IB ve IIA erken evre MF olarak kabul edilir ve ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaz. Evre

IIB, IIIA, IIIB, IVA1, IVA2 ve IVB ise ileri evre MF olarak kabul edilir ve bu hastalarda ileri incelemeler yapılmalıdır (96,101,102). Deri tutulumu T1 olan hastaların prognozu çok iyidir ve sağlıklı kişilerle benzer yaşam süresi beklenir. Deri tutulumu T2 olan hastalarda ise beklenen yaşam süresi 10-12 yıldır ve bunların %25'inde daha ileri evreye progresyon izlenir. T3 tutulumu olan hastalarda ise prognoz kötüdür. Tümöral lezyonların varlığı ve sayısı, eritrodermi ile iç organ tutulumu yüksek risk ve kötü prognoza işaret eder (21,96,101,102).

Deri tümör yoğunluğu, evrelemede yer almamaktadır. Literatürde çok sayıda tümörü olan hastalarda tek tümöral lezyonu olan hastalara göre prognozun daha kötü olduğu bildirilmiş ve bu nedenle vücut yüzey alanı (VYA) tutulum oranına göre hastalık şiddet skorlaması (mSWAT: modifiye hastalık şiddet skorlaması; tümör yükü indeksi) geliştirilmiştir. mSWAT hesaplaması; (yama %VYA X 1)+(plak %VYA X 2)+(tümör veya ülser %VYA X 4) formülü ile yapılmakta ve toplam değer 0,5-400 arasında değişmektedir. Bu skorlama yöntemi, objektif ve duyarlı olmasına karşın prognostik önemi belirlenememiştir (103,104).

Tablo 7: MF'de lenf nodlarının (LN) histopatolojik olarak evrelemesi (76)

ISCL/EORTC	Dutch Sistemi	NCI-VA Sınıflaması
N1	Grade 1: Dermopatik LN	LN 0: Atipik lenfosit yok
		LN 1: Nadir/izole atipik lenfosit (kümeler yok)
		LN 2: Çok atipik lenfosit (3-6 hücre kümesi)
N2	Grade 2: Dermopatik LN; erken MF tutulumu (>7.5 µm serebriform nükleus)	LN 3: Atipik lenfosit toplulukları (>6 hücre kümesi) (nodal yapı korunmuş)
N3	Grade 3: LN yapısında kısmi bozulma, çok sayıda atipik serebriform hücre	LN 4: Nodal yapıda kısmi/tam bozulma
	Grade 4: LN yapısında tam bozulma	

Tablo 8: ISCL/EORTC (2007) tarafından revize edilen MF'nin TNMB sınıflaması (76)

MF, TNMB SINIFLAMASI	
Deri Tutulumu (T)	
T1	Deri yüzeyinin %10'undan azında yama veya plaklar (T1a: sadece yama; T1b: plak ± yama)
T2	Deri yüzeyinin %10'undan fazlasında yama veya plaklar (T2a: sadece yama; T2b: plak ± yama)
T3	Bir veya daha fazla tümör (çapı >1 cm)
T4	Eritrodermi
Lenf Nodu Tutulumu (N)	
N0	Klinik olarak anormal LN yok, biyopsi gerekli değil
N1	Klinik olarak anormal LN + ancak histopatolojik tutulum yok Dutch grade 1 veya NCI LN 0–2 (a = klon negatif / b = klon pozitif)
N2	Klinik olarak anormal LN + ve şüpheli histopatoloji; Dutch grade 2 veya NCI LN 3 (a = klon negatif / b = klon pozitif)
N3	Klinik olarak anormal LN + ve histopatolojik tutulum +; Dutch grade 3-4 veya NCI LN 4 (a = klon negatif / b = klon pozitif)
Nx	Klinik olarak anormal LN + ancak histopatoloji mevcut değil
İç Organ Tutulumu (M)	
M0	İç organ tutulumu yok
M1	İç organ tutulumu var
Periferik Kan Tutulumu (B)	
B0	Anlamlı periferik kan tutulumu yok; Sezary hücreleri <%5
B1	Periferik kanda düşük tümör yükü; B2 kriterlerini karşılamaz
B2	Periferik kanda yüksek tümör yükü: + klon ve herhangi biri 1. Sezary hücre sayısı $\geq 1000/\mu\text{L}$ 2. Artmış CD4^+ veya CD3^+ hücre ve $\text{CD4}/\text{CD8}$ oranı ≥ 10 3. Artmış CD4^+ hücre ve immünofenotipte değişiklik: $\text{CD4}^+/\text{CD7}^- \geq \%40$ veya $\geq 1000/\mu\text{L}$, $\text{CD4}^+/\text{CD26}^- \geq \%30$ veya $\geq 1000/\mu\text{L}$

Tablo 9: ISCL/EORTC (2007) tarafından revize edilen MF'nin klinik evrelemesi (76)

Klinik Evre	TNMB Sınıflaması			
IA	T1	N0	M0	B0-1
IB	T2	N0	M0	B0-1
IIA	T1-2	N1-2	M0	B0-1
IIB	T3	N0-2	M0	B0-1
IIIA	T4	N0-2	M0	B0
IIIB	T4	N0-2	M0	B1
IVA1	T1-4	N0-2	M0	B2
IVA2	T1-4	N3	M0	B0-2
IVB	T1-4	N0-3	M1	B0-2

2.2.8. Tedavi

MF'in küratif bir tedavisi yoktur. Tedavide ana hedef semptomların giderilmesi, progresyonun durdurulması ve yaşam kalitesinin artırılmasıdır (105,106). Tedavi seçimi; hastalığın evresi, hastanın yaşı, kutanöz ve ekstrakutanöz bulguların yaygınlığı ve daha önce uygulanmış olan tedavilere göre değişir (22).

Erken Evre Hastalık

Evre IA, IB ve IIA erken evre MF olarak kabul edilir. Bu dönemde immünsupresyona yol açan tedavilerden kaçınılması büyük önem taşır. Erken evre MF'de deriyi hedef alan tedaviler kullanılmaktadır. Bunlar; topikal kortikosteroid, sitotoksik ajanlar, topikal retinoidler, fototerapi, interferon, total deri elektron beam tedavisidir (13,107).

İleri Evre Hastalık

Evre IIB, IIIA, IIIB, IVA1, IVA2 ve IVB ileri evre MF olarak kabul edilir. Bu evrede hastalık daha agresif seyretmektedir ve prognoz kötüdür. İleri evre hastalıkta kullanılan tedaviler; interferon, total deri elektron beam tedavisi, oral beksaroten, denilökin diftitoks, sistemik kemoterapi, ekstrakorporeal fotokemoterapi (eritrodermik MF'de), biyolojik yanıt düzenleyiciler, hedefe yönelik tedaviler ve kök hücre naklidir (49,108).

2.2.8.1. Topikal Tedaviler

2.2.8.1.1. Topikal Kortikosteroidler

Erken evre MF lezyonlarında tek başına ve daha ileri olgularda adjuvan tedavi olarak kullanılabilirler. Etkisini lenfosit adezyonunu inhibe etme, neoplastik lenfoid hücrelerde apoptozu tetikleme, langerhans hücre sayısını azaltma ve bunların malign T hücrelerince kronik stimülasyonunu engelleme yoluyla gösterir (109).

2.2.8.1.2. Topikal Nitrojen Mustard (Mekloreタミン Hidroklorid)

Alkilleyici bir ajandır ve etkisini hücre replikasyon inhibisyonu ve apoptozis indüksiyonu yoluyla gösterir. Tedavi edici etkinin immün mekanizmalar yoluyla olduğu düşünülmektedir. Jel formu etkili ve güvenli bulunmuştur (110). En sık görülen yan etki iritan kontakt dermatittir. Erken evre MF tedavisinde ilk basamak tedavide, günde 1 kez uygulanır (111).

2.2.8.1.3. Topikal Karmustin (Biskloroetilnitrozüre = BCNU)

Alkilleyici bir ajandır ve sistemik emilimle kemik iliği baskılanma riski nedeniyle vücut yüzey alanının (VYA) %10'undan fazlasına uygulanmamalıdır ve tedavi süresi 4 ayı geçmemelidir. MF yama ve plak lezyonlarında etkili bir tedavidir (112)

2.2.8.1.4. Topikal Retinoidler

Retinoidler MF tedavisinde immünmodülatör, antiinflamatuvar, antiproliferatif ve antineoplastik özellikleri ile etki göstermektedir.

Beksaroten: Beksaroten, retinoid X reseptörlerini hedefleyen 3. jenerasyon bir retinoiddir (112). Evre IA-IIA MF hastalarında diğer topikal tedavilere dirençli durumlarda %1 jel formunun kullanımı Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi (FDA) tarafından onaylıdır. Tedaviye optimal yanıt için ortalama 6-12 ay kullanımı önerilmektedir. Teratojenik etkilerinden dolayı gebelikte kullanımı kontrendikedir (107).

Tazaroten: Tazaroten, retinoik asit β ve γ reseptör agonistidir. MF tedavisindeki uzun dönem etkinlik ve güvenilirlik sonuçları henüz yetersizdir (113).

2.2.8.1.5. İmiquimod

Toll-like reseptör agonisti olan imiquimod, immün yanıt modifiye edici ve antitümör etkileri nedeniyle MF tedavisinde kullanılmaktadır (114).

2.2.8.2. Fototerapi

MF’de fototerapi olarak dar bant UVB (dbUVB), PUVA (psoralen + ultraviyole A), UVA-1, ekstrakorporeal fotokemoterapi (EKF, fotoferez), fotodinamik tedavi ve ekzimer lazer kullanılabilir (115).

2.2.8.2.1. Dar Bant UVB

Dar bant UVB (dbUVB) , dalga boyu 311-313 nm olan ışığın kullanıldığı fototerapi yöntemidir. Erken evre MF’de özellikle yama ve ince plakları olan hastalarda etkilidir. Tedavi başlangıç dozu ve doz artışları Fitzpatrick deri tipine ya da minimal eritem dozuna (MED) göre belirlenir. Tedaviye MED’in %50-70’i ile başlanır. Haftada 3 kez uygulanabilen bu tedavinin süresi hastalığa ve şiddetine göre değişir (116).

Dar bant UVB tedavisi, PUVA tedavisinde görülen yan etki ve gözleri koruma ihtiyacının olmaması, daha kolay uygulanabilir ve düşük maliyetli olması, gebe ve çocuklar ile karaciğer ve böbrek yetmezliği olan hastalarda da uygulanabilmesi ve düşük karsinogenez riski nedeniyle tercih edilen bir tedavi yöntemidir (117).

2.2.8.2.2. PUVA (Psoralen + Ultraviyole A)

PUVA, 8-metoksipsoralenin 0,6-0,8 mg/kg dozunda oral alımından 2 saat sonra 320-400 nm dalga boyundaki UVA ışığının uygulandığı tedavi yöntemidir. MF erken döneminde özellikle infiltrate plak lezyonları olan hastalarda tercih edilmektedir. Tedavi başlangıç dozu ve doz artışları Fitzpatrick deri tipine veya minimal fototoksik doza (MFD) göre belirlenir. Haftada 2-3 kez uygulanır (117-119). PUVA tedavide tek başına ya da diğer tedaviler ile kombinasyon şeklinde kullanılabilir. En sık retinoidler olmak üzere IFN- α -2a ve diğer tedaviler ile kombine edilebilir. PUVA’nın sistemik retinoidler ile birlikte kullanılmasıyla daha hızlı yanıt ve uzun süreli remisyon ve daha düşük kümülatif UVA dozu elde edilir (115).

2.2.8.2.3. Excimer Lazer(308 nm)

Excimer lazer; erken evre MF’de lokalize, palmoplantar yada kıvrım alanlarında lezyonları olan hastalarda hem adjuvan hem de monoterapi olarak kullanılabilir (115).

2.2.8.2.4. Ekstrakorporeal Fotoferez

Ekstrakorporeal Fotoferez (EKF), eritrodermik MF ve SS’nin tedavisinde ilk basamak tedavi olarak önerilmektedir. Periferik kandaki lökositlerin 8-metoksipsoralen ve

UVA'ya maruz bırakılması tekniğine dayanan bir tedavi yöntemidir. Tedavinin 2-4 haftada bir ardışık 2 gün olacak şekilde, en az 6 ay uygulanması önerilmektedir (115).

2.2.8.3. Radyoterapi

Radyosensitif özellik gösteren MF'de radyoterapi, lokal veya total deri elektron beam tedavisi şeklinde uygulanmaktadır.

2.2.8.3.1. Total Deri Elektron Beam Tedavisi

Total deri elektron beam tedavisi (TSEB), dermis altındaki dokuların korunduğu tüm deriye iyonize radyasyonun verildiği bir tedavi yöntemidir. Amaç MF hücrelerini yok etmek ve immün sistemi uyarmaktır. Hızlı progresyon gösteren, tedaviye dirençli ve yaygın plak (T2) ve tümöral (T3) hastalıkta çok etkilidir. Tedavi 8-10 haftada toplam doz 36 Gy olacak şekilde uygulanır (120). Sistemik kemoterapi, ekstrakorporeal fotoferez, PUVA, interferon, retinoidler ve topikal kemoterapi ajanları ile kombine edilebilir (78,121).

2.2.8.4. Sistemik Tedaviler

Erken evre tedaviye dirençli hastalıkta, ileri evre hastalıkta ve MF'in agresif varyantlarında uygulanmaktadır.

2.2.8.4.1. İnterferon

İnterferon (IFN)- α -2a formu erken evre MF'de ikinci basamak, ileri evre MF'de ilk basamak tedavide kullanılmaktadır. İntramusküler, subkutan ve tümöral lezyonlarda intralezyonel olarak uygulanabilmektedir. Tedaviye haftada 3 kez 3 milyon ünite (MÜ) doz ile başlanır ve 3-9 MÜ/gün'e kadar çıkılabilir. Dozun 18 MÜ/gün'ün üzerine çıkılmaması önerilmektedir (78,122). DbUVB, PUVA, topikal nitrojen mustard, topikal beksaroten, elektron bombardıman tedavisi, retinoidler, EKF ve sitotoksik ilaç tedavileri ile kombine edilebilir (78).

2.2.8.4.2. Retinoidler

Retinoidler MF'nin sistemik tedavisinde ilk seçenek tedavilerden biridir. Etkisini retinoid A reseptörü (RAR) ya da retinoid X reseptörüne (RXR) bağlanarak antiproliferatif, antianjiojenik, immünmodülatör ve hücre diferansiyasyonunu düzenleyici etkileri ile gösterir.

Asitretin: Asitretin MF'de monoterapi ya da PUVA, IFN- α , ve TSEBT gibi diğer tedaviler ile birlikte kullanılabilir (123,124). Teratojenik olan asitretinin en sık görülen yan

etkileri, deri ve mukozalarda kuruluk, kaşıntı, transaminaz yüksekliği, hipertrigliseridemi, hiperkolesterolemi, osteoartropati, artralji, miyalji ve saç dökülmesidir (78).

Beksaroten: Oral beksaroten RXR üzerinden etki gösterir. Apoptoz indüksiyonu aracılığıyla antitümör yanıtı yol açar. Yama ve ince plak lezyonları olan hastalarda daha iyi yanıt alınmaktadır (125). Topikal kortikosteroidler, PUVA, INF- α ve ekstrakorporeal fotoferez ile birlikte kullanılabilir. Beksaroten tedavisinin en sık görülen yan etkileri hipertrigliseridemi, hiperkolesterolemi, santral hipotiroidi, lökopeni ve baş ağrısıdır (126).

2.2.8.4.3. Denilökin Diftitoks

Denilökin diftitoks, intrelökin-2 (IL-2) ve difteri toksini kombinasyonundan oluşan bir rekombinant füzyon proteinidir. CD25 eksprese eden malign T hücreleri üzerine etkili olup, etkisini protein sentez inhibisyonu ve apoptozun tetiklenmesi ile gösterir (127). Tedavi üç haftada bir 9-18 μ /kg/gün, 5 gün süre ile uygulanır (128). Beksaroten ve topikal tedaviler ile kombinasyonunda tedaviye yanıt oranının arttığı bildirilmiştir (129,130). En sık görülen yan etkiler hipersensivite reaksiyonu, kapiller sızma sendromu, tromboz, enfeksiyonlar, transaminazlarda artış, renal yetmezlik, tiroidit ve lenfopenidir (128,131).

2.2.8.4.4. Histon Deasetilaz (HDAC) İnhibitörleri

Vorinostat: Histon deasetilaz (HDAC) enzim inhibisyonu ile hücre bölünmesini inhibe eder ve apoptozisi tetikler. Tedaviye yanıt vermeyen, hızla ilerleyen ya da sık tekrarlayan ve daha önceden 2 farklı sistemik tedavi almış olan MF hastalarında FDA onayı vardır. Tedavi dozu 400mg/gün'dür (132).

Romidepsin: Etkisini hücre siklusunu bozup apoptozisi tetikleyerek ve anjiogenezi inhibe ederek gösterir. Tedavi 15 mg/m² dozlarla, 4 haftalık kürler şeklinde uygulanır. Eritrodermik MF ve SS'de etkili bir tedavidir (133).

Diğer HDAC inhibitörleri ise Panobinostat ve Belinostat'tır.

2.2.8.4.5. Monoklonal Antikorlar

Alemtuzumab: Anti CD52 monoklonal antikorudur. Antikor aracılı hücresel sitotoksisiteyi ve kompleman aracılı hücre lizisi ve apoptozunu tetikleyerek etki göstermektedir (134).

Zanolimumab: Anti CD4 monoklonal antikorudur. Dirençli periferel kutanöz T hücreli lenfomada etkilidir (135).

Brentuximab: Anti CD30 antikor-ilaç konjugatıdır. MF'de ve CD30⁺ lenfoproliferatif hastalıkta yüksek etki göstermektedir (136).

Magomulizumab: Anti CCR4 monoklonal antikorudur. Etkisini hücre aracılı sitotoksosite ile göstermektedir (137).

2.2.8.4.6. Sistemik Kemoterapi

MF genel olarak kemoterapiye dirençli bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Polikemoterapinin enfeksiyon ve mielosupresyon gibi yan etkileri nedeniyle tedaviye tekli ajanlar ile başlanması önerilmektedir.

Metotreksat (MTX), gemitabin, pegile lipozomal doksorubisin, pralatreksat, siklofosamid, vinblastin, sistemik meklorektamin, klorambusil, etoposid, 2-deoksikoformisin, 2-klorodeoksiadenozin ve fludarabin MF tedavisinde kullanılan kemoterapötik ajanlardır (3,122,138-140).

MF'de diğer tedavilere dirençli progresif hastalıkta, şiddetli lenf nodu, organ tutulumu olan ya da hızlı tümör redüksiyonu planlanan hastalarda polikemoterapi tercih edilir. Genellikle 6 kür CHOP (siklofosamid, doksorubisin, vinkristin, prednizolon) rejimi kullanılmaktadır (141).

2.2.8.4.7. Hematopoetik Kök Hücre Transplantasyonu (HKHT)

Diğer tedavilere dirençli, ileri evre ve agresif davranışlı MF hastalarında uygulanması önerilmektedir (142).

2.2.8.4.8. Yeni Tedavi Yöntemleri

Araştırma aşamasındaki diğer tedavi seçenekleri arasında pürin nükleozid analogu (forodesin), interlökinler (IL-2, IL-12, IL15), Toll-like reseptör agonistleri (imidazokinolon), lenolidomid, proteozom inhibitörleri (bortezomib), IFN- γ gen tedavisi ve tümör aşılı yer almaktadır (49,105,143,144).

MF tedavisinde evrelere göre seçilebilecek tedavi şeması EORTC tarafından 2017 yılında güncellenmiştir (Tablo 10) (145).

Tablo 10: MF’de evrelere göre tedavi şeması (145)

Evre	Birinci Basamak Tedavi	İkinci Basamak Tedavi
IA, IB, IIA	Evre IA’da tedavisiz takip Deriye yönelik tedaviler - Topikal kortikosteroidler (Evre IA ve IIA) - UVB (Evre IA ve IIA) - PUVA - Lokalize RT - Topikal nitrojen mustard	Sistemik tedaviler - Retinoid - IFN-α TSEB Düşük doz MTX
IIB	Sistemik tedaviler - Retinoid - IFN-α TSEB Monokemoterapi (gemsitabin, pegile lipozomal doksorubisin) Düşük doz MTX Lokalize RT	Polikemoterapi HKHT
III	Sistemik tedaviler - Retinoid - IFN-α EKF Düşük doz MTX TSEB	Monokemoterapi (gemsitabin, pegile lipozomal doksorubisin) HKHT
IVA-IVB	Kemoterapi (gemsitabin, pegile lipozomal doksorubisin, CHOP ve CHOP benzeri polikemoterapi) Radyoterapi(TSEB ya da lokalize) Alemtuzumab (Evre IVB2) HKHT	

2.2.9. Prognoz

MF’de uzun yıllar devam eden yavaş bir klinik ilerleme görülür. Olguların çoğunda tümör evreye ilerleme olmaz. MF hastalarının yaklaşık %15-20’si deri dışı tutulumla birlikte hızlı agresif bir seyir ve hastalığın sepsis veya ciddi enfeksiyonlar gibi komplikasyonlarına bağlı nedenlerle kaybedilmektedir (22). Beş yıllık sağ kalım oranı WHO-EORTC 2018 revizyonunda %88 olarak belirtilmiştir (9). Yama ve plak evresi hastalarda ortalama yaşam süresi 10 yıldan uzun iken tümör evresindeki hastalarda sağ kalım süresi birkaç yıldır (97).

