TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

İNFLAMATUAR DERMATİT VE ERKEN EVRE MİKOZİS FUNGOİDES AYIRICI TANISINDA VE MİKOZİS FUNGOİDES PROGRESYON SPEKTRUMUNDA MİKRORNA İLİŞKİLİ PROTEİNLERİN İFADESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Dilek KOYUNCU YAMAK

TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Aylin OKÇU HEPER

ANKARA
2020

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

İNFLAMATUAR DERMATİT VE ERKEN EVRE MİKOZİS FUNGOİDES AYIRICI TANISINDA VE MİKOZİS FUNGOİDES PROGRESYON SPEKTRUMUNDA MİKRORNA İLİŞKİLİ PROTEİNLERİN İFADESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Dilek KOYUNCU YAMAK

TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Aylin OKÇU HEPER

Bu tez, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 19L0230009 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA
2020

KABUL VE ONAY

Düzenleme tarihi: 24/12/2014

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN		
Adı, Soyadı	: Dr.Dilek KOYUNCU YAMAK	**Sınav tarihi:** 03 / 06 / 2020
Anabilim/Bilim Dalı	: Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı	
Tez Danışmanı	: Prof.Dr.Aylin OKÇU HEPER	

II. TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER			
Tezin Başlığı: İnflamatuar Dermatit ve Erken Evre Mikozis Fungoides Ayırıcı Tanısında ve Mikozis Fungoides Progresyon Spektrumunda MikroRNA İlişkili Proteinlerin İfadesinin Değerlendirilmesi			
Tezin Niteliği:	☒ Ana Dal Uzmanlık Tezi	☐ Yan Dal Uzmanlık Tezi	
Kaçıncı tez sınavı olduğu:	☐ 1	☒ 2	☐ 3

III. KARAR

Yapılan tez sınavı sonucunda yukarıda belirtilen tezin "Tıpta Uzmanlık Tezi" olarak

☒ Kabulüne

☐ Reddine

☐ Düzeltmeler yapıldıktan sonra tekrar değerlendirilmesine

☒ Oy birliği ☐ Oy çokluğu ile karar verilmiştir.

IV. AÇIKLAMALAR

Prof.Dr.Aylin OKÇU HEPER
Başkan+ Tez Danışmanı
Tıbbi Patoloji Anabilim/Bilim Dalı

Prof.Dr.Işınsu KUZU
Jüri Üyesi
Tıbbi Patoloji Anabilim/Bilim Dalı

Dr.Öğr.Üyesi Özay GÖKÖZ
Jüri Üyesi
Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Patoloji Anabilim/Bilim Dalı

ÖNSÖZ

Tezimin hazırlanmasında büyük emeği olan ve her aşamasında desteğini, bilgisini ve yardımını esirgemeyen, birlikte tez yapmaktan büyük mutluluk duyduğum ve hep örnek alacağım değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Aylin Okçu Heper'e; bulunabildiğim için çok şanslı olduğum patoloji ailesine beni kabul ederek her zaman destek veren ve uzmanlık eğitimim süresince benimle bilgi ve tecrübelerini paylaşan A.Ü.T.F Tıbbi Patoloji Anabilim Dalında görevli tüm değerli hocalarıma ve uzmanlarıma teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım ve asistanlığım boyunca her zaman yanımda hissettiğim, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, tanımaktan ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum sevgili uzman ve asistan arkadaşlarım Fatma Altuntaş Güzel, Sonay Kuş Öztürk, Seda Aktürk, Melahat Musayeva, A. Faruk Arman, Aslıhan Yavaş, Elif Öcal, Fadime Gül Salman, Dilara Akbulut, Nuray Aksoy, Merve Tural, Elif Özgür, Selim Sevim, Zarifakhanım Gahramanlı, Eda Nur Kozan, Ezgi Dicle Kuz, İnga Adanır, Nesrin Reisli ve Elif Kardelen Koltuk'a teşekkür ederim.

Ayrıca tüm asistanlığım boyunca yardımlarını esirgemeyen Patoloji Anabilim Dalı sekreteri Özlem Soyalp ve sorumlu hemşiremiz Tevhide Çoban'a; tez kesitlerimin yapılmasına yardımcı olan Cem Kaya'ya ve boyanmasına yardım eden İmmünpatoloji laboratuvarı çalışanlarına; arşiv materyallerine ulaşmamda yardımlarını esirgemeyen ve her zaman destek olan Alahattin Alptekin ve Yusuf Aslan'a; kesitlerin dijital ortama aktarılmasını sağlayan Gökhan Özdoğan ve Sarp Yılmaz'a; rapor sekreterliği, kayıt birimi, patoloji, moleküler ve sitoloji laboratuvarı çalışanlarına teşekkür ederim.

Hayatımın her anında ve uzun süreli asistanlığım boyunca beni destekleyen, her zaman arkamda olan ve beni bugünlere getiren aileme; varlığından güç aldığım, bana her zaman sabır gösteren, hep yanımda olan ve beni destekleyen sevgili hayat arkadaşım eşim Onat Yamak'a; asistanlığımın sonunda hayatımıza gelerek bana dünyadaki en güzel mutluluğu yaşatan, sevgisiyle içimi ısıtan biricik oğlum Poyraz'ıma çok teşekkür ederim.

Dilek Koyuncu Yamak - Haziran 2020

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY i
ÖNSÖZ ii
İÇİNDEKİLER iii
KISALTMALAR v
RESİMLER DİZİNİ vii
TABLOLAR DİZİNİ viii
ŞEKİLLER DİZİNİ x
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1 DERİ EMBRİYOLOJİSİ 3
2.2 DERİ HİSTOLOJİSİ 4
2.3 DERİ BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ 7
2.3.1 Doğal Bağışıklık 8
2.3.2 Edinsel-Hücre Aracılı Bağışıklık 9
2.3.3 Derideki Lenfositlerin Dağılımı ve Özellikleri 12
2.4 DERİ LENFOMALARI 13
2.4.1 Primer T Hücreli Deri Lenfomaları Sınıflaması 14
2.4.2 Mikozis Fungoides 15
2.4.2.1 Epidemiyoloji 15
2.4.2.2 Etiyoloji ve Patogenez 15
2.4.2.3 Yerleşim 18
2.4.2.4 Klinik Özellikler 18
2.4.2.5 Histopatoloji 19
2.4.2.6 İmmünhistokimya ve TCR Gen Düzenlenmeleri 25
2.4.2.7 Elektron Mikroskopi 27
2.4.2.8 Varyantlar 27
2.4.2.9 Alt Tipler 30
2.4.2.10 Tanı ve Ayırıcı Tanı 34
2.4.2.11 Evreleme 36
2.4.2.12 Prognostik Faktörler ve Klinik Seyir 39

2.4.2.13 Mikozis Fungoides Gelişimi ve İlerlemesinde Epigenetik Mekanizmalar 43
2.4.2.14 Çalışmamızda MF Gelişiminde Rolü Araştırılan Epigenetik Mekanizmalarla İlişkili Hücre İçi Sinyal Yolakları Molekülleri 44
2.4.2.15 Fenotipik Değişikliklerin MF Gelişimine Etkisi ve FOXP3 İfadesi 49
2.4.2.16 MF Gelişiminde Mikroçevrenin Rolü 51
3. MATERYAL VE METOD 53
3.1 OLGU SEÇİMİ VE TANI-ALT TANI GRUPLARI 53
3.2 İMMÜNHİSTOKİMYASAL BOYAMA 55
3.3 İMMÜNHİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRME 56
3.4 İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME 58
4. BULGULAR 60
4.1 OLGULARA AİT TANIMLAYICI BULGULAR 60
4.1.1 Olgulara Ait Genel Bulgular 60
4.1.2 Olgulara Ait Klinikopatolojik Özellikler 61
4.2 İMMÜNHİSTOKİMYASAL BULGULAR 65
4.2.1 p-STAT3 İfadesi 65
4.2.2 Notch1 İfadesi 76
4.2.3 FOXP3 İfadesi 88
5. TARTIŞMA 104
5.1 p-STAT3 104
5.2 NOTCH1 110
5.3 FOXP3 116
6. SONUÇLAR 129
KAYNAKLAR 143

KISALTMALAR

ADAM : A disintegrin and metalloproteinase
AJCC : American Joint Committee on Cancer
Akt : v-Akt murine thymoma viral oncogene homolog
AMP : Antimikrobiyal peptid
ASH : Antijen sunan hücreler
ATLL : Adult T-cell leukemia/lymphoma
BCR : B hücre reseptörü
BHD : Büyük hücre dönüşümü
CCR7 : CC chemokine receptor type 7
CDKN2A : Cyclin dependent kinase 2A
CLA : Cutaneous lymphocyte-associated antigen
CMV : Cytomegalovirus
DLL : Delta-like ligand
DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü
EBV : Epstein-Barr virüs
EORTC : European Organisation for Research and Treatment of Cancer
FasL : Fas ligand
Fli-1 : Friend leukemia integration 1 transcription factor
FOXP3 : Forkhead box P3
GSI : Gama sekretaz inhibitörleri
HES : Hairy/enhancer of split
HEY : Hairy/enhancer-of-split related with YRPW motif protein
HHV-8 : Human herpesvirus 8
HLA : Human leukocyte antigens
HTLV-1 : Human T-cell lymphotropic virus type 1
ISCL : The International Society for Cutaneous Lymphomas
İHK : İmmünhistokimya
IL : İnterlökin
JAK/STAT : Janus kinase / Signal transducers and activators of transcription
KBHL : Kutanöz B hücreli lenfoma

KTHL : Kutanöz T hücreli lenfoma

LDH : Laktat dehidrogenaz

MF : Mikozis fungoides

MHC : Major histocompatibility complex

miRNA : MikroRNA

MUM1 : Multiple myeloma oncogene 1

NF-κB : Nuclear factor kappa B

NICD : Notch intracellular domain

NK : Natural killer

PCR : Polymerase chain reaction

PI3K : Phosphoinositide 3-kinase

PPD : Pigmente purpurik dermatoz

p-STAT3 : phospho-Signal transducer and activator of transcription 3

PTEN : Phosphatase and tensin homolog

PUVA : Psöralen ve ultraviyole A

SS : Sezary sendromu

Tcm : Merkezi bellek T hücresi

TCR : T hücre reseptörü

Tfh : T foliküler helper

Tem : Efektör bellek T hücresi

Th : T helper hücre

TNF : Tumor necrosis factor

TNFRSF1B : Tumor necrosis factor receptor superfamily member 1B

Treg : Regulatuar (düzenleyici) T hücre

Trm : Deri yerleşik efektör bellek T hücre

UV : Ultraviyole

WHO : World Health Organization

RESİMLER DİZİNİ

Resim 2.1. Yama dönemi Mikozis fungoides 21
Resim 2.2. Plak dönemi Mikozis fungoides 22
Resim 2.3. Tümör dönemi Mikozis fungoides 23
Resim 2.4. Büyük hücre dönüşümü (BHD) gösteren tümör dönemi Mikozis fungoides 24
Resim 3.1. Notch1 boyanma şiddetinin değerlendirilmesi 57
Resim 4.1. MF biyopsilerinde epidermisteki atipik hücrelerde p-STAT3 ifadesi 68
Resim 4.2. "Tümör MF" olgusunda p-STAT3 ifadesinin değerlendirilmesi 74
Resim 4.3. "Yama MF" olgusunda p-STAT3 ifadesinin değerlendirilmesi 75
Resim 4.4. Liken planus olgusunda p-STAT3 ifadesinin değerlendirilmesi 76
Resim 4.5. "Plak MF" olgularında atipik lenfoid hücrelerde Notch1 ifadesi 79
Resim 4.6. "Tümör MF" olgusunda Notch1 ifadesinin değerlendirilmesi 86
Resim 4.7. "Yama MF" olgusunda Notch1 ifadesinin değerlendirilmesi 87
Resim 4.8. Pigmente purpurik dermatoz olgusunda Notch1 ifadesinin değerlendirilmesi 88
Resim 4.9. "Yama MF" olgularında epidermisteki atipik hücrelerde FOXP3 ifadesi 92
Resim 4.10. BHD gösteren plak MF olgusunda FOXP3 ifadesi 93
Resim 4.11. "Tümör MF" olgusunda FOXP3 ifadesinin değerlendirilmesi 101
Resim 4.12. "Yama MF" olgusunda FOXP3 ifadesinin değerlendirilmesi 102
Resim 4.13. Liken planus olgusunda FOXP3 ifadesinin değerlendirilmesi 103

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Primer T Hücreli Deri Lenfomaları WHO-EORTC 2018 Sınıflaması 14
Tablo 2.2. MF/SS ISCL/EORTC Primer Tümör Sınıflaması (T) 37
Tablo 2.3. MF/SS ISCL/EORTC Bölgesel Lenf Nodu Sınıflaması (N) 37
Tablo 2.4. MF/ SS ISCL/EORTC Uzak Metastaz Sınıflaması (M) 38
Tablo 2.5. MF/SS ISCL/EORTC Periferik Kan Tutulumu Sınıflaması (B) 38
Tablo 2.6. MF/SS ISCL/EORTC Evrelemesi (TNMB) 38
Tablo 3.1. Kullanılan antikorlara ait bilgiler ve boyama teknikleri 56
Tablo 4.1. Tanı gruplarına göre yaş ve cinsiyet dağılımı 61
Tablo 4.2. MF olgularına ait klinikopatolojik özellikler 62
Tablo 4.3. Genel ve klinikopatolojik özelliklere göre p-STAT3 boyanma oranı değerleri 66
Tablo 4.4. Aynı hastaya ait eş zamanlı alınan farklı histolojik evreli (yama, plak, tümör) biyopsilerin p-STAT3 ifadeleri 71
Tablo 4.5. Genel ve klinikopatolojik özelliklere göre Notch1 H-skor değerleri 77
Tablo 4.6. Aynı hastaya ait eş zamanlı alınan farklı dönem (yama, plak, tümör) biyopsi örneklerinin medyan, minimum ve maksimum Notch1 H-skoru değerleri 82
Tablo 4.7. Genel ve klinikopatolojik özelliklere göre epidermisteki atipik hücrelerde FOXP3 boyanma oranı değerleri 89
Tablo 4.8. Genel ve klinikopatolojik özelliklere göre dermisteki lenfositlerde FOXP3 boyanma oranı değerleri 90
Tablo 4.9. Epidermisteki ve dermisteki lenfositlerde FOXP3 boyanma oranına göre "yama MF" ve "inflamatuar dermatit" tanı gruplarının karşılaştırması 91
Tablo 4.10. Epidermisteki atipik hücrelerde ve dermisteki lenfositlerde FOXP3 boyanma oranına göre aynı hastaya ait eş zamanlı alınan farklı dönem (yama, plak, tümör) biyopsilerin karşılaştırması 96

Tablo 5.1. MF'de STAT3 aktivasyonunun immünhistokimyasal olarak değerlendirildiği diğer çalışmalar ile mevcut çalışmanın veriler 109
Tablo 5.2. MF'de ve SS'te Notch1 ifadesinin immünhistokimyasal yöntemle araştırıldığı çalışmaların ve çalışmamızın özeti 115
Tablo 5.3. KTHL'lar ile inflamatuar dermatitlerin FOXP3 ifadesinin karşılaştırıldığı çalışmalar ile çalışmamızın verileri..... 118
Tablo 5.4. MF ve SS olgularında immünhistokimyasal olarak FOXP3 ifadesinin incelendiği çalışmalar ile çalışmamızın materyal-metod bilgileri ve sonuçları 126

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Derinin tabakaları ve hücrelerin dağılımı 6
Şekil 2.2. JAK/STAT sinyal yolağı 45
Şekil 2.3. KTHL'larda STAT sinyal değişiklikleri 46
Şekil 2.4. Notch sinyal yolağı 48
Şekil 4.1. Biyopsilerin tanı gruplarına göre dağılımı 60
Şekil 4.2. MF tanı gruplarında (yama, plak, tümör) BHD dağılımı 63
Şekil 4.3. "İlerleyen MF" ve "ilerlemeyen MF" gruplarının immünfenotipik özellikleri 63
Şekil 4.4. Yama, plak, tümör MF tanı gruplarında CD7 ifade kaybı karşılaştırması 64
Şekil 4.5. Yama, plak, tümör MF tanı gruplarında tedavi yöntemi dağılımı ve karşılaştırması 65
Şekil 4.6. "İnflamatuar dermatit" ve "yama MF" tanı gruplarının p-STAT3 boyanma oranına ait minimum, medyan ve maksimum değerleri 67
Şekil 4.7. "Yama MF", "plak MF" ve "tümör MF" tanı gruplarına ait minimum, medyan ve maksimum p-STAT3 boyanma oranı karşılaştırması 69
Şekil 4.8. p-STAT3 ifadesi açısından "erken MF" (yama MF+plak MF) ile "tümör MF" tanı gruplarının karşılaştırması 69
Şekil 4.9. "İlerleyen MF" ve "ilerlemeyen MF" gruplarının histolojik olarak erken dönem biyopsilerinin p-STAT3 ifadesinin karşılaştırması 70
Şekil 4.10. p-STAT3 ifadesi açısından "ilerleyen MF" grubunun tanı biyopsileri ile takip biyopsilerinin karşılaştırması 71
Şekil 4.11. p-STAT3 ifadesi açısından "BHD gösteren MF" ve "BHD göstermeyen MF" gruplarının karşılaştırması 72
Şekil 4.12. MF biyopsilerinde CD4+, CD8+, CD4/CD8 "double" pozitif ve CD4/CD8 "double" negatif immünfenotipler arasında p-STAT3 boyanma oranlarının karşılaştırması..... 72

Şekil 4.13. "Erken klinik evreli MF" ve "ileri klinik evreli MF" gruplarının p-STAT3 boyanmasına ait minimum, medyan ve maksimum değerlerinin karşılaştırması 73
Şekil 4.14. "İnflamatuar dermatit" tanı grubu ile "yama MF" tanı gruplarının Notch1 H-skorlarının (minimum, medyan ve maksimum) karşılaştırması 78
Şekil 4.15. "Yama MF", "plak MF" ve "tümör MF" tanı gruplarına ait minimum, medyan ve maksimum Notch1 H-skor değerleri karşılaştırması 80
Şekil 4.16. Notch1 ifadesinin "erken MF" (yama MF+plak MF) ve "tümör MF" tanı gruplarında karşılaştırması 80
Şekil 4.17. "İlerleyen MF" ve "ilerlemeyen MF" gruplarına ait minimum, medyan ve maksimum Notch1 H-skor değerleri karşılaştırması 81
Şekil 4.18. "İlerleyen MF" grubunun tanı ve takip biyopsilerine ait minimum, medyan ve maksimum Notch1 H-skor değerleri karşılaştırması 82
Şekil 4.19. "BHD gösteren MF" ve "BHD göstermeyen MF" gruplarına ait minimum, medyan ve maksimum Notch1 H-skor değerleri karşılaştırması 83
Şekil 4.20. Notch1 ifadesi açısından CD4+, CD8+, CD4/CD8 "double" pozitif ve CD4/CD8 "double" negatif immünfenotiplerinin karşılaştırması 84
Şekil 4.21. "Erken klinik evreli MF" ve "ileri klinik evreli MF" gruplarına ait minimum, medyan ve maksimum Notch" H-skor değerleri karşılaştırması 85
Şekil 4.22. Deri hedefli, sistemik ve deri hedefli+sistemik tedavi alan olguların Notch1 ifadelerinin karşılaştırması 85
Şekil 4.23. "Yama MF", "plak MF" ve "tümör MF" tanı gruplarına ait epidermisteki atipik hücrelerde ve dermisteki lenfositlerde minimum, medyan ve maksimum FOXP3 boyanma oranlarının karşılaştırması 94

Şekil 4.24. Epidermisteki atipik hücrelerde ve dermisteki lenfositlerde FOXP3 ifadesi açısından "erken MF" (yama MF+plak MF) ve "tümör MF" tanı gruplarının karşılaştırması 95
Şekil 4.25. Epidermisteki atipik hücrelerde ve dermisteki lenfositlerde FOXP3 boyanma oranına göre "BHD gösteren MF" ve "BHD göstermeyen MF" gruplarının karşılaştırılması 97
Şekil 4.26. CD7 ifade kaybı olan olgular ile CD7 ifade kaybı olmayan olguların epidermisteki atipik hücrelerde ve dermisteki lenfositlerde FOXP3 ifadeleri açısından karşılaştırması 98
Şekil 4.27. Erken klinik evreli MF ile ileri klinik evreli MF olgularının dermisteki lenfositlerde FOXP3 boyanma oranı açısından karşılaştırması 99
Şekil 4.28. Deri hedefli, sistemik ve deri hedefli+sistemik tedavi alan olguların epidermisteki atipik hücrelerde ve dermisteki lenfositlerde FOXP3 ifadelerinin karşılaştırması 100

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Primer kutanöz lenfomalar, ikinci en sık görülen ekstranodal non-Hodgkin lenfomalardır [1]. Bunların yaklaşık %75-80'ini T hücreli lenfomalar oluşturmaktadır. Mikozis fungoides (MF), en sık rastlanan primer kutanöz T hücreli lenfoma (KTHL) tipidir ve tüm KTHL'ların yaklaşık %50'sini oluşturur [2]. Deride sırayla yama, plak ve tümör dönemlerinden oluşan MF, genellikle yama veya plak döneminde erken hastalık olarak uzun süre yavaş bir seyir izler [3]. Erken MF olan yama ve plak dönemleri, inflamatuar dermatitlerle klinik ve histopatolojik olarak morfolojik benzerlik gösterebilir ve tanı güçlüğü oluşturabilir. Neoplastik süreçlerde görülen ve tanıya yardımcı olabilecek bazı immünfenotipik özellikler reaktif süreçlerde de bulunabilir. MF'de klonal T hücre çoğalmasının bulunması nedeniyle moleküler olarak T hücre reseptörü (TCR) gen düzenlenmesinin araştırılması da tanıya yardımcı olabilir. Ancak erken evre lezyonlarda tümöral hücrelerin oranı çok düşük olduğundan klonal pik mevcut olmayabilir ve klonalite inflamatuar dermatitlerde de bulunabilir. Bu durumlar, erken evre MF ile inflamatuar dermatitlerin ayrımında tanıya yardımcı yeni yöntemlerin araştırılmasını gerektirmektedir [4].

MF, tümöral dönem olarak ileri evre hastalığa ilerleyebilir. Tümör gelişimi, folikülotropik MF formu, lenf nodları, periferik kan ve visseral organları etkileyen sistemik tutulum (Sezary sendromu) kötü prognostik faktörlerdir ve bu durumlarda sağkalım azalmaktadır [1, 5]. Sistemik yayılım olasılığını arttıran büyük hücre dönüşümü (BHD) de kötü prognozla ilişkilidir [6]. Erken evre hastalarda 10 yıllık sağkalım %95 iken, ileri evre hastalarda 3-4 yıllık sağkalım vardır. İleri derecede deri dışı tutulumu olanlarda ise sağkalım 18 aydan daha azdır [1]. MF, erken evre hastalık olmadıkça kür sağlanamayan bir deri lenfomasıdır ve hastalık ilerledikçe morbidite ve mortalite artmaktadır. Bazı olgular yıllarca son derece yavaş seyir göstermekle birlikte, bazı olgular çok hızlı ilerleme gösterebilmektedir [7]. Bu nedenle klinik seyir tahmini ve özellikle ileri evre hastalıkta biyolojik yeni tedavi yöntemlerinin/hedeflerinin geliştirilmesi için MF'in oluşumuna ve progresyonunda altta yatan moleküler mekanizmalara dair yeni bilgilere ihtiyaç duyulmaktadır [3].

MF oluşumu ve ilerleyişini açıklamada, sadece genetik ve fenotipik değişiklikler yeterli olmadığı için etkili olabilecek mekanizmalarla ilgili yeni araştırmalar yapılmaktadır. DNA dizisinde herhangi bir değişiklik olmadan gen ifadesinde kalıtsal değişikliklere yol açan epigenetik mekanizmaların çeşitli tümörlerin patogenezinde etkili olduğu bildirilmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarla MF'in etiyolojisinde, mikroRNA (miRNA)'ların rol oynadığı epigenetik değişikliklerin ve bunlarla ilişkili hücre içi sinyal yolaklarındaki bozuklukların da etkili olduğu bulunmuştur [4, 8, 9]. MF'in etiyolojisi ve progresyonunda rol oynayan çeşitli miRNA'lar ve bunların ifadelerinin etkilediği p-STAT3 (phospho-Signal transducer and activator of transcription 3), Notch1 ve FOXP3 (Forkhead box P3) ile ilgili az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu nedenle bu çalışma; doku düzeyinde inflamatuar dermatitler ile erken evre MF ayrımında ve MF'in ilerlemesinde, ilk defa bu 3 belirtecin tanısal ve prognostik öneminin bir arada araştırıldığı bir çalışmadır.

Çalışmamızda erken evre MF'lerde epigenetik değişikliklere neden olan miRNA'ların ifadelerinin etkilediği p-STAT3, Notch1 ve FOXP3 ifadesinin immünhistokimyasal yöntemler ile inflamatuar dermatitler ve MF ayrımında tanısal değerinin araştırılması planlanmıştır. Ayrıca hastalık progresyonu açısından farklı dönem MF lezyonlarında p-STAT3, Notch1 ve FOXP3 ifadesinin karşılaştırılması ve klinik, histopatolojik prognostik parametreler ve fenotipik özellikler ile ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 DERİ EMBRİYOLOJİSİ

Deri, işlevsel olarak birbirine bağlı epidermis ve dermis olmak üzere iki tabakadan oluşur. Üçüncü tabaka olan deri altı yağ dokusu, derinin gerçekte bir parçası değildir, ancak birçok patolojik süreçte deri ile birlikte hareket eder [10]. Epidermis, temel olarak embriyonik yüzey ektoderminden gelişir. Epidermiste hücrelerin %90-95'ini oluşturan keratinositler dışında, nöral krest kökenli melanositler ve kemik iliği kökenli Langerhans hücreleri bulunur. Epidermiste bulunan bir diğer hücre olan Merkel hücrelerinin kökeni ise tartışmalıdır. Nöral krest hücreleri veya komşu keratinositlerden farklılaşma sürecinde epidermal kökenli olabilecekleri söylenmiştir [11].

Yüzey ektodermi başlangıçta tek bir hücre tabakasından meydana gelmektedir. Nörülasyondan sonra, periderm adı verilen skuamöz epitel dış tabakası ve bazal tabaka adı verilen iç tabaka olarak iki tabakaya ayrılır. 11. haftada bazal tabaka, kendisiyle periderm arasında yeni bir ara tabaka oluşturur. Bazal tabaka artık stratum germinativum olarak adlandırılır ve bu tabaka, yaşam boyunca epidermisi üretmeye devam edecektir. 21. haftada, ara tabaka, iç kat stratum spinozum, orta kat stratum granülozum ve dış kat stratum korneum olarak dış epidermisin üç tabakası ile değiştirilir. Epidermisin özelliği olan keratin proteinlerini içeren bu tabakaların hücrelerine keratinosit denir. Keratinizasyon meydana gelince, periderm yavaş yavaş dökülür [12]. Keratinosit dışındaki diğer hücreler, epidermiste 8-10. haftalarda görülür. Dermoepidermal bileşke, yapısal olarak ilk trimester sonrası olgun deriye benzer. Böylece, karakteristik yenidoğan epidermisi dördüncü ayda gelişimini tamamlamış olur [11].

Gövde dermisi mezodermal bir dokudur. Ventral dermis esas olarak lateral plak mezoderminin somatik tabakasından; dorsal dermis ise somitlerin dermamyotom bölümünden köken alır. Yüzün dermisi, nöral krest hücrelerinden oluşur [12]. Embriyoda 6-14. haftalarda, endotel hücrelerini ve perisitleri oluşturan stellat dendritik tip I hücreler, fagositik makrofajlar olan tip II hücreler ve epidermise giden

melanoblastlar veya mast hücre öncülleri olabilen tip III hücreler olmak üzere üç tip hücre tanımlanmıştır.

Papiller ve retiküler dermis 15. haftada görülmeye başlanır. Gelişimin 14-21. haftalarında izlenen fibroblastlar oldukça çok sayıda ve aktiftir. Zemin maddesini ve bütün lifleri sentezleyen bu hücreler, dermisin temel hücreleridir. Elastik lifler, kollajen lifinden sonra 22. gebelik haftası sırasında dermiste görülür ve 32. haftada dermiste iyi gelişmiş bir elastik lif ağı oluşur [11]. İlk trimester sonunda, fetal dermisin ana damar düzenlenmesi de gerçekleşmiş olur [13].

Yüzey ektoderminden kıllar, çeşitli epidermal bezler, tırnaklar ve dişler gibi bir dizi özel yapı gelişir. Çeşitli epidermal bez tipleri ve kıl folikülleri de epidermisten köken alıp dermise doğru büyür [12].

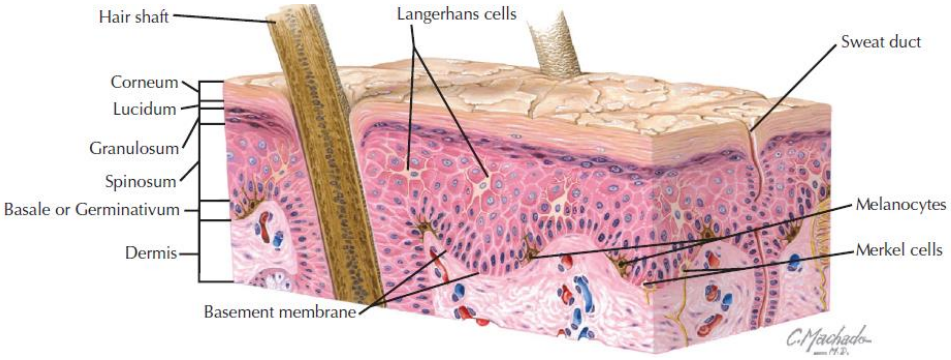
2.2 DERİ HİSTOLOJİSİ

Örtücü sistem; deri ve tırnaklar, saçlar, ter bezleri, yağ bezleri, meme bezleri gibi deri eklerinden oluşur [14]. Deri, vücut ağırlığının yaklaşık %15'ini oluşturur ve vücudun en büyük organıdır [11]. Son yıllarda, organları koruyan bir örtü olması ve mekanik yaralanmalara karşı engel oluşturması dışında, hücresel ve moleküler etkileşimler ile birçok temel süreci yöneten karmaşık bir organ olduğu da gösterilmiştir. Deri, yaptığı fonksiyonların çeşitliliği bakımından oldukça zengindir [15]. Fiziksel etkenlere, kimyasal ve biyolojik zararlı maddelere, ultraviyole (UV) ışınıma karşı koruyucu bir bariyer ve immünolojik bir organ olarak görev yapar [11]. Lipid bakımından zengin keratinize dış tabakası ile sıvı kaybını önler. Reseptörler aracılığıyla çevre ile sürekli etkileşim halinde bir duyusal organdır. Yağ doku gibi ısı yalıtımını sağlayan ve ter bezleri, mikrodamar sistemi gibi ısı kaybını hızlandıran mekanizmalar sayesinde vücut ısısını ve elektrolit dengesini düzenler. Güneş ışığı etkisiyle, vücut metabolizmasında önemli görevleri olan D3 vitamini sentezini sağlar. Enerji depolanması ve birçok özelliği ile görsel açıdan da önemli bir organdır [16].