Hastalıktaki en önemli prognostik faktörler tanı anındaki evre, ilk tedaviden sonra tam remisyon olmaması, yaş ve ırktır. Evre IA ile IB hastalar arasında ve eritroderma ile tümör izlenen hastalar arasında sağ kalım oranında anlamlı bir fark yoktur. Deri dışı tutulumun olduğu hastalarda ise bu prognostik faktörlerin sağ kalımda önemi bulunmamaktadır ve prognoz kötü seyretmektedir (22). Tümöral evre; nodal, periferik kan veya visseral tutulum; büyük hücre transformasyonu; $\beta 2$ mikroglobulin ve LDH yüksekliği ve eozinofili varlığı kötü prognostik faktörlerdir (97).

2.3.MikroRNA (miRNA, miR)

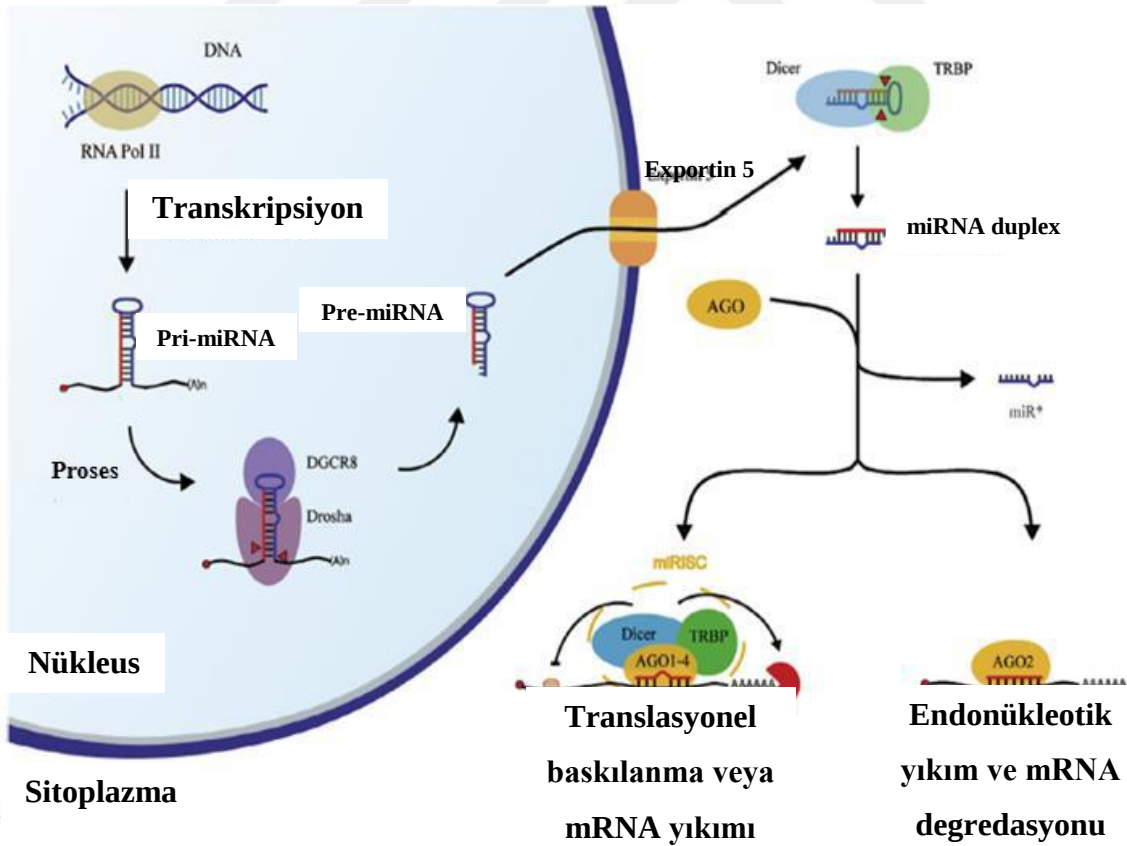
Son yıllarda yapılan genetik çalışmalar sonucunda mesajcı RNA (mRNA), taşıyıcı RNA (tRNA) ve ribozomal RNA (rRNA) gibi protein kodlamakla görevli olan RNA’lar dışında hücrede çok farklı görevleri olan proteine kodlanmayan RNA (non-protein-coding RNA, ncRNA) moleküllerinin de olduğu gözlenmiştir (146). Bu ncRNA’ların insan genomunun %62’sini kapsadığı bildirilmiştir (147).

MikroRNA (miRNA, miR)’lar 18-24 nükleotid uzunluğunda tek iplikçikli küçük ncRNA’lardır. İlk kez 1993 yılında Lee ve arkadaşları tarafından lin-4 (lineage-deficient-4) isimli miRNA, 2000 yılında da Reinhart ve arkadaşları tarafından let-7 (lethal-7) isimli miRNA’lar tanımlanmış ve 2001 yılından itibaren de miRNA terimi kullanılmaya başlanmıştır (148-150). Memeli genomunun yaklaşık %1-3’ünü oluşturan miRNA’lar, genomda hem intragenik hem intergenik lokalizasyonda bulunabilmelerine rağmen çoğunlukla intergenik olarak yer alırlar (151).

2.3.1. MikroRNA’ların Biyogenezi

MiRNA’ların biyogenezi birbirini izleyen üç basamakta oluşur (şekil 1) (152). Birinci basamakta DNA’da yer alan miRNA geninden, RNA polimeraz II enzimi tarafından

500-3000 nükleotid uzunluğunda, “cap” ve “poli A” kuyruğuna sahip sap-ilmik yapısındaki primer transkript (pri-miRNA) sentezlenir. İkinci basamakta nükleus içerisinde pri-miRNA’lar, RNAz III enzim ailesinin bir endonükleazı olan Drosha ve onun kofaktörü olan çift iplikli RNA bağlayıcı protein DGCR8 (DiGeorge Syndrome Critical Region Gene 8)’in oluşturduğu mikroişlemci kompleks tarafından, saç tokası şeklindeki yaklaşık 70 nükleotid uzunluğunda olan prekürsör miRNA (pre-miRNA)’lara dönüştürülür. Pre-miRNA’lar exportin 5 tarafından RanGTP bağımlı olarak nükleustan sitoplazmaya taşınır. Üçüncü basamakta ise sitoplazmadaki pre-miRNA’lar, RNAz III enzim ailesinin bir endonükleazı olan Dicer ve kofaktörü memeli TAR RNA bağlayıcı protein (TRBP) tarafından 18-24 nükleotid uzunluğundaki matür miRNA ve komplementer miRNA dubleksine dönüştürülür. Komplementer miRNA yıkıma uğrarken matür miRNA, RNA ile indüklenen susturma kompleksine (RISC) katılarak mRNA susturulmasında görev alır. MikroRNA’lar aktif RISC kompleksine katıldıktan sonra RISC kompleksi yapısında yer alan bir RNAz olan argonaute (AGO) proteini yardımıyla mRNA’nın yıkımına ya da protein translasyonunun baskılanmasına neden olurlar (152-154).



Şekil 1: MiRNA biyogenezi (152)

2.3.2. MikroRNA'ların Fonksiyonları

Önemli düzenleyici fonksiyonları olan miRNA'lar, çoğunlukla hücre içinde yer almalarına rağmen plazma, serum, idrar, süt, tükürük gibi vücut sıvılarında da bulunurlar (155). Bugüne kadar insanlarda 1917 adet miRNA bildirilmiştir (156). Bir miRNA, yüzlerce farklı mRNA'yı hedefleyebilirken tek bir mRNA'nın ekspresyonu çok sayıda miRNA tarafından düzenlenebilmektedir. İnsan genomundaki protein kodlayan genlerin 1/3'ünden fazlasının miRNA'lar tarafından düzenlendiği bildirilmektedir (157-160).

MiRNA'lar hücrel savunma, gelişimsel süreçler, farklılaşma, metabolizma, homeostazis, embriyogenez, organogenez, apoptoz, DNA replikasyonu, transkripsiyon ve post-transkripsiyonel susturumda görev almaktadırlar (161,162). Son zamanlarda yapılan çalışmalar dolaşımdaki miRNA'ların hücreler arası iletişimde de görev aldıklarını desteklemektedir (163).

Hücrel temel işlevlerde yer alan miRNA'lar, hedef mRNA'ları parçalayarak ya da translasyonunu baskılayarak hedef gen ekspresyonunu azaltırlar ve protein sentezinin düzenlenmesinde rol alırlar. Anormal miRNA ekspresyonu, insanlarda çok sayıda hastalık ve kanser ile ilişkili bulunmuştur. MikroRNA'lardaki bu anormal ekspresyona; delesyon, amplifikasyon, mutasyon, spesifik miRNA'ları hedefleyen transkripsiyon faktörlerinin disregülasyonu ve epigenetik mekanizmalar neden olmaktadır (164-167).

2.3.3. Hastalıklarda MikroRNA

MiRNA'ların yaklaşık %17'sinin ağırlıklı olarak belirli dokularda eksprese edildikleri ve bu dokulardaki hastalıklarla ilişkili oldukları gözlenmiştir. Karaciğerde miR-122, beyinde miR-9 ve miR-124, hipofiz bezinde miR-7, deride miR-205-5p, testiste miR-514a-3p ve kolonda miR-192'nin dokuya spesifik ekspresyonu tespit edilmiştir (168).

Son yıllarda yapılan çalışmalar miRNA'ların skleroderma, dermatomiyozit, psoriasis, vitiligo, atopik dermatit, alerjik kontakt dermatit, büllöz hastalıklar, toksik epidermal nekrolizis, ilaç erüpsiyonları gibi deri hastalıkları ile malign melanom, bazal hücreli karsinom, skuamöz hücreli karsinom ve kutanöz T hücreli lenfomaların patogeneğinde rol oynadıklarını göstermektedir (169-171).

MiRNA'lar, hastalıkların tedavisinde terapötikler (miRNA benzerleri) veya terapötiklerin hedefleri (anti-miR'ler) olarak kullanılabilirler. Günümüzde solid organ

tümörleri ve kronik *hepatit C* virüsü (HCV) enfeksiyonunun tedavisinde miRNA'lar, faz I çalışmalarda yer almaktadır (172,173).

2.3.4. MikroRNA ve Kanser

MiRNA'ların kanser gelişimi üzerine olan etkisi, ilk olarak 2002 yılında Calin ve arkadaşlarının kronik lenfositik lösemi (KLL) hastalarında yaptıkları çalışmada bildirilmiştir (174). Daha sonraki yıllarda da kolon, meme, beyin, tiroid, prostat, akciğer kanseri, hepatoselüler karsinom ve Burkitt lenfomalı hastalarda yapılan çalışmalarda miRNA ekspresyonlarının değişikliğe uğradığı gösterilmiştir. MikroRNA ekspresyonlarında kanserli ve normal dokular arasında farklılık gözlenmesi, mikroRNA'ların kanser patogeneziindeki rolünü desteklemektedir (154).

Kanser gelişimi ile bağlantılı olan miRNA'lar; onkogenik miRNA (onkomiR) ve tümör baskılayıcı miRNA (TS-miR)'lar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (175). OnkomiR'ler tümör baskılayıcı genleri veya apoptozu kontrol eden genleri baskılayarak tümör gelişiminde artışa neden olurken TS-miR'ler onkogenik genlerin ekspresyonlarını inhibe ederek tümör gelişimini baskırlar (176).

2.3.5. MF'de MikroRNA

Son yıllarda KTHL'lar ve en sık görülen alt tipi olan MF'de tümör hücrelerinin ve dokularının biyolojisini incelemek ve hastalığın tanısına yardımcı olmak amacıyla miRNA ekspresyon profilinin incelendiği çalışmalar yapılmıştır (177,178). Aynı zamanda miRNA ekspresyon profilinin, hastalığın prognozunu ve terapötik yanıtının takibinde kullanılması da önerilmiştir. MF'nin progresyonunda epigenetik değişikliklerin ayırt edici bir özellik olduğu ve birçok mikroRNA ekspresyonunda değişik saptandığı bildirilmiştir (167).

Yapılan çalışmalarda MF hastaları; diğer KTHL hastaları, benign inflamatuvar dermatozu olan hastalar ve sağlıklı gönüllüler ile karşılaştırılmış ve miRNA ekspresyon değişimleri incelenmiştir. MF ile benign inflamatuvar dermatoz (BİD) hastalarının karşılaştırıldığı çalışmalarda MF grubunda; miR-93, miR-155, miR-92a, miR-16, miR-30b, miR-30c, miR-26a, miR-222, miR-181a, miR-146a, miR-21 ve miR-142-3p/5p ekspresyonlarında anlamlı düzeyde artış ve miR-383 ve miR-141/200c ekspresyonlarında ise anlamlı düzeyde azalma saptanmıştır (19,179). MF hastaları ile sağlıklı kontrol gruplarının karşılaştırıldığı bazı çalışmalarda ise miR-15a, miR-16, miR-155, let-7a, let-7d ve let-7f ekspresyonlarında anlamlı bir fark gözlenmemiştir (180,181). Ancak diğer çalışmalarda MF

grubunda sağlıklı kontrollere göre hem miR-155 hem de miR-106b-5p, miR-148a-3p, miR-338-3p, miR-3177, miR-514-3p, miR-1267 ve miR-1282 ekspresyonlarında anlamlı düzeyde artış saptanmış; miR-203, miR-205 ve miR-223 ekspresyonlarında ise anlamlı düzeyde azalma izlenmiştir (182-185). Benner ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada tümöral evre MF hastalarında primer kutanöz anaplastik büyük hücreli lenfoma hastalarına göre miR-155, miR-27b, miR-93, miR-29b ve miR-92a ekspresyonlarında anlamlı bir fark bulunamamıştır (186). Tümöral evre MF ile F-MF ve T-MF hastalarının karşılaştırıldığı başka bir çalışmada tümöral MF grubunda miR-17 ve miR-18a ekspresyonlarında anlamlı düzeyde artış, miR-19b, miR-92a ve miR-155 ekspresyonlarında ise anlamlı düzeyde azalma gözlenmiştir (187). Marosvari ve arkadaşları yaptıkları çalışmada F-MF ve T-MF hastalarını BİD hastalarıyla karşılaştırmış ve miR-93-5p, miR-181a ve miR-34a ekspresyon düzeylerinde anlamlı artış saptamışlardır (188). Ralfkiaer ve arkadaşları ileri evre MF’de erken evre MF’ye göre miR-155, miR21, miR-16, let-7a, miR-34a, miR-142-3p, miR-146b-5p, miR-92a, miR-93 ve miR-106a ekspresyonlarında anlamlı düzeyde artış gözlemişlerdir (178). Moyai ve arkadaşları da unilezyonel MF’de miR-17-92 ekspresyonunda anlamlı düzeyde artış olduğunu bildirmişlerdir (189).

2.3.6. MiR-155

MiR-155 hem tümör baskılayıcı genleri baskılamasıyla onkomiR olarak hem de onkogenleri inhibe etmesiyle TS-miR olarak işlev görür (190,191). MiR-155 ekspresyonunda artış ilk olarak B hücreli lenfoma ve kronik lenfositik lösemide, daha sonra da diğer solid organ malignitelerinde bildirilmiştir (190). MiR-155’in onkogenik etkisi, MF ve diğer KTHL’larda bildirilmiştir. MiR-155’in proenflamatuvar ve onkojenik fonksiyonlarının MF patogenezinde yer alması nedeniyle bazı yayınlarda miR-155’in, MF’de potansiyel bir terapötik hedef olabileceği belirtilmiştir (180,190,192,193). Kopp ve arkadaşları ile Netchiporouk ve arkadaşları, yaptıkları çalışmalarda sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 5 (STAT5)’in MF deri lezyonlarında önemli derecede eksprese edildiğini ve STAT5’in miR-155 ekspresyonunu indüklediğini bildirmişlerdir (193,194).

2.3.7. MiR-34a

MiR-34a esas olarak TS- miR olarak kabul edilmektedir, akut ve kronik lösemide tümör baskılayıcı etkisi gösterilmiştir (184,195,196). MiR-34a’nın bu etkisi p53 tarafından düzenlenmekte ve miR-34a p53’ün hedefi olarak kabul edilmektedir (184,197). Bunun dışında miR-34a’nın gastrik kanser, beyin tümörleri, tümöral MF ve Myc geni ilişkili lenfoma

hücrelerini de içeren bazı kanserlerde onkogenik rolünün de olduğu bildirilmiştir. Myc geninin MF'in ileri evrelerinde de aşırı ekspresyonu gözlenmiştir (184,198,199). MiR-34a'nın global tümör baskılayıcı özelliğinden çok dokuya spesifik bir rolünün olduğu belirtilmiştir (184).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

“Mikozis fungoideste Mir-155 ve Mir-34a ekspresyon düzeyi” adlı tez çalışmamız Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde yapılan ilaç dışı bir klinik araştırmadır. Çalışma Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu’nca 20.03.2018 tarihinde 18-3.1/33 karar numarası ile çalışmanın başlamasında etik açıdan sakınca olmadığı kararının alınmasından sonra başlatılmıştır (Ek 1). Çalışmanın maddi tüm giderleri, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Proje Fonu tarafınca karşılanmıştır.

3.1. Çalışma Grubu Seçimi

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Deri ve Zührevi Hastalıkları polikliniğine Ocak 2004 – Aralık 2018 tarihleri arasında başvuran yaşları 19-95 arasında değişen klinik ve histopatolojik mikozis fungoides (MF) tanısı almış olan hastalar alınmıştır. Kontrol grubuna da Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde aynı tarih aralığında MF dışı deri tümörü nedeniyle eksizyon ve en az 5 cm çaplı geniş reeksizyon yapılmış olan ve reeksizyon materyalinde tümör saptanmayan olgular dahil edilmiştir. Kontrol grubundaki hastalar Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Patoloji bölümüne ait hasta veri kayıtları taranarak seçilmiş ve elektronik hasta dosyaları aracılığıyla hasta bilgilerine ulaşılmıştır. Hasta grubunda biyopsi alınan deri bölgesinde başka dermatolojik hastalığı olanlar, kontrol grubunda ise klinik ve histopatolojik olarak MF tanısı almış olanlar ve reeksizyon yapılan deri bölgesinde dermatolojik hastalığı bulunanlar çalışmadan dışlanmıştır.

Kriterlere uyan 40 MF hastası ve 40 kontrol olgusu çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmada hasta ve kontrol grubunun arşivlenen eski biyopsi materyalleri kullanılmıştır. Arşiv materyali kullanılacak hasta ve kontrol grubundan ulaşılabilenlere çalışmanın amacı ve içeriği anlatılmış ve bilgilendirilmiş onamları alınmıştır (Ek 2-3). Olgu rapor formları hasta ve kontrol grubundaki olguların elektronik hasta dosyasındaki bilgileri incelenerek doldurulmuştur (Ek 4-5). Hasta ve kontrol grubunda cinsiyet ve yaş ile hasta grubunda lezyonların klinik tipi, hastalık evresi, histopatolojik bulgular, hastalık süresi ve mortalite değerlendirmeye alınmıştır.

Hasta ve kontrol grubundaki olguların eski biyopsi materyallerinden uygun örneklerin seçimi, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında gerçekleştirilmiştir. Hasta grubunda klinik ve histopatolojik olarak MF tanısı almış olan hastaların hazır boyalı preparatları yeniden değerlendirilmiş ve daha sonra formalinle fikse

edilmiş parafine gömülü (FFPE) dokularından örnek alınacak uygun yer tespit edilmiştir. Kontrol grubunda ise daha önce histopatolojik olarak melanom tanısı ile eksizyonu yapılmış, metastaz ve sentinel lenf nodu tutulumu saptanmamış, en az 5 cm çaplı geniş reeksizyonu yapılmış ve reeksizyon materyalinde kalıntı tümör izlenmemiş olan hastaların reeksizyon materyallerinin insizyon hattına en uzak uç cerrahi sınırı örnek almak için seçilmiştir.

3.2. Parafinin Dokudan Uzaklaştırılması

1-Kriterlere uyan 40 hasta ve 40 kontrol olgusunun FFPE dokulardan alınan 10 µm kalınlığında 3'er adet kesit 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine konuldu.

2-Üzerine 200 µl Digestion Buffer eklendi.

3-Tüp hafifçe sallanıp örnek birkaç kez karıştırıldıktan sonra 3 dakika boyunca 90°C'de inkübe edildi.

4-İnkübasyondan sonra parafinin tamamen çözülmesi için tüp vortekslendi.

5-Üzerine 20 µl Proteinaz K eklendi ve homojen bir süspansiyon elde edilene kadar tüp vortekslendi.

6-Termal karıştırıcıda 65°C'de 50 dakika inkübe edildi.

7-Örnek 90°C'ye ayarlanmış ısı bloğuna aktarıldı ve 40 dakika ısıtıldı.

8-Sıcak örnek 6000 x g'de 1 dakika boyunca santrifüj edildi.

9-Hacmi 200 µL olan parçalanmış lizat, 1.5 ml'lik yeni ve temiz bir mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı.

3.3. Total RNA İzolasyonu

1-Kriterlere uyan 40 hasta ve 40 kontrol olgusunun doku homojenatının üzerine hacminin 1/10'u kadar miRNA homojen katkı maddesi eklenerek buz üzerinde 10 dakika inkübe edildi.

2-Üzerine ilk homojen katkı maddesi hacmi kadar Asit-Fenol: Kloroform eklendi.

3-Karışım 30-60 saniye vortekslenerek karıştırıldı.