Derinin normal histolojisinin bilinmesi patolojik durumların anlaşılması için esastır. Deri yalnızca primer hastalıklarını değil, aynı zamanda iç organların hastalıklarını da ifade eden bir araçtır. Birbirine bağımlı ve iş birliği yapan üç tabakadan ve çeşitli hücrelerden oluşur. Bu tabakalar dıştan içe doğru epidermis,

dermis ve deri altı dokudur. Her bir komponent yaşa, cinsiyete, ırka ve anatomik lokalizasyona göre değişiklik gösteren karmaşık bir yapıya ve fonksiyona sahiptir [11]. Epidermis denilen dış kısım keratinize çok katlı yassı epitel ve dermis olarak adlandırılan iç kısım fibröz bağ dokusundan oluşur. Deri altı doku veya hipodermis, deriyi altındaki yapılara bağlayan ve derinin üzerinde hareketine izin veren gevşek bağ dokusundan oluşur [17].

Epidermis, mitoz, farklılaşma, olgunlaşma ve keratinizasyon gösteren hücrelerden oluşur ve bunlar dökülecekleri dıştaki deri yüzeyine doğru yer değiştirirler. Epidermisi dört veya beş ayrı tabaka oluşturur. Bazal hücre tabakası (stratum basale veya germinativum), en derin olanıdır; bazal membran üzerinde yerleşmiş bazofilik küboidal veya kolumnar keratinositlerden oluşan tabakadır. Bu hücreler genellikle mitoz içeren oval nükleusa sahiptir ve epidermisten dışarı doğru dökülen hücrelerin yerini almak için sürekli hücre bölünmesine uğrarlar. Sonraki tabaka olan skuamöz hücre tabakası (stratum spinosum), birkaç hücre kalınlığındadır, yüzeye doğru aşamalı olarak düzleşen polihedral hücrelere sahiptir ve keratinlerin sentezi ile farklılaşma işlemini başlatır. Komşu hücrelerin uzantıları dezmozomlarla tutturulur. Bir sonraki tabaka olan granüler tabaka (stratum granulosum), eksenleri epidermal yüzeye paralel sıralanmış üç ila beş sıralı düzleşmiş hücreden oluşur. Çok sayıda keratohyalin granülü içerirler. Bu tabakanın üzerinde, stratum lucidum olarak bilinen ince, yarı saydam, hafif eozinofilik bir tabaka vardır. İnce deride bulunmaz, ancak kalın deri olarak tanımlanan avuç içleri ve ayak tabanlarında bulunur, organel ve nükleus içermeyen, sıkı bir şekilde paketlenmiş birkaç sıra skuamöz hücreden oluşur. En dıştaki keratinize tabaka (stratum corneum) ise ölü, nükleussuz keratinize hücrelerden meydana gelir; kalınlığı bölgesel olarak değişir. Keratin, hücrelerde sitoplazmanın yerini alır. En yüzeyel hücreler, bariyer fonksiyonundan sorumludur ve deskuamasyon denilen bir işlemle sürekli olarak dökülür [14, 17].



Şekil 2.1. Derinin tabakaları ve hücrelerin dağılımı [17]

Epidermis temel olarak keratinositlerin yanı sıra, daha az sayıda olan ve pigment üreten melanositler, antijen sunan Langerhans hücreleri ile mekanik reseptör görevi yapan Merkel hücreleri bulundurur [16].

Epidermisteki melanositler, güneş ışığında potansiyel olarak zararlı UV ışınımı emen, koruyucu kahverengi bir pigment olan melanin üretiminden sorumludur.

Langerhans hücreleri, mikroorganizmalara karşı ilk savunma hatlarından biri olarak görev yapan deride doğal bağışıklık tepkilerini arttıran faktörler salgılar ve bölgesel lenf nodlarında antijenik yüklerini T lenfositlere sunarak edinsel bağışıklık sistemini uyarır [15].

Merkel hücreleri, bazal hücre tabakasında dağılmış, hafif dokunma hissi için gerekli dokunma duyusundan sorumlu hassas mekanik reseptörlerdir [16].

Epidermis ve dermis arasındaki bağlantı (dermoepidermal bileşke), oldukça kıvrımlıdır ve "rete" olarak adlandırılan epidermisin aşağı doğru uzantıları ve bunlar arasında yukarı doğru uzanan "dermal papilla" olarak adlandırılan dermisin parmaksı çıkıntılarından oluşur. Bu bileşkeyi takip eden bir bazal membran epidermisi dermisten ayırır. Dermis, papiller dermis ve retiküler dermisten oluşur. Papiller dermis ince elastik lifler, tip I ve III kollajen lifler, bağ doku hücreleri ve zengin kapiller damar ağları içeren gevşek bağ doku özelliğindedir ve epidermisin hemen altında yer alır. Retiküler dermis, papiller dermisin altında bulunur ve kalın tip I kollajen lif demetleri ile kaba elastik lifler içeren yoğun düzensiz bağ dokusu özelliğindedir. Fibroblastların yanı sıra, dermisteki diğer bağ dokusu hücreleri arasında makrofajlar, mast hücreleri, plazma hücreleri ve lenfositler bulunur [17]. Ayrıca dermisin çeşitli seviyelerinde kıl

folikülleri, ekrin ve apokrin ter bezleri ile kıl folikülleri ile fonksiyonel bir ünite oluşturan sebase (yağ) bezleri gibi deri ekleri vardır [14].

Her iki dermal bölge zengin bir kan ve lenfatik damar ağı içerir. Besleyici damarlar iki ana ağdan oluşturur. Papiller ve retiküler dermal tabakalar arasında, kapillerlerin dermal papillaya uzandığı ve epidermisin hemen altında, damarlanması olmayan epidermisi de besleyen yüzeyel küçük damar ağı bulunur. Dermis ve subkutan tabakanın birleşiminde ise daha büyük kan ve lenfatik damarları olan derin damar ağı yer alır [16].

Deri altı doku, ince dermal bağ dokusu bantları ile ayrılan, olgun adipositleri içeren lobüllerden oluşur. Bu alan ısı düzenlenmesi, yalıtım, enerji sağlama ve fiziksel yaralanmalardan korunmak için önemlidir [11].

2.3 DERİ BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ

Deri bağışıklık sistemi (Skin immune system) kavramı ilk olarak Bos ve arkadaşları tarafından 1986'da tanımlanmıştır [18]. Bağışıklık, deride yerleşik olarak bulunan, başka bölgelerden gelen veya yeniden dolaşıma katılabilen hücreler ile yapısal olarak üretilen veya dolaşım yoluyla deriye ulaşan hümoral faktörler (inflamatuar ve immün mediyatörler) arasında düzenlenen iletişim ve reaksiyonlarla sağlanır [19]. Deri, hızlı bir doğal ve sürekli bir edinsel bağışıklık yanıtına sahiptir. Farklı patojenler tarafından paylaşılabilen özgül olmayan epitopları saptayan makrofajlar, lökositler, NK (Natural killer) hücreleri, γδ T hücreleri ve dendritik hücreler aracılığı ile olan doğal bağışıklık hemen yanıt verir [20]. Hümoral bağışıklık ve hücre aracılı bağışıklık olarak B ve T lenfositler ile oluşan edinsel bağışıklık ise antijene özgüldür ve daha yavaş olmasına rağmen oldukça etkilidir [19].

Doğal bağışıklık sisteminde keratinositler, endotelyal hücreler, mast hücreleri ve doku makrofajları yerleşik hücreleri; monositler, granülositler ve mast hücreleri başka bölgelerden gelen hücreleri; NK hücreleri ve dendritik hücreler ise yeniden dolaşıma katılabilen hücreleri oluşturur. Edinsel bağışıklıkta ise T lenfositler ve dendritik hücreler yerleşik hücreler; T ve B lenfositler başka bölgelerden gelen hücreler, T lenfositler ise yeniden dolaşıma katılabilen hücrelerdir [21].

2.3.1 Doğal Bağışıklık

Deri fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik olarak yabancı patojenlere karşı ilk savunma bariyerini oluşturur. Doğal bağışıklık sisteminin bir parçası olan ve konak savunmasını başlatan keratinositler, mikroorganizmalara karşı keratin ve lipidden zengin yapılarıyla fiziksel; β-defensinler ve kathelisidinler gibi antimikrobiyal peptidleri (AMP) sentezleyerek kimyasal bir bariyer oluşturur [19]. Mikroorganizmanın hücre membranına hasar vererek etkisini oluşturan geniş bir mikroorganizma çeşidine karşı 20'den fazla AMP vardır [20]. Keratinositler dış uyaranlarla, çeşitli hücreler üzerindeki reseptörleri yoluyla immün ve inflamatuar tepkileri düzenleyen interlökinler, büyüme faktörleri, koloni uyarıcı faktörler ve kemokinler gibi birtakım sitokinler üretir. Salgılanan bu sitokinler, endotel hücrelerini etkileyerek dolaşımdan iltihaplı bölgeye lökositlerin çekilmesini sağlar. Epidermal hücrelerin çoğalmasını ve farklılaşmasını düzenlemek için keratinositleri uyarır. Langerhans hücrelerinin toplanmasını ve işlevini destekler. Bu sitokinlerden biri olan timik stromal lenfopoietin, dendritik hücrelerin göçünü başlatması yanı sıra deride yerleşik dendritik hücreleri uyararak T hücre yanıtını başlatabilir. Ayrıca derideki kommensal bakteriler, keratinositleri bariyer fonksiyonunu güçlendirmeye yardımcı olan AMP'ler üretmesi için uyararak bağışıklık tepkisinde rol oynar [19]. Bağışıklık sistemi, Treg hücreleri (regulatuar-düzenleyici T hücreleri) ve T hücrelerini baskılayan hücreler yoluyla bu kommensal bakterilere tepki vermez [22].

Doğal bağışıklıkta rol oynayan diğer bir hücre ise, patojen yakalama, işleme ve sunma işlevi ile mononükleer fagosit sistemindeki antijen sunan hücreler (ASH)'dir. Monosit, makrofaj ve dendritik hücrelerden oluşan ASH'ler vücutta dağınık olarak yerleşmiş olmakla birlikte, özellikle deri ve mukoza gibi bariyer dokuların altında bol miktarda bulunur. ASH'ler doğal ve edinsel bağışıklık sistemi arasında bir köprü görevi görür. Edinsel bağışıklık yanıtı sırasında, T ve B hücrelerinin yüzeyinde antijenleri tanımasını sağlayan antijen reseptörleri bulunur. B hücre reseptörü (BCR) antijenleri doğrudan tanır. Ancak TCR sadece diğer hücrelerin yüzeyindeki MHC (Major histocompatibility complex) moleküllerine bağlı antijenleri tanır ve bu özelliğini ASH'ler yoluyla edinir [19]. ASH'ler aracılığı ile antijenin işlenerek, peptit+MHC sınıf I / II birleşimi için peptitlerin üretilmesi edinsel bağışıklık tepkisinin başlatılmasında temeldir. ASH tarafından sunulan peptit+MHC birleşimi ve TCR

arasındaki spesifik bağlanma ile antijen tanınır ve bağlanma sonrasında naiv T hücreleri aktive olur [19].

MHC sınıf II molekülleri ve kostimülatör molekülleri ifade etme yeteneklerine göre "profesyonel" ve "profesyonel olmayan" olarak iki gruba ayrılan ASH'lerin profesyonel grubunda dendritik hücreler, makrofajlar ve B hücreleri; profesyonel olmayan grubunda ise epitel hücreleri, endotel hücreleri, fibroblastlar vb. hücreler bulunmaktadır. Tüm profesyonel ASH'lerde ifade edilen MHC sınıf II molekülleri yolu ile antijenler CD4+ T hücrelerine sunulurken, nükleuslu hücrelerin çoğunda ifade edilen MHC sınıf I molekülleri ile antijenler CD8+ T hücrelerine sunulur [19].

Derideki hücrelerin %1-3'ünü oluşturan, uzun parmaksı çıkıntıları nedeniyle dendritik hücreler olarak adlandırılan hücreler kemik iliğinden köken alarak doğrudan veya kan yoluyla periferik dokulara göç eder. Aktif olarak fagositik olan epidermisteki Langerhans hücreleri olgunlaşmamış dendritik hücrelerdir. Deri enfeksiyonu sırasında patojenlerin antijenlerini yakalayarak bölgesel lenf nodlarına taşır. Antijen alma yeteneklerini kaybedip MHC moleküllerinin sentezini arttırdıktan sonra olgun dendritik hücrelere farklılaşırlar ve antijen sunumu ile naiv T hücrelerini aktifleştirir [19].

Epidermisin savunmasının aşılması durumunda ise, dermiste hızlı ve etkili bir immünolojik destek sağlamak amacıyla makrofajlar, dermal dendrositler ve T hücreleri bulunur. Dermal dendritik hücreler ayrıca güçlü antijen oluşturma kapasitelerine veya CD1a-pozitif ve Langerin-pozitif hücrelere dönüşme potansiyeline sahip olabilir [20].

Melanositler, endotel hücreleri, mast hücrelerinin de bağışıklık yanıtlarına katıldıkları ve bağışıklık sisteminde düzenleyici özelliklere sahip oldukları gösterilmiştir [19].

2.3.2 Edinsel-Hücre Aracılı Bağışıklık

Edinsel bağışıklıkta temel olarak farklı antijenlere özgü klonal reseptörler üretebilen tek hücre olan lenfositler rol oynar. Sağlıklı bir yetişkinde $0,5\text{-}1\times10^{12}$

lenfosit vardır. Biçimsel olarak bütün lenfositler benzer olmasına rağmen; farklı köken, fenotip ve işlevlere sahiptir [22].

Tüm lenfositler kemik iliğindeki kök hücrelerden kaynaklanır. B lenfositler kemik iliğinde, T lenfositler ise timusta olgunlaşır. Olgun lenfositlerin üretildiği bu bölgelere primer lenfoid organlar denir. Spesifik antijenle karşılaşmadan önce naiv lenfositler olarak adlandırılan olgun lenfositler primer lenfoid organları terk eder ve antijenle karşılaşabilecekleri dolaşım ve edinsel bağışıklık yanıtın başlatıldığı periferik lenfoid organlara gider [19, 22].

B lenfositler hümoral bağışıklıktan, T lenfositler ise hücre aracılı bağışıklıktan sorumludur. Hücre aracılı bağışıklıkta timusta olgunlaşan ve dolaşıma giren naiv T lenfositleri, lenf nodlarına göç ederek dendritik hücreler aracılığı ile tanıyabilecekleri antijeni bulur, çoğalmak ve farklılaşmak için aktifleştirilir. Aktif lenfositler efektör ve bellek T hücrelerine farklılaşır [22]. Efektör T hücreleri, farklılaşma sırasında, antijenlerinin başlangıçta üretildiği dokuya göç etmek üzere programlanmıştır [23]. Lenf nodundan çıkarak, dolaşıma ve uzak enfeksiyon bölgelerine gidebilir. Bazı aktif T hücreleri ise, B hücrelerinin yüksek afiniteli antikorlar üretmelerine yardımcı olmak için üretildikleri lenfoid organdaki lenfoid foliküllere göç eder [22].

Naiv lenfositler kan ve periferik lenfoid organlar arasında sürekli olarak dolaşır. Belirli antijenlere rastlamayan naiv hücreler, lenf nodlarını terk ederek dolaşıma yeniden girer. Böylece, yaşamlarının farklı aşamalarındaki lenfositler, işlevleri için ihtiyaç duydukları farklı bölgelere göç eder [22].

Efektör T hücreleri, fonksiyonlarına bağlı T helper (Th) hücreleri, sitotoksik T lenfositleri ve Treg hücreleri olarak üç ana grupta sınıflandırılır [19].

CD4+ T hücreler, Th hücreleri olarak adlandırılır. Bunlar, B lenfositlerin antikor üretmelerine ve fagositlerin mikroorganizmaları yok etmelerine yardımcı olur [22]. Naiv CD4+ T hücreleri, spesifik olarak peptit: MHC sınıf II birleşimini tanıyarak belirli sitokinler aracılığı ile farklı efektör fonksiyonlarından sorumlu Thl, Th2, Th17, T foliküler helper (Tfh), Th9, Th22, Treg gibi alt gruplara farklılaşır [19].

CD8+ T lenfositlerine ise hücre içi mikroorganizmaları içeren hücreleri öldürdükleri için sitotoksik T lenfositler denir [22]. Spesifik olarak peptit: MHC sınıf I birleşimini tanır ve perforin, granzim, granülisin ve lenfotoksin A salgılanması veya

Fas / FasL (Fas ligand) yolu aracılığı ile hedef hücreleri yok eder [19]. Böylece yakındaki herhangi bir enfekte olmayan hücreye zarar vermeden enfekte hücreleri öldürür [22].

Bazı CD4+ T hücreleri, bağışıklık tepkilerini önleme veya sınırlama işlevi yapan, CD4 yanı sıra FOXP3 ve CD25 (Interlökin-2 reseptörü) ifade eden Treg hücreleri denilen özel bir alt grubu oluşturur. Bu hücreler, CD4+ Th ve B hücrelerinin aktifleşmesini, sitotoksik CD8+ T hücrelerinin farklılaşmasını baskılar [10, 22].

Homeostazı sağlamak amacıyla, patojen ortadan kaldırıldıktan sonra efektör lenfositlerin çoğunluğu apopitoz ile ölürken, bir kısmından primer bağışıklık yanıtı sırasında uzun ömürlü bellek (memory) hücreleri üretilir. Enfeksiyondan yıllar sonra hayatta kalabilen bellek hücreleri antijen ile tekrar karşılaşmada hızlı ve daha etkili bir yanıt sağlar [22].

Efektör lenfositler bellek lenfositlerine farklılaşabilirken, naiv lenfositler de antijen uyarımı üzerine doğrudan bellek hücrelerine farklılaşabilir [19]. Antijenleri tanıyan naiv T hücreleri, efektör bellek T (Tem) hücrelerine ve merkezi bellek T (Tcm) hücrelerine farklılaşır. Tem hücreleri, dokuya bağlanma moleküllerini ifade eder, ancak lenfoid organ bağlanma moleküllerini (L-selektin ve CCR7) ifade etmez ve bu nedenle periferik dokular ve kan arasında göç eder. Kanda immün yanıtın erken evrelerinde baskındır. Lenf nodlarından dolaşıma geçer, en çok patojene maruz kalan bölge olmak üzere derinin tüm bölümlerine dağılır. Bu hücreler deri içinde lokal olarak yerleşik kalır ve deri yerleşik efektör bellek T hücrelerini (Trm) oluşturur. Bu deri yerleşik T hücreleri, patojenlerin tekrar ortaya çıkmasına uzun süreli, yerel ve hızlı yanıt sağlar, ancak aynı zamanda inflamatuar ve otoimmün deri hastalıklarına da yol açabilir [23, 24].

Çoğalan T hücreleri, deriyi drene eden lenf nodlarından diğer dokuları drene eden, antijen içermeyen lenf nodlarına ve barsak, akciğer gibi diğer periferik dokulara taşınarak sistemik koruma sağlayan çeşitli doku yerleşik Tem hücre gruplarını da oluşturur [23, 24].

Tcm hücreleri ise lenfoid organ bağlanma reseptörlerini (L-selektin ve CCR7) ifade eder, ancak periferik doku bağlanma moleküllerini ifade etmez ve bu nedenle sekonder lenfoid organlarla sınırlıdır. Daha düşük efektör fonksiyon seviyesine

sahiptir, ancak antijen ile yeniden karşılaştığında kuvvetli bir şekilde çoğalabilir ve efektör T hücrelerine dönüşebilir [23, 24].

Bellek immün yanıtı üç aşamaya ayrılır. Bir patojene tekrar maruz kalma sonrası dendritik hücreler tarafından antijen alınarak Trm hücrelerine sunulur. Bu hücreler çoğalır ve efektör fonksiyonları ile hızla patojenin yok edilmesini sağlar. İkinci olarak inflamasyon endotel aktivasyonuna yol açarak spesifik olmayan T hücrelerinin dolaşımdan geçişini sağlar. Deriye giren bu T hücrelerinden antijen spesifik olan az sayıdaki hücre immün yanıta katkıda bulunur. Üçüncüsü, antijen yüklü dendritik hücrelerin deriyi drene eden lenf nodlarına göçü, Tcm hücrelerinin uyarılmasına ve ardından çok sayıda deri yerleşik Tem hücrelerinin üretilmesini sağlar. Bu Tem hücreleri daha sonra kan dolaşımına geçerek iltihaplı deri bölgelerine girer ve patojenin temizlenmesini sağlar [23].

Tcm ve Trm hücrelerinin farklı davranışlarına bağlı olarak deri T hücreli lenfomaları farklı klinik belirtiler gösterir. Yaşam beklentisi normal olan erken MF'de hastalık deride yamalar ve plaklarla sınırlı iken, Sezary sendromunda (SS) tüm deri yüzeyi, kan ve lenf nodları boyunca yayılır. Bu durum, MF'deki malign T hücrelerin Trm hücrelerinden, SS'te ise dolaşımda olan ve normal deride az sayıda bulunabilen Tcm hücrelerinden kaynaklandığını desteklemektedir [23, 24].

2.3.3 Derideki Lenfositlerin Dağılımı ve Özellikleri

Çoğu bellek hücresi özelliğinde olmak üzere tüm lenfositlerin yaklaşık dörtte biri mukozal dokularda ve deride bulunur. Antijenlerin yoğun olduğu bölgeye giden dolaşım halindeki lenfositlerle birlikte deriye ait lenfoid dokular, epiteli aşan antijenlere karşı bağışıklık yanıtı oluşturmaktadır. Etkili bir yanıt için farklı özellikteki lenfositler birbirleriyle iletişim halindedir [22].

Deride, dolaşımdaki T hücresi sayısının iki katı olan, yaklaşık 2×10^{10} T hücresi bulunmaktadır [20]. Derideki T lenfositler, çoğunlukla dermiste yüzeyel damar ağı çevresinde ve deri eklerinin bağ dokusu kılıfları içinde bulunurken, bütün T hücrelerin yaklaşık %2'si intraepidermal yerleşimlidir. %1-15 oranında γδTCR ifade eden T hücreler dışında, epidermiste T hücrelerinin büyük çoğunluğu αβTCR ve CD8 ifade eder. Dermiste ise büyük oranda CD4+ T hücreleri baskındır. Epidermiste ve dermiste

nadir olarak B lenfositler ve genellikle γδTCR ifade eden CD4/CD8 “double” negatif T hücreleri de bulunur [21].

İntraepidermal T hücre sayısı ve CD4/CD8 oranı bölgesel olarak farklılık göstermektedir. Ayak tabanı, kalça ve ekstremiteleri de içeren çoğu bölgede CD8+ T hücreleri baskınken, göğüs bölgesinde epidermiste CD4+ T hücreleri baskındır. Güneşe maruz kalma gibi çevresel faktörler de bu bölgesel farklılıkları etkileyebilir [21].

Derideki T hücrelerinin %95'inden fazlası CD45RO ve çoğunluğu CLA (Cutaneous lymphocyte-associated antigen) ifade eden bellek T hücreleri iken, %5'inden azı ise naiv T hücreleridir. Ayrıca, deride yerleşik T hücrelerinin yaklaşık %5-10'u inflamatuar süreçlerde sayıca artabilen FOXP3 ifade eden Treg hücreleridir [24].

2.4 DERİ LENFOMALARI

Derinin lenfoproliferatif hastalıkları, primer deri lenfomaları ve sekonder olarak deriyi tutabilen nodal veya ekstranodal sistemik lenfomalar olarak iki ana kategoriye ayrılır [10]. Tanı anında deri dışı hastalık bulgusu olmayan, deride görülen non-Hodgkin lenfomalar olarak tanımlanan primer deri lenfomalarının, %75-80’ini KTHL ve %20-25’ini kutanöz B hücreli lenfomaları (KBHL) oluşturur. Eşzamanlı deri ve lenf nodu tutulumu görülebilen klasik MF ve periferik kan tutulumu ile tanı konulan Sezary Sendromu da KTHL grubu içerisindedir [2].

Deri lenfomalarının kesin tanısı için klinikopatolojik korelasyon gereklidir. Klinik özellikler, görülebilir ve kolaylıkla ulaşılabilir lezyonlar olması sayesinde alınan biyopsiler ile histolojik, immünofenotipik ve genetik özelliklerle karşılaştırılabilir. Son yıllarda, klinikopatolojik korelasyon ile oldukça karakteristik klinik ve histolojik özelliklere sahip yeni KTHL ve KBHL tipleri tanımlanmıştır ve son lenfoma sınıflamasına ayrı antiteler olarak eklenmiştir.

Primer deri lenfomaları, genellikle morfolojik olarak benzedikleri deriyi sekonder olarak tutabilen nodal lenfomalardan tamamen farklı klinik davranış ve

prognoza sahiptirler ve bunlar için farklı tedavi gerekir. Bu nedenle primer deri lenfomaları için ayrı bir sınıflama kullanılmaktadır [2].

2.4.1 Primer T Hücreli Deri Lenfomaları Sınıflaması

Derinin T hücreli lenfomaları, farklı klinik seyre, histopatolojiye ve prognoza sahip neoplazileri içerir [25]. Primer deri lenfomaları için ilk olarak EORTC (European Organisation for Research and Treatment of Cancer) ve sonrasında 2005 yılında WHO (World Health Organization)-EORTC tarafından sınıflama yayınlanmıştır. Son lenfoma sınıflaması olan 2018 WHO-EORTC sınıflamasında yeni antiteler eklenmiş ve bazı terminoloji değişiklikleri yapılmıştır [2, 26]. MF ve varyantlarının da bulunduğu DSÖ (Dünya Sağlık Örgütü) Deri Tümörleri Sınıflaması kitabının dördüncü baskısında yayınlanan bu sınıflama Tablo 2.1'de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Primer T Hücreli Deri Lenfomaları WHO-EORTC 2018 Sınıflaması

Mikozis fungoides
Mikozis fungoides varyantları
- Folikülotropik Mikozis fungoides
- Pagetoid retikülozis
- Granülomatöz gevşek deri
Sezary sendromu
Erişkin T hücreli lösemi/lenfoma
Primer kutanöz CD30+ lenfoproliferatif hastalıklar
- Primer kutanöz anaplastik büyük hücreli lenfoma
- Lenfomatoid papülozis
Subkütanöz pannikülit benzeri T hücreli lenfoma
Ekstranodal NK/T hücreli lenfoma, nazal tip
Kronik aktif EBV (Epstein-Barr virus) enfeksiyonu
Primer kutanöz periferik T hücreli lenfoma, nadir alttipler
- Primer kutanöz γ/δ T hücreli lenfoma
- Primer kutanöz CD8+ agresif epidermotropik sitotoksik T hücreli lenfoma (geçici)
- Primer kutanöz CD4+ küçük/orta T hücreli lenfoproliferatif hastalık (geçici)
- Primer kutanöz akral CD8+ T hücreli lenfoma (geçici)
Primer kutanöz periferal T hücreli lenfoma, NOS

2.4.2 Mikozis Fungoides

İlk kez 1806 yılında Alibert tarafından tanımlanan hastalık, ileri evrelerinde görülen mantar benzeri tümör gelişimi nedeniyle Mikozis fungoides olarak adlandırılmıştır [20].

MF; küçük-orta boyutlu, serebriform nükleuslu T lenfositlerden oluşan epidermotropik bir primer T hücreli deri lenfomasıdır. MF tanımı sadece yama, plak ve tümörlerin gelişimi ile karakterli klasik olgular ve benzer bir klinik seyri olan varyantları için kullanılmalıdır [2].

2.4.2.1 Epidemiyoloji

MF nispeten nadirdir ve Hodgkin dışı lenfomaların %1'inden daha azını oluşturur [10]. Ancak, tüm primer deri lenfomalarının yaklaşık %50'sini oluşturan ve derinin en sık görülen T hücreli lenfoma tipidir. Çoğu hasta yetişkin veya ileri yaşlı olmasına rağmen, çocuklarda ve genç erişkinlerde de görülebilir. Erkek/kadın oranı 2/1'dir. Belirgin bölgesel değişikliklerle dünya çapında insidansı 5-6/1.000.000'dır. Siyahlarda insidans daha yüksektir [2]. Hastalığın görülme sıklığı, toplumdaki dermatologların farkındalıkları ile yama dönemi gibi erken evre hastalığın kriterlerinin bilinmesi ve tanı eşiklerinin farklı olmasından da etkilenir [27].

2.4.2.2 Etiyoloji ve Patogenez

Malign süreçlerin çoğunda olduğu gibi, MF'in etiyolojisi ve patogenezi de birçok nedene bağlı olabilir. Ancak etiyolojideki faktörler ve kesin patogenez bilinmemektedir [20].

MF'in etiyolojisi ile ilgili halen tartışılmakta olan iki ana hipotez vardır. Bunlardan biri antijenik stimülasyon hipotezidir [28]. Bu hipoteze göre antijen ile T hücrelerinin sürekli uyarılması kronik inflamasyona yol açar ve bu da malign bir T hücresi klonunun gelişmesine neden olur [29]. CD4 + T hücreleri, spesifik bir antijeni HLA (Human leukocyte antigens) sınıf II molekülleri ile tanıdığı için, MF hastalarında HLA fenotipleri incelenmiştir. Birçok çalışma, çeşitli HLA tiplerini MF ile

ilişkilendirmiş; ancak bulgularla HLA tiplerinin MF patogenezinde rol oynayıp oynamadığı kesin bir şekilde belirlenememiştir [20].

HLA molekülleri için antijen kaynaklarından biri, belirli maddelere mesleki maruziyettir. Yapılan çalışmalarda çevresel faktörlerden yalnızca kağıt işleme endüstrisinde riskin artmış olduğu gösterilmiştir. Staphylococcus aureus gibi bakterilerin süperantijenleri de T hücrelerinin sürekli uyarılmasına neden olabilir [28]. Çeşitli alerjenlere uzun süre maruz kalma ve kronik deri hastalıklarının da etiyolojik faktörler olabileceği ileri sürülmüştür (2).

Diğer bir hipotez olan viral indüksiyon hipotezi, viral bir ajanın, antijenlerinin sürekli ifadesi ile birlikte T hücrelerinin malign dönüşüme uğramasına neden olmasıdır. MF'de viral bir tetikleyici bulmak için yoğun araştırmalar yapılmıştır [28]. Human herpesvirus 8 (HHV-8) ve MF arasında olası bir ilişkiyi araştıran çalışmalar vardır. Çalışmalardan birinde, MF hastalarının biyopsilerinin %70'inde PCR (Polymerase chain reaction) ile HHV-8'e özgü DNA saptanmış, ancak immünhistokimyasal kanıtı bulunamamıştır [20]. HTLV-1 (Human T-cell lymphotropic virus type 1), EBV ve CMV (Cytomegalovirus) ile MF arasındaki ilişkiye yönelik çalışmalarda da, MF etiyolojisinde viral tetikleyici hipotezini destekleyen kanıt bulunamamıştır [30-32].

Solid organ nakli sonrasında alıcılarda MF gözlenmesi, immünosupresyonun hastalığın gelişimine neden olabileceğini düşündürmüştür [2].

MF'de kutanöz tutulumun nedeni, malign T hücrelerinde spesifik reseptörlerin ifadesidir. Deriye spesifik T hücrelerinde ifade edilen bu reseptörlerden biri hücrelerin damardan deriye göçünü sağlayan CLA'dır. Epidermotropizmin CLA yanı sıra, kemokinler ailesine ait haberciler tarafından da yönlendirildiği öne sürülmüştür. MF hücrelerinde de birçok kemokin reseptörü bulunmaktadır. Kutanöz tümör gelişimi sırasında epidermotropizm kaybı ve tümör hücrelerinin dolaşıma veya lenf nodlarına yayılması, ileri evrede malign T hücreleri üzerinde bu reseptörlerin ifadesinin azalması ile açıklanabilir [28].