4-Sulu ve organik fazları birbirinden ayırmak için oda sıcaklığında 10.000 x g' de 5 dakika santrifüj edildi.

5-Üstte kalan sulu faz (RNA içeriği) yeni bir tüpe aktarıldı.

6-Yeni tüpe aktarılan sulu fazın üzerine hacminin 1.25 katı kadar %100 etanol eklendi ve iyice karışması için tüp birkaç kez ters çevrildi.

7-Elde edilen lizat-etanol karışımı, filtre kartuşu takılı toplama tüpüne alındı ve karışım filtre kartuşu üzerine pipetlendi.

8-Karışım 10.000 x g'de 15 saniye santrifüj edildi.

9-Lizat-etanol karışımının tamamı, filtreden geçirilip süzüntü uzaklaştırıldı.

10-Filtre kartuşu üzerine 700 µl miRNA yıkama solüsyonu 1 eklendi. Toplama tüpü 5-10 saniye santrifüj edilip süzüntü uzaklaştırıldı.

11-Filtre kartuşu üzerine 500 µl yıkama solüsyonu 2/3 eklendi. Tüp 5-10 saniye santrifüj edilip süzüntü uzaklaştırıldı. Aynı işlem bir kez daha tekrarlandı.

12- Filtre kartuşundaki son sıvıyı uzaklaştırmak için herhangi bir sıvı eklemeyen toplama tüpü 1 dakika daha santrifüj edildi.

13-Filtre yeni bir toplama tüpüne takıldı.

14-Filtrenin merkezine önceden 95°C'ye ısıtılmış 100 µl elüsyon solüsyonu eklendi.

15-Toplama tüpünün kapağı kapatılarak 20-30 saniye, maksimum devirde RNA eldesi için santrifüj edildi

16-Elde edilen eluat (RNA içeren karışım) başka bir tüpe alındı ve -20°C sıcaklıkta saklandı.

3.4. Real-Time Kantitatif Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-QPCR) ile miRNA Ekspresyon Analizi

3.4.1. Komplementer DNA (cDNA) Sentezi

1-Hasta ve kontrol grubundan elde edilen RNA'ların konsantrasyonları Nanodrop 1.0 cihazında ölçüldü. Safılıkları 260/230 ve 260/280 ≥ 2 olan ve miktarları 1-5 µg olan total RNAlar çalışmaya dahil edildi.

2-cDNA sentezi için *TaqMan MicroRNA Reverse Transcription Kiti* (Applied Biosystems, US) kullanıldı.

3-Reverse transkripsiyon ana karışımı için buz üstündeki mikrosantrifüj tüplerinde Tablo 11'de belirtilen miktarlardaki ürünler hazırlandı.

Tablo 11: Reverse transkripsiyon ana karışım hazırlığı

Bileşenler	Her 15 µl'lik RT reaksiyonu için gerekli miktar
100 mM deoksiribonükleotid trifosfat (dNTP)	0.15 µl
<i>MultiScribe Reverse Transcriptase</i> , 50 U/ µl	1.00 µl
10 x <i>Reverse Transcriptase Buffer</i>	1.50 µl
RNase Inhibitor, 20 U/ µl	0.19 µl
Saf su	4.16 µl
Total hacim	7.00 µl
Her 15 µl'lik reaksiyonda 7 µl master mix, 3 µl 5xRT primer ve 5 µl RNA örneği kullanıldı.	

4-Hazırlanan solüsyon, tüpün dibine çöktürülmesi için birkaç saniye santrifüj edildi.

5-RT ana karışımı, diğer RT reaksiyon bileşenlerinin hazırlık aşamasında buz üzerinde bekletildi.

6-Hazırlık aşamasında 5xRT primerler buz üzerinde bekletildi, kullanılmadan önce vortekslendi ve birkaç saniye santrifüj edildi.

7-Her 15 µl'lik RT reaksiyonu için 1-10 ng total RNA içerecek şekilde 5 µl'lik total RNA, 7 µl ana karışım'ın üzerine eklendi.

8-Hafifçe karıştırılıp birkaç saniye santrifüj edildi.

9-Hazırlanan 12 µl RT ana karışım-total RNA karışımı 0.2 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne konuldu.

10-Her bir RT reaksiyon tüpüne 3 µl 5xRT primeri eklendi.

11-Karışım hafifçe karıştırılıp birkaç saniye santrifüj edildi.

12-RT reaksiyon tüpleri 5 dk buz üzerinde inkübe edildi.

13-Tüpler termal döngü cihazına yerleştirildi ve cihaz standart modda 15 µl reaksiyon volümünde Tablo 12'de belirtilen süre ve ısı döngülerinde çalıştırıldı.

Tablo 12: Termal döngü cihazı programı

Isı	Süre
16°C	30 dakika
42°C	30 dakika
85°C	5 dakika
4°C	Bekleme

3.4.2. Çalışmaya Dahil Edilen miRNA'lar

Çalışmamızda miR-155 ve miR-34a ekspresyon düzeyleri incelendi. Endojen kontrol geni olarak da RNU48 kullanıldı.

3.4.3. Real-Time RT-QPCR

1-Real-Time Kantitatif Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-QPCR) için gerekli malzemeler hazırlanıp buz üzerine yerleştirildi.

2-Kriterlere uyan 40 hasta ve 40 kontrol olgusunda miR-155, miR-34a ve RNU48 ekspresyonu için ayrı ayrı 10 µl'lik RT-QPCR karışımları Tablo 13'te belirtilen şekilde hazırlandı.

Tablo 13: RT-QPCR karışım hazırlığı

Bileşen	Hacim
<i>TaqMan Universal PCR Master Mix II</i>	5 µl
Saf su	3.7 µl
<i>TaqMan Small RNA Assay (20x)</i> <i>miR-155</i> <i>miR-34a</i> <i>RNU-48</i>	0.5 µl
cDNA	0.8 µl
Total hacim	10 µl

3-Her 10 µl'lik karışım MicroAmp Fast Optical 96-kuyucuklu PCR plağının bir kuyucuğuna yerleştirildi.

4-PCR plağı optik yapışkanlı film ile kapatıldı ve ardından birkaç saniye santrifüj edildi.

5-PCR plağı Roche lightcycler 480 real time PCR cihazına yerleştirildi. RT-PCR döngüsü Tablo 14'te belirtilen şekilde uygulandı.

Tablo 14: PCR cihazı protokolü

Aşama	Optional <i>AmpErase</i> <i>UNG</i> Aktivitesi	Enzim Aktivasyonu	PCR	
	Bekleme	Bekleme	Döngü (40)	
			Denatüre	Anneal/Extend
Isı	50°C	95°C	95°C	60°C
Süre	2 dakika	10 dakika	15 saniye	60 saniye

3.4.4. Analiz

RT-QPCR ile elde edilen sonuçlardan rölatif kantitasyon yapılabilmesi için karşılaştırmalı eşik değer (Ct) yöntemi kullanıldı. Ct değerleri, Roche lightcycler 480 real time PCR cihazın LightCycler® 480 Relative Quantification yazılımı ile eşik değer 0,03 kullanılarak belirlendi.

3.5. İstatistiksel Değerlendirme

Gen ekspresyonlarının analizinde web tabanlı QIAGEN GeneGlobe Data Analysis Center yazılımı kullanıldı. Her bir olgunun miR-155 ve miR-34a ekspresyonları RNU48 ile normalize edildi ve $2^{-\Delta\Delta Ct}$ değerleri ve kontrol grubuna göre kat değişimleri ve anlamlılıkları *Student's t* testi web bazlı yazılım programında hesaplandı. Ekspresyon düzeylerindeki değişim için ± 2 kat ve üzeri dikkate alındı. Klinik grupların hastalık süresine göre karşılaştırılması tek yönlü varyans (One-way ANOVA) analizi ile gerçekleştirildi. Tüm analizlerde anlamlı değer $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya MF tanılı 40 hasta ve normal deri biyopsisi alınan 40 olgu olmak üzere toplam 80 kişi dâhil edilmiştir. Hasta grubu, yaşları 18-91 arasında değişen ve yaş ortalamaları $51,5 \pm 15,4$ olan 27 erkek ve 13 kadından oluşmaktadır. Kontrol grubunda ise yaşları 19-81 arasında değişen ve yaş ortalamaları $52,1 \pm 15,9$ olan 21 erkek ve 19 kadın yer almaktadır (Tablo 15).

Tablo 15: Olguların demografik özellikleri

	Hasta Grubu	Kontrol Grubu
Olgu sayısı	40 (%50)	40 (%50)
Cinsiyet		
Kadın	13 (%22,5)	19 (%47,5)
Erkek	27 (%77,5)	21 (%52,5)
Yaş	18-91 ($51,5 \pm 15,4$)	19-81 ($52,1 \pm 15,9$)

Hastaların biyopsi alındığı zamandaki hastalık sürelerinin 0-34 yıl arasında değiştiği ve ortalamasının $9,8 \pm 9,1$ olduğu görülmüştür. Klinik olarak hastaların 12'sinde yama, 14'ünde plak ve 14'ünde tümöral lezyonlar izlenmiştir. Hastaların histopatolojik bulguları değerlendirildiğinde klinik olarak tümöral lezyonlar izlenen hastaların 7'sinde büyük hücre transformasyonu gösteren MF (T-MF), 2'sinde folikülotropik MF (F-MF) ve klinik olarak plak lezyonlar izlenen hastaların 1'inde histopatolojik olarak F-MF izlenmiştir. Diğer hastaların histopatoloji sonuçları klasik MF ile uyumlu gelmiştir. 40 MF hastasının 7'sinin hastalığa bağlı nedenlerle hayatını kaybettiği öğrenilmiştir. Kaybedilen hastaların 2'si kadın, 5'i erkektir, yaş ortalamaları $63,2 \pm 15,26$ ve hastalık süresi ortalaması ise $16,5 \pm 12,72$ 'dir. Tüm kaybedilen hastalar klinik olarak tümöral lezyonlara sahiptir ve histopatolojik bulgulara göre bu hastaların 3'ünde klasik MF'nin tümör evresi, 4'ünde ise T-MF izlenmiştir (Tablo 16).

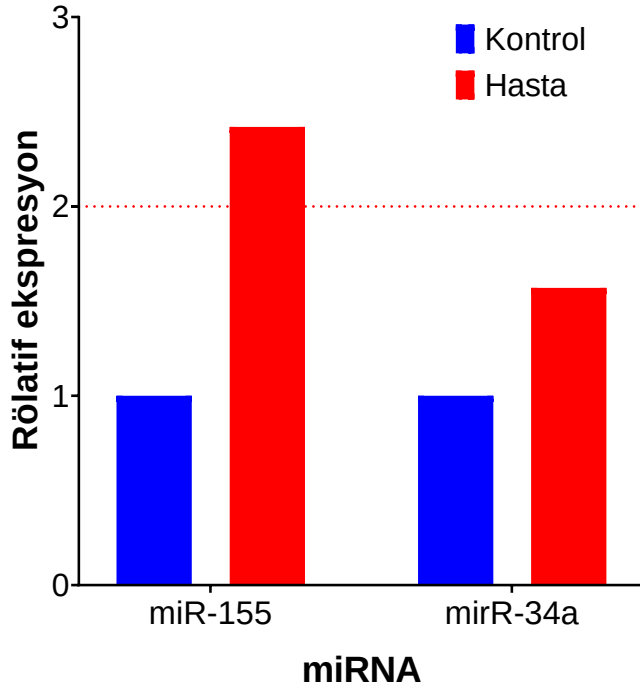
Tablo 16: Hasta grubunun klinik özellikleri

	Hasta Grubu
Hastalık süresi	0-34 yıl (9,8±9,1)
Klinik gruplar	
Yama	12 (%30)
Plak	14 (%35)
Tümör	14 (%35)
Histopatolojik gruplar	
Klasik MF yama evresi	12 (%30)
Kasik MF plak evresi	13 (%32,5)
Klasik MF tümör evresi	5 (%12,5)
T-MF	7 (%17,5)
F-MF	3 (%7,5)
Mortalite	
Hayatta	33 (%82,5)
Eksitus	7 (%17,5)
Kaybedilen hastaların özellikleri	
Cinsiyet	
Kadın	2 (%28,57)
Erkek	5 (%71,42)
Yaş	45-91 (63,2±15,26)
Hastalık süresi	1-34 (16,5±12,72)
Klinik grup	
Yama	0
Plak	0
Tümör	7 (%100)
Histopatolojik grup	
Klasik MF yama evresi	0
Kasik MF plak evresi	0
Klasik MF tümör evresi	3 (%42,85)
T-MF	4 (%57,14)
F-MF	0

Çalışmaya dahil edilen MF hastası ve kontrol olgularının miRNA ekspresyon profilleri incelendiğinde hasta grubunda kontrol grubuna göre miR-155 ekspresyonunda 2.42 kat, miR-34a ekspresyonunda ise 1.57 kat artış saptanmıştır (Tablo 17, Şekil 2).

Tablo 17: Kontrol grubuna göre hasta grubunun miR-155 ve miR-34a ekspresyon profili

miRNA	Ortalama ΔC_t		$2^{-\Delta C_t}$		Kat Değişimi	p-değeri
	Hasta Grubu	Kontrol Grubu	Hasta Grubu	Kontrol Grubu	Hasta/Kontrol	Hasta/Kontrol
miR-155	6.80	8.07	0.008	0.003	2.42	0.6
mirR-34a	-2.02	-1.37	4.06	2.58	1.57	0.12

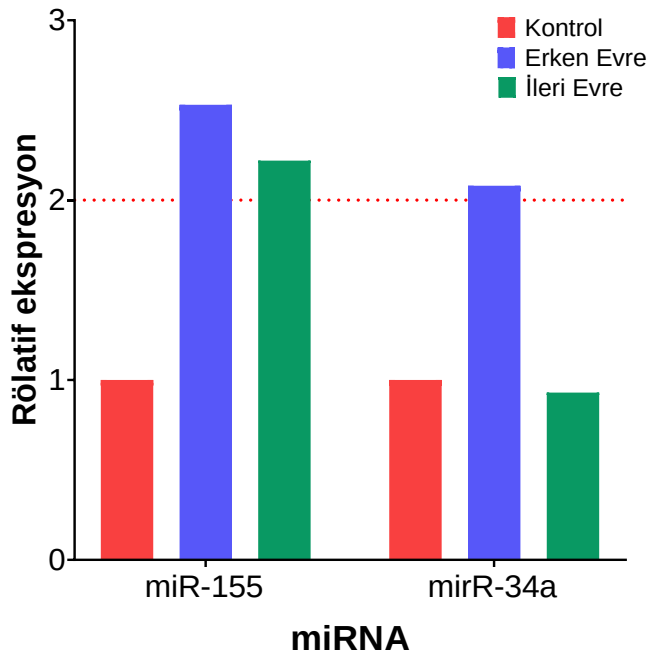


Şekil 2: Kontrol grubuna göre hasta grubundaki miR-155 ve miR-34a rölatif ekspresyon değerleri

Çalışmaya alınan hastalar ISCL/EORTC tarafından 2007 yılında revize edilen MF'in klinik evrelemesine göre erken evre ve ileri evre hastalık olarak iki gruba ayrılmıştır. Erken evre hastalıkta miR-155 ekspresyonunda 2.53 kat artış izlenirken miR-34a'da 2.08 kat artış gözlenmiştir. İleri evre hastalıkta ise miR-155 ekspresyonunda 2.22 kat artış saptanırken miR-34a ekspresyonunda 1.07 kat azalma izlenmiştir (Tablo 18, Şekil 3).

Tablo 18: Kontrol grubuna göre erken evre ve ileri evre hastalıkta mir-155 ve mir-34a kat değişimleri

miRNA	Kontrol Grubuna Göre Erken Evre ve İleri Evre Hastalıkta Kat Değişimleri			
	Erken Evre		İleri Evre	
	Kat Değişimi	p değeri	Kat Değişimi	p değeri
miR-155	2.53	0.9	2.22	0.42
miR-34a	2.08	0.34	-1.07	0.17

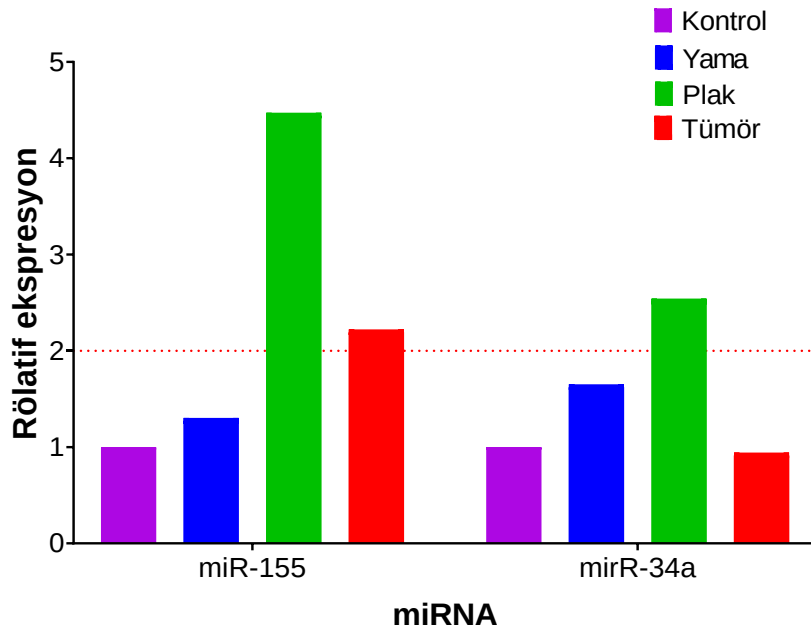


Şekil 3: Kontrol grubuna göre erken evre ve ileri evre hastalıkta mir-155 ve mir-34a rölatif ekspresyon değerleri

Klinik gruplardaki miRNA ekspresyon düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında plak lezyonları olan hastalarda miR-155 ekspresyonunda 4.47 kat, miR-34a ekspresyonunda ise 2.54 kat artış gözlenmiştir. Tümöral lezyonları olan hastalarda miR-155 ekspresyonunda 2.22 kat artış; miR-34a ekspresyonunda ise 1.07 kat azalma saptanmıştır (Tablo 19, Şekil 4).

Tablo 19: Kontrol grubuna göre hasta klinik gruplarındaki miR-155 ve miR-34a ekspresyonlarının kat değişimleri

miRNA	Kontrol Grubuna Göre Klinik Gruplardaki Kat Değişimleri					
	Yama		Plak		Tümör	
	Kat Değişimi	p-değeri	Kat Değişimi	p-değeri	Kat Değişimi	p-değeri
miR-155	1.30	0.52	4.47	0.48	2.22	0.42
mirR-34a	1.65	0.62	2.54	0.38	-1.07	0.17



Şekil 4: Kontrol grubuna göre hasta klinik gruplarındaki miR-155 ve miR-34a rölatif ekspresyon değerleri

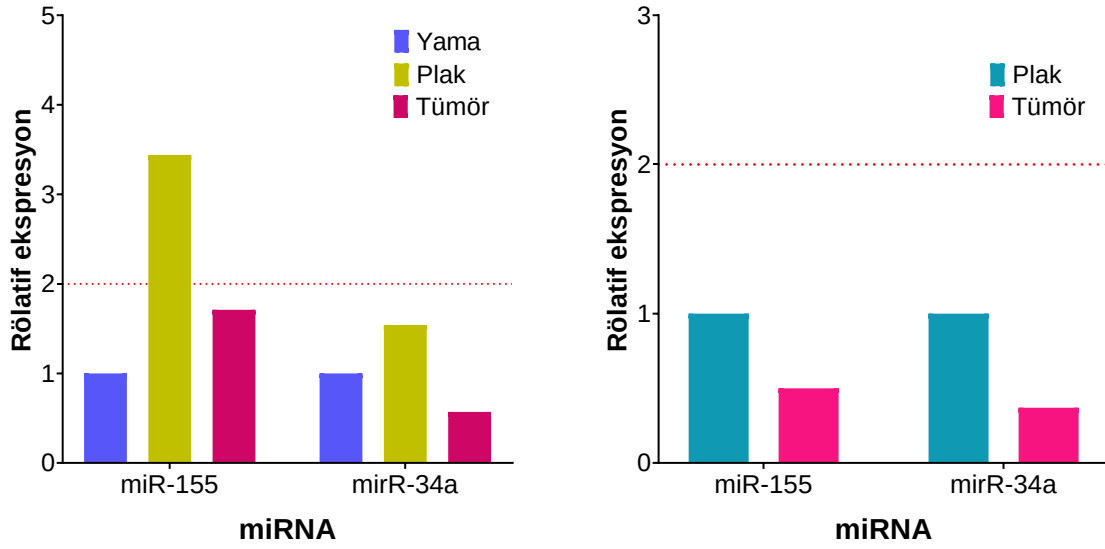
Klinik grupların miR-155 ve miR-34a ekspresyonları, birbirleri ile de karşılaştırılmıştır. Plak lezyonları olan grupta yama lezyonları olanlara göre miR-155 ekspresyonunda 3.44 kat artış izlenmiştir. Yama lezyonları olan gruba göre tümör lezyonları olanlarda ise miR-34a ekspresyonunun 1.76 kat azaldığı görülmüştür. Plak lezyonları olan gruba göre tümör lezyonları olanlarda miR-155 ekspresyonunda 2.02 kat, miR-34a ekspresyonunda ise 2.71 kat azalma saptanmıştır (Tablo 20 - 21, Şekil 5 - 6).

Tablo 20: Klinik yama lezyonları olan gruba göre plak ve tümöral lezyonları olan grubun miR-155 ve miR-34a kat değişimleri

miRNA	Klinik Yama Grubuna Göre Plak Ve Tümör Gruplarındaki Kat Değişimleri			
	Plak		Tümör	
	Kat Değişimi	p-değeri	Kat Değişimi	p-değeri
miR-155	3.44	0.15	1.71	0.3
mirR-34a	1.54	0.51	-1.76	0.08

Tablo 21: Klinik plak lezyonları olan gruba göre tümöral lezyonları olan grubun miR-155 ve miR-34a kat değişimleri

miRNA	Klinik Plak Grubuna Göre Tümör Grubunun Kat Değişimleri					
	Ortalama ΔC_t		$2^{-\Delta C_t}$		Kat Değişimi	p-değeri
	Tümör	Plak	Tümör	Plak	Tümör/Plak	Tümör/Plak
miR-155	6.92	5.91	0.008	0.016	-2.02	0.87
mirR-34a	-1.28	-2.72	2.42	6.56	-2.71	0.07

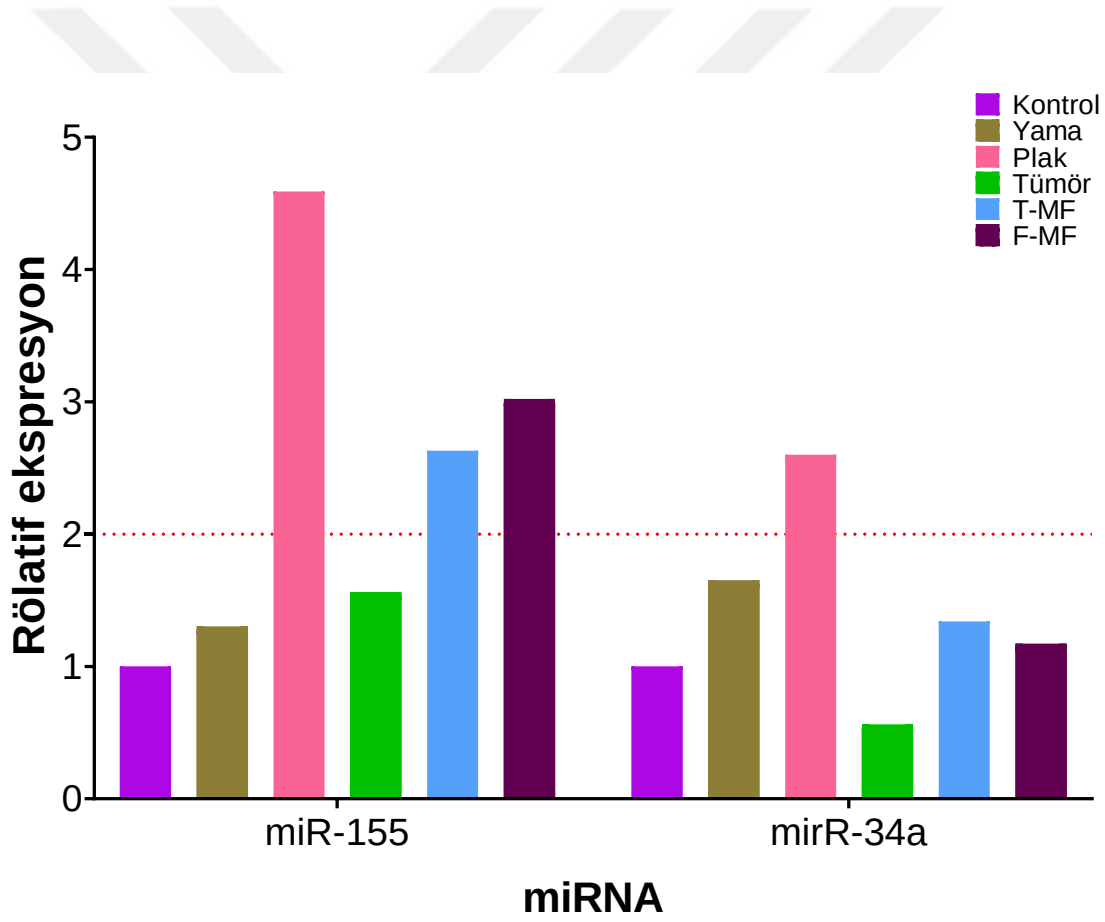


Şekil 5 - 6: Klinik yama lezyonları olan gruba göre plak ve tümöral lezyonları olan grupların ve klinik plak lezyonları olan gruba göre tümöral lezyonları olan grubun miR-155 ve miR-34a rölatif ekspresyon düzeyleri

Hastalar histopatolojik bulgularına göre klasik MF'nin yama, plak ve tümör evresi ile transforme MF (T-MF) ve folikülotropik MF (F-MF) olmak üzere 5 gruba ayrılmıştır. Her bir grubun kontrol grubuna göre miR-155 ve miR-34a ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında klasik MF'nin plak evresindeki hastalarda miR-155 ekspresyonunda 4.59 kat, miR-34a ekspresyonunda ise 2.6 kat artış izlenmiştir. T-MF ve F-MF hasta gruplarında ise yalnızca miR-155 ekspresyonunda belirgin artış izlenmiştir; T-MF'de 2.63 kat, F-MF'de 3.02 kat artış saptanmıştır. Diğer gruplardan farklı olarak klasik MF'nin tümör evresinde miR-34a ekspresyonunda 1.77 kat azalma gözlenmiştir (Tablo 22, Şekil 7).

Tablo 22: Kontrol grubuna göre histopatolojik grupların miR-155 ve miR-34a kat değişimleri

miRNA	Kontrol Grubuna Göre Histopatolojik Grupların Kat Değişimleri									
	Yama Evre Klasik MF		Plak Evre Klasik MF		Tümöral Evre Klasik MF		T-MF		F-MF	
	Kat Değişimi	p- değeri	Kat Değişimi	p- değeri	Kat Değişimi	p- değeri	Kat Değişimi	p- değeri	Kat Değişimi	p- değeri
miR-155	1.30	0.52	4.59	0.44	1.56	0.7	2.63	0.18	3.02	0.96
mirR-34a	1.65	0.62	2.60	0.41	-1.77	0.37	1.34	0.38	1.17	0.51

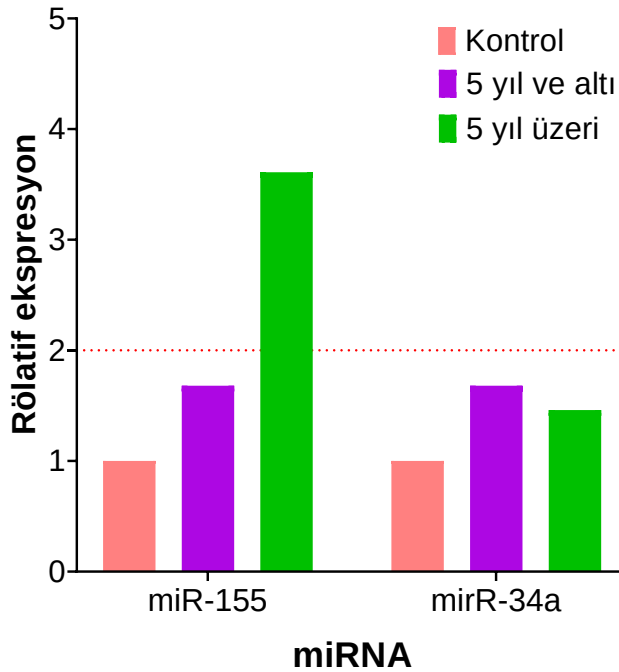


Şekil 7: Kontrol grubuna göre histopatolojik grupların miR-155 ve miR-34a rölatif ekspresyon değerleri

Biyopsi alındığı zamandaki hastalık süreleri dikkate alınarak yapılan gruplandırmada hastalar, hastalık süresi ≤ 5 yıl ve > 5 yıl olarak şeklinde iki gruba ayrılmıştır. Kontrol grubuna göre hastalık süresi ≤ 5 yıl olan hastalarda miRNA ekspresyonlarında belirgin bir artış izlenmediği halde hastalık süresi > 5 yıl olanlarda miR-155 ekspresyonunda 3.61 kat artış saptanmıştır (Tablo 23, Şekil 8).

Tablo 23: Kontrol grubuna göre hastalık süresi gruplarının miR-155 ve miR-34a kat değişimleri

miRNA	Kontrol Grubuna Göre Hastalık Süresi Gruplarının Kat Değişimleri			
	Hastalık süresi ≤ 5 yıl		Hastalık süresi > 5 yıl	
	Kat Değişimi	p-değeri	Kat Değişimi	p-değeri
miR-155	1.68	0.44	3.61	0.18
mirR-34a	1.68	0.27	1.46	0.25



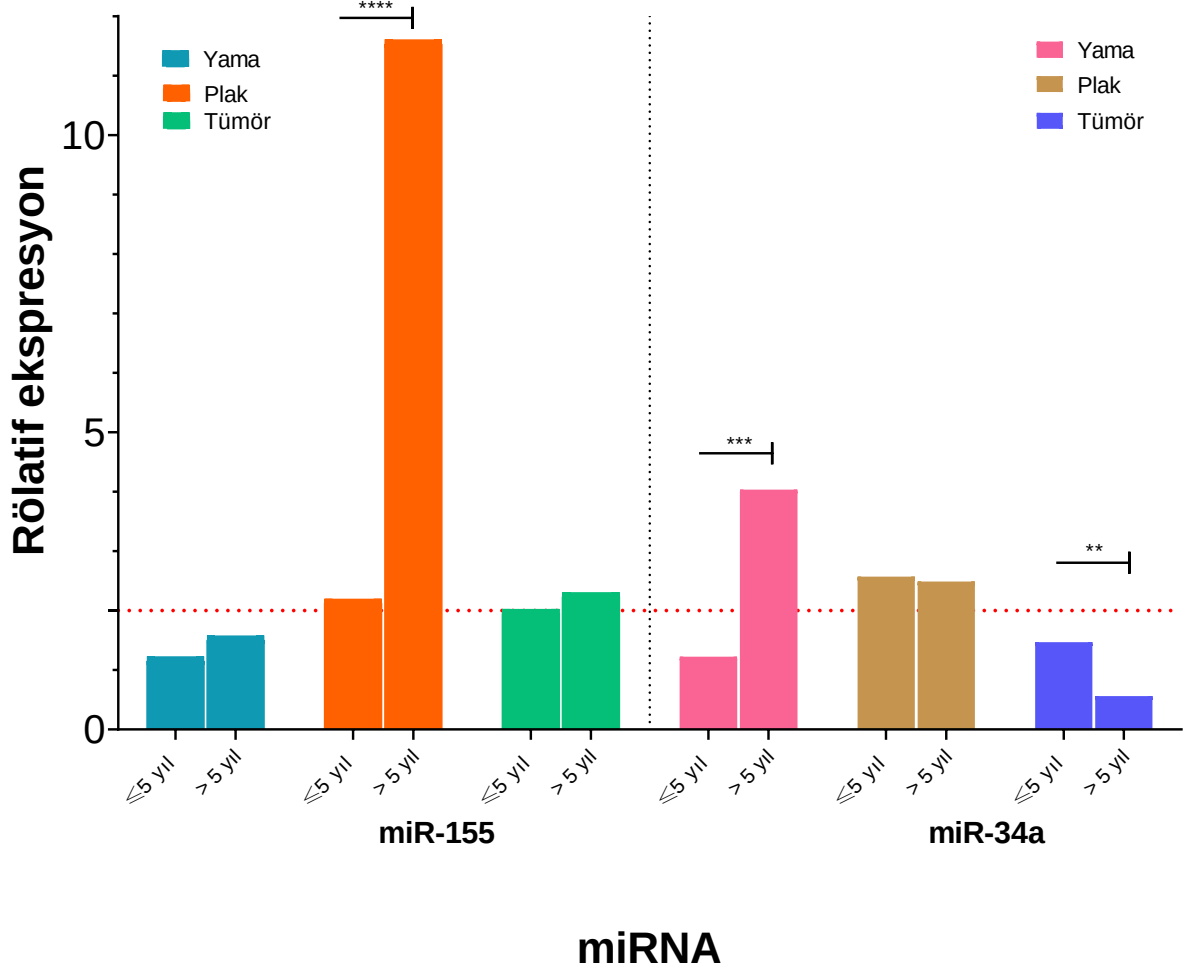
Şekil 8: Hastaların kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hastalık sürelerine göre miR-155 ve miR-34a rölatif ekspresyon düzeyleri

Klinik gruplarda hastalık süresinin miRNA ekspresyon düzeylerine etkisini değerlendirebilmek için kontrol grubuna göre miR-155 ve miR-34a kat değişimlerine bakılmıştır. Analiz sonucunda miR-155 ekspresyonunda plak lezyonları olan grupta hastalık süresi ≤ 5 yıl olan hastalarda 2.19 kat, > 5 yıl olanlarda ise 11.6 kat artış saptanmış; tümöral lezyonları olan grupta hastalık süresi ≤ 5 yıl olan hastalarda 2.02 kat, > 5 yıl olanlarda 2.3 kat artış olduğu görülmüştür. MiR-34a ekspresyonunda ise yama lezyonları olan grupta hastalık süresi > 5 yıl olanlarda 4.03 kat artış saptanırken; plak lezyonları olan grupta hastalık süresi ≤ 5 yıl olanlarda 2.57 kat ve > 5 yıl olanlarda 2.49 kat artış gözlenmiştir. Tümör lezyonları olan grupta hastalık süresi > 5 yıl olanlarda miR-34a ekspresyonunda 1.28 kat azalma izlenmiştir (Tablo 24, Şekil 9)

Her bir klinik grubun kendi içinde hastalık sürelerine göre miRNA kat değişimleri karşılaştırılmıştır. Hastalık süresi > 5 yıl olan hastalarda ≤ 5 yıl olanlara göre plak lezyonları olan grupta miR-155 ve yama lezyonları olan grupta miR-34a kat değişimleri arasında anlamlı bir artış saptanmıştır ($p < 0,00001$, $p < 0,0001$), tümöral lezyonları olan grupta ise miR-34a kat değişimleri arasında anlamlı bir azalma saptanmıştır ($p < 0,001$) (Şekil 9).

Tablo 24: Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hastalık süresine göre klinik gruplarda miR-155 ve miR-34a kat değişimleri

miRNA	Klinik Gruplarda Hastalık Süresine Göre Kat Değişimleri											
	Yama ≤ 5 yıl		Yama > 5 yıl		Plak ≤ 5 yıl		Plak > 5 yıl		Tümör ≤ 5 yıl		Tümör > 5 yıl	
	Kat Değişimi	p-değeri	Kat Değişimi	p-değeri	Kat Değişimi	p-değeri	Kat Değişimi	p-değeri	Kat Değişimi	p-değeri	Kat Değişimi	p-değeri
miR-155	1.22	0.58	1.57	0.74	2.19	0.71	11.6	0.14	2.02	0.67	2.3	0.25
mirR-34a	1.22	0.5	4.03	0.85	2.57	0.59	2.49	0.47	1.47	0.45	-1.28	0.25



Şekil 9: Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hastalık süresine göre klinik gruplarda miR-155 ve miR-34a rölatif ekspresyon değerleri ve her bir klinik grubun kendi içinde hastalık süresine göre karşılaştırılması (tek yönlü varyans analizi [one-way ANOVA], ****: $p < 0,00001$, ***: $p < 0,0001$, **: $p < 0,001$).

5. TARTIŞMA

Mikozis fungoides (MF), en sık görülen kutanöz T hücreli lenfomadır. Tanısı klinik, histopatolojik ve moleküler bulguların kombinasyonuna ve tekrarlayan biyopsilerle uzun süreli takibe dayanmaktadır (73,200). Erken evre MF’de tümör hücre yüzdesinin düşük olması; inflamatuvar dermatozlarda da T hücre klonalitesinin gözlenebilmesi ve immünofenotipin hem MF hem de reaktif dermatozlarda anormal saptanabilmesi (CD7 ekspresyonu kaybı gibi) nedeniyle tanı zorlaşır ve başka tanı yöntemlerine ihtiyaç duyulur (19,201). Son çalışmalarda, MF patogeneğinde miRNA’ların anahtar rol oynadıkları ve bu hastalıkta bir tanı yöntemi olarak kullanılabilecekleri öne sürülmüştür (177,185). Yaptığımız bu çalışmada klinik ve histopatolojik olarak MF tanısı alan hastaların lezyonlu deri biyopsi materyalleri ile kontrol grubunun normal deri biyopsi materyallerinde Real-Time Kantitatif Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-QPCR) ile miR-155 ve miR-34a ekspresyonları incelenmiştir.

MF’de miRNA ekspresyonları ile ilgili bugüne kadar yapılan çalışmalarda MF hastaları; Sezary sendromu (181), primer kutanöz anaplastik büyük hücreli lenfoma (186,202) ve benign inflamatuvar dermatoz hastaları (178,179,182,187,188,202,203) ve sağlıklı kontroller(180-182,184,192) ile karşılaştırılmıştır. Sadece iki çalışmada folikülotropik MF (F-MF) ve transforme MF (T-MF) histopatolojik grupları çalışmaya dahil edilmiş ve miRNA ekspresyon profilleri benign inflamatuvar dermatoz (BİD) hastaları ile karşılaştırılmıştır (187,188). Çalışmamızda MF hastaları klinik lezyonun tipine, hastalık evresine, histopatolojik tanılarına ve hastalık süresine göre alt gruplara ayrılmış ve her bir grupta miR-155 ve miR-34a ekspresyonları, kontrol grubundan alınan normal deri biyopsi örnekleri ile karşılaştırılmıştır. Bu çalışma aynı zamanda F-MF ve T-MF hastalarının lezyonlu deri biyopsi örneklerinin kontrol grubunun normal deri biyopsi örnekleri ile karşılaştırıldığı ve ayrıca hastalık süresine göre miRNA ekspresyonlarının incelendiği ilk çalışmadır.

Çalışmamızda MF hastalarında kontrol grubuna göre miR-155 ekspresyonunda 2 kattan fazla artış izlenmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Maj ve arkadaşları (180) ile Fava ve arkadaşları (181) da yapmış oldukları çalışmalarda, bulgularımızla uyumlu olarak MF hastalarında miR-155 ekspresyonunu sağlıklı kontrollere göre daha yüksek saptadıklarını ancak istatistiksel bir fark bulamadıklarını bildirmişlerdir. Bu çalışmalardan farklı olarak Garaicoa ve arkadaşları (187) MF hastalarında; Dusilkava ve

arkadaşları (182) ise MF ve SS'lu hastalarda BİD hastalarına göre miR-155 ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptamışlardır.

Bu çalışmada MF'li hastalar erken evre ve ileri evre olarak iki gruba ayrılmış ve miR-155 ekspresyonunda her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı olmasa da 2 kattan fazla artış gözlenmiştir. Çalışmamıza benzer şekilde Fava ve arkadaşları (181) tarafından yapılan çalışmada erken evre ve ileri evre MF hastaları sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmış ve miR-155 ekspresyonunda anlamlı fark saptanmamıştır. Bu durum da miRNA ölçümü için kullanılan tekniğin farklılığına bağlanmıştır. Ancak ileri evre MF hastalarında erken evre MF hastalarına göre anlamlı derecede daha yüksek miR-155 ekspresyonu gözlenmiştir. Maj ve arkadaşları (180) da yaptıkları çalışmada bulgularımızla uyumlu olarak erken evre MF'de ileri evre MF'ye göre miR-155 ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha yüksek saptamışlardır. Moyal ve arkadaşları (203) ise yaptıkları çalışmada sonuçlarımızın aksine miR-155 ekspresyonunda, erken evre MF ile BİD hastaları arasında bir fark saptamadıkları halde tümör evre MF hastalarında, hem erken evre MF hem de BİD hastalarına göre anlamlı artış saptamışlar ve miR-155'in MF'nin erken döneminden agresif tümör aşamasına geçişinde etkili olabileceğini belirtmişlerdir. Ralfkiaer ve arkadaşları (178) yaptıkları çalışmada MF hastalarını deri tutulumuna göre T1, T2, T3 ve T4 evre olarak gruplandırmış ve atopik dermatit (AD) hastalarına göre miRNA ekspresyon değişimlerini incelemişlerdir. T1 evre MF hastalarında AD hastalarına göre ve T2 evre MF hastalarında da T1 evre MF hastalarına göre miR-155 ekspresyonunda anlamlı bir artış gözlendiğini bildirmişlerdir. T3 ve T4 evre hastalarında ise T1 evre hastalarına göre miR-155 ekspresyonunda artış saptamakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamamışlardır. Dusilkava ve arkadaşları (182) tarafından yapılan çalışmada da MF'de hastalık ilerledikçe miR-155 ekspresyonunun anlamlı şekilde arttığı gözlenmiş ve en büyük farkın evre I ile evre II arasında olduğu saptanmıştır.