Tümör dönemi MF'de, hastalık patogenezinde rol oynayan apopitoz düzenlenmesi ve hücre döngüsü ile ilişkili genlerin de bulunduğu 718 genin normal

veya inflame deriye kıyasla MF'de istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek oranda ifade edildiği gösterilmiştir [33].

İnterlökin-2 (IL-2) gibi bazı aktivasyon belirteçlerini ifade eden aktif T hücreleri, IL-2 reseptörünün uyarılmasından sonra, JAK/STAT (Janus kinase / Signal transducers and activators of transcription) ailesinden birkaç hücre içi sinyal proteininin fosforilasyonuna uğrar. MF'de bu tür moleküllerin yapısal olarak etkin olması, malign T hücrelerinin sürekli aktifliğine neden olmaktadır [34].

Antijen uyarımı ve çoğalmadan sonra, normal fizyolojik koşullar altında aşırı hücresel birikimin ve T-hücre aracılı doku hasarının önlenmesi için aktif T hücrelerinin çoğunun ortadan kaldırılması gerekir. Bu amaçla apoptotik kaskad başlatılır ve bu programlanmış hücresel intiharla sonuçlanır. Sitotoksik T lenfositleri hücre hasarına neden olan molekülleri (perforin, granzimler vb.) serbest bırakmanın yanı sıra FasL ifade ederek apopitozun başlamasında rol oynar. Malign hücrelerin yüzeyindeki Fas (CD95) reseptörünün FasL ile bağlanması, aktif T hücrelerinin ortadan kaldırılabilmesi için bir yol sağlar [34]. MF'de Fas mutasyonları bildirilmiştir. Bu mutasyonlar, işlevsel olmayan bir Fas proteinine yol açar ve neoplastik lenfoid hücrelerin Fas aracılı apopitozdan kaçarak klonal çoğalmasına neden olur [35].

Neoplastik hücrelerin ifade ettiği çeşitli sitokin reseptörlerinin ligandları ile etkileşimi, T hücresi göç özellikleri yanı sıra PI3K (Phosphoinositide 3-kinase) ve Akt (v-Akt murine thymoma viral oncogene homolog 1) gibi antiapopitotik yolakları da etkileyek hayatta kalmayı destekler. Fas ve TNF (tumor necrosis factor) sinyal yolaklarındaki anormallikler, NF-κB (Nuclear Factor kappa B) yolağının aktifleşmesini gerçekleştirerek de apopitoza dirence yol açar [20].

Hastaların az bir kısmı, TNFRSF1B (Tumor necrosis factor receptor superfamily member)'yi kodlayan genin nokta mutasyonları ve genomik kazanımlarını göstermektedir. Ayrıca hastalığın ilerlemesi ile ilişkili olabilecek CDKN2A (Cyclin dependent kinase 2A) ve PTEN (Phosphatase and tensin homolog) inaktivasyonu da tanımlanmıştır [36].

Özellikle tümör döneminde, kompleks kromozomal anormallikler tanımlanmakla birlikte, spesifik kromozomal translokasyonlar saptanmamıştır. 10q'da kromozomal kayıp ve p15, p16 ve p53 gibi tümör baskılayıcı genlerde anormallikler yaygındır [25].

Son yıllarda MF gelişiminde ve ilerlemesinde epigenetik mekanizmaların ve mikroçevrenin de rol oynadığı gösterilmiştir [4, 37].

2.4.2.3 Yerleşim

Hastalık çoğunlukla deri ile sınırlıdır ve değişken bir dağılıma sahiptir. İleri evrelerde lenf nodları, kan, karaciğer, dalak ve akciğerler gibi deri dışı bölgelere yayılım meydana gelebilir. Kemik iliği tutulumu nadirdir [2]. İleri evrelerdeki lenf nodu büyümesi, ilgili bölgelerin kronik drenajından kaynaklanan nodüler hiperplaziden (dermatopatik lenfadenopati) ayrılmalıdır [10].

2.4.2.4 Klinik Özellikler

MF, yamalardan infiltre plaklara ve sonunda tümörlere kadar yavaş ilerleyen (yıllar veya bazen on yıllar boyunca) bir klinik seyre sahiptir [2]. Klasik MF'de tipik olarak gelişim sırayla yama, plak ve tümör dönemleri şeklinde olmasına rağmen, bazen bir hastada tüm histolojik dönemler aynı anda bulunabilir veya sadece yama döneminde ilerlemeyen bir hastalık özelliğinde görülebilir [20]. Erken evrelerde, lezyonlar sıklıkla güneş görmeyen alanlarla sınırlıdır [2]. Genellikle gövde ve uylukların alt kısmında gelişmekle birlikte, ileri evrelerde yüz ve kafa derisi de dahil olmak üzere tüm vücut etkilenebilir. Bazen avuç içi ve taban yerleşimi de görülmektedir. MF, çocuklarda ve genç erişkinlerde nadirdir. Çocuklarda lezyonlar, özellikle koyu tenli bireylerde sıklıkla hipopigmente özelliktedir.

Yama dönemi, genellikle hafif pullu/kepekli, boyut ve şekil bakımından asimetrik, düzensiz sınırlı, çeşitli renkteki yamalardan oluşur. Bu dönem, ilerleme gerçekleşmeden önce uzun yıllar devam edebilir.

Plak dönemindeki lezyonlar, bazen pullanma gösteren, sıklıkla halka veya yay şeklinde, kırmızı-morumsu, iyi sınırlı özelliktedir. Plaklar de novo gelişebildiği gibi

yamalardan da oluşabilir. Erken evrelerde, lezyonlar genellikle deri yüzeyinin %10'undan azıyla sınırlıdır, ancak özellikle geç plak döneminde daha yaygın olabilir [25].

Hastalık ilerledikçe tümör döneminde, genellikle yamalar ve plaklar hala olmakla birlikte, ülserasyon da içeren daha büyük plaklar, nodüller ve tümörler izlenmektedir [10]. Tümörler genellikle önceden var olan lezyonlardan gelişir. Genellikle ≥1 cm çapında, gergin, parlak bir yüzeye sahip, koyu kırmızı-morumsu renkli lezyonlardır [25]. Hastaların az bir kısmında tümör gelişir [20].

2.4.2.5 Histopatoloji

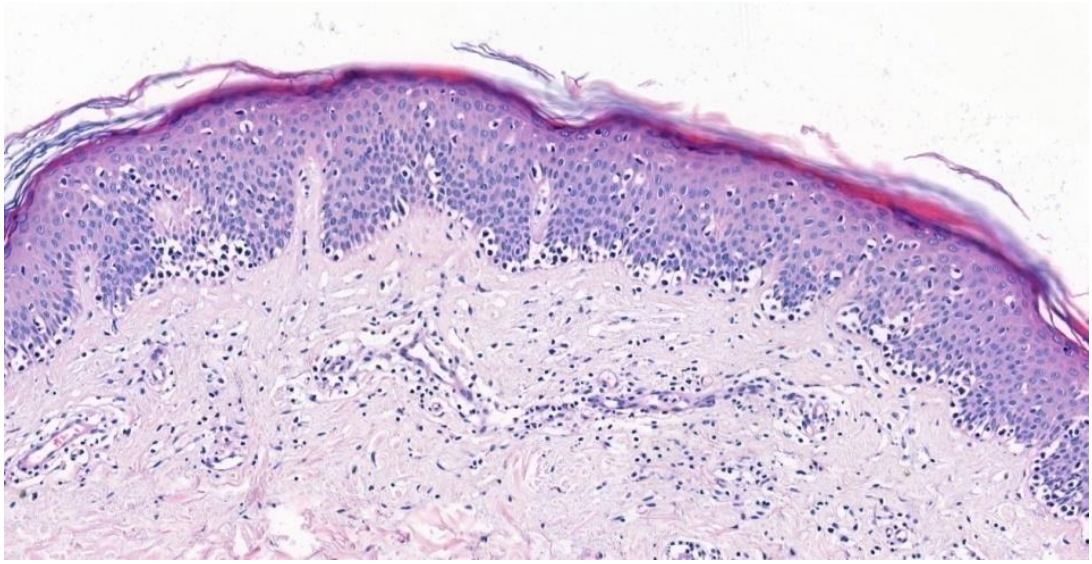
Deri lezyonlarının histolojisi hastalığın evresine göre değişir [2].

Yama Dönemi: Erken yama döneminin histopatolojik özellikleri zor anlaşılabileceği için gözden kaçabilir ve tanıya ulaşmak için genellikle birden fazla biyopsi gerekebilir [20]. Bu dönemde tanı koymak için epidermis ve dermiste değişikliğe neden olan yapısal ve sitolojik özellikler birlikte kullanılır [25]. Epidermis normal kalınlıkta, hafif akantotik veya daha az olarak da atrofik olabilir, genellikle fokal parakeratoz ile hafif hiperkeratoz vardır [20]. En erken evrede, yüzeyel damarlar çevresinde ve papiller dermis boyunca da yayılmış, topluluk oluşturma eğilimi az olan, nispeten seyrek bir lenfosit infiltrasyonu vardır [25]. Küçük-orta büyüklükte, oldukça girintili (serebriform) çekirdeği olan atipik hücreler azdır ve çoğunlukla epidermis ile sınırlıdır [2]. Lenfositler epidermisin bazal tabakasında tipik olarak, bir boncuk dizisi gibi tek hücreler veya küçük hücre grupları olarak bulunmaktadır [25] (Resim 2.1). Dermatitlerdeki lenfoid ekzositozun aksine genellikle MF'deki bu epidermotropizmle birlikte belirgin spongiyoz veya bazal hücre tabakası vakuolizasyonu ve apopitoz gibi epidermal hücre hasarı bulguları izlenmez. Epidermiste keratinositleri ayıran laküner boşluklarda "Pautrier mikroabsesi" olarak adlandırılan atipik lenfosit toplulukları bulunmaktadır. Ancak epidermis içindeki neoplastik lenfositlerin histopatolojik olarak sitokinle aktifleşen reaktif T hücrelerinden ayırt edilmesi zor olabilir. Ayırt edilmesinde yararlı bir özellik epidermotropik neoplastik T hücrelerinin serebriform nükleer özellikler ve şeffaf perinükleer halo gösterme eğilimidir [10].

Pautrier mikroabsesi, kesin olarak tanımlandığında MF için oldukça karakteristik bir bulgudur. Ancak, yama döneminde nadir görülür ve bu özelliğe aşırı önem verilirse, pek çok MF olgusu atlanabilir.

Erken dönemlerde hücresel atipi azdır, ancak bazı olgularda epidermal neoplastik lenfositler dermisteki lenfositlerden daha büyüktür [25]. Sıklıkla dermiste sadece birkaç atipik T hücresi, birçok küçük (reaktif) T hücresi, eozinofiller, plazma hücreleri ve histiyositler ile birlikte bulunur. Bu durum, erken evre MF tanısını çok zorlaştırabilir ve bazı durumlarda kesin tanı mümkün olmayabilir [10]. Normal kesitlerde görünmeyen sitolojik anormallikler ince kesitlerde daha iyi görülebilir. Papiller dermiste, sık rastlanan fibrozis, gelişigüzel düzenlenmiş tel gibi kollajen demetleri şeklinde bulunur. Bazı olgularda, bazal vakuoler değişiklik ve liken planusa benzeyen belirgin bir likenoid infiltrasyon paterni vardır. Liken planustan farklı olarak, dermal infiltrasyonda atipik lenfositler yanı sıra plazma hücreleri ve eozinofiller bulunabilir. Ekrin ter duktuslarının infiltrasyonu (siringotropizm), yama dönemi ve diğer dönemlerde görülebilir ve tedaviden sonra bu infiltrasyon sebat edebilir [25].

Bazen eritrosit ekstravazasyonu belirgindir. Pigment inkontinansı yaygın olabilir. Biyopsi öncesi steroidler veya PUVA (Psöralen ve ultraviyole A) ile yapılan tedavi mikozis fungoides özelliklerini gizleyebilir ve tanıyı neredeyse imkansız hale getirebilir. Bu durumda dikkatli bir klinikopatolojik korelasyon gerekmektedir [20].



Resim 2.1. Yama dönemi Mikozis fungoides.

Akantotik epidermisin genellikle bazalinde boncuk dizisi şeklinde lineer sıralanan, dermisteki lenfositlerden daha büyük atipik özellikte halolu lenfositler bulunmakta (H-Ex200)

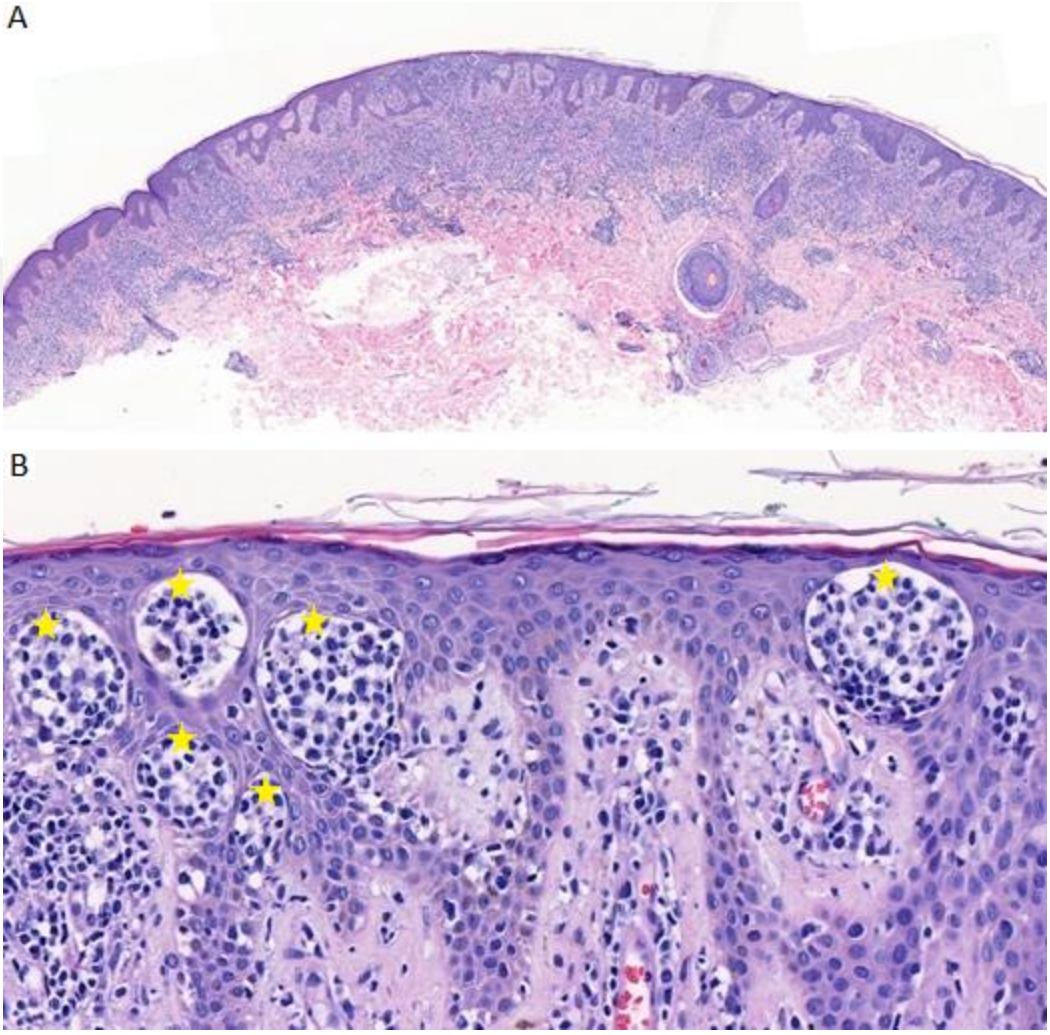
Plak Dönemi: Epidermiste kompakt hiperkeratoz, parakeratoz ve sıklıkla psöriaziform akantoz bulunur. İnfiltrasyon, yama döneminden çok daha yoğundur ve epidermiste çok sayıda atipik lenfositler vardır [20]. Bu lenfositler genellikle belirgin olarak girintili, hafif buruşuk veya serebriform nükleusa sahiptir [25]. Tipik plaklarda, epidermotropizm daha belirgindir [2]. Nadiren, özellikle topikal olarak tedavi edilen hastalarda, epidermotropizm yoktur. Dermiste infiltasyon, bant benzeri özellikte ve çoğunlukla yüzeyeldir. Atipik hücreler tek başlarına veya kümeler halinde bulunabilir, nadir olarak neredeyse tüm epidermisi kaplayabilir.

Pautrier mikroabseleri bu dönemde nadir değildir ve olguların yaklaşık %17-37.5'inde tanımlanmıştır [20] (Resim 2.2). Bazen allerjik kontak dermatit ve pitriazis rozea gibi spongiotik dermatitlerde Pautrier mikroabselerini andıran spongiotik odaklar (psödo-Pautrier mikroabseleri) görülür. Bu odaklar monosit benzeri hücreler, Langerhans hücreleri ve seyrek lenfosit içerir. Bu hücrelerin çekirdeği, daha soluk ve daha az karmaşıktır. Spongiyotik mikrovezikülasyon nadir olmakla birlikte, özellikle fokal ve hafif şiddette olduğunda spongiyoz MF tanısını dışlamaz [25].

Dermoepidermal bileşke infiltrasyon nedeniyle seçilemeyebilir ve sitoid cisimler bulunabilir. Bazen, konfluent hiperkeratoz, düzensiz akantoz, geniş bazal

hücre hidropik dejenerasyonu ve apopitoz gibi izlenen histolojik özellikler liken planusu taklit eder.

Epidermal değişikliklere ek olarak, foliküler epitel tutulabilir, bazen foliküler müsinozis gelişebilir [20].

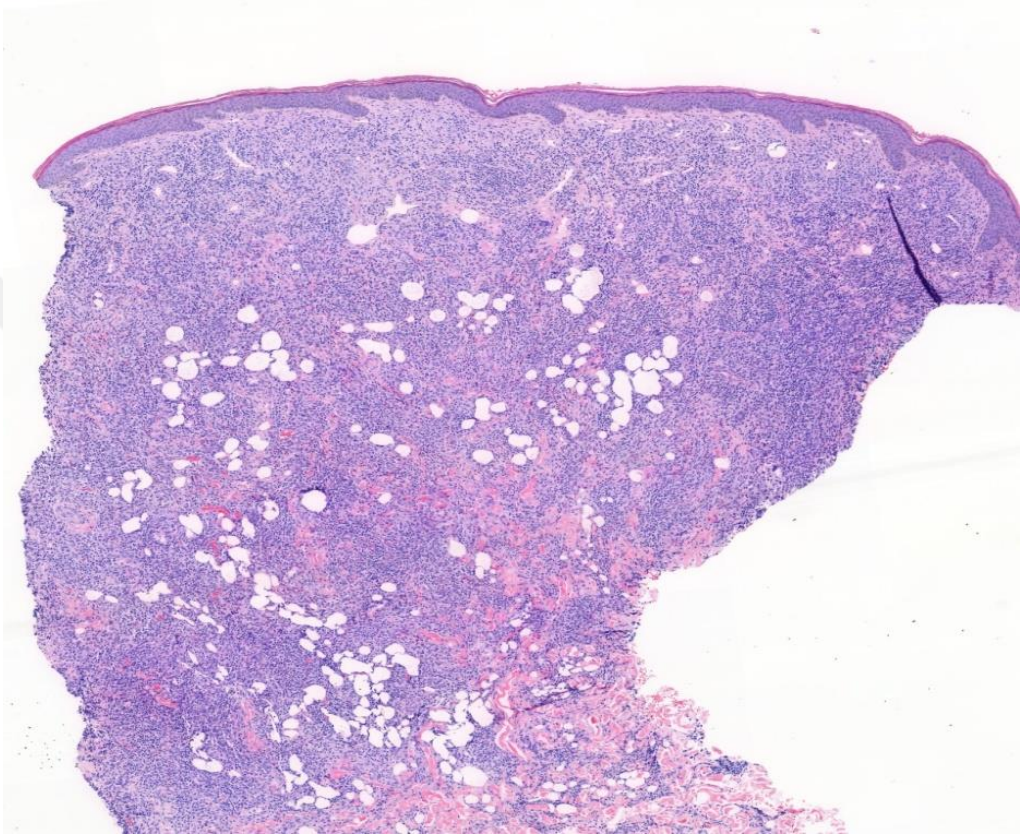


Resim 2.2. Plak dönemi Mikozis fungoides.

A) Yüzeyel dermisi bant şeklinde dolduran yoğun infiltrasyon izlenmekte (H-Ex40). B) Epidermis içinde çok sayıda Pautrier mikroabsesi (yıldız) şeklinde epidermotropizm bulunmakta (H-Ex400).

Tümör Dönemi: Tümör döneminde epidermotropizm ve Pautrier mikroabseleri nadir olarak izlenir [25]. Tümör hücrelerinin sayıları ve boyutları artar. Küçük, orta boyutlu hücreler ve pleomorfik veya blastoid nükleuslu büyük serebriform hücreler değişen oranlarda bir arada bulunur [2].

Dermal infiltrasyon, subkutan dokulara yayılabilen, sitolojik olarak atipik T hücrelerinin nodüler veya diffüz interstisyel toplulukları özelliğindedir [10] (Resim 2.3). Lezyonlar sıklıkla ülseredir. Mitozlar dikkat çekmektedir ve sıklıkla atipiktir [20].



Resim 2.3. Tümör dönemi Mikozis fungoides.

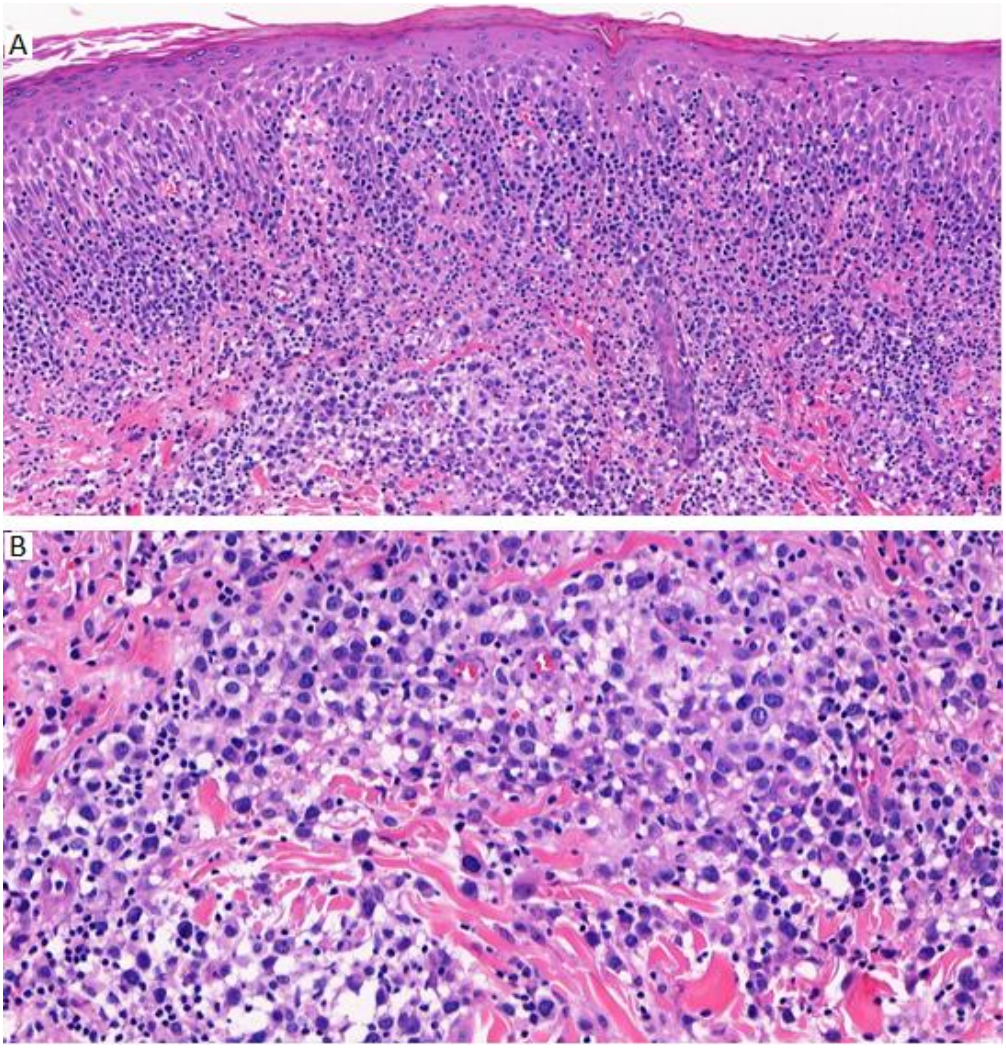
Tüm dermisi diffüz şekilde dolduran yoğun infiltrasyon izlenmekte (H-Ex40).

Büyük Hücre Dönüşümü (Transformasyon): BHD, infiltrasyonun %25'ini aşan veya ayrı bir tümör hücre grubu şeklinde organize olan, küçük lenfositlerin ≥4 katı büyüklüğünde büyük lenfositlerin varlığı olarak tanımlanmıştır [38]. Bu hücreler, genellikle seçilebilen nükleollü, belirgin veziküler veya hiperkromatik nükleusa ve yoğun sitoplazmaya sahiptir (Resim 2.4). Yaygın nükleer pleomorfizm ve bazen dev hücreler (Reed-Sternberg benzeri) mevcuttur. Mitotik aktivite genellikle belirgin olmakla birlikte, atipik mitozlar izlenebilir. Çoğunlukla büyük hücre fenotipi yanı sıra, pleomorfik ve immünoblastik varyantlar da bildirilmiştir.

MF'de BHD, %8–55 arasında oldukça değişken oranda izlenir [20]. Tümör lezyonlarının %50'sinden fazlasında görülen BHD bütün dönemlerde olabilir [2, 10].

BHD'nin patogenezi bilinmemektedir. p53 gen mutasyonu ile ilişkili olmayan p53 aşırı ifadesi izlenmiş, ancak önemi belirlenememiştir. Kanıtlanmamış olmasına rağmen, CD25 aşırı ifadesinin de artan bir dönüşüm riski gösterebileceği öne sürülmüştür [20].

BHD agresif bir seyir gelişimi ilişkili olmasına rağmen, bazı olguların daha yavaş seyir gösterebileceği düşünülmektedir [10].



Resim 2.4. Büyük hücre dönüşümü (BHD) gösteren tümör dönemi Mikozis fungoides.

A) Epidermiste ve dermiste arada orta-büyük atipik hücrelerin bulunduğu yoğun infiltrasyon (H-Ex200). B) Dermiste infiltrasyon içerisinde küçük lenfositlerin 4 katından büyük, nükleol içerebilen, hiperkromatik nükleuslu atipik hücreler ve mitozlar izlenmekte (H-Ex400).

2.4.2.6 İmmünhistokimya ve TCR Gen Düzenlenmeleri

MF hücreleri tipik olarak CD4, CD45R0 pozitif, çoğunlukla CD8, CD30 negatiftir ve T hücrelerinin Th2 alt grubu olan olgun bellek hücrelerinin özelliklerini taşımaktadır [25]. Genellikle hücreler CD2, CD3, CD5 gibi pan T hücre antijenleri ile αβTCR ve deri yerleşik lenfositlerle ilişkili CLA ifade eder. CD4 pozitif MF'e benzer klinik davranış ve prognoz gösteren CD8 ve γTCR pozitif sitotoksik fenotipli olgular da bulunmaktadır [2]. CD8 pozitif olgular çoğunlukla çocuklarda ve ergenlerde izlenir ve sıklıkla hipopigmente plaklar olarak ortaya çıkmaktadır [39]. Nadir olarak CD56 pozitif olgular da bildirilmiştir [40].

İnfiltratif T hücrelerinin ≥%70'inde CD4/CD8 oranının ≥6 olması, KTHL tanısında yararlı bir özelliktir [25]. Tüm dönemlerde izlenebilen neoplastik süreçler için özgül olduğu düşünülen CD7 ifade kaybı inflamatuar süreçlerde de bildirilmiştir. Reaktif süreçlerde CD7 ifade kaybı yanı sıra diğer T hücre belirteçlerinin kaybı nadir olarak izlenmekle birlikte bu durum lenfoma tanısını destekleyen bir bulgudur. CD3, CD2 ve/veya CD5 ifade kaybı neoplastik yönde bir destek sağlasa da, erken evrede sık görülmez. Erken evrelerde dermiste reaktif T hücreleri olduğu için belirteçlerin ifadesinin veya kaybının epidermisteki hücrelerde değerlendirilmesi önemlidir. CD7 ve CD5 ifadesinin epidermisteki lenfositlerde kaybı, dermiste ise korunması şeklinde uyumsuzluk MF'i inflamatuar dermatozlardan ayırt etmeye yardımcı olabilir [10, 25].

Neoplastik hücrelerde CD30'un kısmi ifadesi, özellikle plak ve tümör dönemlerinde olmak üzere bütün dönemlerde görülebilir [2]. BHD gösteren tüm olgular CD30 ifadesi göstermediğinden, CD30 ifadesi bu tanı için bir önkoşul değildir (7). CD30 ifadesi prognoz ile ilişkili değildir. BHD'de CD7, CD2 ve CD5 ifade kaybı daha sık olmakla birlikte, immünfenotip klasik MF'e benzerdir. Tipik olarak CD4 pozitiftir, ancak nadir olarak CD8 pozitif varyantları da bulunmaktadır. CD8 pozitif varyantlarda, TIA-1 ve Granzim B ifadesi ile sitotoksik fenotip saptanabilir [20]. BHD gösteren CD30 pozitif hücrelerde MUM1 (Multiple myeloma oncogene 1) de ifade edilebilir [25].

Bazı olgular, hastalığın ilerlemesi ile CD30 pozitif (sekonder büyük hücreli anaplastik lenfoma) veya CD30 negatif olabilen büyük hücreli lenfomaya dönüşebilir. CD30 pozitif bu tümörler, t (2;5) translokasyonu ile ilişkili değildir [25].

Dermal infiltrasyonda lenfositlerle birlikte, CD1a veya Faktör XIIIa ifade eden çok sayıda dendritik hücre ile bazen az sayıda küçük B lenfositler de bulunur. Nadiren, neoplastik T hücrelerinde aberran CD20 ifadesi bulunabilir [25]. CD25 (IL-2 reseptörü), olguların yaklaşık %50'sinde pozitiftir [20]. TIA-1, perforin, granzim B gibi sitotoksik belirteçlerin ifadesi yama/plak döneminde nadir görülmekle birlikte, ileri evrede neoplastik hücrelerde saptanabilir [2].

MF'de Fli-1 (Friend leukemia integration 1 transcription factor) transkripsiyon faktörünün ifadesini araştıran bir çalışmada, tümör dönemindeki tüm lezyonlarda yaygın nükleer Fli-1 ifadesi izlenirken, erken evre lezyonlarda ifadesi daha az izlenmiştir. Olgu sayısının kısıtlı olduğu bu çalışmada, Fli-1'in artmış ifadesinin MF ilerlemesi ile ilişkili olabileceği öngörülmüştür [41].

Olguların %52-90'ında, PCR ile klonal TCR gen yeniden düzenlenmesi belirlenmiştir. Neoplastik lenfositler genellikle αβTCR, nadiren de γδTCR ifade eder. Lezyondaki hücrelerin tamamı neoplastik değildir, birçoğu reaktiftir. Bu nedenle özellikle erken evrede epidermiste monoklonal bir T hücre topluluğu bulunurken, dermiste poliklonal (reaktif) T lenfositler klonal T lenfositlerden daha yaygındır [25]. Ayrıca, bu lezyonlarda tümöral hücrelerin oranı çok düşük olduğundan klonalite izlenmeyebilir ve tanı için çoklu biyopsiler gerekebilir. MF benzeri inflamatuar dermatitlerde de klonal TCR gen yeniden düzenlemelerinin bulunması, bu çalışmanın tanıdaki değerini azaltabilir. Bununla birlikte, bir hastada birden fazla lezyonda veya belli bir zaman sonra aynı klonların gösterilmesi neoplastik bir sürecin tanısını destekleyen bir bulgudur [4, 10].

Lenf nodlarında klonal T lenfositler ve deri lezyonları ile aynı klona sahip TCR gen düzenlemeleri gösteren dolaşan T lenfositler MF'in erken evrelerinde bile bulunabilir. Klinik olarak remisyon gösteren hastaların 1/3'ünde PCR ile klonal T hücreleri saptanmıştır.

Klinik evreleme için lenf nodlarında moleküler inceleme ile monoklonal T hücrelerinin saptanmasının, klinik sonuçları öngörmede klinik ve histolojik incelemeden daha üstün olmadığı saptanmıştır [25]. Bununla birlikte bir çalışma, lenf nodlarında monoklonal bir T hücre topluluğunun hassas PCR teknikleri ile tespit

edilmesinin, kötü klinik seyir ve düşük sağkalım olasılığını öngördüğü sonucuna varmıştır [42].

T hücre klonalitesini araştıran lazer bazlı mikrodisseksiyon gibi tekniklerin geliştirilmesi tanıya büyük katkıda bulunabilir; ancak bu tetkiklerin histolojik ve immünhistokimyasal bulgular ile birlikte yorumlanması gerekir [25].

2.4.2.7 Elektron Mikroskopi

MF'deki atipik lenfositlerin özelliklerini belirleyebilmek için kantitatif elektron mikroskopisi kullanılmıştır. Morfolojik olarak çeşitli atipik lenfositler bulunmaktadır. Karakteristik hücre; periferik heterokromatinli, oldukça kıvrımlı (serebriform) bir çekirdeğe sahiptir. Sitoplazma, bazen kümelenmiş mitokondri ve multiveziküler cisimler içerir. Oldukça kıvrımlı çekirdeği olan küçük-orta boyutlu bir lenfosite "Sezary hücresi" ve daha az nükleer girintili biraz daha büyük bir hücreye "Mikozis hücresi" denilmektedir. Ancak çoğunlukla, ara formların varlığı da düşünülerek, atipik hücreler için "Sezary hücresi", "Mikozis hücresi" ve "Lutzner hücresi" terimleri birbirleri yerine kullanır.

Bazen tümör döneminde, “pleomorfik hücre” olarak adlandırılan daha büyük bir hücre görülür. Değişken biçimde kıvrımlı veziküler bir çekirdeği ve belirgin bir nükleolü vardır [25].

2.4.2.8 Varyantlar

Klasik MF’den farklı klinikopatolojik özelliklere ve prognoza sahip, bu nedenle DSÖ sınıflamasında ayrı olarak değerlendirilen varyantlar bulunmaktadır [2]. Bu varyantlar: Folikülotropik MF, Pagetoid retikülozis ve Granülomatöz gevşek deri hastalığı.

Folikülotropik MF: Folikülotropik, foliküler, pilotropik ve folikülosentrik MF gibi literatürde farklı isimlerle tanımlanan bu varyant MF’in en sık görülen varyantıdır [43, 44]. Sıklıkla alopesi (kaşta karakteristik) ile ilişkili, epidermis tutulumu minimal olan veya olmayan, genellikle baş-boyun bölgesi yerleşimli folikülotropik infiltrasyon özelliğindedir. Çoğunlukla grup yapmış folikül merkezli

yamalar, plaklar veya papüller ile ortaya çıktığı gibi tümör dönemi lezyonlara, bazen de kist ve komedonlara rastlanabilir. Genellikle yetişkinlerde görülen bu varyant çocuklarda nadirdir. Olguların %6'sında eşlik eden hematolojik maligniteler gözlenmiştir. Diğer varyantlara göre sekonder bakteriyel infeksiyon oranı daha sıktır [2].

Histopatolojik olarak, plazma hücreleri ve eozinofilleri de içeren perifoliküler yerleşimli atipik lenfositlerle birlikte perivasküler ve periadneksiyel dermal infiltrasyon bulunur [45]. Nükleuslar genellikle belirgin olarak serebriformdur ve bazen Pautrier mikroabseleri görülebilir [25]. Kıl folikül epitelinde müsinöz dejenerasyon olan foliküler müsinöz çoğunlukla izlenir, ancak tanı için şart değildir. Klasik MF olgularının da yarısında foliküler tutulum, üçte birinde ekrin bez tutulumu izlenebilmektedir [43]. Folikülotropik MF'de kıl folikülündeki keratinositler tarafından aşırı ifade edilen intersellüler adhezyon molekülü-1'in (ICAM-1) kıl foliküllerinin tutulumuna neden olduğu öne sürülmüştür [25]. İmmunfenotip klasik MF'e benzerdir. Sıklıkla CD30 pozitif blastik hücreler de izlenebilir [45].

Folikülotropik MF'ten ayrı bir antite olduğu hala tartışmalı olan benign foliküler müsinozis genellikle çocukluk-adölesan dönemde yüzde soliter lezyon şeklinde görülür [2]. Folikülotropik MF'de daha derin yerleşimli neoplastik infiltrasyon deri hedefli lokal tedavilere yanıtı azaltabilir [10]. Ayrıca klasik MF'den daha sık BHD ve periferik kan tutulumu gösterdiğinden, hastalık ilerleme riski daha yüksek ve prognoz daha kötüdür. Bu nedenle MF için klinik evreleme sistemleri, bu hastalarda yararlı değildir [20, 43]. Ancak erken folikülotropik MF'in aynı evredeki klasik MF ile benzer bir prognoza sahip olduğunu gösteren yeni çalışmalar da mevcuttur [2].

Pagetoid Retikülozis: Neoplastik T hücrelerin epidermis içinde çoğaldığı, oldukça nadir görülen lokalize MF varyantıdır. Önceden yaygın (dissemine) pagetoid retikülozis (Ketron – Goodman hastalığı) tanımı da olmasına rağmen, bu olguların lokalize hastalıktan farklı bir klinik seyre sahip olması nedeniyle Pagetoid retikülozis isimlendirmesi artık sadece lokalize hastalık (Woringer-Kolopp Hastalığı) için kullanılmaktadır [2]. Klinik olarak büyük, genellikle soliter, yavaş büyüyen, eritemli, pullu veya verrüköz yamalar veya plaklar şeklinde lezyonlar izlenir ve lezyonlar tipik

olarak uzuvların distal kısmında bulunur. Genellikle yetişkin erkeklerde görülür. Çocuklarda oldukça nadirdir [25].

Epidermis içinde, tek tek veya yuvalar-kümeler şeklinde, soluk eozinofilik sitoplazmalı, orta-büyük nükleuslu ve büyük nükleol içeren atipik mononükleer lenfoid hücreler karakteristiktir. Atipik hücreler, epidermisin tüm seviyelerinde bulunmasına rağmen alt üçte birinde belirgindir. MF'den farklı olarak dermiste, genellikle eozinofil ve atipik olmayan küçük lenfositler, histiyositler ve az sayıda plazma hücresi içeren infiltrasyon bulunur [25].

Epitel hücrelerinde E-selektin ve E-kadherin ile etkileşime giren CLA ve αE7 gibi adhezyon moleküllerinin ifadesinin pagetoid infiltrasyon paternine yol açtığı bildirilmiştir [25].

Atipik hücrelerde, CD2, CD3 ve CD5 gibi pan-T-hücre antijenleri ifade edilirken, sıklıkla CD7 ifade kaybı izlenir [20]. Yardımcı T (CD4+), T baskılayıcı/sitotoksik (CD8+) ve CD4/CD8 "double" negatif fenotipler bildirilmiştir. CD30 sıklıkla ifade edilir ve yüksek Ki-67 oranı bulunur [2, 20].

Prognozun çok iyi olduğu bu hastalıkta, basit eksizyon veya lokal ışınlama sonrası uzun süre hastalıksız sağkalım gözlenir. Deri dışı yayılım bildirilmemiştir [2, 45]. Pagetoid retikülozis histopatolojik olarak belirgin epidermotropizm nedeniyle yüzeyel yayılan melanom, pagetoid skuamöz karsinoma in situ ve ekstramammarian Paget hastalığına benzer. Sitomorfolojik ve immünfenotipik özellikler eşliğinde ayırıcı tanı yapılabilir [10].

Granülomatöz Gevşek Deri Hastalığı: Büyük sarkık deri kıvrımları ile karakterli oldukça nadir görülen MF varyantıdır. Lezyonlar, kasık ve aksilla gibi kıvrım bölgelerinde gevşek sarkık deri kitleleri ve büyük eritematöz plaklar şeklinde gelişir. Genç yaşta daha sık görülür [2, 45]. Ancak çocuklar oldukça az etkilenir [20].

Histopatolojik olarak, tüm dermis boyunca, bazen subkutan dokuyu da tutan, lenfosit ve histiyositlerle karışık yoğun diffüz granülomatöz infiltrasyon görülür. Lenfositler pleomorfik, hiperkromatik ve düzensiz nükleusludur [45]. Çok nükleuslu multinükleer dev hücreler karakteristik bulgudur [2]. Dermiste dağınık olarak, periferal yerleşimli nükleus içeren çok sayıda multinükleer dev hücre tarafından lenfoid hücrelerin fagosite edildiği (emperipolezis) izlenebilir. Yaygın elastik lif kaybı

vardır ve lif fragmanlarının dev hücrelerin sitoplazması içinde küçük inklüzyon olarak izlendiği elastofagositoz görülebilir [45]. Elastik liflerin kaybı klinik karakteristik özellik olan deri kırışmasına ve gevşek derinin gelişmesine neden olur [43]. Epidermotropizm ve Pautrier mikroabseleri genellikle belirgin değildir [45].

Genellikle CD4 ve CD45RO'yu ifade eden yardımcı T hücre fenotipindeki lenfositlerde CD3, CD5 ve/veya CD7 ifade kaybı veya azalmış ifadesi görülebilir. Nadir CD30 pozitif hücreler olabilir. Dev hücreler, histiyositik belirteçleri ifade eder [20].

Klasik MF'deki yamalı granülomların aksine, genellikle subkutan dokuyu da tutan diffüz granülomatöz infiltrasyon izlenmesine rağmen, çoğu olguda histopatolojik ayrım zor olabilir. Bu durumda ayrım temel klinik özellikler yardımıyla yapılabilir [2]. Belirgin granülomatöz inflamasyonla ilişkili olabilecek diğer lenfomalar da ayırıcı tanıda düşünülmelidir. Klasik veya folikülotropik MF ile ilişki olabileceği gibi hastaların üçte birinde Hodgkin lenfoma ile de bir ilişki olabilir. Çoğu hasta yavaş bir seyir göstermektedir. Etkilenen bölgeler genellikle tedaviye dirençlidir ve cerrahi sonrası nüks eder [20, 25].

2.4.2.9 Alt Tipler

DSÖ sınıflamasında ayrı olarak tanımlanan klinik varyantlar dışında, değişik morfolojik özellikler gösteren birçok MF alt tipi de tarif edilmiştir. Klinik seyir ve prognozları klasik MF'den farklı değildir. Benzer klinik ve morfolojik bulgulara sahip inflamatuar dermatozlar tanıyı zorlaştırabilir. Bu nedenle prognostik değer taşımasalar da, bu MF alt tiplerinin bilinmesi önemlidir [10]. Bu MF alt tiplerinden bazıları şunlardır:

Hipopigmente MF: Bu klinik subtip, asemptomatik, nadiren kaşıntılı, hipopigmente yama lezyonlar şeklinde koyu tenli gençlerde görülme eğilimindedir. Klinik özellikler nedeniyle ayırıcı tanıda vitiligo, pitriazis alba, tinea versikolor ve postinflamatuar hipopigmentasyon bulunur. Patogenezi belirlemeye yönelik yapılan bazı çalışmalarda, hipopigmentasyona hücresel hasarlara tepki olarak melanositlerde görülen dejeneratif değişikliklerin [46]; bazılarında ise keratinositlere melanozom transferinin bozulmasının yol açtığı düşünülmüştür [47].

Histopatolojide klasik MF'den farklı olan tek özellik pigment inkontinansının belirgin olmasıdır, bunun dışında klasik MF'den ayırt edilemez [20]. Literatürde bu olgularda CD8+ immünfenotipinin daha sık gözlendiği bildirilmiştir [48].

Siringotropik MF: Siringotropizm olarak tanımlanan ekrin bezlerin/kanalların lenfoid hücrelerle yoğun infiltrasyonunun ve siringometaplazinin izlendiği nadir bir MF şeklidir. Soliter lezyonlar klasik MF'den daha sık izlenir. Alopesi ve anhidroz sıklıkla eşlik edebilir. Epidermotropizm ve kıl foliküllerinin tutulumu da görülebilir.

Ayırıcı tanıda nötrofilik ekrin hidradenit gibi ekrin bezleri çevreleyen lenfoid infiltrasyonlu hastalıklar ve kemoterapi, iskemiye karşı deri reaksiyonları ve radyasyon dermatiti gibi siringometaplazili durumlar bulunur [45]. İnfiltrasyonun derin olması nedeniyle, deriye yönelik tedavilere yanıt az olabilir ve lokal radyoterapi gerekebilir [20].

Granülomatöz MF: Granülomatöz MF, en sık görülen granülomatöz KTHL tipidir. Benzer histolojik özelliklere rağmen granülomatöz gevşek deri hastalığı ve granülomatöz MF iki farklı MF varyantıdır [45]. Klasik MF'den ayırt edilemeyen klinik özelliklere sahip granülomatöz MF'de lezyonlar benzer olarak papüller, plaklar ve tümörler şeklindedir. Histopatolojik olarak, tipik MF bulgularının yanı sıra değişen miktarda interstisyel, tüberküloidal/sarkoidal veya granüloma anülare ve nekrobiyozis lipoidikaya benzer palizatlı granülomatöz inflamasyon izlenir [10]. Tanı için, infiltrasyonun ≥%25'inin histiyositlerden oluşması gereklidir [43]. Elastofagositoz ile birlikte genellikle yabancı cisim tipi (Langhans ve Touton tipi dev hücreler de bildirilmiş) multinükleer dev hücreler görülebilir.

Ayırıcı tanıda granülomatöz gevşek deri hastalığı bulunur. Lenfofagositoz ve elastofagositoz granülomatöz gevşek deri hastalığına göre daha az görülür. Histolojik örtüşme nedeniyle ayrımda büyük kıvrımlı deri lezyonlarının bulunmaması klinik olarak yararlıdır [10]. Granülomatöz inflamasyonun bulunduğu başka kutanöz lenfomalar da ayırıcı tanıda düşünülmelidir [20].

Purpurik MF: Nadir olarak MF'de, pigmente purpurik lezyonlar gözlenir. Purpurik MF veya pigmente purpurik dermatoz (PPD) benzeri MF denilen bu alt tipte histolojik olarak dermiste ekstravaze eritrositler, melanofajlar ve histiyositler gözlenir.

Bu özellikler dışında izlenen epidermotropizm ve atipik lenfositlerin bazal tabakada sıralanması gibi klasik MF özellikleri, PPD benzeri MF'i liken aureus, numuler ekzema gibi purpurik hastalıklardan ayırmada yardımcı olur [20, 44]. Ayırıcı tanıda bulunan ve heterojen bir dermatoz grubu olan PPD'de de hücresel atipi mevcut olabilir. PPD olgularının yaklaşık yarısında klonal TCR gen yeniden düzenlenmesi bulunduğu için ayrım zor olabilir. PPD, çoğunlukla alt bacaklarda peteşi ve bronz renk değişikliği gösterir [49]. Klinik olarak lezyonların dağılımı (PPD'de lezyonlar genellikle bacaklarda, MF'de yaygın) histopatolojik veya immünfenotipik bulgulardan daha yararlı olabilir [27].

Vezikülobüllöz MF: MF ile ilişkili veziküler ve büllöz lezyonlar oldukça nadirdir. Lezyonlar normal deride, eritemli bir zeminde veya plaklar ve tümörlerle birlikte görülür. Klasik MF'nin histolojik özelliklerine ek olarak izlenen blisterler veya veziküller subepidermal, subkorneal veya intraepidermal olabilir [44]. Blister oluşum mekanizması net olmamakla birlikte, subkorneal ve intraepidermal ayrılmanın Pautrier mikroabselerinin birleşmesinden; subepidermal blisterin ise neoplastik hücrelerin ürettiği sitokinler nedeniyle keratinositlerin bazal membrana tutunmasının azalmasından kaynaklanabileceği öne sürülmüştür [50].

MF olgularında büllöz lezyonların gelişiminden sonra 1 yıl içinde mortalitenin %50'ye yaklaşması, bu lezyonların varlığının kötü bir klinik seyirle sonuçlanacağını düşündürür. Ayırıcı tanıda, artropod ısırığı, akut kontakt dermatit, pemfigus vulgaris, büllöz pemfigoid ve dermatitis herpetiformis gibi diğer vezikülobüllöz hastalıklar bulunmaktadır. Büllöz MF'i bu hastalıklardan ayırt etmek için atipik lenfositlerin varlığı dışında immünfloresan inceleme de kullanılabilir [45]. İmmünfloresan inceleme MF'de her zaman negatif sonuçlanır [20].

Eritrodermik MF: Eritroderma herhangi bir MF döneminde gelişebilir [25]. Eritrodermik MF ve SS; yaygın eritroderma ve deriyle birlikte diğer organların tutulumu gibi benzer klinik özellikleri paylaşan iki ayrı antitedir. Bununla birlikte, eritrodermik MF'de yaygın eritrodermadan önce klinik olarak klasik MF'in tipik yama/plak dönem lezyonları gelişir ve deri biyopsisinde tipik MF özellikleri izlenir. Ayrıca dolaşımda neoplastik lenfositler az sayıdadır veya yoktur. SS'de ise yaygın eritrodermadan önce klinik olarak tipik MF lezyonları bulunmaz, genellikle

pleomorfizm minimal olduğundan ve epidermotropizm bulunmadığından deri biyopsisinde spesifik özellikler izlenmez [43]. SS olan hastalarda kanda lösemik T hücresi yükü bulunmaktadır ve eritrodermik MF'li hastalara göre deri ve sistemik belirtiler daha kısa sürede gelişir [51]. SS'deki tümöral hücrelerin, merkezi bellek T lenfositlerinin belirteçlerini, MF'dekilerin ise deri yerleşik efektör bellek T lenfositlerinin belirteçlerini ifade etmesi iki ayrı hastalık olduklarını desteklemektedir [43]. Eritrodermik MF ayrıca yaygın atopik dermatite, eritrodermik psöriazise ve kontakt dermatite de benzeyebilir [52].

Poikilodermatöz MF: Poikiloderma; deride atrofi, pigmentasyon bozukluğu (hipo/hiperpigmentasyon) ve telanjiektaziden oluşan klinik bir tanımdır [53]. Çeşitli dermatozlarla veya poikilodermatöz MF ile birlikte görülebilir [54]. Poikilodermatöz MF, genellikle kıvrım bölgeleri ve gövdede büyük koyu kırmızı ya da kahverengimsi yamalar veya plaklar gösteren MF çeşididir [45, 53]. Genç yaşta görülür ve sıklıkla lenfomatoid papülozis ile ilişkilidir. Olguların çoğu CD8+/ CD4- immünfenotipe sahiptir [55].

Histopatolojik olarak epidermal atrofi, epidermotropizm, dermiste dilate kan damarları, melanofajlar ve papiller dermiste atipik T hücresi infiltrasyonu izlenir. Genellikle erken evre (IA-IIA) hastalıktır ve çok iyi bir prognoza sahiptir. Klinik olarak bağ dokusu hastalığı (dermatomyozit vb.), topikal steroidlerin aşırı kullanımı ve radyasyon dermatiti gibi edinilmiş poikiloderma izlenen diğer durumlardan ayırt edilmelidir [49].

Görünmez MF: Yoğun kaşıntı ile belirti veren ve klinik olarak görünür lezyon bulundurmayan çok nadir MF alt tipidir. Fizik muayenede deri normal görünürken, histolojik olarak MF bulgularının izlenmesi hastalığı kanıtlar [20].

Bu klinik alt tipler dışında, hiperpigmente, papüler, verrüköz, akantozis nigrikans benzeri, granüloma anülare benzeri (interstisyel) anetodermik, hiperkeratotik, vejetatif, püstüler, iktiyoziform, palmoplantar veya soliter MF gibi farklı morfolojilerde nadir alt tipler de görülür [25, 44].

2.4.2.10 Tanı ve Ayırıcı Tanı

MF, çeşitli inflamatuar dermatozlar ile histopatolojik örtüşme ve tutarsız klinikopatolojik özellikler gösterebileceği için erken tanı zor olabilir. Erken MF'de, tipik klinik ve/veya histopatolojik özelliklerin çoğu izlenmeyebilir [45]. Bir çalışmada, Pautrier mikroabselerinin ve bazal tabakada sıralanma gösteren lenfositlerin erken MF olgularının %25'inden azında, atipik lenfositlerin %10'undan azında görüldüğü ve patognomonik olan epidermotropizmin bile olguların %4 kadarında bulunmayabileceği bildirilmiştir [56]. Bu nedenle tanı kriterlerini standartlaştırmak amacıyla, ISCL (The International Society for Cutaneous Lymphomas) tarafından 2005 yılında erken MF'in klinik, histopatolojik, immünopatolojik ve moleküler biyolojik özelliklerinden oluşan bir tanı algoritması geliştirilmiştir. 4 gruptan oluşan bu puanlama sisteminde, klinik ve histopatolojik gruplar ayrıca temel ve ek alt gruplara ayrılmıştır. MF tanısı için 6 puan üzerinden ≥ 4 puan gerekmekte olup, sadece klinik ve histopatolojik kriterlerle MF tanısı konabilirken, immünopatolojik ve moleküler biyolojik kriterler tek başına tanı için yeterli değildir [57]. Belirsiz olgularda ise yeni deri biyopsileri tanıya yardımcı olabilir [45].

Birçok hastalık klinik ve histopatolojik olarak MF'e benzemektedir. MF yama dönemini taklit eden deri hastalıklarındaki lezyonlar, hafif inflame, pullu makül ve yamalar şeklindedir. Allerjik kontakt dermatit veya numuler dermatit gibi spongiyotik dermatitler, liken planus veya likenoid ilaç erüpsiyonu gibi interfaz dermatitleri ve pitriazis rozea bu hastalıklar arasındadır [27].

Spongiyotik dermatitlerde, az lenfosit içeren yoğun spongiyoz alanları bulunur ve inflamasyon genellikle yüzeyel dermiste perivaskülerdir. Bazı olgularda hem dermiste hem de epidermiste eozinofiller vardır. Erken evre MF'de ise dermiste nadiren birkaç eozinofil izlenirken, epidermiste eozinofil bulunmaz. Spongiyotik dermatitlerde, epidermiste Langerhans hücreleri ve monositik öncüllerden oluşan hücre toplulukları bulunur. Bunlar MF'de atipik lenfositlerden oluşan Pautrier mikroabseleri ile karışabilir. Langerhans hücre topluluklarındaki hücreler soluk sitoplazmalı, böbrek şeklinde veziküler nükleusludur ve immünhistokimya (İHK) ile CD1a ve CD68 pozitiftir. Pautrier mikroabselerindeki hücreler ise dar sitoplazmalı,

koyu nükleusludur ve İHK ile CD3 pozitiftir. Ayrıca Pautrier mikroabseleri yuvarlak, Langerhans hücre toplulukları genellikle vazo silüetine benzer bir yapıya sahiptir [27].

İnterfaz dermatitleri, dermoepidermal bileşkenin lenfositler tarafından infiltre edildiği çeşitli hastalıklar grubudur. Histolojik olarak, retelerde tırtıklı görünüm, vakuoler değişlik ile birlikte epidermiste diskeratotik hücreler ve/veya papiller dermiste kolloid cisimler şeklinde keratinositlerde sitotoksik hasar bulguları görülür. Bu bulgular sıklıkla küçük odaklar şeklinde MF'de de izlenebildiğinden ve dermoepidermal bileşkede çok sayıda lenfosit içerdiğinden liken planus, likenoid ilaç erüpsiyonu, likenoid keratoz, yoğun inflamasyonlu lupus eritematozus lezyonları MF olarak yanlış tanı alabilir [27].

MF'e benzeyen diğer hastalıklar arasında psöriazis, yüzeyel mantar enfeksiyonları, fotodermatit, ilaç reaksiyonları, artropod ısırığı reaksiyonu, sekonder sifiliz, nodüler uyuz, aktinik retiküloid bulunmaktadır. Doğru tanı için klinik bulguların, histolojik ve immünfenotipik özelliklerin dikkatli değerlendirilmesi önemlidir [10, 52].

Yama döneminde ana ayırıcı tanılardan biri de klinik ve histolojik olarak MF ile benzerlik gösteren parapsöriazistir. İki ayrı tipi vardır: "Küçük plak" parapsöriazis (digitat dermatoz) ve "büyük plak" parapsöriazis. Plak parapsöriazis olarak adlandırılsalar da, lezyonlar aslında yamalar şeklindedir. İki tip arasındaki ayrım klinik ve histopatolojik korelasyona dayanmaktadır.

"Küçük plak" parapsöriaziste klinik olarak atrofi ve telenjiektazi göstermeyen, genellikle 2-6 cm çapında, bazen de daha uzun çaplı digitat paternli lezyonlar izlenir. Histolojik olarak, likenoid veya psöriaziform patern, küçük lenfositlerin ekzositozu, hafif spongiyoz gibi spesifik olmayan değişiklikler mevcuttur. MF olma potaysiyelinin olmadığı veya minimum olduğu kabul edilmektedir [44].

"Büyük plak" parapsöriaziste atrofik ve poikilodermatöz, çapı 6 cm'den büyük lezyonlar izlenir. Histolojik olarak "küçük plak" parapsöriazisine benzer, ancak MF'deki gibi serebriform nükleuslu hafif atipik lenfositlerin epidermotropizmi dikkati çeker. Büyük plak parapsöriazis olgularının %10-30'u MF'e ilerleyebildiği için, büyük plak parapsöriazis erken evre MF olarak kabul görmektedir [25, 44]

Plak döneminde klinik ayırıcı tanılar arasında enfeksiyöz dermatozlar ve çeşitli deri tümörleri gibi deriye infiltrasyon gösteren hastalıklar bulunur. Bu dönemde belirgin epidermotropizm ve Pautrier mikroabseleri gibi spesifik bulgular sayesinde histolojik tanı yama döneminden daha kolay olabilir [44]. Primer kutanöz γδ T hücreli lenfoma ve primer kutanöz CD8+ agresif epidermotropik sitotoksik T hücreli lenfoma gibi diğer epidermotropizm gösteren deri lenfomaları da ayırıcı tanılar arasındadır [2].

İleri evre hastalık belirgin atipi ve oldukça az epidemotropizm görülmesi nedeniyle deri tutulumu gösteren diğer T hücreli lenfomaların yanı sıra T hücresinden zengin B hücreli lenfomalardan da ayırt edilmelidir. Lenfomatoid papülozis ve primer kutanöz anaplastik büyük hücreli lenfoma gibi primer kutanöz CD30+ lenfoproliferatif hastalıklar da CD30+ BHD gösteren MF ile tanı güçlüğü oluşturur. Histolojik olarak lenfomatoid papülozis tip B, MF'e benzer küçük-orta boyutlu hücrelerin oluşturduğu bant benzeri infiltrasyon ve epidermotropizm; tip D ise lokalize pagetoid retikülozise benzer belirgin epidermotropizm gösterir [10]. Tanımı gereği, primer kutanöz anaplastik büyük hücreli lenfomada CD30, neoplastik hücrelerin >%75'inde ifade edilir [2]. MF'de ise CD30 ifadesi olguların % 30-50'sinde görülür ve infiltrasyonun %75'inden azı bu antijeni ifade eder [20]. Bu iki hastalığın ayrımında önemli klinik özelliklere ek olarak, son zamanlarda primer kutanöz anaplastik büyük hücreli lenfoma olgularının yaklaşık %20'sinde spesifik IRF4 (Interferon regulatory factor 4) tanslokasyonu tanımlanmıştır [58].

2.4.2.11 Evreleme

MF ve SS için 2007 yılında ISCL/EORTC tarafından güncellenen evreleme ve sınıflama sistemi kullanılmaktadır [59]. 2017 AJCC (American Joint Committee on Cancer) Kanser Evreleme Kılavuzu ve 2018 Deri Tümörleri DSÖ Sınıflamasında da bu sistem kullanılmaya devam etmektedir. Klinik evre, MF/SS'de tedavi yaklaşımı açısından yararlıdır ve en önemli prognostik faktördür [60].

ISCL/EORTC tarafından güncellenen TNMB sınıflaması Tablo 2.2, Tablo 2.3, Tablo 2.4 ve Tablo 2.5'te, evreleme Tablo 2.6'da bulunmaktadır.

Tablo 2.2. MF/SS ISCL/EORTC Primer Tümör Sınıflaması (T)

T Kategorisi		T Kriterleri
T1		Deri yüzeyinin <%10'unu kaplayan sınırlı yamalar, papüller ve/veya plaklar
	T1a	T1a (Sadece yama)
	T1b	T1b (Plak ± yama)
T2		Deri yüzeyinin ≥%10'unu kaplayan yamalar, papüller veya plaklar
	T2a	T2a (Sadece yama)
	T2b	T2b (Plak ± yama)
T3		Bir veya daha fazla tümör (≥1 cm çapında)
T4		Vücut yüzeyinin ≥%80'ini kaplayan birbirleriyle birleşen eritem

Tablo 2.3. MF/SS ISCL/EORTC Bölgesel Lenf Nodu Sınıflaması (N)

N kategorisi	N Kriterleri
Nx	Klinik olarak anormal periferik lenf nodu; histolojik kanıt yok
N0	Klinik olarak anormal periferik lenf nodu yok; biyopsi gerekli değil
N1	Klinik olarak anormal periferik lenf nodları histopatoloji Dutch grade 1 veya NCI LN0-2
N1a	Klon negatif *
N1b	Klon pozitif *
N2	Klinik olarak anormal periferik lenf nodları; histopatoloji Dutch grade 2 veya NCI LN3
N2a	Klon negatif *
N2b	Klon pozitif *
N3	Klinik olarak anormal periferik lenf nodları; histopatoloji Dutch grade 3-4 veya NCI LN4; klon pozitif veya negatif

* T hücre klonu, TCR geninin PCR veya Southern blot analizi ile tanımlanır.

Tablo 2.4. MF/ SS ISCL/EORTC Uzak Metastaz Sınıflaması (M)

M Kategorisi	M Kriterleri
M0	Viseral organ tutulumu yok
M1	Viseral tutulumu (Patoloji kanıtı olmalı ve tutulan organ belirtilmeli)

* T hücre klonu, TCR geninin PCR veya Southern blot analizi ile tanımlanır.