Literatürde lezyon tipine göre MF hastalarındaki miRNA ekspresyon değişimi, sadece Seto ve arkadaşlarının (192) yaptığı çalışmada değerlendirilmiştir. Çalışmaya alınan hastalarda miR-155 ekspresyon düzeyinin, hastalığın evresi ile ilişkili olmadığı ancak lezyonun tipi yamadan plağa ve plaktan tümöre ilerledikçe miR-155 ekspresyonunun anlamlı derecede arttığı saptanmıştır. Bu sonuçlardan yola çıkılarak MF'de lezyon tipine göre miR-155'in ekspresyonundaki artışın; malign T hücre yoğunluğunun artışına ve çoklu biyolojik yolakların düzensizliğine bağlı olabileceği bildirilmiştir (192). Çalışmamızda ise yama lezyonları olan grupta sağlıklı kontrollere göre miR-155 ekspresyonunda fark saptanmazken plak lezyonları olan grupta 4.47 kat ve tümöral lezyonları olan grupta ise 2.22 kat artış

saptanmış ancak bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Benzer şekilde plak lezyonları olan grupta istatistiksel olarak anlamlı olmasa da miR-155 ekspresyonunda yama lezyonları olan gruba göre 3.44 kat artış izlenmiştir. Seto ve arkadaşlarının (192) yaptığı çalışmadan farklı olarak yama lezyonları olan grup ile tümör lezyonları olan grup arasında miR-155 ekspresyonunda belirgin bir fark saptanmazken plak lezyonları olan grupta tümör lezyonları olan gruba göre 2.02 kat artış gözlenmiştir ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Çalışma grupları erken ve ileri evre diye ikiye ayrıldığında miR-155 ekspresyonları arasında fark saptanmazken yama, plak ve tümöral lezyonlar olarak üçe ayrıldığında gruplar arasında farklılık gözlenmiştir. Seto ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmanın aksine çalışmamızda miR-155'in hastalığın yama evresinden plak evresine geçişinde daha etkili bir rol oynayabileceği gösterilmiştir. Literatürde MF hastalarındaki lezyonların yama-plak-tümör evre olarak ayrımının yapıldığı ve sonuçlarının karşılaştırıldığı yeterli sayıda çalışma bulunmaması nedeniyle bu farklılık tam olarak açıklanamamıştır.

Yapılan bu çalışmada histopatolojik grupların miR-155 ekspresyonları kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında aradaki farkın sırasıyla 4.59 kat artışla plak evre klasik MF; 3.02 kat artışla F-MF ve 2.63 kat artışla T-MF hastalarında olduğu izlenmiştir. Ancak istatistiksel olarak fark saptanamamıştır. Yama evre ve tümöral evre klasik MF hastalarında ise kontrol grubuna göre miR-155 ekspresyon düzeyinde belirgin fark saptanamamıştır. Sonuçlarımızla benzer şekilde Marosvari ve arkadaşlarının (188) yaptıkları çalışmada T-MF hastalarında BİD hastalarına göre miR-155 ekspresyonunda anlamlı bir artış saptanmazken F-MF hastalarında anlamlı bir artış izlenmiştir. F-MF ve T-MF hasta grupları arasında ise miR-155 ekspresyonunda anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Elde edilen bulgulara dayanılarak miR-155 ekspresyonunun büyük hücre transformasyonunda rol oynamadığı öne sürülmüştür. Çalışmamızdan farklı olarak van Kester ve arkadaşları (179) ile Sandoval ve arkadaşları (202) yaptıkları çalışmalarda tümöral MF hastalarında BİD hastalarına göre miR-155 ekspresyonunda anlamlı bir artış saptamışlardır. Garaicoa ve arkadaşları (187) ise tüm tümöral evre MF hastaları ile T-MF ve F-MF hastalarında da miR-155 ekspresyonunda BİD hastalarına göre anlamlı artış gözlemişlerdir. Ayrıca F-MF ve T-MF hastalarında tümöral MF hastalarına göre miR-155 ekspresyonunda anlamlı bir artış olduğunu bildirmişlerdir. Ancak sonuçlarımızın aksine T-MF hastalarında miR-155 ekspresyonunun F-MF hastalarına göre daha yüksek olduğunu gözlemişlerdir ancak arada istatistiksel olarak anlamlı fark bulamamışlardır.

Yaptığımız çalışmada tüm MF hasta grubunda kontrol grubuna göre miR-34a düzeyinde belirgin bir artış saptanmamıştır. Erken evre hastalıkta miR-34a ekspresyonunda 2.08 kat artış izlenirken ileri evre hastalıkta belirgin düzeyde olmasa da azalma gözlenmiştir. Klinik gruplardaki miR-34a ekspresyonuna bakıldığında ise plak grubunda 2.54 kat artış izlenmiştir. Yama grubunda belirgin düzeyde olmayan bir artış saptanırken tümör grubunda belirgin düzeyde olmayan bir azalma izlenmiştir. Yama ile plak, yama ile tümör grupları arasında fark saptanmadığı halde tümör grubunda plak grubuna göre miR-34a ekspresyonunda 2.71 kat azalma gözlenmiştir. Histopatolojik gruplara göre miR-34a ekspresyonuna bakıldığında ise yama evre klasik MF, T-MF ve F-MF gruplarında belirgin bir artış izlenmezken, plak evre klasik MF hastalarında 2.60 kat artış saptanmıştır. Tümöral evre klasik MF hastalarında ise belirgin düzeyde olmasa da azalma gözlenmiştir. Bu bulguların aksine Papadavid ve arkadaşları (184) tarafından yapılan çalışmada tümöral MF hastalarında sağlıklı kontrollere göre miR-34a ekspresyonunda artış izlenmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış ve miR-34a'nın tümöral MF patogenezinde rol aldığı ve aday bir onkogenik molekül olduğu bildirilmiştir. Marosvari ve arkadaşlarının (188) yaptıkları çalışmada ise bulgularımızdan farklı olarak F-MF ve T-MF hastalarında miR-34a ekspresyonunda anlamlı artış saptanmıştır. F-MF ve T-MF hastaları arasında ise miR-34a ekspresyon düzeyleri arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Ralfkiaer ve arkadaşları (178) da yaptıkları çalışmada klinik T1 evre hastalıkta T2 evre hastalığa göre miR-34a ekspresyonunda anlamlı bir artış saptamışlardır.

Çalışmamızda hastalığın yama evresinden plak evresine geçişinde miRNA ekspresyonlarının daha etkili olduğu görülmüştür. MiR-155 gibi miR-34a'nın da plak evreden ileri tümör evresine geçişte daha az etkili olduğu saptanmıştır. Bunun nedeninin de popülasyonlar arası genetik farklılıklara ve daha önce tanımlanmış genler arası etkileşimlere bağlı olabileceği düşünülmüştür. Şimdiye kadar; miR-34'ün hücre döngüsünü kontrol eden faktörler (CDK4, CDK6, c-Myc, E2F3), invazyonda görevli proteinler (c-Met, Axl resptörü, RAS-onkogen homolog RRAS), apoptoz düzenleyiciler (Bcl2, survivin, CREB), epiteliyal-mezenkimal geçişte görevli faktörler (EMT-indükleyen transkripsiyon faktörü SNAIL veya çinko parmak 281 proteini) ile kanser kök hücrelerinin oluşumu (Notch1-4, WNT1, WNT3, β -katenin, CD44) ve metabolizmanın düzenlenmesinde rol alan yolaklar (heksokinaz 1 ve 2, glukoz-6-fosfat izomeraz, piruvat dehidrojenaz kinaz, laktat dehidrojenaz A) dahil olmak üzere çok sayıda hedefi tanımlanmıştır(204).

MF'de erken evrede klinik ve patolojik bulgular inflamatuvar hastalıklarla karışabildiğinden tanı konulana kadar ortalama 4-6 yıllık bir süre geçmektedir(200),(205). Literatürde MF'de hastalık süresine göre miRNA ekspresyon değişiminin incelendiği her hangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Hastalık süresine göre miRNA ekspresyonunun anlamlı düzeyde değişime uğradığının bilinmesi, miR hedefli tedavilerin uygulanacağı hastaların seçiminde yol gösterici olabilir. Hastalık süresi ile miRNA ekspresyonlarının değişimi arasındaki ilişkiyi saptamak için çalışmamıza dahil edilen hastalar, hastalık süresi 5 yıl ve daha az / 5 yıldan fazla olacak şekilde iki gruba ayrılmıştır. MiR-155 ekspresyonunda kontrol grubuna göre hastalık süresi ≤ 5 yıl olan hastalarda anlamlı bir artış izlenmediği halde > 5 yıl olanlarda 3.61 kat artış gözlenmiştir. Bu durumun hastalık süresinin uzaması ile birlikte lezyonlardaki klonal T hücre yoğunluğunun artışı ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. MiR-34a ekspresyonunda ise her iki grupta da kontrol grubuna göre anlamlı artış saptanmamıştır.

Klinik gruplarda ise hastalık süresine göre miR-155 ekspresyonunda en fazla artışın > 5 yıl süre hastalığı olan plak grubunda olduğu saptanmış ve hastalık süresine bağlı ekspresyon değişimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,00001$). MiR-34a ekspresyonunda ise yama grubunda >5 yıl süre hastalığa sahip olanlarda istatistiksel olarak anlamlı bir artış ($p<0,0001$) saptanırken tümör grubunda >5 yıl süre hastalığı olanlarda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ($p<0,001$) gözlenmiştir. Hastalık süresi ile mikroRNA ekspresyon değişimi arasındaki ilişki konusunda tam bir değerlendirmenin yapılabilmesi için bu konuda daha önceden yapılmış bir çalışmanın olmaması nedeniyle benzer ve daha ileri başka çalışmalara gereksinim vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Hasta grubunda mikozis fungoides (MF) tanılı 40 hasta (%50) ve kontrol grubunda normal deri biyopsisi alınmış olan 40 olgu (%50) olmak üzere çalışmaya toplam 80 kişi dâhil edilmiştir.
2. Hasta grubunun yaşları 18-91 arasında (ortalama $51,5 \pm 15,4$), kontrol grubunun yaşları 19-81 arasında (ortalama $52,1 \pm 15,9$) bulunmuştur.
3. Hasta grubu 27 erkek (%77,5) ve 13 kadından (%22,5), kontrol grubu 21 erkek (%52,5) ve 19 kadından (%47,5) oluşmaktadır.
4. Hastaların biyopsi alındığı zamandaki hastalık süreleri 0-34 yıl arasında (ortalama $9,8 \pm 9,1$) değişmektedir.
5. Hastaların 12'sinde (%30) yama, 14'ünde (%35) plak ve 14'ünde (%35) tümöral lezyonlar izlenmiştir.
6. Histopatolojik olarak incelendiğinde hastaların 12'sinde (%30) yama evre, 13'ünde (%32,5) plak evre, 5'inde (%12,5) tümöral evre MF, 7'sinde (%17,5) transforme MF (T-MF) ve 3'ünde (%7,5) folikülotropik MF (F-MF) olduğu gözlenmiştir.
7. Hastaların 7'si (%17,5) hastalığa bağlı nedenlerle kaybedilmişken 33'ü (%82,5) hayattadır.
8. Kaybedilen hastaların 2'sinin (%28,57) kadın, 5'inin (%71,42) erkek olduğu; yaşlarının ortalamasının $63,2 \pm 15,26$ yıl (45-91) olduğu; hastalık sürelerinin ortalamasının $16,5 \pm 12,72$ yıl (1-34) olduğu saptanmıştır. Kaybedilen tüm hastaların klinik olarak tümöral lezyonlara sahip olduğu ve histopatolojik bulgulara göre ise 3'ünde (%42,85) tümöral evre MF, 4'ünde (%57,14) ise T-MF tanısı almış olduğu gözlenmiştir.
9. Tüm MF hasta grubunda kontrol grubuna göre miR-155 ekspresyonunda 2.42 kat artış saptanmıştır.
10. Erken evre MF'de miR-155 ekspresyonunda 2.53 kat, miR-34a'da 2.08 kat artış gözlenmiştir. İleri evre hastalıkta ise miR-155 ekspresyonunda 2.22 kat artış saptanırken miR-34a ekspresyonunda fark izlenmemiştir.
11. Klinik gruplarda plak lezyonları olan hastalarda miR-155 ekspresyonunda 4.47 kat, miR-34a ekspresyonunda 2.54 kat artış gözlenmiştir. Tümöral lezyonları olan hastalarda ise miR-155 ekspresyonunda 2.22 kat artış saptanmıştır.
12. Plak lezyonları olan MF grubunda yama lezyonları olanlara göre miR-155 ekspresyonunda 3.44 kat artış izlenmiştir. Tümör lezyonları olan grupta plak lezyonları

olanlara göre ise miR-155 ekspresyonunda 2.02 kat, miR-34a ekspresyonunda 2.71 kat azalma saptanmıştır.

13. Histopatolojik gruplarda plak evre MF hastalarında miR-155 ekspresyonunda 4.59 kat, mir-34a ekspresyonunda 2.6 kat artış gözlenmiştir. MiR-155 ekspresyonunda T-MF'de 2.63 kat, F-MF'de 3.02 kat artış saptanmıştır. Tümöral evre MF hastalarında miR-34a ekspresyonunda ise 1.77 kat azalma izlenmiştir.

14. MF hastaları hastalık süresine göre ikiye ayrıldığında kontrol grubuna göre hastalık süresi ≤ 5 yıl olanl hastalarda miRNA ekspresyonlarında belirgin bir artış izlenmediği halde > 5 yıl olanlarda miR-155 ekspresyonunda 3.61 kat artış saptanmıştır

15. MiR-155 ekspresyonunda plak lezyonları olan grupta hastalık süresi ≤ 5 yıl olan hastalarda 2.19 kat, > 5 yıl olanlarda 11.6 kat artış saptanmış; tümöral lezyonları olan grupta ise hastalık süresi ≤ 5 yıl olan hastalarda 2.02 kat, > 5 yıl olanlarda 2.3 kat artış olduğu görülmüştür.

16. MiR-34a ekspresyonunda ise yama lezyonları olan grupta hastalık süresi > 5 yıl olan hastalarda 4.03 kat artış saptanırken plak lezyonları olan grupta ≤ 5 yıl olanlarda 2.57 kat, > 5 yıl olanlarda ise 2.49 kat artış gözlenmiştir.

17. Hastalık süresi > 5 yıl olanlarda ≤ 5 yıl olanlara göre plak lezyonları olan grupta miR-155 ve yama lezyonları olanlarda miR-34a kat değişimleri arasında anlamlı bir artış saptanırken ($p<0,00001$, $p<0,0001$); tümöral lezyonları olan grupta ise miR-34a kat değişimleri arasında anlamlı bir azalma olduğu gözlenmiştir ($p<0,001$).

18. MiR-155'in ve miR-34a'nın yama evresinden plak evresine geçişinde etkili bir rolü olduğu gözlenmiştir.

19. Daha önceki çalışmaların aksine miR-155 ve miR-34a'nın hastalığın plak evresinden ileri tümör evresine geçişinde daha az etkili olduğu saptanmıştır. Bunun nedenin popülasyonlar arası genetik farklılıklara ve daha önce tanımlanmış hücre döngüsünü kontrol eden faktörler, invazyonda görevli proteinler, apoptoz düzenleyiciler, epiteliyal-mezenkimal geçişte rol alan faktörler, kanser kök hücrelerinin oluşumu ve metabolizmanın düzenlenmesinde rol alan yolaklar ile genler arasındaki etkileşime bağlı olabileceği düşünülmüştür.

20. Hastalık süresi uzadıkça miR-155 ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir. Bu durum hastalık süresinin uzaması ile birlikte lezyonlardaki klonal T hücre yoğunluğunun artışına bağlanmıştır.

21. Klinik gruplarda hastalık süresine göre mikroRNA ekspresyonlarının anlamlı düzeyde değişime uğraması miR hedefli tedavilerin uygulanacağı hastaların seçiminde yol gösterici olabilir. Ancak bu konuda tam bir değerlendirme yapabilmek için benzer ve daha ileri çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.



7. KAYNAKLAR

1. Keehn CA, Belongie IP, Shistik G, Fenske NA, Glass LF. The diagnosis, staging, and treatment options for mycosis fungoides. *Cancer Control*. 2007, Apr;14(2):102-11.
2. Criscione VD, Weinstock MA. Incidence of cutaneous T-cell lymphoma in the United States, 1973-2002. *Arch Dermatol*. 2007, Jul;143(7):854-9.
3. Fung MA, Murphy MJ, Hoss DM, Grant-Kels JM. Practical evaluation and management of cutaneous lymphoma. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2002, Mar;46(3):325-57.
4. Willemze R, Kerl H, Sterry W, Berti E, Cerroni L, Chimenti S, et al. EORTC Classification for Primary Cutaneous Lymphomas: A Proposal From the Cutaneous Lymphoma Study Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer. *Blood*. 1997, Jul 1;90(1):354-71.
5. Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, Flandrin G, Muller-Hermelink HK, Vardiman J, et al. World Health Organization Classification of Neoplastic Diseases of the Hematopoietic and Lymphoid Tissues: Report of the Clinical Advisory Committee Meeting. *J Clin Oncol*. 1999, Dec;17(12):3835-49.
6. Willemze R, Jaffe ES, Burg G, Cerroni L, Berti E, Swerdlow SH, et al. WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. *Blood*. 2005, May 15;105(10):3768-85.
7. Jaffe ES. The 2008 WHO classification of lymphomas: implications for clinical practice and translational research. *Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology*. American Society of Hematology. Education Program. 2009:523-31.
8. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al. World Health Organization Classification of Tumours of Hematopoietic and Lymphoid Tissue (Revised 4th edition). Lyon: IARC Press, 2017.
9. Willemze R, Cerroni L, Kempf W, Berti E, Facchetti F, Swerdlow SH at al. The 2018 update of the WHO-EORTC classification for primary cutaneous lymphomas. *Blood*. 2019 Apr 18;133(16):1703-1714.
10. Gürer MA, Adışen E. Kutanöz T hücreli Lenfomalar. *Dermatose*. 2007;6:98-111.

11. Zinzani PL, Ferreri AJ, Cerroni L. Mycosis fungoides. Critical reviews in oncology/hematology. 2008; 65: 172-182.
12. Assaf C, Sterry W. Cutaneous lymphoma. In: Wolff K, Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrest BA, Paller AS, Leffell DJ, editors. Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine. 7th edition. New York: McGraw-Hill, 2008; 1386-1402.
13. Anadolu RY, Birol A, Sanli H, Erdem C, Tursen U. Mycosis fungoides and Sezary syndrome: therapeutic approach and outcome in 113 patients. Int J Dermatol. 2005; 44: 559-65.
14. Hodak E, Klein T, Gabay B, Ben-Amitai D et al. Familial mycosis fungoides: report of 6 kindreds and a study of the HLA system. J Am Acad Dermatol 2005;52:393-402.
15. Hodak E, Lapidot M, Kohn K, David D et al. Mycosis fungoides: HLA class II associations among Ashkenazi and non-Ashkenazi Jewish patients. Br J Dermatol 2001;145:974-80.
16. Jackow CM, McHam JB, Friss A, Alvear J, Reveille JR, Duvic M. HLA- DR5 and DQB1*03 class II alleles are associated with cutaneous T-cell lymphoma. J Invest Dermatol 1996; 107(3): 373-6.
17. Mao X, Orchard G, Lillington DM, Child FJ et al. BCL2 and JUNB abnormalities in primary cutaneous lymphomas. Br J Dermatol 2004;151:546-56.
18. Nielsen M, Kaestel CG, Eriksen KW, Woetmann A et al. Inhibition of constitutively activated Stat3 correlates with altered Bcl-2/Bax expression and induction of apoptosis in mycosis fungoides tumor cells. Leukemia 1999;13:735-8.
19. Manso R, Martinez-Magunacelaya N, Eraña-Tomás I, Monsalvez V, Rodriguez-Peralto JL, Ortiz-Romero PL, et al. Mycosis fungoides progression could be regulated by microRNAs. PLoS One. 2018; Jun 12;13(6):e0198477.
20. Calonje E, Brenn T, Lazar A, McKee P H. McKee's pathology of the skin with clinical correlations. Goodlad J, Calonje E. In. Cutaneous lymphoproliferative diseases and related disorders. 4th ed. Saunders Elsevier; 2012:1313-1341.
21. Hwang S, Janik J, Jaffe E, Wilson W. Mycosis fungoides and Sézary syndrome. Lancet 2008; 371: 945-57.