Tablo 2.5. MF/SS ISCL/EORTC Periferik Kan Tutulumu Sınıflaması (B)

B Kategorisi	B Kriterleri
B0	Kayda değer kan tutulumu yok: Periferik kandaki lenfositlerin ≤%5'i atipik (Sezary) hücresi
B0a	Klon negatif *
B0b	Klon pozitif *
B1	Kanda düşük tümör yükü: Periferik kandaki lenfositlerin >%5'i atipik (Sezary) hücresi, ancak B2 kriterlerini karşılamayan
B1a	Klon negatif *
B1b	Klon pozitif *
B2	Kanda yüksek tümör yükü: ≥1,000 /µL Sezary hücresi * pozitif klon * ile birlikte

* T hücre klonu, TCR geninin PCR veya Southern blot analizi ile tanımlanır.

Tablo 2.6. MF/SS ISCL/EORTC Evrelemesi (TNMB)

T Kategorisi	N Kategorisi	M Kategorisi	B Kategorisi	Klinik Evre
T1	N0	M0	B0,B1	IA
T2	N0	M0	B0,B1	IB
T1,T2	N1,N2	M0	B0,B1	IIA
T3	N0,N1,N2	M0	B0,B1	IIB
T4	N0,N1,N2	M0	B0,B1	III
T4	N0,N1,N2	M0	B0	IIIA
T4	N0,N1,N2	M0	B1	IIIB
Herhangi T	N0,N1,N2	M0	B2	IVA1
Herhangi T	N3	M0	Herhangi B	IVA2
Herhangi T	N0,N1,N2,N3	M1	Herhangi B	IVB

2.4.2.12 Prognostik Faktörler ve Klinik Seyir

2.4.2.12.1 Evrelemede Prognostik Faktörler

Tümör (T): T evresi, lezyonların yaygınlığına ve tipine (yama, plak, tümör veya eritrodermi) göre klinik olarak belirlenir. ISCL/EORTC'a göre, yama belirgin bir kabarıklık veya sertlik içermeyen herhangi boyutta deri lezyonu; plak kabarık veya sertleşmiş herhangi boyutta deri lezyonu; tümör ise derinlik ve/veya dikey büyüme kanıtı olan en az bir 1 cm çapında solid veya nodüler lezyon olarak tanımlanmıştır. Hipo veya hiperpigmentasyon, pullunma, kabuklanma ve/veya poikiloderma varlığı/yokluğu ile tümör lezyonlarının sayısının, toplam hacminin, en büyük boyutlu lezyonun ve vücudun tutulan bölgesinin de belirtilmesi önerilmektedir [59].

T evresi 4'e (T1-T4) ayrılır. Evre T1, deri yüzeyinin %10'undan daha azını kaplayan sınırlı yamalar, papüller ve/veya plaklar şeklindedir, sağkalım aynı yaştaki hastalıksız bireylerden farklı değildir. Deri yüzeyinin ≥%10'u kaplayan yamalar, papüller veya plakları olan evre T2 hastalarda sağkalım 10-12 yıl ve hastalık ilerleme riski %25 olarak bulunmuştur. ≥1 cm çapında bir veya daha fazla tümörü olan evre T3, vücut yüzeyinin ≥%80'ini kaplayan birbirleriyle birleşen eritemi olan evre T4 hastaların ise sağkalımları 4-5 yıldır [20]. Bir çalışmada, sadece yama lezyonu olan hastalarda, yama ve plak lezyonları olan hastalara göre sağkalımın daha iyi ve hastalık ilerlemesinin daha az olduğu saptanmıştır [61]. Ancak, T1 ve T2 evreleri yama ve/veya plak lezyonlara göre alt kategorilere (T1a/b ve T2a/b) ayrılmalarına rağmen, bu alt kategoriler evreyi belirlemek için kullanılmaz. Tümör varlığı (T3) evre IIB'dir ve ileri evre hastalık olarak kabul edilir [60]. Tümör varlığı ile evre değiştiği için plak ve tümör lezyonlarını birbirinden ayırt etmek oldukça önemlidir. Ancak bunun için minimum bir histolojik infiltrasyon derinliği henüz belirlenmemiştir. Eritrodermi varlığı (T4) ise evre III olarak sınıflandırılır [59]. Çalışmalarda, T3 ve T4 evreleri arasında prognozla ilgili farklı sonuçlar bulunmuştur [62-66]. Evreleme amacıyla en yüksek T evresi kullanılsa da, tümörün ve eritroderminin aynı anda var olduğu olgularda her iki T evresinin de belirtilmesi önerilmektedir [59].

Lenf Nodu (N): N evresi, periferik lenf nodlarının klinik ve histopatolojik özelliklerine göre 5'e (N0-N3, Nx) ayrılır. ISCL/EORTC'a göre, anormal periferik lenf nodu fizik muayenede, sert, düzensiz, kümelenmiş, sabit veya uzun çapı ≥1,5 cm

olan, ele gelen herhangi bir lenf nodudur. Biyopsinin sadece bu şüpheli nodlardan yapılması önerilir. Fizik muayenede servikal, supraklaviküler, epitroklear, aksiller ve inguinal lenf nodu grupları incelenir. Histopatolojik olarak MF/SS'deki lenf nodları NCI/VA sınıflama sistemi (LN0-4) veya Dutch sistemi (Derece 1-4) ile derecelendirilir. Bu sınıflama sistemleri anormal lenfositleri tanımlama ve derecelendirme için farklı kriterler kullanır [59].

Evre IIA'da dermatopatik lenf nodları (N1) bulunur. Erken evre hastalık olmasına rağmen evre IIA'nın, evre I'e göre göreceli olarak daha yüksek ölüm riski taşıdığı bulunmuştur [61]. Lenf nodlarının kısmen veya tamamen tutulumunun olduğu N3 ise evre IVA2 olarak değerlendirilir.

N1 ve N2 evreleri, PCR veya Southern blot analizi ile bakılan T hücre klon durumuna göre "klon negatif" (N1a/N2a) ve "klon pozitif" (N1b/N2b) olarak 2 alt gruba ayrılır [59]. Southern blot analizi ile klonalite saptanan hastalarda, saptanmayanlara göre daha kötü klinik seyrin ve düşük sağkalımın olduğu gözlenmiştir. TCR gen analizinin histolojik olarak orta derece tutulan lenf nodları bulunan MF hastalarında prognoz öngörüsüne yardımcı olabileceği düşünülmüştür [67].

Klinik olarak anormal bir lenf noduna her zaman biyopsi yapılamadığından, bu gruptaki hastaları da değerlendirebilmek için ISCL/EORTC güncel sınıflamasında Nx kategorisi eklenmiştir [59].

Metastaz (M): M evresi, visseral tutulumun varlığı/yokluğuna göre değerlendirilir. Deri, lenf nodu veya kan dışında bir organın tutulumunun kanıtlanması visseral tutulum (evre IVB) olarak kabul edilir. ISCL/EORTC'a göre belli özellikler gösteriyorsa görüntüleme yöntemleri ile dalak ve karaciğer tutulumu tanısı verilebilir. Radyolojik olarak görülen visseral anormallikler, MF'de enfeksiyöz bir sürece veya ikincil maligniteye de ait olabilir. Bu nedenle, dalak ve karaciğer dışında diğer organ tutulumlarını visseral tutulum olarak kabul etmek için patolojik değerlendirilme önerilir [59]. Visseral tutulum, 1-2 yıllık bir sağkalım ile oldukça kötü prognoza sahiptir [61].

Periferik Kan Tutulumu (B): B evresi, periferik kanda tümör yüküne (atipik-Sezary hücre sayısının lenfositlere oranı) göre 3'e (B0-B2) ayrılır. Sezary hücreleri oldukça kıvrımlı nükleusu olan lenfositler olarak tanımlanmıştır [59]. MF'de %20'den fazla atipik lenfositle (Sezary hücresi) periferik kan tutulumunun T veya N evresinden bağımsız prognostik öneme sahip olduğu gösterilmiştir [66, 68].

Tek başına neoplastik hücrelerin morfolojik özelliklerine dayanarak kan tümör yükünün değerlendirilmesi subjektiftir. Bu hücreleri saptamak için TCR gen yeniden düzenlemesi ve akım sitometri alternatif yöntemlerdir. Neoplastik T hücrelerinde CD3, CD4, CD7 ve CD26 gibi belirteçlerin ifade değişikliği tanıya yardımcı olabilir [59]. MF hastalarında, T evresinden bağımsız olarak periferik kanda deri ile aynı klonun varlığı kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur [69].

B0 evresinde, Sezary hücreleri periferik kandaki lenfositlerin %5'ini veya daha azını oluşturur ve anlamlı periferik kan tutulumu yoktur. Düşük tümör yükünün olduğu B1 evresi, kanda %5'ten fazla, ancak 1000/μL'den az Sezary hücresi varlığı ve/veya klonal TCR düzenlenmesinin olmaması ile tanımlanır. Yüksek tümör yükünün olduğu B2 evresinde ise kanda klonal TCR gen düzenlenmesi veya ≥1000 μL Sezary hücresi varlığı bulunur. B2 evresi için tümör yükünü belirlemede Sezary hücreleri kullanılamıyorsa, klonal TCR gen yeniden düzenlenmesi bulunması ile birlikte modifiye edilmiş şu ISCL kriterlerinden biri kullanılabilir: (1) CD4 / CD8 oranı ≥10 olan yaygın CD4+ veya CD3+ hücreler, (2) CD7 veya CD26 kaybı içeren anormal immünfenotipli yaygın CD4+ hücreler. [59].

2.4.2.12.2 Evreleme Dışı Histolojik Prognostik Faktörler

Büyük Pautrier mikroabselerinin (≥10 atipik lenfosit) ve dermal infiltrasyonda hiperkromatik veya veziküler nükleusa sahip atipik lenfositlerin varlığı erken lezyonlarda hastalığın ilerlemesi ile ilişkilendirilmiştir [70].

Büyük hücre dönüşümü, kötü prognoz ve agresif bir klinik seyir ile ilişkili bulunmuştur [61, 62, 71, 72]. BHD gösteren MF'de ana prognostik faktörün, hastalığın başlangıç sırasındaki evresi olduğu gösterilmiş, evre IIB-IV hastaların kötü prognozlu olduğu saptanmıştır [73]. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada ise, BHD gösteren ancak yavaş bir klinik seyre sahip bir MF hasta grubu bildirilmiş; ilk tanı sırasında

BHD olan ve olmayan tümör evresi (evre IIB) hastalar arasında sağkalımda anlamlı bir fark bulunmamıştır [74].

CD30, BHD göstermeyen MF olgularında da pozitif olarak izlenebildiğinden, BHD tanısı için pozitifliği şart değildir. CD30 pozitifliğinin kötü bir prognostik faktör olarak bulunduğu çalışmalar [75] yanı sıra, kuvvetli ifadesinin iyi prognozla ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar da vardır [73, 74].

MF'de CD8+ sitotoksik immünfenotipin de prognostik önemi vardır. CD8 pozitifliği yavaş bir klinik seyir ile ilişkili olmakla birlikte, bu immünfenotip zaten iyi prognoza sahip olan genç hastalarda ve poikiloderma gösteren hastalarda daha sık görülür [76].

Mikroçevrede bulunan FOXP3+ Treg hücrelerinin prognozu etkileyebileceği gösterilmiştir [37]. Mikroçevredeki inflamatuar hücreler arasında FOXP3+ Treg hücreleri dışında, tümörü infiltre eden CD8+ T hücrelerinin erken evre MF'de daha çok bulunduğu, yüksek sağkalım oranıyla ilişkili olduğu ve antitümör etkisi gösterebileceği bildirilmiştir [77]. KTHL olan hastaların lezyonlu derisinde CD163+ hücrelerin normale göre daha fazla olduğu ve hastalık ilerlemesi ile ilişkili olduğu da bildirilmiştir [78].

2.4.2.12.3 Klinik Prognostik Faktörler

İleri yaş ve erkek cinsiyetin kötü prognozla ilişkili olduğu bildirilmiştir [66].

Folikülotropik MF, genellikle plak lezyonları şeklinde olması nedeniyle T1 veya T2 olarak evrelendirilir. Ancak infiltrasyon kıl folikülleri boyunca daha derin yerleşimli olduğu için prognoz evreye göre beklenenden daha kötüdür [79]. Evre IA/IB folikülotropik MF'li hastalarda 5 yıllık sağkalım tümör dönemindeki hastalara benzer, 10 yıllık sağkalım ise bu hastalardan daha kötü olarak saptanmıştır [80]. Son yıllardaki bazı çalışmalarda ise folikülotropik MF'in erken lezyonlarının aynı evredeki klasik MF ile benzer prognoza sahip olduğu bildirilmiştir [81].

Genellikle yama lezyonlar ile ortaya çıkan poikilodermatöz MF ve hipopigmente MF'de sağkalım yüksektir [55, 61]. İlk tedaviye tam yanıt gelişimi de, özellikle erken evre hastalıkta daha iyi bir prognozu yansıtır [70].

2.4.2.12.4 Klinik biyolojik faktörler

Yüksek laktat dehidrogenaz (LDH) ve β2-mikroglobulin seviyeleri kötü klinik seyrin göstergesidir [62, 64]

Hastaların %20'sinde tanı sırasında kanda eozinofili (deride Th2 immünfenotipinin göstergesi) olabilir ve kötü prognozu yansıtan bir belirteçtir [82].

İnterlökin-2 reseptörünün çözünür alfa zincirinin (sIL-2R) serum konsantrasyonu, T evresi ile birlikte arttığı için prognozu öngörmede iyi bir belirteç olabileceği düşünülmüştür [83].

2.4.2.13 Mikozis Fungoides Gelişimi ve İlerlemesinde Epigenetik Mekanizmalar

MF oluşumu ve ilerleyişini açıklamada, sadece genetik ve fenotipik değişiklikler yeterli olmadığı için etkili olabilecek mekanizmalarla ilgili yeni araştırmalar yapılmaktadır. Tanı için kullanılan yöntemlerin bazı durumlarda yetersiz kalması, yeni tanı yollarının araştırılmasına öncülük etmiştir [4]. Ayrıca tanı anında, ilerleyebilecek potansiyele sahip, agresif tedaviye ihtiyacı olabilecek hastaları da tahmin etmek imkansızdır [84]. Son yıllarda, MF'in de bulunduğu bazı kutanöz T hücreli lenfomalarda moleküler özelliklerin saptanmasında büyük adımlar atılmıştır. Çalışmalarda KTHL'larda yapısal genetik değişikliklere ek olarak, başka kanserlerin patogenezinde de rol oynayan epigenetik değişiklikler bulunmuş, bu mekanizmanın MF'in oluşumu ve ilerlemesinde de etkili olduğu iddia edilmiştir [85].

DNA dizisinde herhangi bir değişiklik olmadan gen ifadesinde kalıtsal değişikliklere yol açan epigenetik mekanizmalar arasında miRNA'lar da bulunur. Genellikle 21-22 nükleotid uzunluğunda, küçük protein kodlamayan RNA molekülleri olan miRNA'lar, mRNA'yı veya hedeflenen gen transkriptlerini etkileyerek protein sentezini baskılar ve bu yolla gen ifadesini düzenler. Hedef genlerine bağlı olarak onkogenik veya tümör baskılayıcı özellikler gösterebilen miRNA'lar; hücre büyümesi, çoğalması, farklılaşması ve apopitoz gibi farklı birçok biyolojik süreçte yer alır.

MF patogenezinde yer alan epigenetik değişikliklerden birinin de, miRNA'lar ve bunlarla ilişkili hücre içi sinyal yolaklarındaki bozukluklar olduğu saptanmıştır.

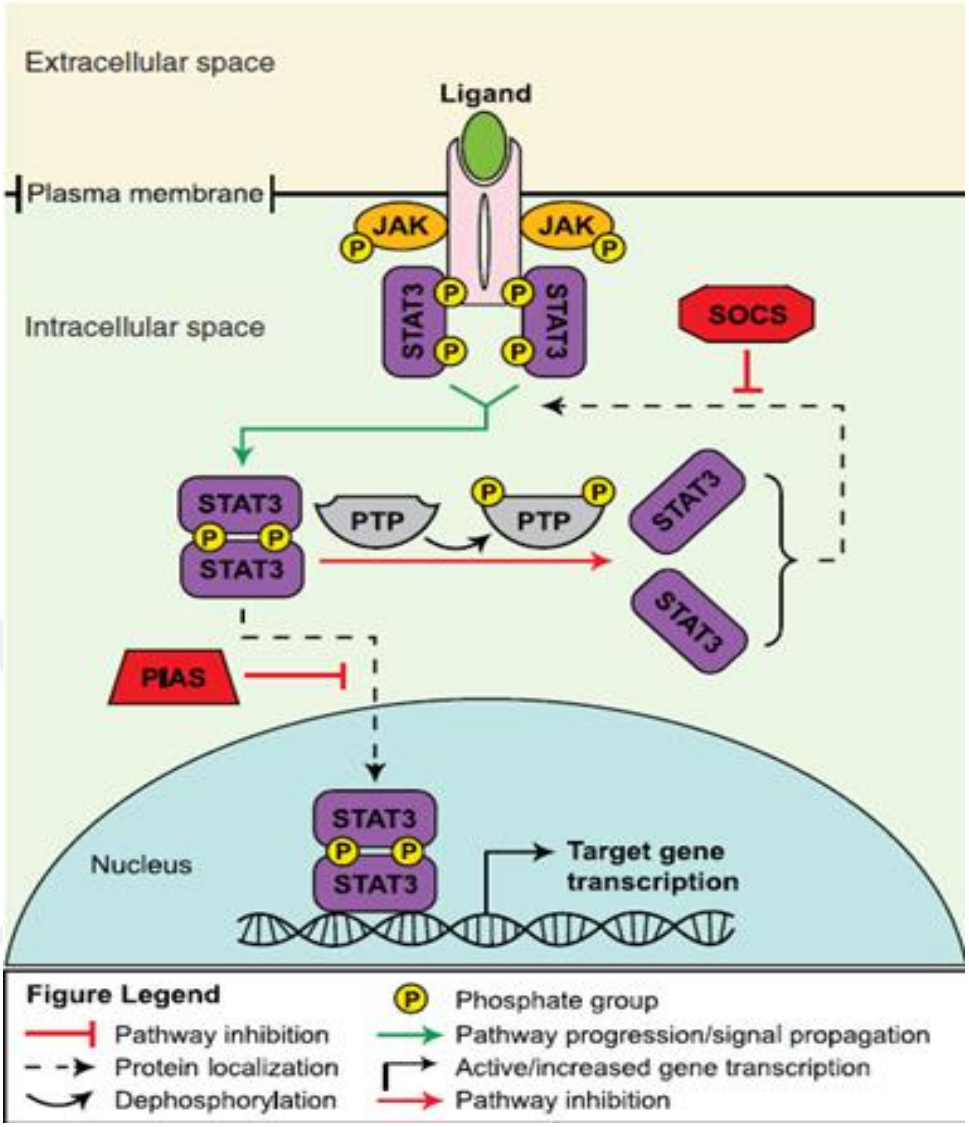
MF'de patogenetik rolü olduğu düşünülen bu farklı miRNA düzensizliklerinin araştırılması ve etki mekanizmalarının anlaşılması, miRNA'ların prognostik belirteçler olarak kullanılmasına ve hedefe yönelik daha etkili moleküler tedavilerin bulunmasına olanak sağlayabilir [4].

2.4.2.14 Çalışmamızda MF Gelişiminde Rolü Araştırılan Epigenetik Mekanizmalarla İlişkili Hücre İçi Sinyal Yolakları Molekülleri

Hücrelerin, başka hücreler veya kendileri tarafından üretilen sinyallere yanıt vermesi ile hücresel düzeyde sinyal iletimi sağlanır. Sinyal iletim yolakları hücrenin çevre ile iletişim kurmasını sağlayarak hücre döngüsü, çoğalma, farklılaşma ve apopitoz gibi birçok hücresel süreci kontrol eder. Bu süreçleri kimyasal etkileşimler ile belirli genlerin transkripsiyonunu başlatarak veya baskılayarak aktifleştirebilir veya etkisizleştirebilir [14, 21]. Birçok sinyal ve düzenleyici moleküller ile kontrol edilen bu yolaklar birbirleri arasında çapraz iletişimi kolaylaştıran iç içe geçmiş sinyal ağları oluşturur. Bu yolakların birçoğu kanserlerde anormal şekilde aktive edilir veya baskılanır [86].

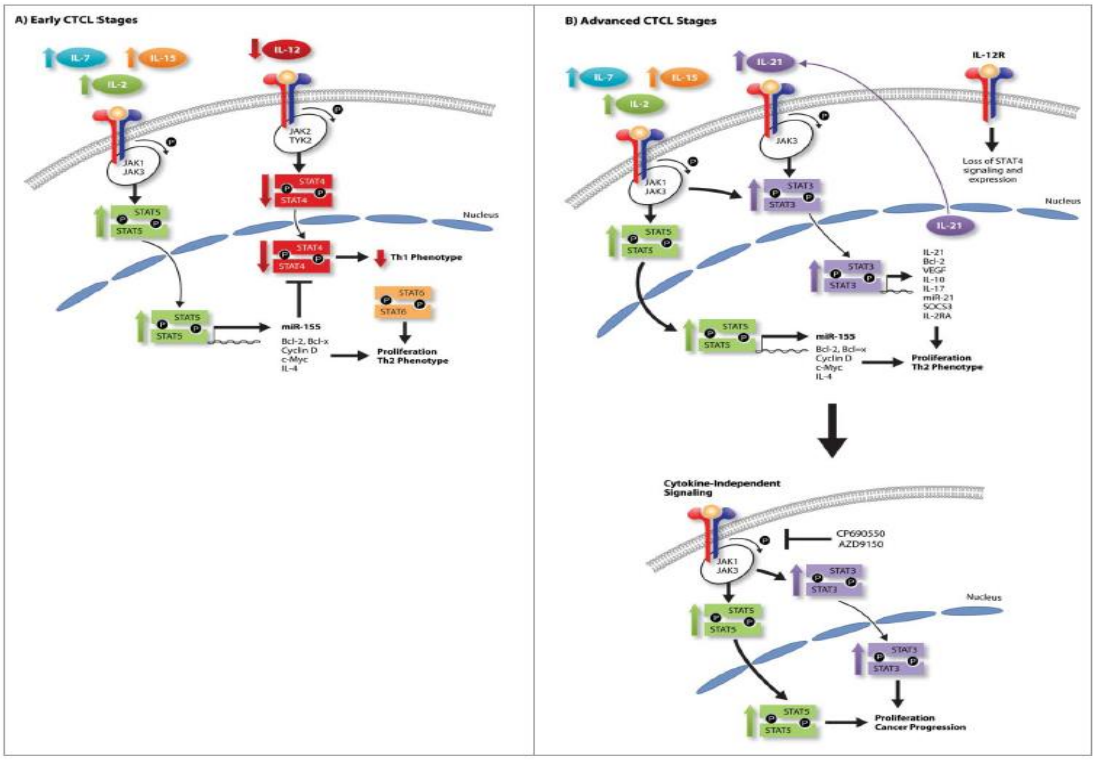
2.4.2.14.1 p-STAT3

JAK/STAT yolağı, 7 üyeli STAT (STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5a, STAT5b ve STAT6) ve 4 üyeli pek çok sitokin ve büyüme faktörü ile ilişkili tirozin kinaz olarak bilinen JAK (JAK1-3, TYK2) ailesinden oluşur. Bu yolağı oluşturan kinazlar ve transkripsiyon faktörleri, bağışıklık ve sinir sistemi gibi bazı dokularda sinyal molekülleri olarak hücresel fonksiyonları düzenler. Bu yolak, birçok farklı sitokin ve büyüme faktörü ile aktive edilebilir. Sitokin aktivasyonundan sonra reseptörlerin dimerizasyonu ile JAK'ların çapraz fosforilasyonu uyarılır ve reseptör ilişkili JAK aktive olur. JAK'lar tarafından fosforile edilen STAT'lar dimerize olarak nükleusa geçiş yapar ve hücrenin normal fizyolojik işleyişi için gerekli olan önemli genlerin ifadesini düzenler [86] (Şekil 2.2). STAT'a bağlı hedef genler, hücresel büyüme, sağkalım, farklılaşmanın düzenlenmesi, apopitoz ve konak savunması gibi çeşitli hücre fonksiyonlarını etkiler [21].



Şekil 2.2. JAK/STAT sinyal yolağı [86]

STAT sinyal yolağındaki bozukluklar, çeşitli kanserler yanı sıra MF'in de içinde bulunduğu KTHL'ların patogenezinde gösterilmiştir. Bu yolaktaki bozukluklardan biri de KTHL'ların ileri evresinde izlenen STAT3'ün yapısal aktivasyonudur [87] (Şekil 2.3). STAT aktivasyonu, normal hücrelerde dakikalardan saate kadar süren geçici bir süreçtir. Buna karşılık, kalıcı STAT aktivasyonu onkogenezle ilişkilendirilmiştir [21]. Yapısal olarak aktif STAT3 malign T hücrelerinde hayatta kalmayı ve apopitoza karşı direnci artırabilir, Th2 ve Th17 fenotiplere dönüşümü sağlayabilir ve eozinofili ile ilişkili sitokinleri indükleyebilir [87].



Şekil 2.3. KTHL'larda STAT sinyal değişiklikleri [87]

STAT3'ün MF patogenezinde immünhistokimyasal yöntemle rolünü araştıran birkaç çalışma bulunmaktadır. Bunların ilki olan Sommer ve ark.'nın çalışmasında (2004), STAT3'ün yapısal olarak aktive edilen bir formu olan p-STAT3'ün in vitro kontrolsüz hücresel büyümeyi uyardığı, in vivo olarak da bir onkogen olarak işlev gördüğü ve apopitozu önlediği saptanmıştır. Bu nedenle STAT3 aktivasyon kontrolünün önemli olduğu belirtilmiştir. p-STAT3 ifadesinin MF tümör lezyonlarında arttığını, ancak yama ve plak lezyonlarında (özellikle Pautrier mikroabselerinde) olmadığını ve STAT3'ün aktivasyonunun, hastalığın ilerleme sürecine geçişi gösteren bir belirteç olarak kullanılabileceğini söylemişlerdir. Bu nedenle, STAT3'ün, bir JAK inhibitörü tarafından aktivasyonunun baskılanması ile MF hücrelerinde apopitozu tetikleyerek, özellikle hastalığın daha ileri evresinde, yeni bir tedavi hedefi olabileceğini ileri sürmüşlerdir [5].

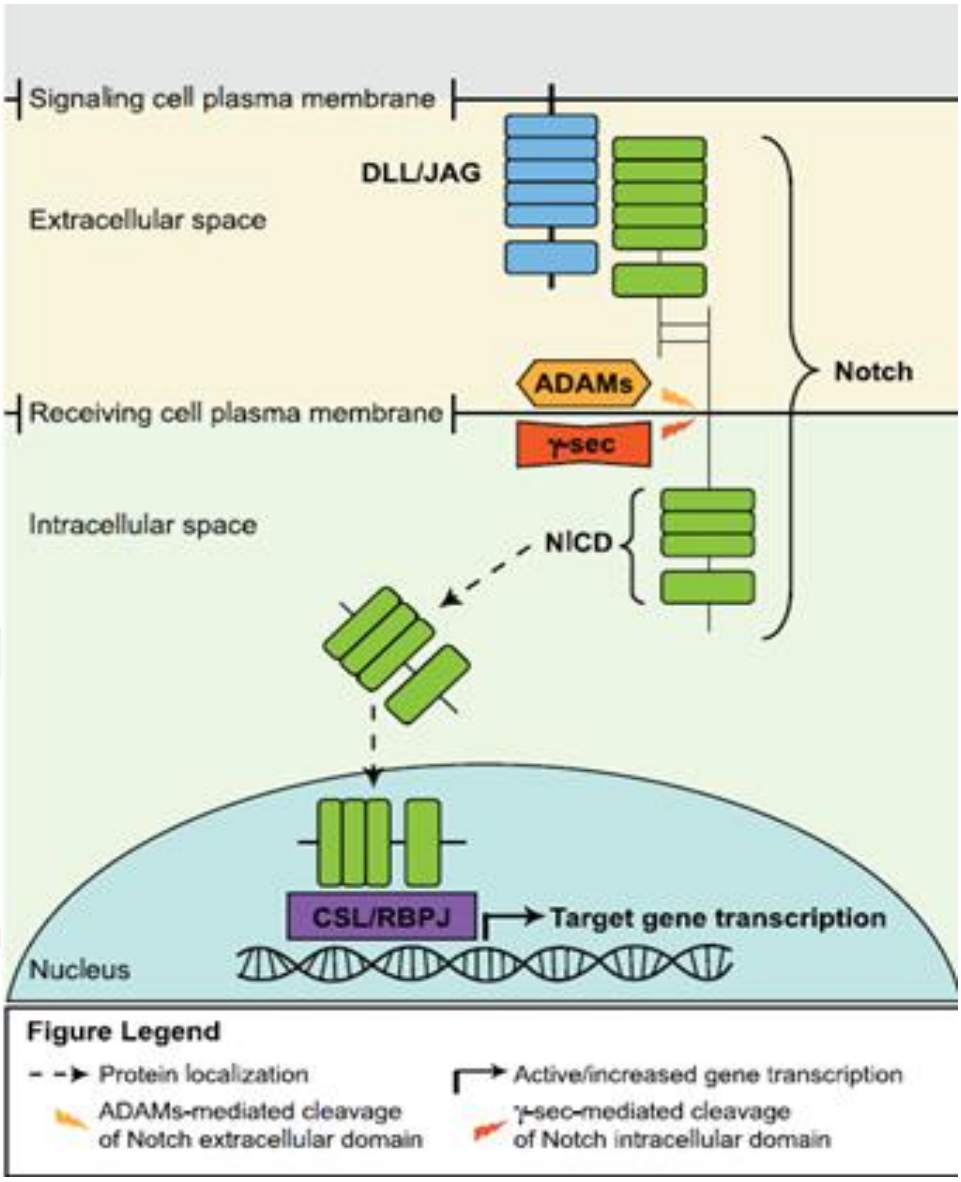
Bununla birlikte literatürde p-STAT3 ifadesinin hastalık evresi ve klinik evre ile ilişkili olmadığını gösteren bir çalışma da bulunmaktadır [3].

STAT3'ün yapısal aktivasyonunun çeşitli sitokinlere veya JAK'ların sitokinden bağımsız aktivasyonuna bağlı olabileceği gibi, çeşitli miRNA'ların ifadesiyle de etkilenebileceği gösterilmiştir. MF oluşumu ve ilerlemesinde epigenetik değişikliklerin etkili olduğunu belirten Rebeca Manso ve arkadaşlarının çalışmasında (2018); miRNA-146a'nın ileri MF evrelerinde artmış olduğu saptanmış ve bu durumun gen ifadeleri üzerinden JAK/STAT sinyal yolağında etkili olduğu gösterilmiştir. MiRNA-146a'nın, hastalığın ilerlemesiyle STAT1'i baskılayarak STAT3'ün aşırı ifadesine yol açtığı saptanmıştır. Bir onkogen olarak kabul edilen STAT3'ün tümoral evre MF örneklerinde aşırı ifade edildiği gösterilmiştir. Bu nedenle, JAK/STAT sinyal yolağı veya miRNA146a inhibitörlerinin neoplastik T hücre apopitozuna yol açarak alternatif bir hedefe yönelik tedavi yöntemi olarak kullanılabileceğini öngörmüşlerdir [4, 87].

2.4.2.14.2 Notch1

Notch, 5 ligand (DLL1, DLL3, DLL4, JAG1, JAG2) ve 4 reseptörden (Notch1-4) oluşan transmembran reseptörleri ailesidir. Embriyonik gelişim, doku homeostazisi, hücre farklılaşması ve hayatta kalma ile ilgili genlerin transkripsiyonunu düzenler [88].

Notch yolağı, bir hücrede ifade edilen ligand, bitişik bir hücrede bulunan bir reseptöre bağlandığında aktive edilir. Bu etkileşim, önce ADAM (A disintegrin and metalloproteinase), sonra gama-sekretaz aracılığı ile reseptörün sitoplazmik domaininin proteolitik bölünmesini başlatır. Reseptör intrasellüler ve ekstrasellüler olarak ikiye bölünür. NICD (Notch intracellular domain) sitoplazmaya salgılanır, buradan çekirdeğe transloke olur ve CSL/RBPJ transkripsiyon faktörüne bağlanarak HES (Hairy/enhancer of split) ve HEY (Hairy/enhancer-of-split related with YRPW motif protein) gibi hedef genlerin transkripsiyonunu aktive eder (Şekil 2.4). Notch sinyallerinin deri, hematopoetik sistem, barsak ve iskelet kası sistemindeki kök ve progenitör hücre fonksiyonlarını etkilediği gösterilmiştir.



Şekil 2.4. Notch sinyal yolağı [86]

Notch sinyali, içeriğe bağlı olarak farklı dokularda bir tümör başlatıcı veya baskılayıcı olarak görev yapabilir. Bu yolağın, meme, kolon, pankreas ve akciğer gibi birçok solid kanserde tümör hücrelerinin özelliklerini düzenlediği gösterilmiştir [86].

Solid kanserler yanı sıra, Notch sinyal yolağının akut miyeloid lösemi, Hodgkin lenfoma ve nodal anaplastik büyük hücreli lenfoma gibi bazı hematolojik malignitelerin patogenezinde de rol oynadığı gösterilmiştir [89, 90].

Notchl'in normal T hücresi gelişimindeki rolü, malign T hücresi büyümesi ve hayatta kalması üzerine etkisi göz önüne alınarak KTHL'ların patogenezinde bu yolak

araştırılmaya başlanmıştır [6]. T hücreli akut lenfoblastik lösemideki saptanmış olan kromozomal translokasyonlar veya spesifik mutasyonlar gibi genetik değişiklikler KTHL'larda bulunamamıştır. KTHL'lar gibi Notch genomik anormallikleri bulunmayan bazı tümörlerde Notch sinyal yolağını aktive eden epigenetik mekanizmalar tanımlanmıştır ve miRNA'lar bunlardan biridir [88].

Rebeca Manso ve arkadaşlarının çalışmasında (2018), ileri evre MF'lerde artmış olarak bulunan MiRNA-181a'nın, Notch sinyal yolağı üzerinde etkili olduğu ve bu yolağın negatif düzenleyicilerini baskılayarak Notch1 aşırı ifadesine yol açtığı görülmüştür. Tümöral evre MF olgularında daha fazla ifade edilen Notch1 ve miRNA-181a'nın çoğalmanın desteklenmesinde ve apopitozun baskılanmasında rolü olabileceğini ve bunların potansiyel bir tedavi hedefi olabileceğini belirtmişlerdir [4].

Başka bir çalışmada ise özellikle daha ileri evrelerde tümör hücrelerinde Notch1'in ifadesinin arttığı ve Notch ifadesinin evre ile korele olduğu gösterilmiştir. Ayrıca bu çalışmada, Notch tarafından aktivitesi kontrol edilen NK-κB'nin inhibitörleri ve gama sekretaz inhibitörleri (GSI) tarafından Notch ifadesinin baskılanabileceği ve apopitozun tetiklenebileceği hücre kültürleri ile kanıtlanmıştır. Böylece KTHL'larda, Notch inhibitörlerinin yeni bir tedavi seçeneği olabileceği ifade edilmiştir [6].

Levidou ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada da (2013), Notch1'in tümöral dönemde plak lezyonlara göre daha fazla ifade edildiği gösterilmiş, klinik evre ile ilişkili olduğu ve lenfoma gelişiminde rol oynadığı düşüncesi desteklenmiştir. Notch1'in MF'de daha saldırgan bir fenotipe geçişi gösterdiği ve ileri evre hastalıkta potansiyel prognostik belirteç olabileceği belirtilmiştir [3].

2.4.2.15 Fenotipik Değişikliklerin MF Gelişimine Etkisi ve FOXP3 İfadesi

MF hücrelerinin fenotipik olarak foliküler yardımcı T hücre, Th1, Th2 ve Th17 hücreleri gibi farklı normal T hücre gruplarının özelliklerini gösterebileceği, bu özelliklerin de TCR sinyalini düzenleyen yolaklardaki genetik değişiklikler ve bazı çevresel değişikliklerin bir sonucu olabileceği belirtilmiştir. Farklı tedavi seçenekleri açısından bu özelliklerin patogenezdeki yerini anlayabilmek önemlidir [4].

Erken evre MF'de T lenfositler Th1 fenotipindedir. Bu immünfenotipe özgü (IL-2 ve IL-12) salgılanan proinflamatuar sitokinler, erken evredeki inflamatuar infiltrasyon ile ekzematöz görünümün nedeni olabilir. İleri evrede ise Th2 immünofentipine özgü (IL-4,IL-5,IL-10 ve IL-13) sitokinlerin üretimi artar [28, 43] . Th2 ile ilişkili sitokinlerin üretimi, konakçının tümöre karşı bağışıklık yanıtının baskılanmasına neden olabilir; kısmen enfeksiyon ve ikinci malignite riskinin artışında rol oynayabilir [20].

Malign T hücrelerinin bağışıklık sistemi kontrolünden kaçışına olanak sağlayan ve patogenezle ilişkili olabilecek mekanizmalardan birinin de malign hücrelerin bağışıklık yanıtı baskılama özelliğine sahip Treg hücrelere benzer özellikler içermesi olduğu öne sürülmüştür. Malign hücrelerin bu fenotipi edinmesi, tümör hücresine spesifik antijenlere karşı yanıtın baskılanması ile kanser gelişiminde rol oynayabilir [91].

CD4+ ve CD25+ (IL-2 reseptörü) Treg hücreleri tarafından ifade edilen FOXP3, X kromozomu üzerinde kodlanan FOX transkripsiyon faktörleri ailesinin bir üyesidir. Son zamanlarda FOXP3'ün, Treg hücreleri dışında diğer lenfoid ve myeloid hücrelerde de ifadesi saptanmıştır. Normal epitel hücreleri yanı sıra epitelyal tümör hücrelerinde de ifadesi ile bazı hematolojik olmayan kanserlerde, tümör baskılayıcı gen ya da onkogen olarak rol oynayabileceği gösterilmiştir [92, 93]. Normal meme ve prostat epitel hücrelerinde bulanan FOXP3'ün, meme ve prostat kanserlerinde ifadesinin azalması ile tümör büyümesinde ve metastazında rol oynayan bazı onkogenleri düzenlediği ve kanser gelişimini tetiklediği öne sürülmüştür [94]. Bazı çalışmalarda ise FOXP3, meme, pankreas kanseri ve melanomdaki tümör hücrelerinde yüksek oranda ifade edilmiştir. Böylece malign hücreler tarafından immün sistemden kaçma amacıyla kullanılan FOXP3'ün kanser patogenezinde rol oynayabileceği düşünülmüştür. Ancak bazı çalışmalarda ise lenfoid olmayan hücrelerde FOXP3 ifadesi kanıtı bulunamamıştır [92].

Baskılayıcı işlev göstermeyen aktif veya dolaşan bir grup CD4+ T hücrelerinin ve immün baskılayıcı özelliğe sahip bazı CD8+ T hücre gruplarının da FOXP3'ü ifade ettiği saptanmıştır. Farklı tedavi seçenekleri geliştirmek için farklı hücre gruplarında FOXP3 ifadesini ve fonksiyonunu anlamak önemlidir [92, 95, 96].

MF’de neoplastik hücrelerin, Treg hücrelere benzer fenotipine yönelik yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmalarda genellikle, Treg hücreler için CD25’ten daha spesifik olan FOXP3 ifadesine bakılmıştır. FOXP3 ifadesinin miRNA’lara bağlı olarak da değişebileceği ve bu değişikliğin hastalığın ilerlemesi ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Bu amaçla, Rebeca Manso ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (2018), miRNA-146a ve miRNA-181a'nın ifadesinin ileri evre MF lezyonlarında artmış olduğu saptanmış, bu miRNA’ların çift yönlü bir otoregülatör döngü içinde doğrudan ve dolaylı olarak FOXP3 gen ifadesini düzenleyebildiği gösterilmiştir. Buna bağlı olarak, immünhistokimyasal incelemeler ile FOXP3 protein ifadesinin, plak lezyonlarına göre tümöral MF'lerde daha düşük olduğu bulunmuş; FOXP3’ün hastalığın tanısında ve ilerlemesinde bir belirteç olarak kullanılabileceği öne sürülmüştür [4]. FOXP3 ifadesinin ileri evre hastalıkta azaldığını destekleyen çalışmalar bulunmaktadır [97].

Tümör hücrelerinde FOXP3 ifadesinin gözlendiği çalışmaların bir kısmında ise, ya hastalık ilerlemesi ile ilişkili anlamlı bir bulgu saptanamamış ya da hasta sayısının kısıtlılığı nedeniyle sonuçların doğrulanması için daha fazla araştırma yapılması gerektiği belirtilmiştir [97-99]. Bazı çalışmalarda ise tümör hücrelerinde FOXP3 ifadesi gösterilememiş veya hastalık ilerlemesi açısından anlamlı bir sonuç bulunamamıştır [100-104]

FOXP3 ifadesinin önemi erken MF’in inflamatuar dermatitlerden ayrımında da araştırılmıştır. İnflamatuar dermatit grubunda daha yüksek oranda FOXP3 pozitif hücre bulunmasına rağmen, her iki grupta da pozitif hücre sayısının az olması değerlendirme güçlüğü oluşturacağından ayırıcı tanı amaçlı kullanılmasının güvenilir olmayacağı bildirilmiştir [105].

2.4.2.16 MF Gelişiminde Mikroçevrenin Rolü

MF gelişimi ve ilerlemesinde, diğer tümörlerde olduğu gibi mikroçevrenin de neoplastik T hücre çoğalmasına ve bağışıklık sistemi gözetiminden kaçışa yardımcı olarak önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Tümörü infiltre eden lenfositler, Treg hücreleri, dendritik hücreler, makrofajlar, myeloid kökenli baskılayıcı hücreler ve mast hücreleri deri mikroçevresinin önemli elemanları olup patogenezde rol

oynamaktadır. Neoplastik hücreler ile etkileşim halinde olan tümör mikroçevre etkisinin anlaşılması, yeni tedavi seçeneklerinin geliştirilmesine olanak sağlayabilir [106].

Mikroçevrede bulunan ve FOXP3 ifade eden Treg hücreler tümör büyümesine yardımcı veya baskılayıcı olarak kanserlerde farklı rol oynayabilir. Solid tümörlerde artmış Treg hücre sayısı kötü prognostik faktör olarak kabul edilmektedir [28, 92]. Treg aracılı bağışıklık baskılanmasının tümörlerin bağışıklık sisteminden kaçışında önemli bir yol olduğu ve kansere karşı başarılı bir tedavi için önemli bir engel olabileceği belirtilmiştir. Hematolojik malignitelerde yapılan çalışmalarda ise mikroçevredeki Treg hücrelerin, tümörü infiltre eden sitotoksik hücrelerle birlikte malign hücreleri de baskılayabileceği ve etkilerinin solid tümörlere göre farklı olabileceği saptanmıştır [37].

MF'de de mikroçevrede bulunan Treg hücreler ile hastalık ilişkisi araştırılmış ve mikroçevre özelliklerinin prognozu etkileyebileceği gösterilmiştir. Bazı çalışmalarda erken evre MF'de, ileri evre tümörlü ve BHD gösteren MF'den daha fazla FOXP3+ Treg hücreler izlenmiştir. Bu çalışmalarda, FOXP3+ Treg hücrelerin fazla sayıda olmasının, erken evre hastalık ve daha iyi bir sağkalım ile ilişkili olduğu belirtilmiştir [37, 101, 102]. Bunun yanı sıra, Treg hücre sayısının evreden bağımsız ve hastalık ilerlemesi ile ilişkisiz olduğunu gösteren bir çalışma da bulunmaktadır [99].

3. MATERYAL VE METOD

3.1 OLGU SEÇİMİ VE TANI-ALT TANI GRUPLARI

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2006-2019 yılları arasında biyopsileri incelenmiş ve tanı almış, bilgilendirilmiş onam formuna sahip mikozis fungoides ve inflamatuar dermatit olguları "Avicenna" hastane bilgi işletim sistemi patoloji kayıtlarından taranmıştır. Bu olguların arşivdeki bütün H-E kesitleri değerlendirilmiştir. İmmünhistokimyasal çalışma için uygun, tespit-takip sorunu olmayan, lezyonu en iyi temsil eden alanları içeren 20 "inflamatuar dermatit", 40 "yama MF", 20 "plak MF" ve 20 "tümör MF" olmak üzere 4 ana tanı grubunda toplam 100 biyopsi çalışmaya dahil edilmiştir. Seçilen bu biyopsilerin araştırma sonrasında da parafin bloklarında yeterli miktarda doku kalmasına dikkat edilmiştir. Bütün olguların biyopsi anındaki yaş, cinsiyet, lezyon lokalizasyonu (baş-boyun/gövde/ekstremite) gibi genel bilgileri değerlendirilmiştir.

"İnflamatuar dermatit" grubu; 10 küçük plak parapsöriazis (digitat dermatoz), 5 pigmente purpurik dermatoz ve 5 liken planus olgusundan oluşmaktadır. Klinik ve histopatolojik olarak benzerlik gösteren inflamatuar dermatitler ile erken MF ayırıcı tanısında p-STAT3, Notch1 ve FOXP3'ün önemini değerlendirmek için, "inflamatuar dermatit" grubu ile "yama MF" grubu karşılaştırılmıştır.

MF tanı grupları, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı'nda takip ve tedavi edilmiş, önceden immünhistokimyasal inceleme ile değerlendirilmiş olgular arasından oluşturulmuştur. p-STAT3, Notch1 ve FOXP3'ün MF ilerlemesindeki önemini değerlendirmek amacıyla yama, plak ve tümör MF tanı grupları birbirleri arasında karşılaştırılmıştır. Bu tanı grupları arasında yapılan karşılaştırma yanı sıra histolojik olarak erken evre ve ileri evre lezyonları karşılaştırmak için "yama MF" ve "plak MF" grupları birleştirilerek ayrı bir "erken MF" grubu oluşturulmuştur. Bu grup histolojik olarak ileri evre olan "tümör MF" grubu ile karşılaştırılmıştır.

Çalışmamızda aynı hastaya ait farklı tanı gruplarında biyopsiler de bulunmaktadır. Çalışmamızda araştırılan belirteçlerin hastalık ilerlemesindeki önemini değerlendirmek amacıyla, ayrıca 80 MF biyopsisi arasından aşağıda sıralanan

özelliklere sahip "ilerleyen MF" alt grubu oluşturulmuştur. Onbir hastaya ait birer tanı ve takip biyopsisi olmak üzere 22 biyopsiden oluşan bu grupta, çalışmaya dahil edilen ilk tanı biyopsileri sonrasındaki takip biyopsilerinde yamadan tümöre, plaktan tümöre doğru erken evreden ileri evreye histolojik ilerleme olan 5 hasta veya BHD gelişen 6 hasta yer almaktadır. Bu grupta klinik takip sırasında 7 hastada klinik evrenin de ilerlediği izlenmiştir. Ayrıca çalışmamızda araştırılan belirteçlerin hastalık ilerleme potansiyelini ve hedef tedavi için hasta seçimini belirlemedeki yararını değerlendirebilmek amacıyla, "ilerleyen MF" alt grubu ile karşılaştırmak için hastalığı tanı anında yama lezyonu şeklinde olan ve takip sırasında erken evre olarak devam eden ve ilerleme göstermeyen hastalardan "ilerlemeyen MF" alt grubu oluşturulmuştur. Bu grupta 7 hastaya ait 9 biyopsi bulunmaktadır. "İlerleyen MF" grubu ile "ilerlemeyen MF" grubunun yama ve plak lezyonlara ait bir kısmı çok lokalizasyonlu bütün erken dönem tanı biyopsileri karşılaştırılmış, bu nedenle "ilerleyen MF" grubunda yer alan 1 hastanın tanı sırasında erken dönem biyopsisi olmadığı için (tanı biyopsi-tümör MF ve takip biyopsi-BHD gösteren tümör MF), bu karşılaştırmaya bu hastanın biyopsisi dahil edilmemiş; karşılaştırmalar "ilerleyen MF" grubunda 10 hastaya ait 12 erken dönem biyopsi ve "ilerlemeyen MF" grubunda ise 7 hastaya ait 9 biyopsi üzerinden yapılmıştır. Ayrıca zamandan ve progresyondan bağımsız bir şekilde hastaya ait bireysel özellikleri araştırabilme amacı ile sadece histolojik evre ile belirteçlerin ilişkisini değerlendirebilmek için, aynı hastaya ait eş zamanlı alınan farklı dönem biyopsileri içeren bir alt grup da belirlenmiştir. Bu grupta 6 hastadan alınan 4 "yama MF", 7 "plak MF" ve 4 "tümör MF" olmak üzere 15 biyopsi bulunmaktadır.

Olgu seçimi sırasında MF olgularında büyük hücre dönüşümü (BHD) değerlendirilerek farklı dönem (yama, plak, tümör) biyopsileri içerecek şekilde, "BHD gösteren MF" ve "BHD göstermeyen MF" olmak üzere 2 grup oluşturulmuştur. "BHD gösteren MF" biyopsilerinde CD30 pozitiflik oranı (%) hesaplanmıştır. Yetmiş dokuz MF biyopsisine ait CD3, CD20, CD4, CD8, CD5 ve CD7 immün boyalı kesitler ile 1 biyopsiye ait CD3, CD4 ve CD8 immün boyalı kesitler yeniden gözden geçirilmiştir. MF olgularının immünfenotipi değerlendirilerek farklı fenotipte olmak üzere 4 grup (CD4 pozitif, CD8 pozitif, CD4/CD8 "double" pozitif ve CD4/CD8 "double" negatif) oluşturulmuştur. Ayrıca MF yama, plak, tümör olgularının CD5 ifade kaybı (T

hücrelerinin <%50'sinin CD5+ olması) (var/yok) ve CD7 ifade kaybı (T hücrelerinin <%10'unun CD7+ olması) (var/yok) gibi diğer immünfenotipik özellikleri ile serum LDH seviyesi (düşük/normal/yüksek) gibi klinik prognostik faktörü değerlendirilmiştir.

MF olgularının klinik evre ve tedavi yöntemi gibi klinik özellikleri de değerlendirilmiştir. Klinik olarak evre IA, evre IB ve evre IIA olan olgular "erken klinik evreli MF"; evre IIB, evre III ve evre IV olan olgular ise "ileri klinik evreli MF" grubu içerisine dahil edilmiştir. Ayrıca tedavi yöntemlerine göre bütün MF olguları, "deri hedefli", "sistemik" ve "deri hedefli+sistemik" tedavi grupları şeklinde 3 grupta incelenmiştir.

3.2 İMMÜNHİSTOKİMYASAL BOYAMA

Her olgudan seçilen alana ait parafin bloklardan elde edilen 4-5 µm kalınlığında kesitlerde, p-STAT3, Notch1 ve FOXP3 antikorları ile bütün olgulara boyamalar yapılmıştır. Boyamalar tüm antikorlar için Streptavidin-biotin peroksidaz yöntemiyle Ventana otomatik immünhistokimya boyama cihazında (Roche/Ventana) UltraView DAB Detection Kit kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Boyama teknikleri antikorların bilgilendirme dökümanlarına uygun olarak yapılmıştır. Antijenik özelliklerin ortaya çıkarılmasında p-STAT3 ve FOXP3 antikorları için tampon olarak EDTA (CC1), Notch1 antikoru için sitrat (CC2) kullanılmıştır. FOXP3 antikoru için pozitif kontrol olarak tonsil dokusu kullanılmıştır. p-STAT3 antikoru için deri dokusu içerisindeki endotel hücreleri ve keratinositler, Notch1 antikoru için de keratinositler iç kontrol olarak kullanılmıştır. Doku dökülmesi veya katlanması nedeniyle değerlendirme sorunu karşılaşılan olgularda boyamalar tekrar edilmiştir. Boyama teknikleri ve antikor özellikleri Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Kullanılan antikorlara ait bilgiler ve boyama teknikleri

Antikor	Klon	Dilüsyon	Antijen açığa çıkarma yöntemi/süre	İnkübasyon süresi	Kontrol	Üretici Firma
Phospho (p)-STAT3	Tyr705 D3A7	1/100	EDTA/70'	60'	İç kontrol Keratinositler ve endotel hücreleri	Cell Signaling
Notch1	D1E11	1/100	Sitrat/70'	32'	İç kontrol Keratinositler	Cell Signaling
Anti-FOXP3	236A/E7	1/100	EDTA/92'	90'	Dış kontrol Tonsil	Abcam

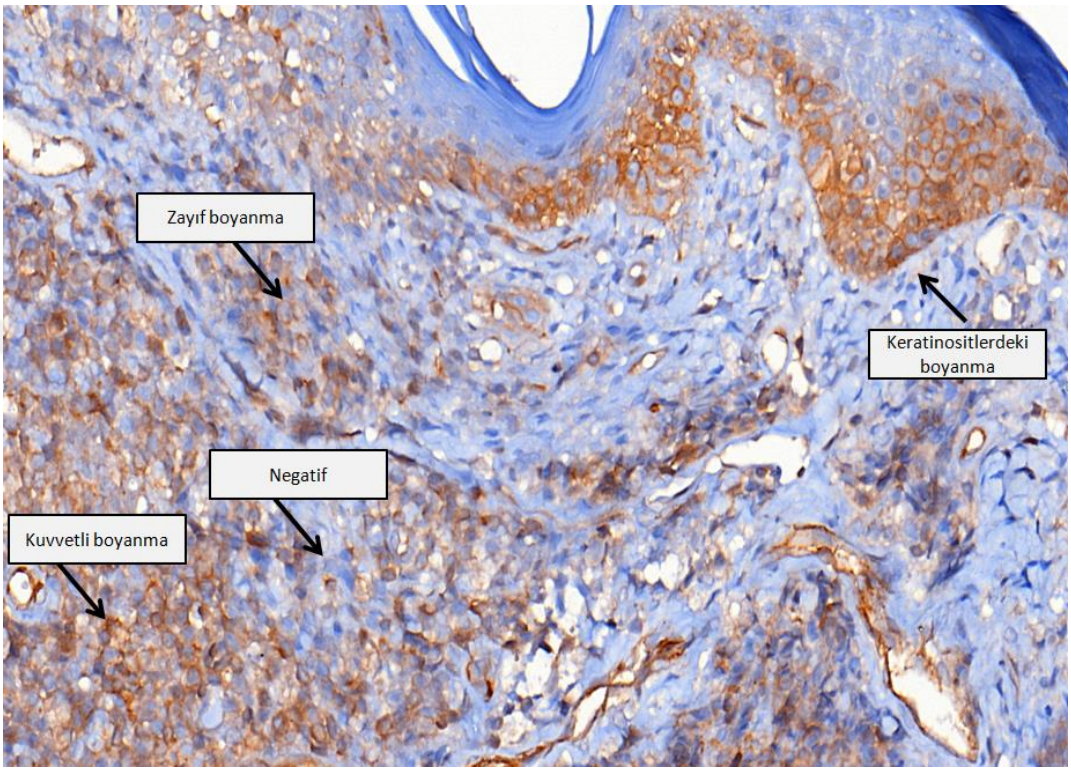
3.3 İMMÜNHİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRME

Olgulara ait yeni yapılan ve önceden var olan bütün İHK boyalı kesitler ile H-E kesitler, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda bulunan ve daha önce BAP altyapı proje (proje no:14A0230003) kapsamında alınmış olan "3DHistech Panoramic 250 Flash" dijital tarayıcıda taranmıştır. Dijital görüntülerle değerlendirmeler CaseViewer programı kullanılarak yapılmıştır.

p-STAT3 antikoru için nükleer boyanma spesifik kabul edilmiş ve değerlendirme boyanma yaygınlığına göre yapılmıştır. Bu amaçla dermiste temsili olarak seçilen 3 BBA (büyük büyütme alanı, x400)'da hücre sayımı yapılarak pozitif hücrelerin toplam hücre sayısına oranı yüzdesel değer olarak belirlenmiştir.

Notch1 antikoru için sitoplazmik ve membranöz boyanma spesifik kabul edilmiş, bu boyanma paterni özelliği nedeni ile net hücre sayımı yapılamamıştır. Bu nedenle, her biyopside dermiste temsili olarak seçilen 3 BBA (büyük büyütme alanı, x400)'da boyanma yaygınlığı ve şiddeti değerlendirilerek H-skoru hesaplanmıştır. Boyanma şiddeti, her biyopside iç kontrol olarak kullanılan keratinositlerdeki boyanma şiddeti ile hücrelerin boyanma şiddeti karşılaştırılarak değerlendirilmiş; negatif (boyanma yok):0, hafif şiddette (keratinositlerden daha soluk boyanma):1 ve kuvvetli (keratinositlere benzer şiddette boyanma):2 olarak belirlenmiştir (Resim 3.1). Boyanma yaygınlığı ise, her alanda hafif/kuvvetli boyanan hücre sayısının toplam hücre sayısına oranı şeklinde %5'lik değerler olarak verilmiştir. H-skoru; bir alanda her bir boyanma şiddetinin kendi boyanma yaygınlığı ile çarpımlarının toplanmasıyla

(H-skoru=boyanma şiddeti (0,1,2) x boyanma yaygınlığı (%)) hesaplanmıştır. Her biyopside 3 temsili BBA'da (1 alanda 0-200) toplam 0-600 arasında bir H-skoru elde edilmiştir.



Resim 3.1. Notch1 boyanma şiddetinin değerlendirilmesi (Notch1x400)

Ayrıca dermisteki atipik lenfoid hücreler yanı sıra epidermisteki atipik lenfoid hücrelerde de p-STAT3 ve Notch1 ifadesi varlığına (var/yok) bakılmıştır. Atipik hücre kriteri olarak epidermisteki lenfoid hücrelerde halolu nükleus, keratinosit nükleusuna eşit veya bundan daha büyük nükleus ve/veya basiler dizilim özellikleri kabul edilmiştir. Bu özelliklere göre epidermisteki bütün atipik lenfoid hücrelerde p-STAT3 ifadesi değerlendirilirken; sitoplazmik/membranöz boyanma paterni ve keratinositlerdeki boyanma nedeniyle Notch1 ifadesi sadece Pautrier mikroabselerindeki neoplastik hücrelerde net bir şekilde değerlendirilebilmiştir.

FOXP3 antikoru için nükleer boyanma spesifik kabul edilmiştir. Hem mikroçevrede yer alan reaktif lenfositlerde hem de neoplastik lenfositlerde FOXP3 ifadesi için ayrı değerlendirme yapılmıştır. "Yama MF" ve "inflamatuar dermatit"

gruplarında hem epidermis hem de dermiste reaktif lenfositler bulunduğu için epidermal ve dermal reaktif lenfositler FOXP3 ifadesi açısından ayrı ayrı değerlendirilmiştir. "Plak MF" ve "tümör MF" gruplarında ise reaktif lenfositlerin ağırlıklı olarak dermiste olması nedeniyle sadece dermal lenfositler değerlendirilmiştir. Bütün FOXP3 boyalı kesitler CD3 boyalı kesitler ile karşılaştırılarak ve epidermis ile dermiste temsili olarak seçilen 5'er BBA (büyük büyütme alanı, x400) belirlenerek incelenmiştir. Hücre sayımı yapılarak FOXP3 pozitif hücrelerin CD3 pozitif lenfosit sayısına oranı yüzdesel değer olarak hesaplanmıştır. CD3 kaybı gösteren 5 olguda ise değerlendirme CD3 yerine CD5 boyalı kesitler üzerinden yapılmıştır. Ayrıca bütün MF biyopsilerinde (n=80) tümör hücrelerinde neoplastik lenfositlerin FOXP3 ifadesini belirlemek için, özellikle dermisteki reaktif lenfositlerle karışık neoplastik hücrelerin ayrımındaki zorluk nedeniyle yama ve plak lezyonlarında epidermisteki atipik hücreler değerlendirilmiştir. Epidermiste 100 atipik hücre sayılmış ve bunlar arasından FOXP3 antikoru ile boyanan hücrelerin pozitifliği yüzdesel değer olarak verilmiştir. Epidermiste 100 atipik hücre bulunmayan biyopsilerde boyanma yüzdesi, atipik hücrelerin toplam hücre sayısına oranı üzerinden yüzdesel değer olarak belirlenmiştir. Tümör dönemi ve BHD gösteren biyopsilerde ise dermiste bulunan büyük, pleomorfik nükleuslu atipik hücreler boyanma varlığı açısından (var/yok) değerlendirilmiş, boyanma pozitifliği oranı hesaplanmamıştır.

3.4 İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Verilerin analizi SPSS for Windows 11,5 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) paket programında yapılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler, dağılımı normal olan değişkenler için ortalama ± standart sapma, dağılımı normal olmayan değişkenler için ortanca (min–maks), nominal değişkenler ise kişi sayısı (n) ve (%) olarak gösterilmiştir.

Grup sayısı iki olduğunda gruplar arasındaki farkın önemliliği, Student's t testi/Mann-Whitney U Testi ile araştırılmıştır. Grup sayısı ikiden fazla olduğunda gruplar arasındaki farkın önemliliği ANOVA/Kruskall Wallis Varyans Analizi testi ile incelenmiştir. Nominal değişkenler ise Pearson Ki-Kare/Fisher exact testi ile değerlendirilmiştir.

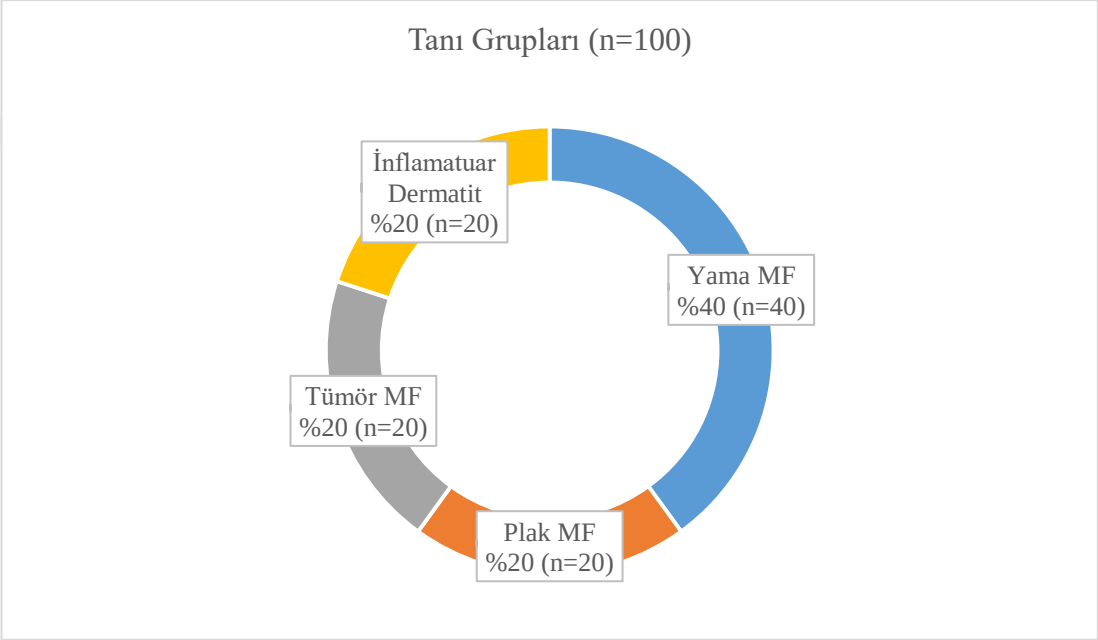
Hastaların tekrarlı ölçümleri dikkate alındığında, hastalık grupları (ilerleyen ve ilerlemeyen MF grubu) ve tanı grupları arasında belirteçler açısından farklılık olup olmadığının değerlendirilmesinde kümelenmiş verilerde Wilcoxon Testi kullanılmıştır. Kişilerin, belirteç değerleri arasındaki değişim (tanı biyopsi-takip biyopsi) Wilcoxon Testi ile değerlendirilmiştir. Biyopsiler üzerinden yapılan analizlerde, tanı grupları arasında belirteçler açısından farklılık olup olmadığı bağımsız gruplarda t Testi/Mann-Whitney U Testi ile incelenmiştir.