22. Cerroni L, Gatter K, Kerl H. Skin Lymphoma: The Illustrated Guide. Skin Lymphoma: The Illustrated Guide. 2014.
23. Weinstock MA. Epidemiology of mycosis fungoides. *Semin Dermatol* 1994;13:154-9.
24. Whittemore AS, Holly EA, Lee IM, Abel EA et al. Mycosis fungoides in relation to environmental exposures and immune response: a case-control study. *J Natl Cancer Inst* 1989;81:1560-7.
25. Aschebrook-Kilfoy B, Cocco P, La Vecchia C, Chang ET, Vajdic CM, Kadin ME et al. Medical history, lifestyle, family history, and occupational risk factors for mycosis fungoides and Sezary syndrome: the InterLymph Non-Hodgkin Lymphoma Subtypes Project. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2014 Aug;2014(48):98-105.
26. Lutzner M, Edelson R, Schein P, Green I et al. Cutaneous T-cell lymphomas: the Sezary syndrome, mycosis fungoides, and related disorders. *Ann Intern Med* 1975;83:534-52.
27. Assaf C, Gellrich S, Steinhoff M, Nashan D et al. Cutaneous lymphomas in Germany: an analysis of the Central Cutaneous Lymphoma Registry of the German Society of Dermatology (DDG). *J Dtsch Dermatol Ges* 2007;5:662-8.
28. Bradford PT, Devesa SS, Anderson WF, Toro JR. Cutaneous lymphoma incidence patterns in the United States: a population-based study of 3884 cases. *Blood* 2009;113:5064-73.
29. Herne KL, Talpur R, Breuer-McHam J, Champlin R et al. Cytomegalovirus seropositivity is significantly associated with mycosis fungoides and Sezary syndrome. *Blood* 2003;101:2132-6.
30. Munoz-Perez MA, Rios-Martin JJ, Rodriguez-Pichardo A, Camacho F. Cutaneous T-cell lymphoma and human immunodeficiency virus infection: 2 cases and a review of the literature. *ActaDerm Venereol* 1999;79:153-5.
31. Erkek E, Senturk N, Dincer I, Olut AI et al. Identification of herpes simplex virus DNA and lack of human herpesvirus-8 DNA in mycosis fungoides. *Acta Derm Venereol* 2002;82:214-6.
32. Burns MK, Cooper KD. Cutaneous T-cell lymphoma associated with HIV infection. *J*

- Am Acad Dermatol 1993;29:394-9.
33. Guitart J. HIV-1 and an HTLV-II-associated cutaneous T-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2000;343:303-4.
 34. Talpur R, Bassett R, Duvic M. Prevalence and treatment of *Staphylococcus aureus* colonization in patients with mycosis fungoides and Sezary syndrome. *Br J Dermatol* 2008;159:105-12.
 35. Jahan-Tigh RR, Huen AO, Lee GL, Pozadzides JV et al. Hydrochlorothiazide and cutaneous T cell lymphoma: prospective analysis and case series. *Cancer* 2013;119:825-31.
 36. Alvarez-Ruiz S, Delgado Y, Aragues M, Fraga J et al. Mycosis fungoides-type eruptions induced by carbamazepine. *Actas Dermosifiliogr* 2006;97:43-7.
 37. Gordon KB, Guitart J, Kuzel T, Salard D et al. Pseudo-mycosis fungoides in a patient taking clonazepam and fluoxetine. *J Am Acad Dermatol* 1996;34:304-6.
 38. Suga H, Sugaya M, Toyama T, Sumida H et al. A case of mycosis fungoides with large cell transformation associated with infliximab treatment. *Acta Derm Venereol* 2014;94:233-4.
 39. Storz M, Zepter K, Kamarashev J, Dummer R, Burg G, Häffner AC. Coexpression of CD40 and CD40 ligand in cutaneous T-cell lymphoma (mycosis fungoides). *Cancer Res.* 2001, Jan 15;61(2):452-4.
 40. Nickoloff BJ, Nestle FO, Zheng X-G, Turka LA. T lymphocytes in skin lesions of psoriasis and mycosis fungoides express B7-1: a ligand for CD28. *Blood.* 1994, May 1;83(9):2580-6.
 41. Jarrousse V, Quereux G, Marques-Briand S, Knol AC, Khammari A, Dreno B. Toll-like receptors 2, 4 and 9 expression in cutaneous T-cell lymphoma (mycosis fungoides and Sézary syndrome). *Eur J Dermatology.* 2006; Nov-Dec;16(6):636-41.
 42. Ermertcan AT, Öztürk F, Gündüz K. Toll-like receptors and skin. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology.* 2011, Sep;25(9):997-1006.
 43. Hoppe RT, Medeiros LJ, Warnke RA, Wood GS. CD8-positive tumor-infiltrating lymphocytes influence the long-term survival of patients with mycosis fungoides. *J Am*

- Acad Dermatol. 1995; Mar;32(3):448-53.
44. Vermeer MH, Doorn R V., Dukers D, Bekkenk MW, Meijer CJLM, Willemze R. CD8+ T cells in cutaneous T-cell lymphoma: Expression of cytotoxic proteins, Fas ligand, and killing inhibitory receptors and their relationship with clinical behavior. *J Clin Oncol*. 2001; Dec 1;19(23):4322-9.
 45. Giardi M, Heald PW, Wilson LD. The pathogenesis of Mycosis fungoides. *N Eng J MED*. 2004; 350: 1978-1988.
 46. Dereure O, Levi E, Vonderheid EC, Kadin ME. Infrequent Fas mutations but no Bax or p53 mutations in early mycosis fungoides: A possible mechanism for the accumulation of malignant T lymphocytes in the skin. *J Invest Dermatol*. 2002; Jun;118(6):949-56.
 47. Wong HK, Wilson AJ, Gibson HM, Hafner MS et al. Increased expression of CTLA-4 in malignant T-cells from patients with mycosis fungoides --cutaneous T cell lymphoma. *J Invest Dermatol* 2006;126:212-9.
 48. Yano H, Thakur A, Tomaszewski EN, Choi M, Deol A, Lum LG. Ipilimumab augments antitumor activity of bispecific antibody-armed T cells. *J Transl Med*. 2014; Jul 9;12:191.
 49. Kim EJ, Hess S, Richardson SK, Newton S, Showe LC, Benoit BM, et al. Immunopathogenesis and therapy of cutaneous T cell lymphoma. *Journal of Clinical Investigation*. 2005, Apr;115(4):798-812.
 50. Ferahbaş, A. Mikozis fungoides, klinik varyantları ve subtipleri. *T Klin J Dermatol*. 2007;17: 242-251.
 51. Kazakov D V., Burg G, Kempf W. Clinicopathological spectrum of mycosis fungoides. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2004, Jul;18(4):397-415.
 52. Nashan D, Faulhaber D, Ständer S, Luger TA, Stadler R. Mycosis fungoides: A dermatological masquerader. *British Journal of Dermatology*. 2007, Jan;156(1):1-10.
 53. Willemze R. Mycosis fungoides variants-clinicopathologic features, differential diagnosis, and treatment. *Semin Cutan Med Surg*. 2018 Mar;37(1):11-17.
 54. Ackerman AB, Schiff TA. If small plaque (digitate) parapsoriasis is a cutaneous T-cell

- lymphoma, even an “abortive” one, it must be mycosis fungoides! *Archives of Dermatology*. 1996, May;132(5):562-6.
55. Smoller BR, Bishop K, Glusac E, Kim YH, Hendrickson M. Reassessment of histologic parameters in the diagnosis of mycosis fungoides. *Am J Surg Pathol*. 1995; Dec;19(12):1423-30.
 56. Vonderheid EC, Bernengo MG, Burg G, Duvic M et al. Update on erythrodermic cutaneous T-cell lymphoma: report of the International Society for Cutaneous Lymphomas. *J Am Acad Dermatol* 2002;46:95-106.
 57. Muñoz-González H, Molina-Ruiz AM, Requena L. Clinicopathologic Variants of Mycosis Fungoides. *Actas Dermosifiliogr*. 2017 Apr;108(3):192-208.
 58. Toro JR, Sander CA, LeBoit PE. Persistent pigmented purpuric dermatitis and mycosis fungoides: simulant, precursor, or both? A study by light microscopy and molecular methods. *Am J Dermatopathol* 1997;19:108-18.
 59. Kempf W, Ostheeren-Michaelis S, Paulli M, Lucioni M, Wechsler J, Audring H et al. Granulomatous mycosis fungoides and granulomatous slack skin: a multicenter study of the Cutaneous Lymphoma Histopathology Task Force Group of the European Organization For Research and Treatment **of Cancer (EORTC)**. *Arch Dermatol*. 2008 Dec;144(12):1609-17.
 60. Kim SJ, Schaffer A, Lee HY, Seo JY, Park HJ. A Case of Papular Mycosis Fungoides: A New Clinical Variant of Early Mycosis Fungoides. *Ann Dermatol* 2016;28:383-4.
 61. Niemczyk UM, Zollner TM, Wolter M, Staib G, Kaufmann R. The transformation of pityriasis lichenoides chronica into parakeratosis variegata in an 11-year-old girl. *Br J Dermatol* 1997;137:983-7.
 62. Thomson KF, Whittaker SJ, Russell-Jones R, Charles-Holmes R. Childhood cutaneous T-cell lymphoma in association with pityriasis lichenoides chronica. *Br J Dermatol* 1999;141:1146-8.
 63. Goldsmith SM, Seo BL, Kumara de Silva R, Parachuru P, Rich AM, Seymour GJ. Oral mycosis fungoides: report with immune profile. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2014; Aug;118(2):e48-52.

64. Pujol RM, Gallardo F, Llistosella E, Blanco A, Bernado L, Bordes R, et al. Invisible mycosis fungoides: A diagnostic challenge. *J Am Acad Dermatol*.2000; 42: 324-8.
65. Barberio E, Thomas L, Skowron F, Balme B, Dalle S. Transformed mycosis fungoides: clinicopathological features and outcome. *Br J Dermatol*. 2007; 157: 284-289.
66. Haghighi B, Smoller BR, LeBoit PE, Warnke RA, Sander CA, Kohler S. Pagetoid reticulosis (Woringer-Kolopp disease): an immunophenotypic, molecular, and clinicopathologic study. *Mod Pathol* 2000;13:502-10.
67. Mielke V, Wolff HH, Winzer M, Sterry W. Localized and disseminated pagetoid reticulosis. Diagnostic immunophenotypical findings. *Arch Dermatol* 1989;125:402-6.
68. Fraser-Andrews EA, Mitchell T, Ferreira S, Seed PT, Russell-Jones R, Calonje E et al. Molecular staging of lymph nodes from 60 patients with mycosis fungoides and Sezary syndrome: correlation with histopathology and outcome suggests prognostic relevance in mycosis fungoides. *Br J D*. 2006 Oct;155(4):756-62.
69. Davis TH, Morton CC, Miller-Cassman R, Balk SP, Kadin ME. Hodgkin's disease, lymphomatoid papulosis, and cutaneous T-cell lymphoma derived from a common T-cell clone. *N Engl J Med* 1992;326:1115-22.
70. Zackheim HS, Jones C, Leboit PE, Kashani-Sabet M, McCalmont TH, Zehnder J. Lymphomatoid papulosis associated with mycosis fungoides: a study of 21 patients including analyses for clonality. *J Am Acad Dermatol* 2003;49:620-3.
71. Ackerman AB, Kerl H, LeBoit PE. Compare your diagnosis. Xanthogranuloma, seborrheic keratosis associated with mycosis fungoides, Kikuchi's disease. *Am J Dermatopathol*. 1999;21: 79-81, 94-5.
72. Willemze R Cutaneous T-cell lymphoma. In: Bologna JL, Schaffer JV, Cerroni L, editors. *Dermatology*. 4th Edition. 2018; 2127-2147.
73. Reddy K, Bhawan J. Histologic mimickers of mycosis fungoides: A review. *J Cutan Pathol*. 2007; Jul;34(7):519-25.
74. Pimpinelli N, Olsen EA, Santucci M, Vonderheid E, Haeffner AC, Stevens S, et al. Defining early mycosis fungoides. *J Am Acad Dermatol*. 2005; Dec;53(6):1053-63.
75. Guitart J, Kennedy J, Ronan S, Chmiel JS, Hsiegh YC, Variakojis D. Histologic

- criteria for the diagnosis of mycosis fungoides: Proposal for a grading system to standardize pathology reporting. *J Cutan Pathol*. 2001; Apr;28(4):174-83.
76. Olsen E, Vonderheid E, Pimpinelli N, Willemze R, Kim Y, Knobler R, et al. Revisions to the staging and classification of mycosis fungoides and Sézary 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 Ca. *Blood*. 2007, Sep 15;110(6):1713-22.
 77. Shapiro PE, Pinto FJ. The histologic spectrum of mycosis fungoides/Sézary syndrome (cutaneous T-cell lymphoma). A review of 222 biopsies, including newly described patterns and the earliest pathologic changes. *Am J Surg Pathol* 1994;18:645-67.
 78. Foss F, Demierre MF. Cutaneous Lymphomas. *Hematology/ Oncology Clinics of North America*, Elsevier, Philadelphia. 2003:1279-1483.
 79. Willemze R. Cutaneous T-cell lymphoma. In: Bologna JL, Jorizzo J, Rapini R, editors. *Dermatology*. 2nd edition. Mosby Elsevier, 2008; 1867-1885.
 80. Busam KJ. *Dermatopathology a volume in the series foundations in diagnostic pathology*. Junkins-Hopkins JM, Myskowski PL, Busam KJ. Hematopoietic Neoplasms. New York: Saunders Elsevier; 2010: 565-579.
 81. Diamandidou E, Colome-Grimmer M, Fayad L, Duvic M, Kurzrock R. Transformation of mycosis fungoides/Sézary syndrome: clinical characteristics and prognosis. *Blood* 1998;92:1150-9.
 82. Vergier B, de Muret A, Beylot-Barry M, Vaillant L, Ekouevi D, Chene G, et al. Transformation of mycosis fungoides: clinicopathological and prognostic features of 45 cases. French Study Group of Cutaneous Lymphomas. *Blood*. 2000; Apr 1;95(7):2212-8.
 83. Kohler S, Kim YH, Smoller BR. Histologic criteria for the diagnosis of erythrodermic Mycosis Fungoides and Sézary Syndrome: A critical reappraisal. *J Cutan Pathol*. 1997; May;24(5):292-7.
 84. Gerami P, Guitart J. The spectrum of histopathologic and immunohistochemical findings in folliculotropic mycosis fungoides. *Am J Surg Pathol*. 2007; Sep;31(9):1430-8.

85. Zelger B, Sepp N, Weyrer K, Grünewald K, Zelger B. Syringotropic cutaneous T-cell lymphoma: a variant of mycosis fungoides? *Br J Dermatol.* 1994; Jun;130(6):765-9.
86. Edinger JT, Clark BZ, Pucevich BE, Geskin LJ, Swerdlow SH. CD30 Expression and proliferative fraction in nontransformed mycosis fungoides. *Am J Surg Pathol.* 2009; Dec;33(12):1860-8.
87. Benner MF, Jansen PM, Vermeer MH, Willemze R. Prognostic factors in transformed mycosis fungoides: A retrospective analysis of 100 cases. *Blood.* 2012; Feb 16;119(7):1643-9.
88. Murphy M, Signoretti S, Kadin ME, Loda M. Detection of TCR- γ gene rearrangements in early mycosis fungoides by non-radioactive PCR-SSCP. *J Cutan Pathol.* 2000; May;27(5):228-34.
89. Thurber SE, Zhang B, Kim YH, Schrijver I, Zehnder J, Kohler S. T-cell clonality analysis in biopsy specimens from two different skin sites shows high specificity in the diagnosis of patients with suggested mycosis fungoides. *J Am Acad Dermatol.* 2007; Nov;57(5):782-90. Epub 2007 Jul 23.
90. Lukowsky A, Muche JM, Sterry W, Audring H. Detection of expanded T cell clones in skin biopsy samples of patients with lichen sclerosus et atrophicus by T cell receptor- γ polymerase chain reaction assays. *J Invest Dermatol.* 2000; Aug;115(2):254-9.
91. Schiller PI, Flaig MJ, Puchta U, Kind P, Sander CA. Detection of clonal T cells in lichen planus. *Arch Dermatol Res.* 2000; 292: 568-9.
92. Citarella L, Massone C, Kerl H, Cerroni L. Lichen Sclerosus with Histopathologic Features Simulating Early Mycosis Fungoides. *Am J Dermatopathol.* 2003; Dec;25(6):463-5.
93. Michie SA, Abel EA, Hoppe RT, Warnke RA, Wood GS. Expression of T-cell receptor antigens in mycosis fungoides and inflammatory skin lesions. *J Invest Dermatol.* 1989; Jul;93(1):116-20.
94. Kandolf Sekulović L, Cikota B, Popović M, Stojadinović O, Tarabar O, Bašanović J, et al. TCR γ gene rearrangement analysis in skin samples and peripheral blood of mycosis fungoides patients. *Acta Dermatovenerologica Alpina, Pannonica Adriat.* 2007; Dec;16(4):149-55.

95. Tancredè-Bohin E, Ionescu MA, De La Salmonière P, Dupuy A, Rivet J, Rybojad M, et al. Prognostic value of blood eosinophilia in primary cutaneous T-cell lymphomas. *Arch Dermatol*. 2004; Sep;140(9):1057-61.
96. Kim YH, Liu HL, Mraz-Gernhard S, Varghese A, Hoppe RT. Long-term outcome of 525 patients with mycosis fungoides and Sézary syndrome: Clinical prognostic factors and risk for disease progression. *Arch Dermatol*. 2003; Jul;139(7):857-66.
97. 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. *J Clin Oncol*. 2010; Nov 1;28(31):4730-9.
98. Diamandidou E, Colome M, Fayad L, Duvic M, Kurzrock R. Prognostic factor analysis in mycosis fungoides/Sezary syndrome. *J Am Acad Dermatol* 1999;40:914-24.
99. Talpur R, Singh L, Daulat S, Liu P, Seyfer S, Trynosky T et al. Long-term outcomes of 1,263 patients with mycosis fungoides and sezary syndrome from 1982 to 2009. *Clin Cancer Res*. 2012; Sep 15;18(18):5051-60.
100. Onsun N, Kutanöz T hücreli lenfomalarda tedavi ve takip. *Türkderm* 2006;40(ÖzelEk A):8-10.
101. Kim YH, Chow S, Varghese A, Hoppe RT. Clinical characteristics and long-term outcome of patients with generalized pach and/or plaque (T2) mycosis fungoides. *Arch Dermatol* 1999; 135: 26–32.
102. Zackheim HS, Amin S, Kashani-Sabet M, McMillan A. Prognosis in cutaneous T-cell lymphoma by skin stage: long-term survival in 489 patients. *J Am Acad Dermatol* 1999; 40: 418–25.
103. Olsen EA, Whittaker S, Kim YH, Duvic M, Prince HM, Lessin SR et al. Clinical end points and response criteria in mycosis fungoides and Sezary syndrome: a consensus statement of the International Society for Cutaneous Lymphomas, the United States Cutaneous Lymphoma Consortium, **and the Cutaneous Lymphoma Task Force of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer**. *J Clin Oncol*. 2011 Jun 20;29(18):2598-607.

104. Scarisbrick JJ, Morris S. How big is your hand and should you use it to score skin in cutaneous T-cell lymphoma? *Br J Dermatol* 2013;169:260-5.
105. McFarlane V, Freidman PS, Illidge TM. What is new in management of cutaneous T-cell lymphoma? *Clin Oncol* 2005;17: 174-184.
106. Pichardo DA, Querfeld C, Guitart J, Kuzel TM, Rosen ST. Cutaneous T-cell lymphoma: A paradigm for biological therapies. *Leuk Lymphoma*. 2004 Sep;45(9):1755-65.
107. Parker PS, Bradley B. Treatment cutaneous T-cell lymphoma/mycosis fungoides. *Dermatol Nurs* 2006;18:566-575.
108. Trautinger F, Knobler R, Willemze R, Peris K, Stadler R, Laroche L et.al. EORTC consensus recommendations for the treatment of mycosis fungoides/sezary syndrome. *Eur J Cancer* 2006;42:1014-1030.
109. Zackheim HS, Kashani-Sabet M, Amin S. Topical corticosteroids for mycosis fungoides. Experience in 79 patients. *Arch Dermatol*. 1998; Aug;134(8):949-54.
110. Lessin SR, Duvic M, Guitart J, Pandya AG, Strober BE, Olsen EA, et al. Topical chemotherapy in cutaneous T-cell lymphoma: Positive results of a randomized, controlled, multicenter trial testing the efficacy and safety of a novel mechlorethamine, 0.02%, gel in mycosis fungoides. *JAMA Dermatology*. 2013; Jan;149(1):25-32.
111. Kim YH, Martinez G, Varghese A, Hoppe RT. Topical nitrogen mustard in the management of mycosis fungoides: Update of the Stanford experience. *Arch Dermatol*. 2003; Feb;139(2):165-73.
112. Galper SL, Smith BD, Wilson LD. Diagnosis and management of mycosis fungoides. *Oncology (Williston Park)*. 2010; May;24(6):491-501.
113. Apisarnthanarax N, Talpur R, Ward S, Ni X, Kim HW, Duvic M. Tazarotene 0.1% gel for refractory mycosis fungoides lesions: an open-label pilot study. *J Am Acad Dermatol* 2004; 50: 600-7.
114. Deeths MJ, Chapman JT, Dellavalle RP, Zeng C, Aeling JL. Treatment of patch and plaque stage mycosis fungoides with imiquimod 5% cream. *J Am Acad Dermatol* 2005;52:275-80.

115. Şanlı H, Genç Y. Kutanöz T Hücreli Lenfomalarda Fototerapi. In: Elçin G, Karadağ AS, Yılmaz E, editors. Fotodermatoloji. Türk Dermatoloji Derneği Yayınları, No: 2, 2015;370-380.
116. Gönül M, Canpolat F, Öztürk G. Dar Bant UVB Fototerapisi. In: Kundakçı N, Öztürk G, editors. Fototerapi Tedavi Kılavuzu. Türk Dermatoloji Derneği Yayınları, No:5, 2018; 63-72.
117. Öztürk G, Bilgili SG, Çelik E. Fototerapi Yöntemleri. In: Kundakçı N, Öztürk G, editors. Fototerapi Tedavi Kılavuzu. Türk Dermatoloji Derneği Yayınları, No:5, 2018; 21-30.
118. Öztürk G, Bilgili SG, Çelik E. Ultraviyole Işığ, Işıma Ve Dozimetri. In: Kundakçı N, Öztürk G, editors. Fototerapi Tedavi Kılavuzu. Türk Dermatoloji Derneği Yayınları, No:5, 2018; 1-20.
119. Adışen E, Kundakçı N, Çelik E. PUVA Tedavisi. In: Kundakçı N, Öztürk G, editors. Fototerapi Tedavi Kılavuzu. Türk Dermatoloji Derneği Yayınları, No:5, 2018; 73-90.
120. Navi D, Riaz N, Levin YS, Sullivan NC, Kim YH, Hoppe RT. The Stanford University experience with conventional-dose, total skin electron-beam therapy in the treatment of generalized patch or plaque (T2) and tumor (T3) mycosis fungoides. Arch Dermatol. 2011; May;147(5):561-7.
121. Lansigan F, Foss FM. Current and emerging treatment strategies for cutaneous t-cell lymphoma. Drugs. 2010, Feb 12;70(3):273-86.
122. Whittaker SJ, Marsden JR, Spittle M, Russell Jones R. British Association of Dermatologists, U.K. Cutaneous Lymphoma Group. Joint British Association of Dermatologists and U.K. Cutaneous Lymphoma Group guidelines for the management of primary cutaneous T-cell lymphomas. Br J Dermatol. 2003; Dec;149(6):1095-1107.
123. Thomsen K, Hammar H, Molin L, Volden G. Retinoids plus PUVA (RePUVA) and PUVA in mycosis fungoides, plaque stage. A report from the Scandinavian Mycosis Fungoides Group. Acta Derm Venereol 69:536-538, 1989.
124. Jones G, McLean J, Rosenthal D, Roberts J, Sauder DN. Combined treatment with oral etretinate and electron beam therapy in patients with cutaneous T-cell lymphoma (mycosis fungoides and Sézary syndrome). J Am Acad Dermatol 26:960-967, 1992.