$p<0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1 OLGULARA AİT TANIMLAYICI BULGULAR

Olgular "inflamatuar dermatit", "yama MF", "plak MF" ve "tümör MF" olmak üzere 4 ana tanı grubunda incelenmiştir. Biyopsilerin tanı gruplarına göre dağılımı Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Biyopsilerin tanı gruplarına göre dağılımı

4.1.1 Olgulara Ait Genel Bulgular

Tüm olguların yaş ortalaması 52,8 (8-85)'dir. Tanı grupları arasında yaş dağılımı açısından fark izlenmemiştir (p=0.109). Olguların %46'sı (n=46) kadın, %54'ü (n=54) erkektir. Tanı gruplarında cinsiyet dağılımına bakıldığında; MF tanı gruplarının çoğu erkek, "inflamatuar dermatit" tanı grubunun çoğu ise kadın hastalardan oluşmaktadır (p=0.001). Tanı gruplarına ait yaş dağılımlarının medyan, minimum, maksimum, ortalama, standart sapma değerleri ve cinsiyet dağılımları Tablo 4.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Tanı gruplarına göre yaş ve cinsiyet dağılımı

	Yaş			Cinsiyet (n)	
	Medyan (Min-Maks)	**Ortalama**	**Standart sapma**	**Kadın**	**Erkek**
"İnflamatuar dermatit" (n=20)	47,5 (18-84)	47,30	±16,05287	%80 (n=16)	%20 (n=4)
"Yama MF" (n=40)	58,5 (8-83)	57,10	±17,76600	%47,5 (n=19)	%52,5 (n=21)
"Plak MF" (n=20)	48 (23-83)	49,85	±18,21588	%20 (n=4)	%80 (n=16)
"Tümör MF" (n=20)	54,5 (23-85)	52,65	±18,39415	%35 (n=7)	%65 (n=13)

"İlerleyen MF" grubundaki hastaların (n=10) yaş ortalaması 54,38 (27-83) ve %40'ı kadın (n=4), %60'ı erkek (n=6); "ilerlemeyen MF" grubundaki hastaların (n=7) yaş ortalaması 49 (23-69) ve %57,1'i (n=4) kadın, %42.9'u erkek (n=3) olup; bu iki grup arasında yaş ve cinsiyet dağılımı açısından anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla, p=0.536, p=0.637).

Lezyonların dağılımı incelendiğinde; biyopsilerin %5'i (n=5) baş-boyun, %53'ü (n=53) gövde, %42'si (n=42) ekstremite yerleşimlidir.

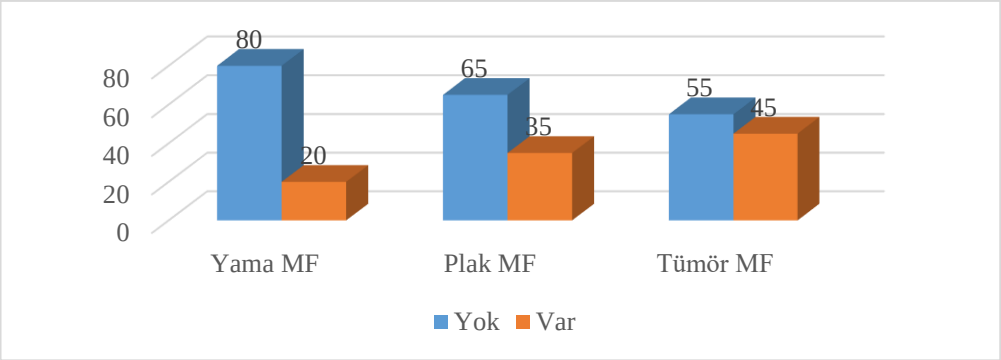
4.1.2 Olgulara Ait Klinikopatolojik Özellikler

MF tanı gruplarında BHD varlığı, immünfenotip, CD5 ifade kaybı, CD7 ifade kaybı, serum LDH seviyesi, klinik evre ve tedavi yöntemi değerlendirilmiştir. Bir olgunun CD5 ve CD7 immün boyası, 29 olgunun serum LDH değerleri (biyopsi öncesi veya sonrası 1 ay içinde) bulunmamaktadır. Bir hastanın klinik evre ve tedavi bilgisine ulaşılamamıştır. Klinikopatolojik özellikler Tablo 4.2'de derlenmiştir.

Tablo 4.2. MF olgularına ait klinikopatolojik özellikler

Klinikopatolojik Özellikler	% (n)
Büyük hücre dönüşümü (n=80)	
Var	30 (24)
Yok	70 (56)
İmmünfenotip (n=80)	
CD4+	78.7 (63)
CD8+	15 (12)
CD4/CD8 “double” pozitif	3.8 (3)
CD4/CD8 “double”negatif	2.5 (2)
CD5 ifade kaybı (n=79)	
Var	19 (15)
Yok	81 (64)
CD7 ifade kaybı (n=79)	
Var	87.3 (69)
Yok	12.7 (10)
Serum LDH seviyesi (n=51)	
Düşük	2 (1)
Normal	66.6 (34)
Yüksek	31.4 (16)
Klinik evre (n=78)	
Erken evre	59 (46)
İleri evre	41 (32)
Tedavi yöntemi (n=79)	
Deri hedefli	41.8 (33)
Sistemik	27.8 (22)
Deri hedefli + Sistemik	30.4 (24)

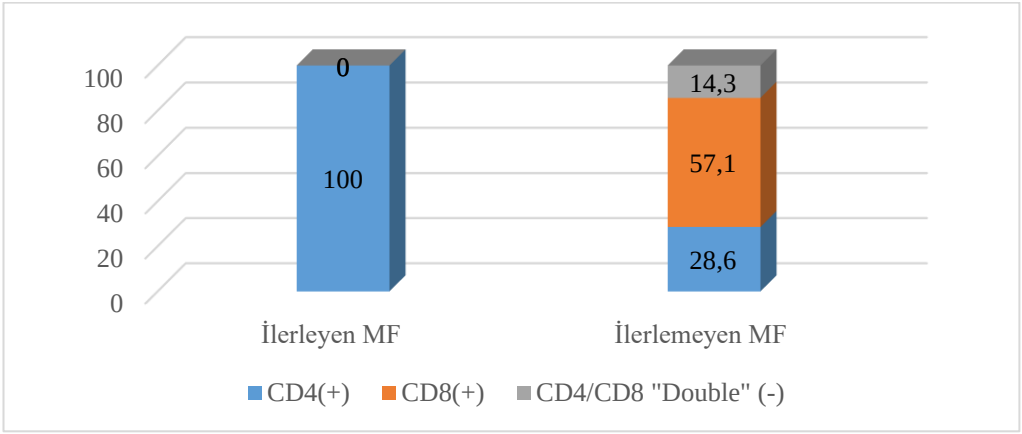
Yama, plak ve tümör MF tanı grupları arasında BHD dağılımına bakıldığında; “yama MF” biyopsilerinin %20’sinde (n=8), “plak MF” biyopsilerinin %35’inde (n=7) ve “tümör MF” biyopsilerinin %45’inde (n=9) BHD izlenmiş (Şekil 4.2); yama döneminden tümör dönemine doğru BHD oranları artış göstermekle birlikte, BHD ile tanı grupları (yama, plak, tümör) arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bulunmamıştır (p=0,117).



Şekil 4.2. MF tanı gruplarında (yama, plak, tümör) BHD dağılımı (p=0,117)

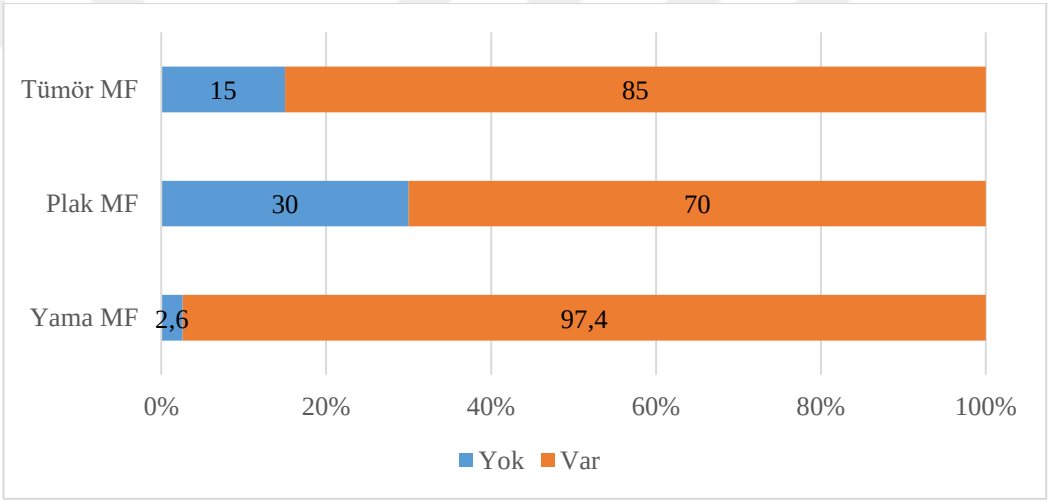
"BHD gösteren MF" grubunun (n=24) %33,3'ü "yama MF", %29,2'si "plak MF" ve %37,5'u "tümör MF" biyopsilerinden oluşmaktadır. BHD gösteren biyopsilerde (n=24) CD30 pozitiflik oranı hesaplanmış, ortalama değer %28,12 (0-%80) olarak bulunmuştur. Yama, plak, tümör MF tanı grupları arasında CD30 pozitiflik oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir (p=0.712).

MF biyopsilerinin immünfenotipik özelliklere göre dağılımı incelendiğinde; %78,8'i CD4+ (n=63), %15'i CD8+ (n=12), %3,8'i CD4/CD8 "double" pozitif (n=3) ve %2,5'i CD4/CD8 "double" negatif (n=2) fenotiptedir. "İlerleyen MF" grubu ile "ilerlemeyen MF" grubu immünfenotipik özellikler açısından değerlendirildiğinde; "ilerleyen MF" grubunun tamamının CD4+ fenotipte; "ilerlemeyen MF" grubunun ise %28,6'sının CD4+, %57,1'inin CD8+ ve %14,3'ünün CD4/CD8 "double" negatif fenotipte olduğu görülmüştür (p=0.003) (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. "İlerleyen MF" ve "ilerlemeyen MF" gruplarının immünfenotipik özellikleri (p=0.003)

Yama, plak, tümör MF tanı grupları ve “ilerleyen MF” grubu ile “ilerlemeyen MF” grupları CD5 ifade kaybı açısından değerlendirildiğinde; yama, plak, tümör MF tanı grupları arasında ve “ilerleyen MF” grubu ile “ilerlemeyen MF” grupları arasında CD5 ifade kaybı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir (sırasıyla, p=0.933, p=0.228). Bu gruplar CD7 ifade kaybı açısından karşılaştırıldığında ise; yama, plak, tümör MF tanı grupları arasında CD7 ifade kaybı açısından anlamlı fark saptanmıştır (p=0.007). CD7 ifade kaybı olan olgular daha çok “yama MF” grubunda izlenmiştir (Şekil 4.4). “İlerleyen MF” grubu ile “ilerlemeyen MF” grubu arasında CD7 ifade kaybı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir (p=1.000).

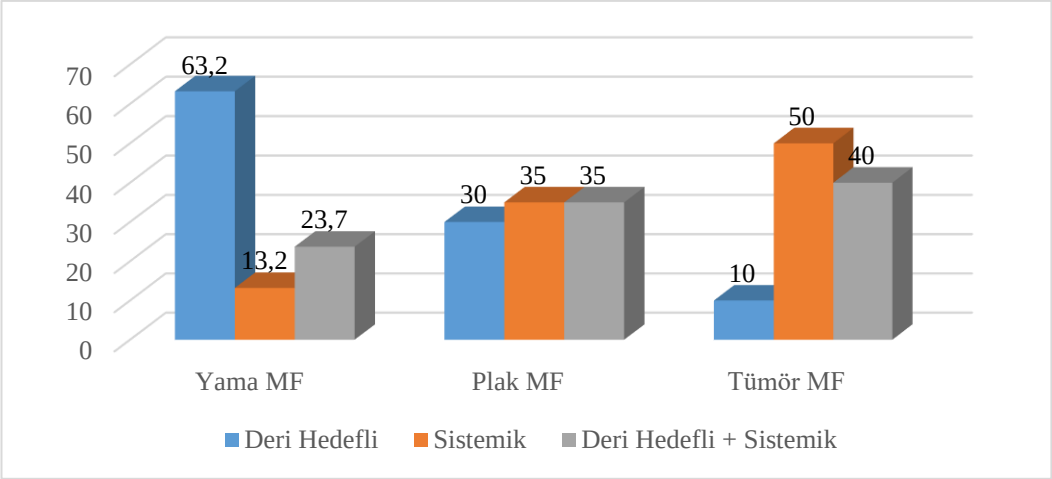


Şekil 4.4. Yama, plak, tümör MF tanı gruplarında CD7 ifade kaybı karşılaştırması (p=0,007)

Yama, plak, tümör MF tanı grupları arasında serum LDH seviyesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir (p=0.720).

MF olgularının klinik evreye göre dağılımına bakıldığında; olguların %59’u erken evre (n=46), %41’i ileri evreden (n=32) oluşmaktadır.

Yama, plak, tümör MF tanı grupları arasında tedavi yöntemi değerlendirildiğinde, bu gruplar arasında tedavi yöntemi açısından anlamlı fark saptanmıştır (p=0.001). Deri hedefli tedavi alan olgular daha çok “yama MF” grubunda izlenmiştir. Tanı gruplarında tedavi yöntemi dağılımı ve karşılaştırması Şekil 4.5’te gösterilmiştir.



Şekil 4.5. Yama, plak, tümör MF tanı gruplarında tedavi yöntemi dağılımı ve karşılaştırması (p=0,001)

4.2 İMMÜNHİSTOKİMYASAL BULGULAR

p-STAT3, Notch1 ve FOXP3 antikorları ile bütün olgularda immünhistokimyasal boyama yapılmıştır.

Tekrarlanan boyamalara rağmen dökülmeler nedeniyle FOXP3 antikoru ile 1 "plak MF" biyopsisinde 5 alan yerine epidermiste 4 alan, dermiste 3 alan; Notch1 antikoru ile 1 "yama MF" biyopsisinde dermiste 3 alan yerine 2 alan değerlendirilebilmiştir. "İlerleyen MF" grubunda bulunan 1 hastanın takip biyopsisinde (BHD gösteren yama MF) ise boyama sonrası dermiste yeterli alan bulunmaması nedeniyle Notch1 ve p-STAT3 antikorları ile değerlendirme yapılamamıştır.

4.2.1 p-STAT3 İfadesi

p-STAT3 ifadesi dermisteki infiltrasyonu oluşturan hücreler ile epidermisteki ve dermisteki atipik hücrelerde değerlendirilmiştir. Ancak atipik hücrelerde sadece boyanma varlığı belirlenmiş, yüzdesel oran hesaplanmamıştır.

p-STAT3 antikoru ile değerlendirilen biyopsilerde (n=99), ortalama p-STAT3 boyanma oranı %11,73 (±8,83498) olarak saptanmıştır.

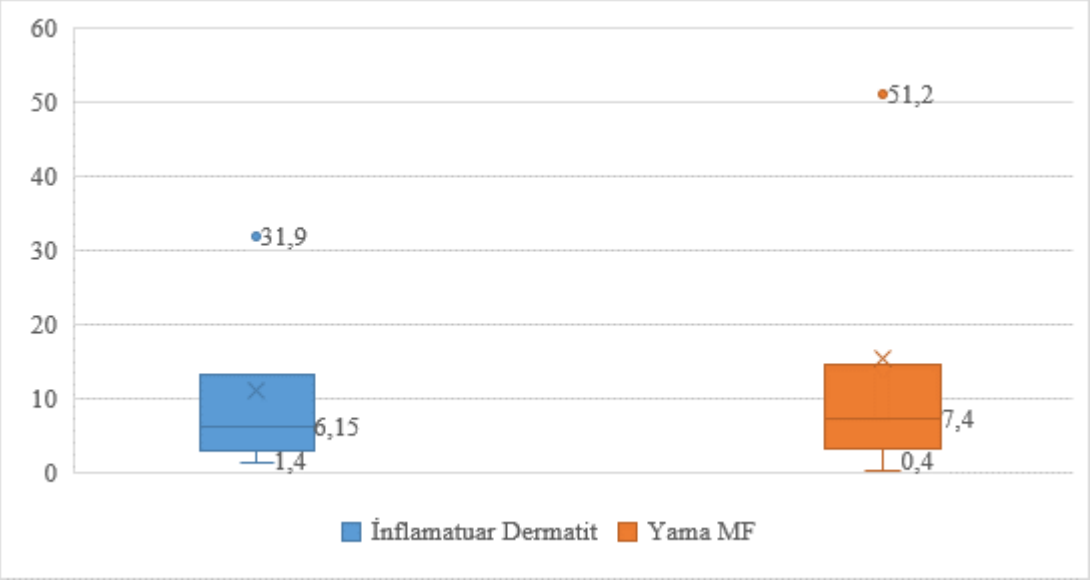
Cinsiyete, tanı ve alt gruplarına, BHD'ye, immünfenotipe, CD5 ifade kaybına, CD7 ifade kaybına, serum LDH seviyesine, klinik evreye ve tedavi yöntemine göre ortalama, standart sapma, medyan, minimum ve maksimum p-STAT3 boyanma oranı değerleri Tablo 4.3'te gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Genel ve klinikopatolojik özelliklere göre p-STAT3 boyanma oranı değerleri

	p-STAT3 boyanma oranı (%)				
Parametreler	**Ort**	**SS**	**Med**	**Min**	**Maks**
Cinsiyet					
Kadın	11,3800	±10,2332	7,70	0,40	51,20
Erkek	12,0315	±7,5628	11,60	1,30	31,30
Tanı grupları ve alt gruplar					
"İnflamatuar dermatit"	8,9600	±8,1591	6,15	1,40	31,90
"Yama MF"	9,8718	±9,7627	7,40	0,40	51,20
"Plak MF"	13,3850	±7,0273	13,25	3,10	27,30
"Tümör MF"	16,4950	±7,3542	13,95	6,20	34,80
"Erken MF"	11,0627	±9,0241	8,30	0,40	51,20
"İlerleyen MF" Erken dönem	16,5500	±8,7487	17,00	3,20	31,30
"İlerlemeyen MF" Erken dönem	4,6444	±2,4713	5,20	1,30	7,50
"İlerleyen MF" Tanı biyopsi	14,9273	±8,8043	15,20	3,20	31,30
"İlerleyen MF" Takip biyopsi	19,0900	±10,1554	20,40	3,10	34,80
BHD					
Var	17,5826	±9,9421	16,90	3,10	51,20
Yok	10,3250	±7,5778	8,15	0,40	34,80
İmmünfenotip					
CD4+	14,1484	±9,2034	13,00	0,40	51,20
CD8+	5,9333	±3,9343	6,65	1,30	15,40
CD4/CD8 "double" pozitif	7,7000	±1,2124	7,90	6,40	8,80
CD4/CD8 "double" negatif	5,5500	±0,4949	5,55	5,20	5,90
CD5 ifade kaybı					
Var	11,3200	±12,1214	7,60	1,40	51,20
Yok	12,6571	±8,1360	12,40	0,40	34,80
CD7 ifade kaybı					
Var	12,2676	±9,4330	8,95	0,40	51,20
Yok	13,3000	±4,8497	12,90	6,60	24,50
Serum LDH seviyesi					
Düşük	6,6000	-	6,60	6,60	6,60
Normal	12,6853	±9,9410	12,15	0,40	51,20
Yüksek	15,5200	±7,6990	14,70	3,20	34,80
Klinik evre					
Erken evre	11,0304	±9,8844	7,80	0,40	51,20
İleri evre	14,8710	±6,9835	13,50	3,10	34,80
Tedavi yöntemi					
Deri hedefli	10,7152	±8,5893	7,90	1,30	34,80
Sistemik	14,1381	±7,0044	13,00	4,30	28,80
Deri hedefli+Sistemik	14,0500	±10,6695	12,15	0,40	51,20

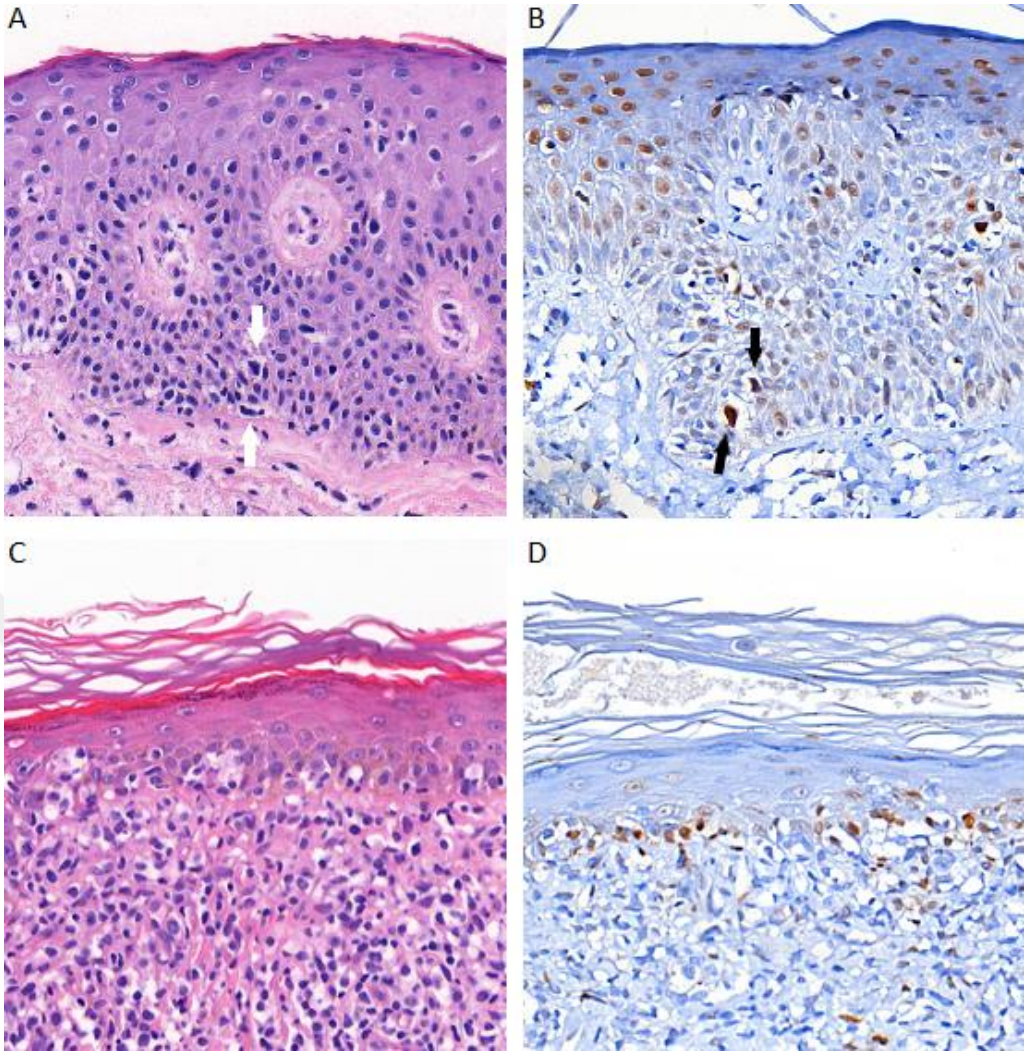
p-STAT3 ifadesi ile yaş ve cinsiyet arasında ilişki bulunmamıştır (sırasıyla, p=0.115, p=0.287) (Tablo 4.3).

"İnflamatuar dermatit" ve "yama MF" grupları incelendiğinde; "inflamatuar dermatit" grubunda ortalama p-STAT3 boyanma oranı %8,96, "yama MF" grubunda ise %9,87 olarak birbirine benzer gözlenmiş olup bu iki grup arasında anlamlı düzeyde fark bulunmamaktadır (p=1.000) (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. "İnflamatuar dermatit" ve "yama MF" tanı gruplarının p-STAT3 boyanma oranına ait minimum, medyan ve maksimum değerleri (p=1.000)

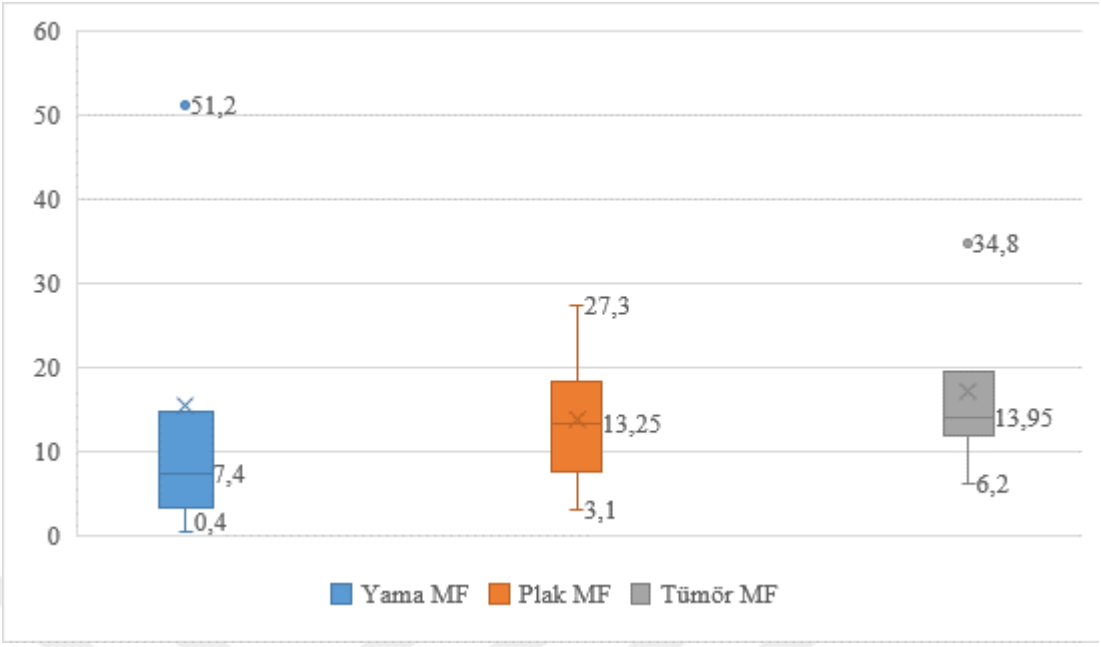
Atipik lenfoid hücrelerde p-STAT3 ifadesi değerlendirildiğinde, dermisteki atipik hücreler yanı sıra, histolojik evreden bağımsız olarak biyopsilerin bir kısmında epidermisteki atipik hücrelerde de p-STAT3 ifadesi gözlenmiştir (Resim 4.1).



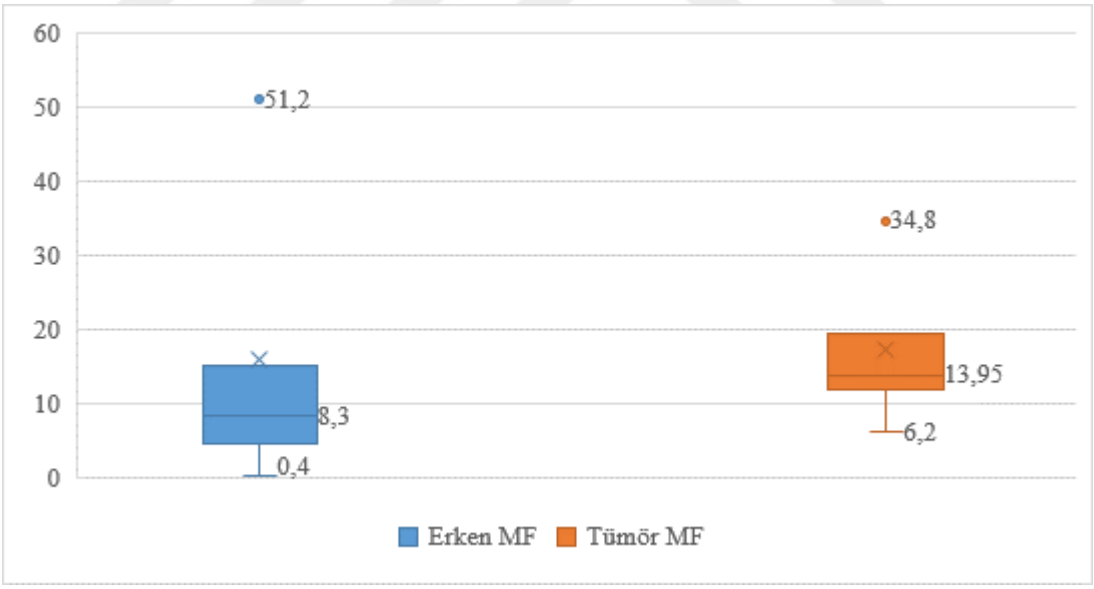
Resim 4.1. MF biyopsilerinde epidermisteki atipik hücrelerde p-STAT3 ifadesi.

A) "Yama MF" olgusunda epidermiste keratinosit nükleusundan büyük, halolu, hiperkromatik nükleuslu atipik hücreler (ok) izlenmekte (H-Ex400). B) Epidermisteki atipik hücrelerin bir kısmında p-STAT3 ifadesi (ok) (p-STAT3x400). C) "Plak MF" olgusunda epidermiste halolu nükleuslu ve basiler dizilim gösteren atipik hücreler izlenmekte (H-Ex400). D) Pautrier mikroabselerindeki ve basiler dizilim gösteren bir kısım hücrede p-STAT3 ifadesi (p-STAT3x400)

Farklı dönem MF tanı gruplarının p-STAT3 ifadeleri karşılaştırıldığında, yama döneminden tümör dönemine doğru histolojik evre ilerledikçe p-STAT3 ifadesinin arttığı gözlenmiştir. "Yama MF" ve "tümör MF" tanı grupları arasında fark anlamlı izlenmiş (p=0.005); "yama MF" ve "plak MF" ile "plak MF" ve "tümör MF" grupları arasında ise anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla, p=0.158, p=1.000) (Şekil 4.7). Ayrıca "yama MF" ve "plak MF" grupları birleştirilerek oluşturulan "erken MF" grubu "tümör MF" grubuyla karşılaştırıldığında, "erken MF" grubunda p-STAT3 ifadesi "tümör MF" grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur (p=0.005) (Şekil 4.8).



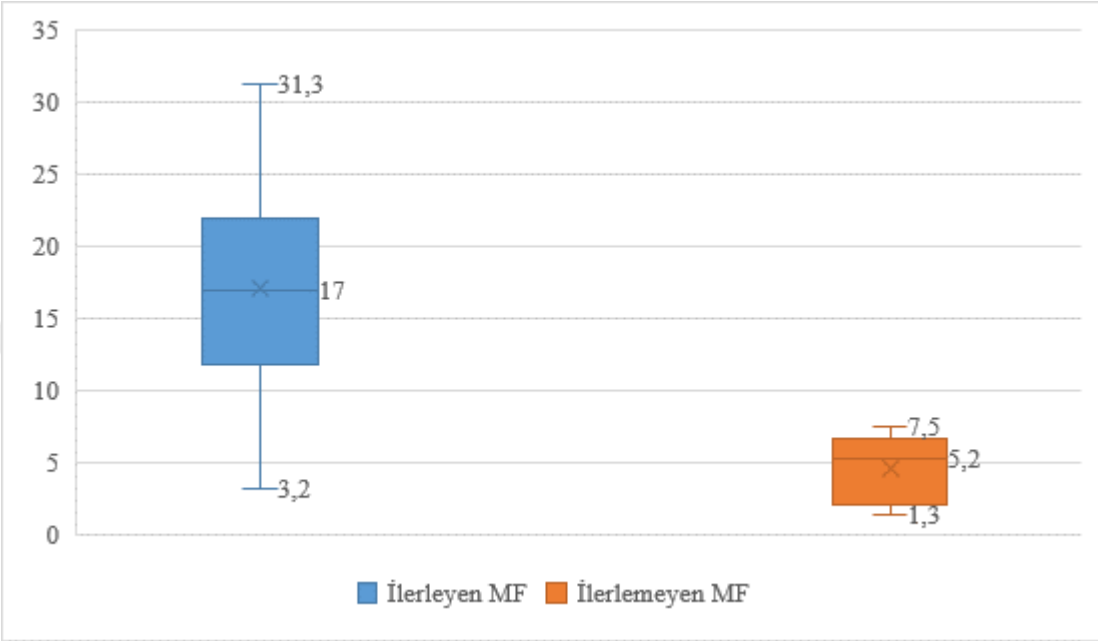
Şekil 4.7. "Yama MF", "plak MF" ve "tümör MF" tanı gruplarına ait minimum, medyan ve maksimum p-STAT3 boyanma oranı karşılaştırması (yama MF-tümör MF p=0.005)



Şekil 4.8. p-STAT3 ifadesi açısından "erken MF" (yama MF+plak MF) ile "tümör MF" tanı gruplarının karşılaştırması (p=0,005)

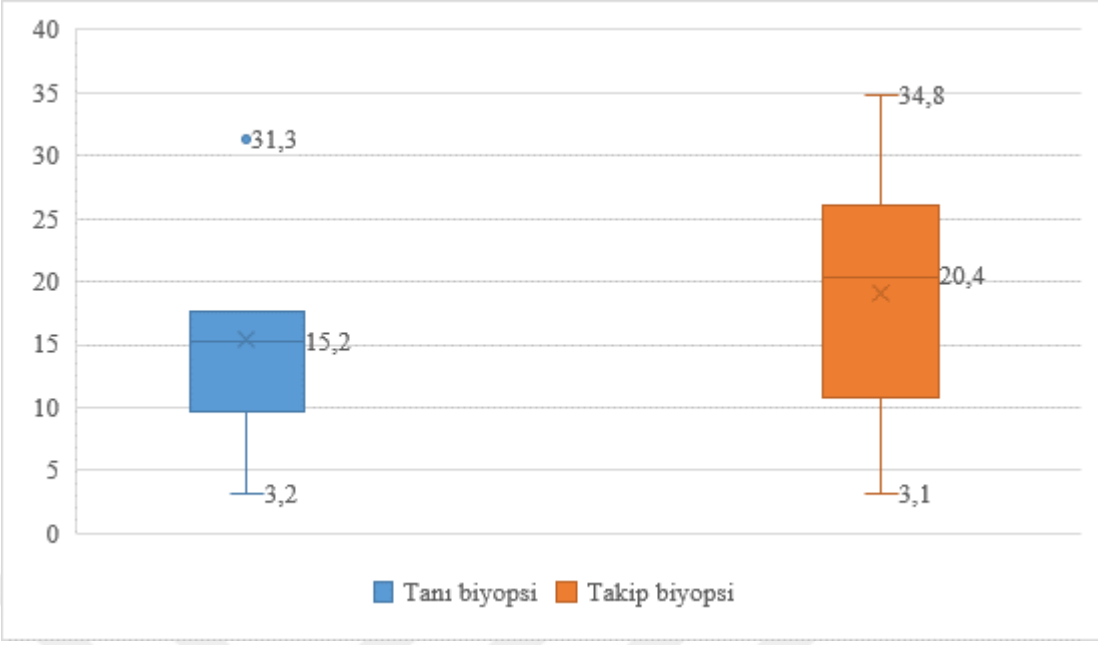
"İlerleyen MF" grubu ile "ilerlemeyen MF" grubunun erken dönem (yama, plak) biyopsileri arasındaki analizde; "ilerleyen MF" grubunun erken dönem

biyopsilerinde p-STAT3 boyanma oranı, “ilerlemeyen MF” grubunun erken dönem biyopsilerine göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır (p=0.007) (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. “İlerleyen MF” ve “ilerlemeyen MF” gruplarının histolojik olarak erken dönem biyopsilerinin p-STAT3 ifadesinin karşılaştırması (p=0,007)

“İlerleyen MF” grubunun tanı (yama/plak/tümör) ve takip (tümör/BHD gösteren) biyopsileri arasında p-STAT3 ifadesi açısından anlamlı fark görülmediği gibi (p=0.445) (Şekil 4.10); aynı hastaya ait eş zamanlı alınan farklı histolojik evreli biyopsiler arasında da p-STAT3 ifadesi açısından anlamlı fark görülmemiştir (p=0.229) (Tablo 4.4).

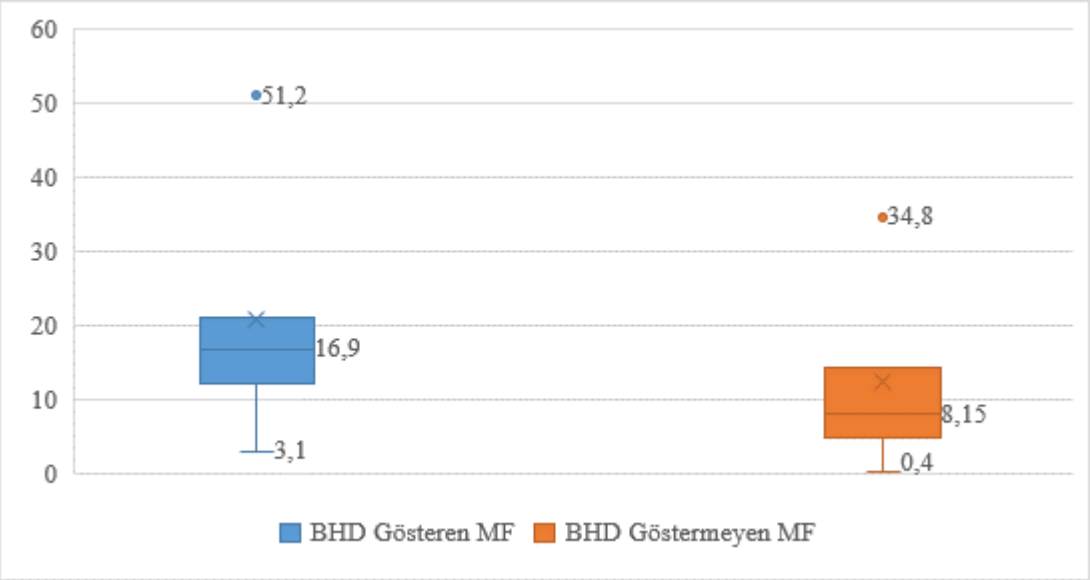


Şekil 4.10. p-STAT3 ifadesi açısından "ilerleyen MF" grubunun tanı biyopsileri ile takip biyopsilerinin karşılaştırması (p=0,445)

Tablo 4.4. Aynı hastaya ait eş zamanlı alınan farklı histolojik evreli (yama, plak, tümör) biyopsilerin p-STAT3 ifadeleri (p=0,229)

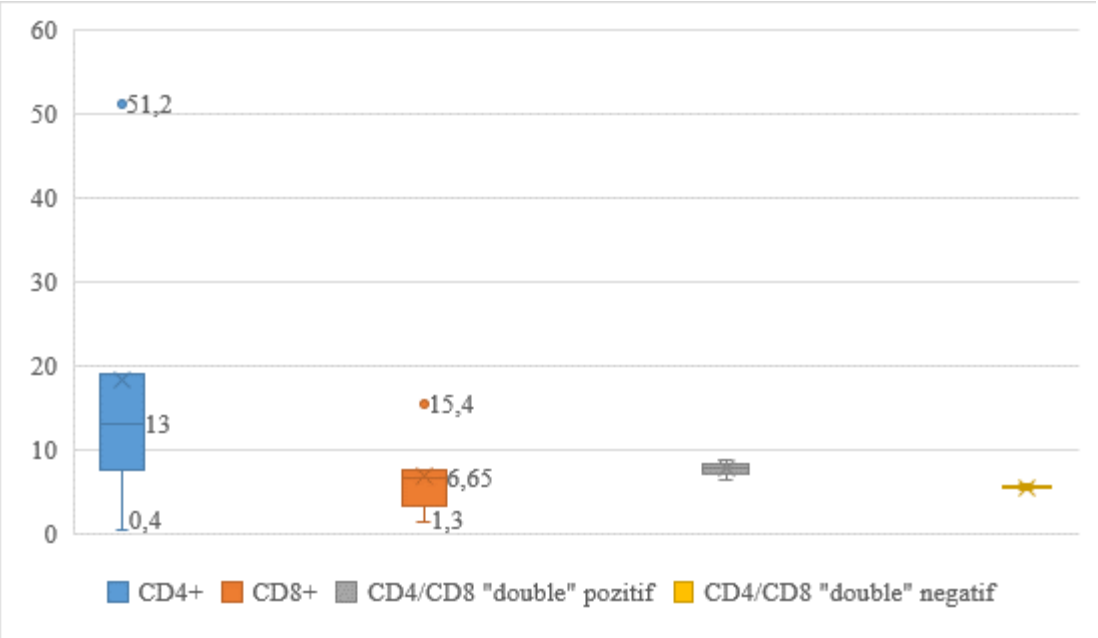
	p-STAT3 boyanma oranı (%)				
	Ortalama	**Standart sapma**	**Medyan**	**Minimum**	**Maksimum**
"Eş zamanlı yama MF" (n=4)	15,2500	±5,22462	15,4000	8,80	21,40
"Eş zamanlı plak MF" (n=7)	11,9143	±6,48728	13,0000	4,30	23,60
"Eş zamanlı tümör MF" (n=4)	12,4500	±7,98895	9,9000	6,20	23,80

BHD ile p-STAT3 ifadesi ilişkisine bakıldığında; "BHD gösteren MF" grubunda "BHD göstermeyen MF" grubuna göre p-STAT3 ifadesi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur (p=0.001) (Şekil 4.11). CD30 pozitiflik oranı ile p-STAT3 ifadesi ilişkisizdir (p=0.890).



Şekil 4.11. p-STAT3 ifadesi açısından "BHD gösteren MF" ve "BHD göstermeyen MF" gruplarının karşılaştırması (p=0,001)

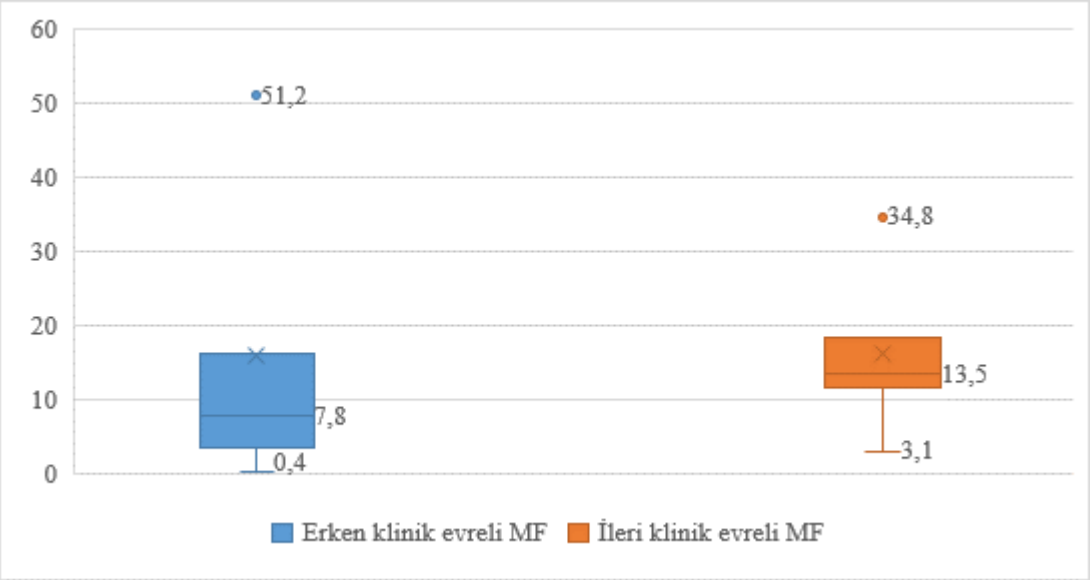
Farklı immünfenotipler ile p-STAT3 ifadesi ilişkisi incelendiğinde; CD4+ fenotipe sahip olgularda, CD8+ olgulara göre p-STAT3 ifadesi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır (p=0.006) (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. MF biyopsilerinde CD4+, CD8+, CD4/CD8 "double" pozitif ve CD4/CD8 "double" negatif immünfenotipler arasında p-STAT3 boyanma oranlarının karşılaştırması

CD5 ifade kaybı, CD7 ifade kaybı ve serum LDH seviyesi ve gibi klinikopatolojik özellikler ile p-STAT3 ifadesi arasında ilişki bulunmamıştır (sırasıyla, p=0.224, p=0.343, p=0.283) (Tablo 4.3).

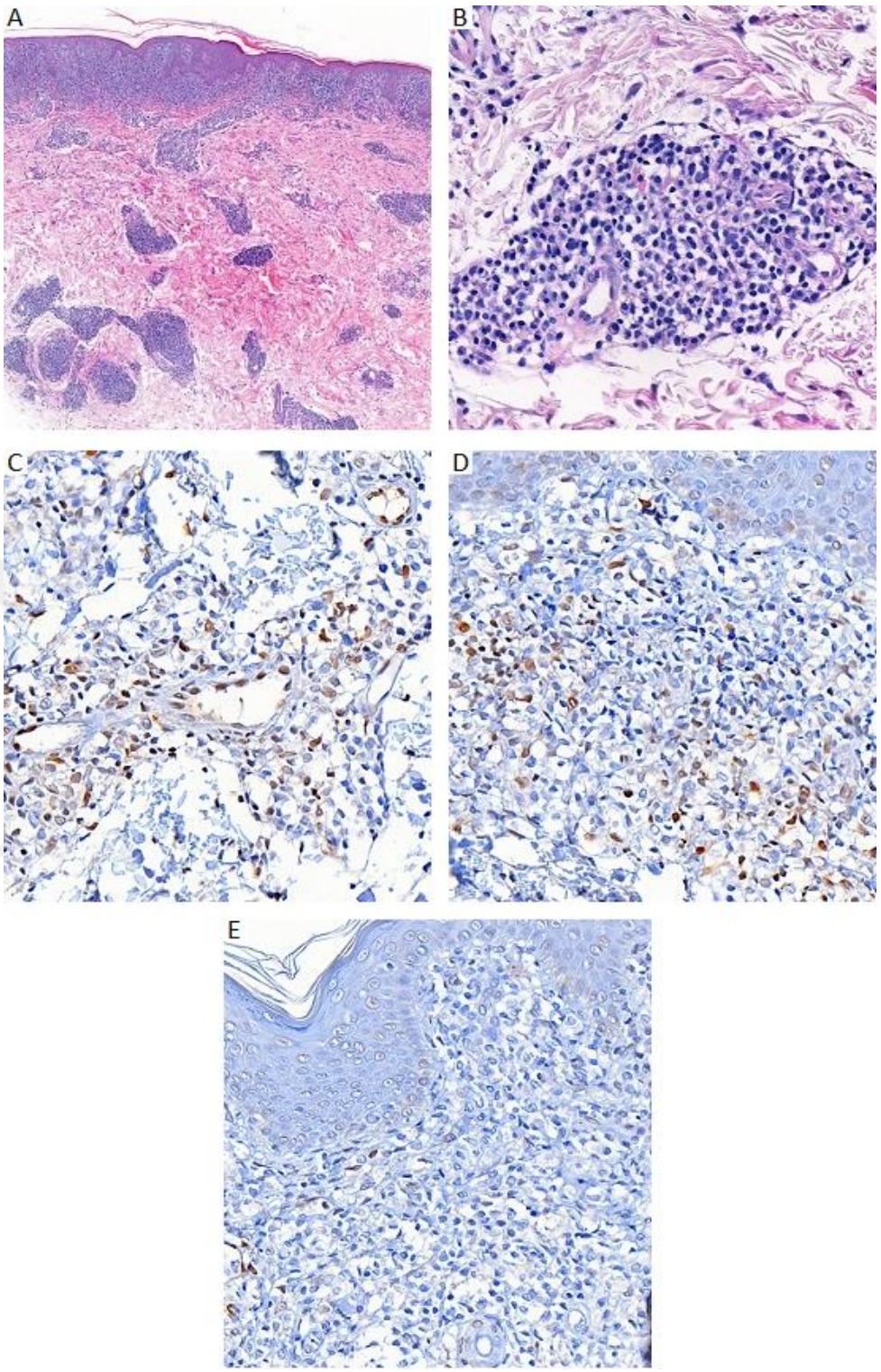
Klinik evreye göre karşılaştırmada, ileri evre MF olgularında p-STAT3 ifadesi erken evre MF olgularından anlamlı olarak yüksek izlenmiştir (p=0.010) (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. "Erken klinik evreli MF" ve "ileri klinik evreli MF" gruplarının p-STAT3 boyanmasına ait minimum, medyan ve maksimum değerlerinin karşılaştırması (p=0.010)

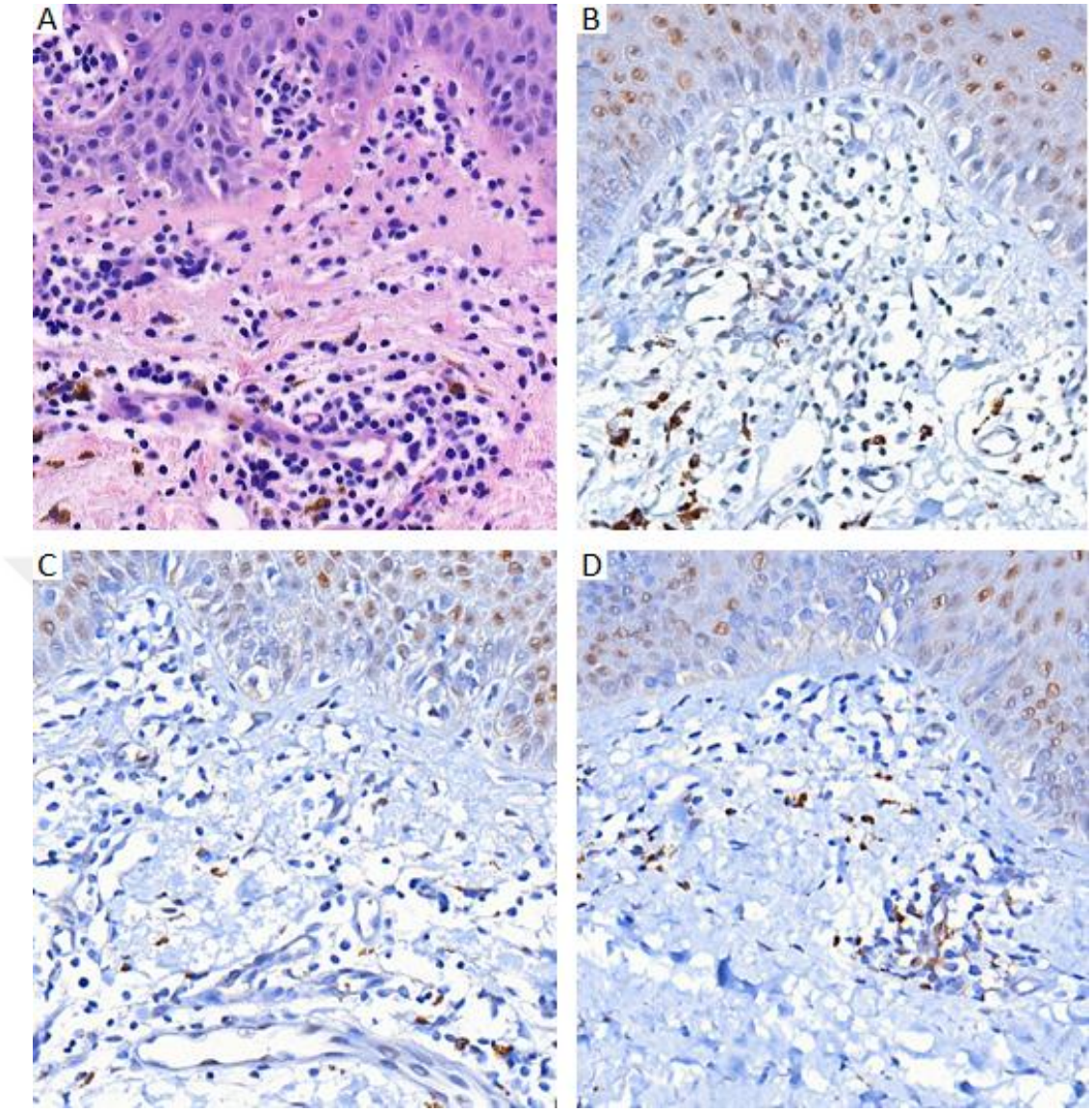
Tedavi yöntemi ile p-STAT3 ifadesi arasında ilişki saptanmamıştır (p=0.149) (Tablo 4.3).

Resim 4.2-Resim 4.4'te farklı histolojik dönemli (yama, tümör) MF ve inflamatuar dermatit gruplarına ait olguların hem H-E ve hem de p-STAT3 boyalı örnekleri bulunmaktadır.



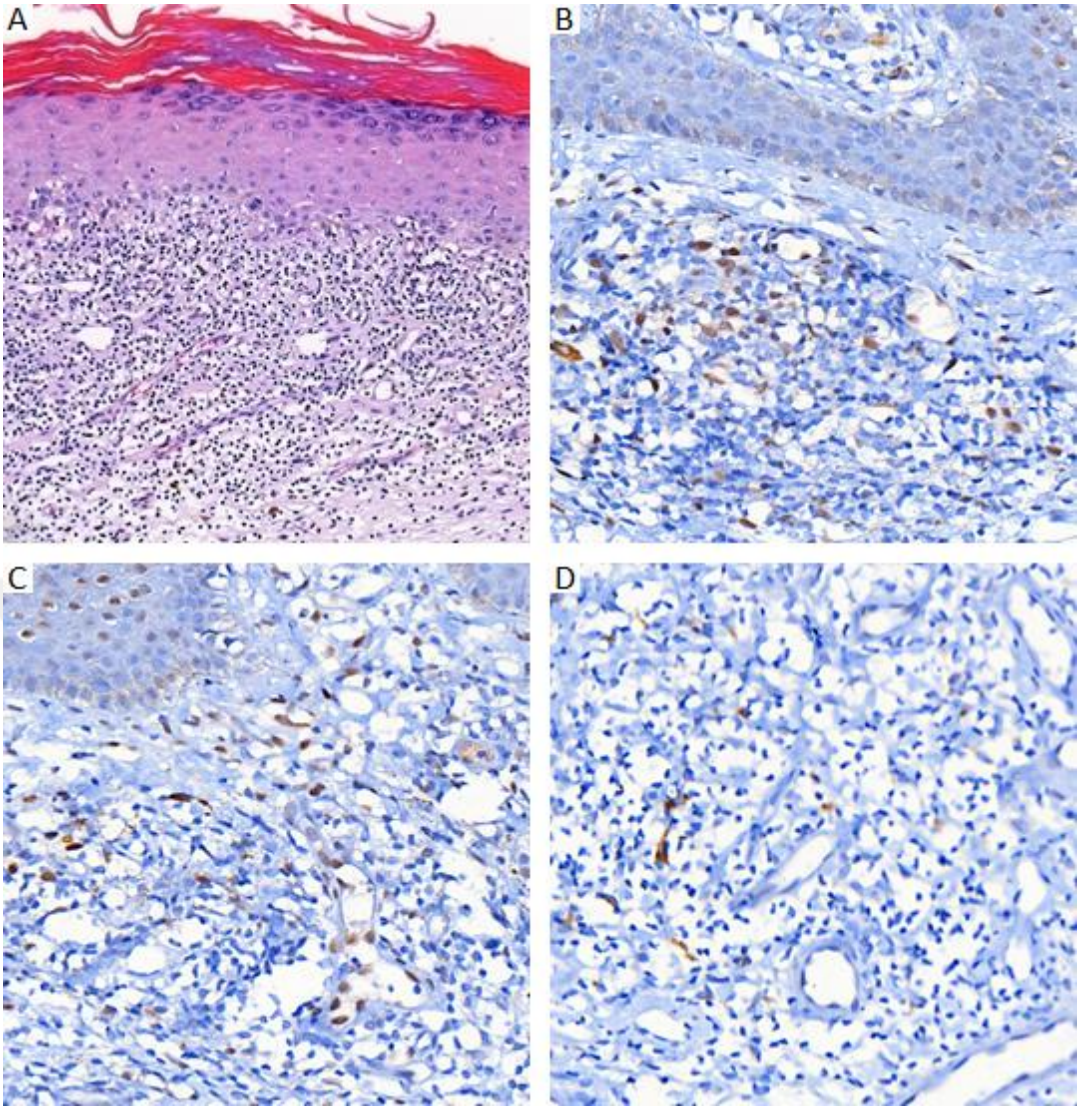
Resim 4.2. "Tümör MF" olgusunda p-STAT3 ifadesinin değerlendirilmesi.

A) Yüzeyel dermiste bant şeklinde, orta ve derin dermiste nodüler olarak izlenen infiltrasyon (H-Ex50). B) Dermiste orta büyüklükte, düzensiz nükleuslu atipik hücreler izlenmekte (H-Ex400) C-E) Dermisteki lenfoid hücrelerde ortalama %28,8 oranında kuvvetli ve zayıf nükleer boyanma (p-STAT3x400)



Resim 4.3. "Yama MF" olgusunda p-STAT3 ifadesinin değerlendirilmesi.

A) Yüzeyel dermiste perivasküler ve interstisyel hafif-orta şiddette infiltrasyon ve melanofajlar izlenmekte (H-Ex400). B-D) Dermisteki lenfoid hücrelerde ortalama %2,7 oranında zayıf nükleer boyanma (p-STAT3x400)



Resim 4.4. Liken planus olgusunda p-STAT3 ifadesinin değerlendirilmesi.

A) Epidermiste hafif akantoz, granüler tabakada belirginleşme ve lenfosit ekzositozu, yüzeyel dermiste bant şeklinde infiltrasyon ve melanofajlar izlenmekte (H-Ex200). B-D) Dermisteki infiltrasyonda ortalama %7,3 oranında kuvvetli ve zayıf nükleer boyanma (x400)

4.2.2 Notch1 İfadesi

Notch1 ifadesi dermisteki infiltrasyonu oluşturan hücrelerde değerlendirilmiştir. Ayrıca epidermisteki ve dermisteki atipik hücrelerde de boyanma oranı hesaplanmadan boyanma varlığı belirlenmeye çalışılmış, ancak sitoplazmik/membranöz boyanma paterni ve keratinositlerde Notch1 ifadesi nedeniyle sadece Pautrier mikroabselerindeki neoplastik hücrelerde boyanma net bir şekilde değerlendirilebilmiştir.

Notch1 antikoru ile değerlendirilen biyopsilerde (n=99) ortalama H-skor değeri 69,2273 (±74,61047) olarak bulunmuştur.

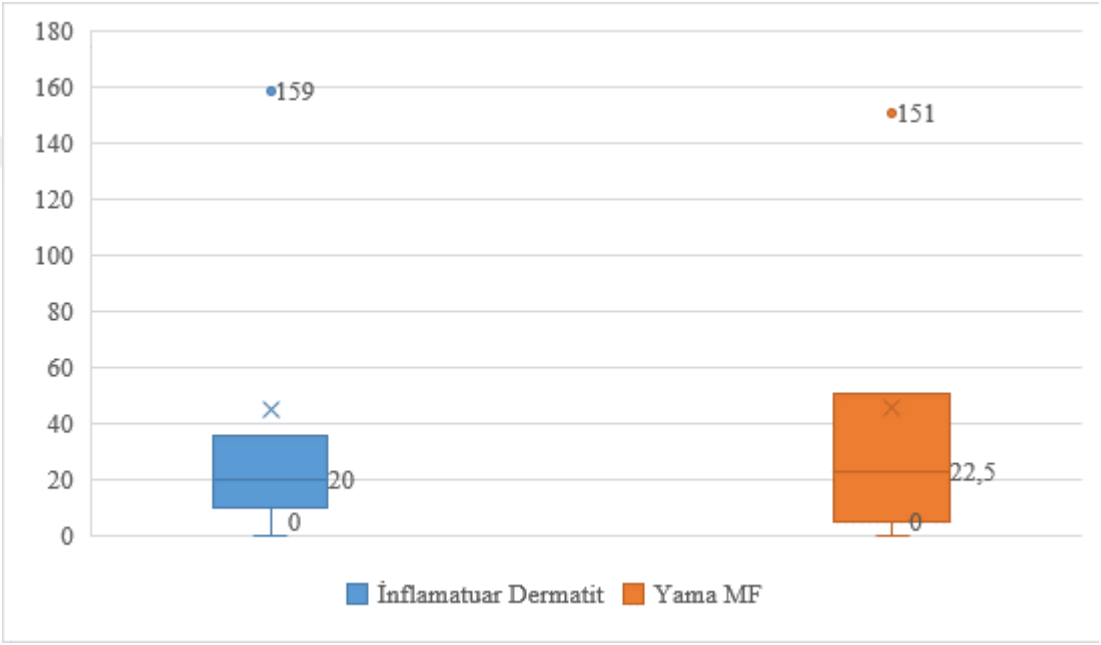
Cinsiyete, tanı ve alt gruplarına, BHD'ye, immünfenotipe, CD5 ifade kaybına, CD7 ifade kaybına, serum LDH seviyesine, klinik evreye ve tedavi yöntemine göre ortalama, standart sapma, medyan, minimum ve maksimum Notch1 H-skor değerleri Tablo 4.5'te gösterilmiştir.

Tablo 4.5. Genel ve klinikopatolojik özelliklere göre Notch1 H-skor değerleri

	Notch1 H-skoru değeri				
Parametreler	**Ort**	**SS**	**Med**	**Min**	**Maks**
Cinsiyet					
Kadın	60,4833	±80,0885	30,00	0,00	423,00
Erkek	76,