125. Duvic M, Martin AG, Kim Y, Olsen E, Wood GS, Crowley CA et al. Phase 2 and 3 clinical trial of oral bexarotene (Targretin capsules) for the treatment of refractory or persistent early-stage cutaneous T-cell lymphoma. *Arch Dermatol* 2001;137:581-93.
126. Şanlı H. Kutanöz T Hücreli Lenfoma. *Dermatolojide tedavi* 447-453, 2010.
127. Negro-Vilar A. Efficacy and safety of denileukin diftitox (DD) in a phase III, double-blind, placebo controlled study of CD25+ patients with cutaneous T-cell lymphoma (CTCL). *J Clin Oncol* 2007, 25:447.
128. Olsen E, Duvic M, Frankel A, Kim Y, Martin A, Vonderheid E et al. Pivotal phase III trial of two dose levels of denileukin diftitox for the treatment of cutaneous T-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 19:376-388, 2001.
129. Duvic M. Systemic monotherapy vs combination therapy for CTCL: Rationale and future strategies. *Oncology*. Williston Park. 21:33-40, 2007.
130. Foss F, Demierre MF, DiVenuti G. A phase-1 trial of bexarotene and denileukin diftitox in patients with relapsed or refractory cutaneous T-cell lymphoma. *Blood* 106:454- 457, 2005.
131. Foss FM, Bacha P, Osann KE, Demierre MF, Bell T, Kuzel T. Biological correlates of acute hypersensitivity events with DAB(389)IL-2 (denileukin diftitox, Ontak) in cutaneous T-cell lymphoma: Decreased frequency and severity with steroid premedication. *Clin Lymphoma* 2001 Mar;1(4):298-302.
132. Duvic M, Talpur R, Ni X, Zhang C, Hazarika P, Kelly C et al: Phase 2 trial of oral vorinostat (suberoylanilide hydroxamic acid, SAHA) for refractory cutaneous T-cell lymphoma (CTCL). *Blood* 109:31-39, 2007.
133. Jain S, Zain J. Romidepsin in the treatment of cutaneous T-cell lymphoma. *J Blood Med* 2011;2:37-47.
134. Lundin J, Hagberg H, Repp R, Cavallin-Stahl E, Fredén S, Juliusson G et al. Phase 2 study of alemtuzumab (anti-CD52 monoclonal antibody) in patients with advanced mycosis fungoides/Sezary syndrome. *Blood* 2003;101:4267-72.
135. Kim YH, Duvic M, Obitz E, Gniadecki R, Iversen L, Osterborg A et al. Clinical efficacy of zanolimumab (HuMax-CD4): two phase 2 studies in refractory cutaneous

- T-cell lymphoma. *Blood* 2007;109:4655-62.
136. Duvic M, Tetzlaff MT, Gangar P, Clos AL, Sui D, Talpur R. Results of a Phase II Trial of Brentuximab Vedotin for CD30+ Cutaneous T-Cell Lymphoma and Lymphomatoid Papulosis. *J Clin Oncol* 2015;33:3759-65.
 137. Duvic M, Pinter-Brown LC, Foss FM, Sokol L, Jorgensen JL, Challagundla P et al. Phase 1/2 study of mogamulizumab, a defucosylated anti-CCR4 antibody, in previously treated patients with cutaneous T-cell lymphoma. *Blood* 2015;125:1883-9.
 138. Zinzani PL, Baliva G, Magagnoli M, Bendandi M, Modugno G, Gherlinzoni F et al. Gemcitabine treatment in pretreated cutaneous T-cell lymphoma: experience in 44 patients. *J Clin Oncol* 2000;18:2603-6.
 139. Wollina U, Dummer R, Brockmeyer NH, Konrad H, Busch JO, Kaatz M et al. Multicenter study of pegylated liposomal doxorubicin in patients with cutaneous T-cell lymphoma. *Cancer* 2003;98:993-1001.
 140. Foss F, Horwitz SM, Coiffier B, Bartlett N, Popplewell L, Pro B et al. Pralatrexate is an effective treatment for relapsed or refractory transformed mycosis fungoides: a subgroup efficacy analysis from the PROPEL study. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2012;12:238-43.
 141. Wang L, Xia ZJ, Huang HQ, Lu Y, Zhang YJ. Cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (CHOP) in the treatment of stage IE/IIe extranodal natural killer/T cell lymphoma, nasal type: 13-year follow-up in 135 patients. *Int J Hematol* 2012;96:617-2.
 142. Introcaso CE, Leber B, Greene K, Ubriani R, Rook AH, Kim EJ. Stem cell transplantation in advanced cutaneous T-cell lymphoma. *J Am Acad Dermatol* 2008;58:645-9.
 143. Kuzel TM, Roenigk H, Samuelson E, Herrmann JJ, Hurria A, Rademaker AW et al. Effectiveness of interferon alfa-2a combined with phototherapy for mycosis fungoides and the Sezary syndrome. *J Clin Oncol* 1995;13:257-26.
 144. Whittaker SJ, Foss FM. Efficacy and tolerability of currently available therapies for the mycosis fungoides and Sezary syndrome variants of cutaneous T-cell lymphoma. *Cancer Treat Rev* 2007;33:146-160.

145. Trautinger F, Eder J, Assaf C, Bagot M, Cozzio A, Dummer R et al. European Organisation for Research and Treatment of Cancer consensus recommendations for the treatment of mycosis fungoides/Sézary syndrome - Update 2017. *Eur J Cancer*. 2017 May;77:57-74.
146. Szymanski M, Barciszewska MaZ, Zywicki M, Barciszewski J. Noncoding RNA transcripts. *Journal of applied genetics*. 2003;44(1):1-20.
147. Gehrke S, Imai Y, Sokol N, Lu B. Pathogenic LRRK2 negatively regulates microRNA-mediated translational repression. *Nature* 2010; 466: 637–41.
148. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993; 75: 843–854.
149. Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, Pasquinelli AE, Bettinger JC, Rougvie AE et al. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 2000;403, 901–906.
150. Ruvkun G. Molecular biology. Glimpses of a tiny RNA world. *Science* 2001; 294: 797–799.
151. Schneider MR. MicroRNAs as novel players in skin development, homeostasis and disease. *British Journal of Dermatology*, 2012;166(1), 22-28.
152. Saraiva C, Esteves M, Bernardino L. MicroRNA: basic concepts and implications for regeneration and repair of neurodegenerative diseases. *Biochemical Pharmacology*, 2017; 141, 118-131.
153. Breving K., Esquela-Kerscher A. The complexities of microRNA regulation: mirandering around the rules. *The international Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2010; 42(8), 1316-1329.
154. Rna M, Barbaros C, Karagün Ş, Antmen B, Şaşmaz İ, Kılınç Y. Mikro RNA ve Kanser. *Türk Klin Biyokim Derg*. 2014;12(1): 45-56
155. Weber JA, Baxter DH, Zhang S, Huang DY, Huang KH, Lee MJ et al. The MicroRNA Spectrum in 12 Body Fluids, *Clin Chem*, 2010; 56 (11), 1733-1741.
156. miRBase. Browse miRBase by species (internette). Erişim: 03.04.2019, <http://www.mirbase.org/cgi-bin/browse.pl?org=hsa>.

157. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*. 2004;116(2):281-297.
158. Wang J, Sen S. MicroRNA functional network in pancreatic cancer: from biology to biomarkers of disease. *Journal of biosciences*. 2011;36(3):481-491.
159. Friedman RC, Farh KK-H, Burge CB, Bartel DP. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome research*. 2009;19(1):92-105.
160. Saliminejad K, Khorram Khorshid HR, Soleymani Fard S, Ghaffari SH. An overview of microRNAs: Biology, functions, therapeutics, and analysis methods. *Journal of Cellular Physiology* 2019, May;234(5):5451-5465.
161. Birney E, Stamatoyannopoulos JA, Dutta A, Guigó R, Gingeras TR, Margulies EH et al. Identification and analysis of functional elements in 1% of the human genome by the ENCODE pilot project. *Nature* 2007; 447:799–816.
162. Ha M, Kim VN. Regulation of microRNA biogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2014; Aug;15(8):509-24.
163. Turchinovich A, Tonevitsky AG, Burwinkel B. Extracellular miRNA: A Collision of Two Paradigms. *Trends in Biochemical Sciences*. 2016, Oct;41(10):883-892.
164. Breving, K., Esquela-Kerscher, A. The complexities of microRNA regulation: mirandering around the rules. *Int J Biochem Cell Biol*, 2010; 42(8):1316-1329.
165. Yang, Z., Wang, L. Regulation of microRNA expression and function by nuclear receptor signaling. *Cell Biosci*, 2011; 1, 31.
166. Saito Y, Liang G, Egger G, Friedman JM, Chuang JC, Coetzee GA et al. Specific activation of microRNA-127 with downregulation of the proto-oncogene BCL6 by chromatin-modifying drugs in human cancer cells. *Cancer Cell*, 2006; 9(6):435-4.
167. Kohnken R, Mishra A. MicroRNAs in Cutaneous T-Cell Lymphoma: The Future of Therapy. *Journal of Investigative Dermatology*, 2019, Mar;139(3):528-534.
168. Ludwig N, Leidinger P, Becker K, Backes C, Fehlmann T, Pallasch C, et al. Distribution of miRNA expression across human tissues. *Nucleic Acids Res*. 2016; May 5;44(8):3865-77.
169. Singhvi G, Manchanda P, Krishna Rapalli V, Kumar Dubey S, Gupta G, Dua K.

- MicroRNAs as biological regulators in skin disorders. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 2018, Dec;108:996-1004.
170. Lovendorf MB, Skov L. MiRNAs in inflammatory skin diseases and their clinical implications. *Expert Rev Clin Immunol*. 2015 Apr;11(4):467-77.
 171. Jinnin M. Various applications of microRNAs in skin diseases. *J Dermatol Sci*. 2014 Apr;74(1):3-8.
 172. Beg MS, Brenner AJ, Sachdev J, Borad M, Kang YK, Stoudemire J, et al. Phase I study of MRX34, a liposomal miR-34a mimic, administered twice weekly in patients with advanced solid tumors. *Invest New Drugs*. 2017; Apr;35(2):180-188.
 173. van der Ree MH¹, de Vree JM², Stelma F¹, Willemse S³, van der Valk M⁴, Rietdijk S et al. Safety, tolerability, and antiviral effect of RG-101 in patients with chronic hepatitis C: a phase 1B, double-blind, randomised controlled trial. *Lancet*. 2017 Feb 18;389(10070):709-717.
 174. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, Bichi R, Zupo S, Noch E et al. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *PNAS* 2002; 99: 15524–15529.
 175. Saydam F, Değirmenci İ, Güneş HV. MikroRNA'lar ve kanser. *Dicle Tıp Dergisi* 2011; 38: 113-120.
 176. Zhang B, Pan X, Cobb GP, Anderson TA. microRNAs as oncogenes and tumor suppressors. *Dev Biol* 2007; 302: 1-12.
 177. Ralfkiaer U, Hagedorn PH, Bangsgaard N, Løvendorf MB, Ahler CB, Svensson L et al. Diagnostic microRNA profiling in cutaneous T-cell lymphoma (CTCL). *Blood*. 2011; 118(22):5891-5900.
 178. Ralfkiaer U, Lindal L, Litman T, Gjerdrum LM, Ahler CB, Gniadecki R, et al. MicroRNA expression in early mycosis fungoides is distinctly different from atopic dermatitis and advanced cutaneous T-Cell lymphoma. *Anticancer Res*. 2014;34(12):7207–17.
 179. van Kester MS, Ballabio E, Benner MF, Chen XH, Saunders NJ, van der Fits L, et al. MiRNA expression profiling of mycosis fungoides. *Mol Oncol*. 2011;5(3):273–80.

180. Maj J, Jankowska-Konsur A, Sadakierska-Chudy A, Noga L, Reich A. Altered microRNA expression in mycosis fungoides. *Br J Dermatol.* 2012;166(2):331–6.
181. Fava P, Bergallo M, Astrua C, Brizio M, Galliano I, Montanari P, et al. miR-155 expression in Primary Cutaneous T-Cell Lymphomas (CTCL). Vol. 31, *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology.* 2017. p. e27–9.
182. Dusílková N, Bašová P, Polívka J, Kodet O, Kulvait V, Pešta M, et al. Plasma miR-155, mir-203, and miR-205 are biomarkers for monitoring of primary cutaneous T-cell lymphomas. *Int J Mol Sci.* 2017;18(10).
183. McGirt LY, Adams CM, Baerenwald D a, Zwerner JP, Zic J a, Eischen CM. miR-223 Regulates Cell Growth and Targets Proto-Oncogenes in Mycosis Fungoides/Cutaneous T-Cell Lymphoma. *J Invest Dermatol.* 2014 Apr; 134(4): 1101–1107.
184. Papadavid E, Braoudaki M, Bourdakou M, Lykoudi A, Nikolaou V, Tounta G, et al. Aberrant microRNA expression in tumor mycosis fungoides. *Tumor Biol.* 2016;37(11):14667–75.
185. Lindahl LM, Besenbacher S, Rittig AH, Celis P, Willerslev-Olsen A, Gjerdrum LMR, et al. Prognostic miRNA classifier in early-stage mycosis fungoides: development and validation in a Danish nationwide study. *Blood.* 2018; Feb 15;131(7):759-770.
186. Benner MF, Ballabio E, Van Kester MS, Saunders NJ, Vermeer MH, Willemze R, et al. Primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma shows a distinct miRNA expression profile and reveals differences from tumor-stage mycosis fungoides. *Experimental Dermatology,* 2012, Aug;21(8):632-4.
187. Garaicoa FH, Roisman A, Arias M, Trila C, Fridmanis M, Abeldaño A, et al. Genomic imbalances and microRNA transcriptional profiles in patients with mycosis fungoides. *Tumor Biol.* 2016;37(10):13637–47.
188. Marosvári D, Téglási V, Csala I, Marschalkó M, Bödör C, Timár B, et al. Altered MicroRNA Expression in Folliculotropic and Transformed Mycosis Fungoides. *Pathol Oncol Res.* 2015;21(3):821–5.
189. Moyal L, Gorovitz-Haris B, Yehezkel S, Jacob-Hirsch J, Bershtein V, Barzilai A, et al. Unilesional mycosis fungoides is associated with increased expression of microRNA-17~92 and T helper 1 skewing. *British Journal of Dermatology.* 2019;

May;180(5):1123-1134.

190. Moyal L, Yehezkel S, Gorovitz B, Keren A, Gilhar A, Lubin I, et al. Oncogenic role of microRNA-155 in mycosis fungoides: An in vitro and xenograft mouse model study. *British Journal of Dermatology*. 2017; Sep;177(3):791-800.
191. Chen Z, Ma T, Huang C, Hu T, Li J. The pivotal role of microRNA-155 in the control of cancer. *J Cell Physiol* 2014; 229:545–50.
192. Seto AG, Beatty X, Lynch JM, Hermreck M, Tetzlaff M, Duvic M at al. Cobomarsen, an oligonucleotide inhibitor of miR-155, co-ordinately regulates multiple survival pathways to reduce cellular proliferation and survival in cutaneous T-cell lymphoma. *Br J Haematol*. 2018 Nov;183(3):428-444.
193. Kopp K., Ralfkiaer U., Gjerdrum L, Helvad R, Pedersen IH, Litman T, et al. STAT5-mediated expression of oncogenic miR-155 in cutaneous T-cell lymphoma. *Cell Cycle*. 2013 Jun 15;12(12):1939-47.
194. Netchiporouk E, Moreau L, Gilbert M, Sasseville D, Duvic M. Deregulation in STAT signaling is important for cutaneous Tcell lymphoma (CTCL) pathogenesis and cancer progression. *Cell Cycle*. 2014;13(21):3331-5.
195. Wang X, Li J, Dong K, Lin F, Long M, Ouyang Y, et al. Tumor suppressor miR-34a targets PD-L1 and functions as a potential immunotherapeutic target in acute myeloid leukemia. *Cell Signal*. 2015;27(3):443–52.
196. Boysen J, Sinha S, Price-Troska T, Warner SL, Bearss DJ, Viswanatha D, et al. The tumor suppressor axis p53/miR-34a regulates Axl expression in B-cell chronic lymphocytic leukemia: implications for therapy in p53-defective CLL patients. *Leukemia*. 2014 Feb;28(2):451-5.
197. Liao JM, Cao B, Zhou X, Lu H. New insights into p53 functions through its target microRNAs. *J Mol Cell Biol*. 2014;6(3):206–13.
198. Ruiz-Ballesteros E, Mollejo M, Mateo M, Algara P, Martinez P, Piris MA. MicroRNA losses in the frequently deleted region of 7q in SMZL. *Leukemia*. 2007;21(12):2547–9.
199. Huang HB, Zhan R, SQ W, ZZ X, Fan LP. Expression of MCL-1 and microRNA-29a in extranodal NK/T-cell lymphoma tissue. 2013;21(1):95–8.

200. Engin B, Uzun A, Kutlubay Z, Tüzün Y. Mikozis Fungoides Güncel. Dermatol. 2016;1.
201. Florell SR, Cessna M, Lundell RB, Boucher KM, Bowen GM, Harris RM, et al. Usefulness (or lack thereof) of immunophenotyping in atypical cutaneous T-cell infiltrates. Am J Clin Pathol. 2006; 125 (5):727-36.
202. Sandoval J, Díaz-Lagares A, Salgado R, Servitje O, Climent F, Ortiz-Romero PL, et al. MicroRNA expression profiling and DNA methylation signature for deregulated microRNA in cutaneous T-cell lymphoma. J Invest Dermatol. 2015 Apr;135(4):1128-1137.
203. Moyal L, Barzilai A, Gorovitz B, Hirshberg A, Amariglio N, Jacob-Hirsch J, et al. miR-155 is involved in tumor progression of mycosis fungoides. Vol. 22, Experimental Dermatology. 2013. p. 431–3.
204. Krajewska JB, Fichna J, Mosińska P. One step ahead: miRNA-34 in colon cancer- future diagnostic and therapeutic tool? Crit Rev Oncol Hematol. 2018 Dec;132:1-8.
205. Sarıcaoğlu H, Ali R, Özkalemkaş F, Aydoğan K, Tunalı Ş, Tunalı A. Mikozis Fungoides Olgularında Klinik Evrelendirme ve Tedavi Sonuçlarıyla İlişkisi. TÜRKDERM 2002; 36: 197-200.

8. EKLER

Ek 1:

Ege Ün. Evrak Tarih ve Sayısı: 27/03/2018-E.89317



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Tıp Fakültesi Dekanlığı
Klinik Araştırma Etik Kurulu



Sayı : 70198063-050.06.04
Konu : Kararlar 18-3.1/33

Sayın
Prof. Dr. Günseli ÖZTÜRK
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi
Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı

Kurulumuza başvurusunu yaptığınız "Mikozis Fungoideste Mir-155 ve Mir-34a Ekspresyon Düzeyi." konulu araştırmanıza ilişkin Kurulumuz kararı ekte sunulmaktadır.

Ayrıca ilgili mevzuat gereği araştırmaya başlama bildiriminin, bir yıllık süreci aşması durumunda Yıllık Bildirimlerin, Ciddi Advers Olay Bildirimlerinin, bitirme tarihinin ve Sonuç Raporunun Kurulumuza sunulması ve her türlü yazışmanın araştırma tam adı/kodu, karar tarih ve sayısı bildirilerek (Etik Kurul Bilgilendirme Formu ekinde) yapılması gerekmektedir.

Başvuru dosyasının araştırmanın yürütüleceği kuruma iletilerek kurum iznini gösterir belgenin alınmasından sonra çalışmaya başlanması ve süreç içinde bu belgenin Kurulumuza iletilmesi gerekmektedir.

Başvuru dosyası kapsamında, araştırma giderlerinin E. Ü. Bilimsel Araştırma Proje Fonu tarafından karşılanacağına ilişkin sunulmuş bulunan belge doğrultusunda, araştırmanızın desteklendiğine dair belgenin alınmasından sonra çalışmaya başlanması ve süreç içinde bu belgenin Kurulumuza iletilmesi gerekmektedir.

Varsa Biyolojik Materyal Transfer Formu'nun imzaları tamamlanarak Kurulumuza iletilmesi gerekmektedir. 10.04.2016 tarih ve 29680 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan Tıbbi Laboratuvarlar Yönetmeliğinde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmeliğin 34. maddesinde "yurtdışına tetkik amaçlı numune gönderme yetkisi sadece ruhsatlı tıbbi laboratuvarlara aittir" ifadesi yer almakta olup bu madde Klinik Araştırmalar için de yürürlüğe girmiştir. Gönderilen insan kaynaklı biyolojik materyal klinik araştırma için gönderilse bile ruhsatlı bir tıbbi laboratuvar aracılığı ile <http://numunetransfer.saglik.gov.tr> adresindeki numune transfer yazılımı kullanılarak gönderilmesi konusuna dikkat edilmelidir.

Yazımızın bir örneğinin diğer araştırma merkezlerine ve destekleyiciye iletilmesi hususunda bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Ayşe EROL
Kurul Başkanı

EKLER:
EK 1: İlgili Etik Kurul Kararı (1 adet)

26/03/2018 Veri Kayıt Elemanı
27/03/2018 Kurul Üyesi

: Sumru FESCİOĞLU
: Ebru BEDİR

Üniversitesi Cd. No: 9 35100 Bornova/İzmir
Telefon No: +90 (232) 388 10 23 Faks No: +90 (232) 388 11 15
E-Posta: tipdekanozelkalem@mail.ege.edu.tr İnternet Adresi: www.ege.edu.tr

Bilgi İçin: Sumru FESCİOĞLU
Unvan: Veri Kayıt Elemanı
Telefon No: 0232 3902132 - 4219

Bu belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununa göre Güvenli Elektronik İmza ile imzalanmıştır



ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Mikozis Fungoideste Mir-155 ve Mir-34a Ekspresyon Düzeyi				
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Günseli ÖZTÜRK				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UZMANLIK ALANI	Deri ve Zührevi Hastalıklar				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı				
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	-				
	DESTEKLEYİCİ	Bilimsel Araştırmalar Proje Fonu				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. kaynaklardan destek alanlar için)	-				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1 ☐	FAZ 2 ☐	FAZ 3 ☐	FAZ 4 ☐	
	Gözlemsel İlaç Çalışması ☐	Tıbbi Cihaz Klinik Araştırması ☐				
	İn Vitro Tıbbi Tanı Cihazları İle Yapılan Performans Değerlendirme Çalışmaları ☐	İlaç Dışı Klinik Araştırma ☒				
	Diğer ise belirtiniz	Arşiv Materyali Çalışması.				
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐		
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	27.09.2017	-	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐		
	HASTA GRUBU İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	-	-	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐		
	KONTROL GRUBU İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	-	-	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐		
	OLGU RAPOR FORMU	-	-	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐		
	SİGORTA	☐				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒				
KARAR BİLGİLERİ	Karar Nu: 18-3.1/33	Tarih: 20.03.2018				
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak koleksiyon materyalleriyle / rutin tetkik ve tedavi işlemleri sırasında elde edilmiş materyallerle yapılacak araştırma kapsamında değerlendirilmiş; araştırma giderlerinin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödetilmediği koşullarda araştırmaya başlanmasının etik açıdan uygun bulunduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.					
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU						
ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu, Tıbbi Cihaz Klinik Araştırmaları Yönetmeliği					
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Ayşe EROL					
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Ayşe EROL Başkan	Tıbbi Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Mine HEKİMGİL Başkan Yardımcısı	Tıbbi Patoloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji AD	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Bülent SEMERCİ Üye	Üroloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Üroloji AD.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Ayça Arzu SAYINER Üye	Mikrobiyoloji	D.E.Ü. Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Mikrobiyoloji AD. Tıbbi Viroloji BD	K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	TOPLANTIYA KATILMADI
Etik Kurul Başkanının Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Ayşe EROL	İmza	Araştırma Başvurusu Onay Belgesi	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa	
			22	17.10.2017/06	1/2	



ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Mikozis Fungoideste Mir-155 ve Mir-34a Ekspresyon Düzeyi
ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-

KARAR BİLGİLERİ		Karar Nu : 18-3.1/33				
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Kabılım (**)	İmza
Prof. Dr. Şebnem PIRILDAR Üye	Ruh Sağlığı Ve Hastalıkları	E.Ü. Tıp Fakültesi Ruh Sağlığı Ve Hastalıkları AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Murat PEHLİVAN Üye	Biyofizik	E.Ü. Tıp Fakültesi Biyofizik AD.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Mine DÜNDAR ÇÖMLEKOĞLU Üye	Protetik Diş Tedavisi	E.Ü. Diş Hek. Fakültesi Protetik Diş Tedavisi AD	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Nevin ORUÇ Üye	Gastroenteroloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Gastroenteroloji BD	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Şafak TANER Üye	Halk Sağlığı	E.Ü. Tıp Fakültesi Halk Sağlığı AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Çağatay ÜSTÜN Üye	Tıp Tarihi ve Etik	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıp Tarihi ve Etik AD.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Sema KALKAN UÇAR Üye	Çocuk Metabolizma Hastalıkları	E.Ü. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Aynur UYSAL TORAMAN Üye	Halk Sağlığı Hemşireliği	E.Ü. Hemşirelik Fakültesi Halk Sağlığı Hemşireliği AD	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Yard. Doç. Dr. Candide ŞENTÜRK	Ceza ve Ceza Muhakemesi Hukuku	Yaşar Üniversitesi Hukuk Fakültesi	K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	TOPLANTIYA KATILMADI
Uzm. Ecz. Ebru BEDİR Üye	Eczacı	E.U. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Fatma BÜYÜKAKKUŞ Üye	Ziraat Mühendisi	Emekli	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	

* Araştırma ile İlişki

** Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Ayşe EROL		Araştırma Başvurusu Onay Belgesi	Belge Kodu 22	Rev. Tarihi / No.su: 28.09.2011/05	Sayfa 2/2
--	--	----------------------------------	------------------	---------------------------------------	--------------

Ek 2:

Araştırmanın Adı : Mikozis fungoideste miR-155 ve miR-34a ekspresyon düzeyi

GENETİK ÇALIŞMALAR İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (FORM 19) - HASTA GRUBU İÇİN

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.

Mikozis fungoides'in genetik (kalıtsal) nedenlerini bulmak üzere yeni bir araştırma yapmaktayız. Araştırmanın ismi "Mikozis fungoides'te miR-155 ve miR-34a ekspresyon düzeyi"dir. Elde edilecek veriler ile ileride hastalığın tanı ve tedavisinin daha kolay yapılabilmesi için katkı sağlanması amaçlanmaktadır.

Sizin de bu araştırmaya katılmanızı öneriyoruz. Ancak hemen söyleyelim ki bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Araştırmaya davet edilmenizin nedeni sizde Mikozis fungoides hastalığının olmasıdır. Ege Üniversitesi Dermatoloji Anabilim Dalı, Ege Üniversitesi Genetik Anabilim Dalı ve Ege Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı bu hastalığın nedenlerini ortaya çıkaracak bir araştırma gerçekleştirecektir. Kendinizde bir şikayet olmasa bile katılımınız araştırmanın başarısı için önemlidir. Araştırmaya katılacak gönüllü sayısı 40 (kırk)'tır.

Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz Prof. Dr. Günseli Öztürk ve Dr. Nevin Güler tarafından işlemlerinizi yapılacak ve bulgular kaydedilecektir. Bu kayıtlar kimliğiniz belirtilmeden tıp öğrencilerinin eğitiminde, ileride Mikozis fungoides'in genetik nedeni, tanı ve tedavisi ile ilgili yapılacak bilimsel nitelikte araştırmalarda ve yayınlarda kullanılabilir. Bu amaçların dışında bu kayıtlar kullanılmayacak ve başkalarına verilmeyecektir.

Bu çalışmayı yapabilmek için sizden daha önce bu hastalığın tanısının konulması için alınmış olan doku biyopsi örnekleri kullanılacak, yeni örnek alınmayacaktır. Bu doku örneklerinden genetik materyal, DNA ve miRNA elde edilecektir.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır.

Yapılacak genetik testin getirebileceği olası riskler: Genetik bilginin kullanılmasına bağlı olarak sosyal, ekonomik ve psikolojik sorunlar ortaya çıkabilir. Size ait genetik bilginin gizli kalacağına dair elimizden geleni yapacağız. Ancak hemen belirtmemiz gerekir ki; yaptığımız testler sizin veya ailenizin bir ferdinin ileriki bir zamanda bu genetik hastalıktan etkilenebileceğini ortaya çıkarabilir. Bu bilginin kötü yönde kullanılması sizi ekonomik ve sosyal yönden etkileyebileceği gibi, böyle bir hastalığa sahip olduğunuzu öğrenmeniz sizi psikolojik yönden de etkileyebilir. Sizin anormal bir gen taşıdığınızı saptadığımızda bulgularımızı herhangi bir ücret talep etmeden size

Tarih/ Versiyon: BELGE TARİHİ YAZINIZ

İlaç Dışı Çalışmalar İçin Genetik Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	Belge Kodu Form 19	Rev. Tarihi / No.su: 03.11.2010/LUTF00	Sayfa 1/4
---	-----------------------	---	--------------

Araştırmanın Adı : Mikozis fungoideste miR-155 ve miR-34a ekspresyon düzeyi

bildireceğiz. Ancak böylesi bir bilgiyi öğrenmeyi reddetmek her zaman hakkınızdır. Yine hemen belirtmeliyiz ki; bu bilgiyi sizin dışınızda birisi ile paylaşmamız sadece sizin izninizle olacaktır.

Yukarıda sayılanlar böylesi bir analizde yaşanabilecek potansiyel risklerdir. Ancak bunlardan en az oranda zarar görmenizi sağlamak için elimizden geleni yapacağız. Çalışmanın devamı sırasında ortaya çıkabilecek sorun ve riskler hastanın kendisine iletilecektir.

Yapılacak genetik testin getireceği olası yararlar: Böyle bir analiz ilgili genetik hastalığın nedeninin öğrenilmesinde yararlı olacaktır. Şu anda bu çalışmanın hemen size bir fayda olarak dönüp dönmeyeceğini bilmiyoruz. Ancak ilgili hastalığın temelinde yatan nedenlerin öğrenilmesi ileride ilgili hastalıktan etkilenmiş bireylere fayda sağlayacaktır.

Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu çalışmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahipsiniz. Eğer örneğinizin imha edilmesine karar vererseniz, bu isteğinizden önce üretilmiş her türlü veri ve yapılmış analiz ortadan kaldırılmayacak ama daha fazla analiz yapılmayacaktır. Aksi halde, saklama süresinin sonunda örneğin imha edilmesinden araştırmacı sorumludur.

Sayın Dr. Nevin Güler tarafından Ege Üniversitesi Dermatoloji Anabilim Dalı, Ege Üniversitesi Genetik Anabilim Dalı ve Ege Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek, bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" (denek) olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılabileceğine inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağını bilincindeyim. Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dr. Nevin Güler'i 0555 591 42 83 ve 0232 390 38 29 no'lu telefonlardan ve Ege Üniversitesi Dermatoloji Anabilim Dalı'ndan arayabileceğimi biliyorum.

Tarih/ Versiyon: BELGE TARİHİ YAZINIZ

İlaç Dışı Çalışmalar İçin Genetik Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	Belge Kodu Form 19	Rev. Tarihi / No.su: 03.11.2010/EÜTF00	Sayfa 2/4
---	-----------------------	---	--------------

Araştırmanın Adı : Mikozis fungoideste miR-155 ve miR-34a ekspresyon düzeyi

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

Gönüllülerden elde edilen biyolojik materyaller üzerinde genetik araştırma yapılabilmesi için Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formunda (BGOF):

- "Mikozis fungoides'te miR-155 ve miR-34a ekspresyon düzeyi" çalışması kapsamında kullanılacak biyolojik örneklerimin (doku biyopsisi);
- (Gönüllü tarafından uygun olan şık işaretlenmelidir)
- ☐ Sadece yukarıda bahsi geçen çalışmada kullanılmasına izin veriyorum.
- ☐ İleride yapılması planlanan hastalığımla ilişkili çalışmalarda kullanılmasına izin veriyorum.
- ☐ Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum."

şeklinde gönüllünün konu ile ilgili rızası, Etik Kurul onayı ve Sağlık Bakanlığı izni alınmak suretiyle yapılması gerekmektedir.

(Katılımcının/Hastanın Beyanı)

GÖNÜLLÜNÜN		İMZA
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

VELAYET VEYA VESAYET ALTINDA BULUNANLAR İÇİN VELİ VEYA VASİNİN		İMZA
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

ARAŞTIRMA EKİBİNDE YER ALAN VE YETKİN BİR ARAŞTIRMACININ		İMZA
ADI & SOYADI		
TARİH		

Tarih/ Versiyon: BELGE TARİHİ YAZINIZ

İlaç Dışı Çalışmalar İçin Genetik Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	Form 19	03.11.2010/EÜTF00	3/4

Araştırmanın Adı : Mikozis fungoideste miR-155 ve miR-34a ekspresyon düzeyi

GEREKİĞİ DURUMLARDA TANIK		İMZASI
ADI & SOYADI		
GÖREVİ		
TARİH		

Tarih/ Versiyon: BELGE TARİHİ YAZINIZ

İlaç Dışı Çalışmalar İçin Genetik Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	Belge Kodu Form 19	Rev. Tarihi / No.su 03.11.2016/EÜTF00	Sayfa 4/4
---	-----------------------	--	--------------

Ek 3:

Araştırmanın Adı : Mikozis fungoideste miR-155 ve miR-34a ekspresyon düzeyi

GENETİK ÇALIŞMALAR İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (FORM 19) - KONTROL GRUBU İÇİN

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.

Mikozis fungoides'in genetik (kalıtsal) nedenlerini bulmak üzere yeni bir araştırma yapmaktayız. Araştırmanın ismi "Mikozis fungoides'te miR-155 ve miR-34a ekspresyon düzeyi"dir. Elde edilecek veriler ile ileride hastalığın tanı ve tedavisinin daha kolay yapılabilmesi için katkı sağlanması amaçlanmaktadır.

Sizin de bu araştırmaya katılmanızı öneriyoruz. Ancak hemen söyleyelim ki bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Ege Üniversitesi Dermatoloji Anabilim Dalı, Ege Üniversitesi Genetik Anabilim Dalı ve Ege Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı bu hastalığın nedenlerini ortaya çıkaracak bir araştırma gerçekleştirecektir. Kendinizde bir şikayet olmasa bile katılımınız araştırmanın başarısı için önemlidir. Araştırmaya katılacak sağlıklı gönüllü sayısı 40 (kırk)'tır.

Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz Prof. Dr. Günseli Öztürk ve Dr. Nevin Güler tarafından işlemlerinizi yapılacak ve bulgular kaydedilecektir. Bu kayıtlar kimliğiniz belirtilmeden tıp öğrencilerinin eğitiminde, ileride Mikozis fungoides'in genetik nedeni, tanı ve tedavisi ile ilgili yapılacak bilimsel nitelikte araştırmalarda ve yayınlarda kullanılabilir. Bu amaçların dışında bu kayıtlar kullanılmayacak ve başkalarına verilmeyecektir.

Bu çalışmayı yapabilmek için sizden daha önce başka şikayetleriniz nedeni ile alınmış olan doku biyopsi örnekleri kullanılacak, yeni örnek alınmayacaktır. Bu doku örneklerinden genetik materyal, DNA ve miRNA elde edilecektir.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılacaktır.

Yapılacak genetik testin getirebileceği olası riskler: Genetik bilginin kullanılmasına bağlı olarak sosyal, ekonomik ve psikolojik sorunlar ortaya çıkabilir. Size ait genetik bilginin gizli kalacağına dair elimizden geleni yapacağız. Ancak hemen belirtmemiz gerekir ki; yaptığımız testler sizin veya ailenizin bir ferdinin ileriki bir zamanda bu genetik hastalıktan etkilenebileceğini ortaya çıkarabilir. Bu bilginin kötü yönde kullanılması sizi ekonomik ve sosyal yönden etkileyebileceği gibi, böyle bir hastalığa sahip olduğunuzu öğrenmeniz sizi psikolojik yönden de etkileyebilir. Sizin anormal bir gen taşıdığınızı saptadığımızda bulgularımızı herhangi bir ücret talep etmeden size bildireceğiz. Ancak böylesi bir bilgiyi öğrenmeyi reddetmek her zaman hakkınızdır. Yine hemen belirtmeliyiz ki; bu bilgiyi sizin dışınızda birisi ile paylaşmamız sadece sizin izninizle olacaktır.

Tarih/ Versiyon: BELGE TARİHİ YAZINIZ

İlaç Dışı Çalışmalar İçin Genetik Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	Belge Kodu Form 19	Rev. Tarihi / No.su 03.11.2010/EÜTF00	Sayfa 1/1
---	-----------------------	--	--------------

Araştırmanın Adı : Mikozis fungoideste miR-155 ve miR-34a ekspresyon düzeyi

Yukarıda sayılanlar böylesi bir analizde yaşanabilecek potansiyel risklerdir. Ancak bunlardan en az oranda zarar görmeyi sağlamak için elimizden geleni yapacağız. Çalışmanın devamı sırasında ortaya çıkabilecek sorun ve riskler hastanın kendisine iletilecektir.

Yapılacak genetik testin getireceği olası yararlar: Böyle bir analiz ilgili genetik hastalığın nedeninin öğrenilmesinde yararlı olacaktır. Şu anda bu çalışmanın hemen size bir fayda olarak dönüp dönmeyeceğini bilmiyoruz. Ancak ilgili hastalığın temelinde yatan nedenlerin öğrenilmesi ileride ilgili hastalıktan etkilenmiş bireylere fayda sağlayacaktır.

Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahipsiniz. Eğer örneğinizin imha edilmesine karar vererseniz, bu isteğinizden önce üretilmiş her türlü veri ve yapılmış analiz ortadan kaldırmayacak ama daha fazla analiz yapılmayacaktır. Aksi halde, saklama süresinin sonunda örneğin imha edilmesinden araştırmacı sorumludur.

Sayın Dr. Nevin Güler tarafından Ege Üniversitesi Dermatoloji Anabilim Dalı, Ege Üniversitesi Genetik Anabilim Dalı ve Ege Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" (denek) olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim. Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dr. Nevin Güler'i 0555 591 42 83 ve 0232 390 38 29 no'lu telefonlardan ve Ege Üniversitesi Dermatoloji Anabilim Dalı'ndan arayabileceğimi biliyorum.

Tarih/ Versiyon: BELGE TARİHİ YAZINIZ

İlaç Dışı Çalışmalar İçin Genetik Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	Belge Kodu Form 19	Rev. Tarihi / No.su: 03.11.2010/EÜTT00	Sayfa 2/1
---	-----------------------	---	--------------

Araştırmanın Adı : Mikozis fungoideste miR-155 ve miR-34a ekspresyon düzeyi

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

Gönüllülerden elde edilen biyolojik materyaller üzerinde genetik araştırma yapılabilmesi için Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formunda (BGOF):

- "Mikozis fungoides'te miR-155 ve miR-34a ekspresyon düzeyi" çalışması kapsamında kullanılacak biyolojik örneklerimin (doku biyopsisi):
- (Gönüllü tarafından uygun olan şık işaretlenmelidir)
- ☐ Sadece yukarıda bahsi geçen çalışmada kullanılmasına izin veriyorum.
- ☐ İleride yapılması planlanan bu hastalıkla ilişkili çalışmalarda kullanılmasına izin veriyorum.
- ☐ Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum."

şeklinde gönüllünün konu ile ilgili rızası, Etik Kurul onayı ve Sağlık Bakanlığı izni alınmak suretiyle yapılması gerekmektedir.

(Katılımcının/Hastanın Beyanı)

GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

VELAYET VEYA VESAYET ALTINDA BULUNANLAR İÇİN VELİ VEYA VASİNİN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

ARAŞTIRMA EKİBİNDE YER ALAN VE YETKİN BİR ARAŞTIRMACININ		İMZASI
ADI & SOYADI		
TARİH		

Tarih/ Versiyon: BELGE TARİHİ YAZINIZ

İlaç Dışı Çalışmalar İçin Genetik Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	Belge kodu Form 19	Rev. Tarihi / No.su 03.11.2010/ELÜF00	Sayfa 2/4
---	-----------------------	--	--------------

Araştırmanın Adı : Mikozis fungoideste miR-155 ve miR-34a ekspresyon düzeyi

GEREKİĞİ DURUMLARDA TANIK		İMZASI
ADI & SOYADI		
GÖREVİ		
TARİH		

Tarih/ Versiyon: BELGE TARİHİ YAZINIZ

İlaç Dışı Çalışmalar İçin Genetik Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	Form 19	03.11.2019/EU1F00	4/4

Ek 4:

Çalışma Adı : Mikozis fungoideste miR-155 ve miR-34a ekspresyon düzeyi

OLGU RAPOR FORMU-HASTA GRUBU

Olgu No :

Tarih:

Hasta Adı- Soyadı *(baş harfleri)* :

Cinsiyet :

Yaş :

Klinik tipi (yama/plak/tümöral):

Histopatolojik inceleme (Patoloji no, sonuç) :

Hastalık süresi:

Mortalite:

MicroRNA ekspresyon düzeyi: a) miR-155:

b) miR-34a:

Ek 5:

Çalışma Adı : Mikozis fungoideste miR-155 ve miR-34a ekspresyon düzeyi

OLGU RAPOR FORMU-KONTROL GRUBU

Olgu No :

Tarih:

Hasta Adı- Soyadı (baş harfleri) :

Cinsiyet :

Yaş :

MicroRNA ekspresyon düzeyi: a) miR-155:

b) miR-34a: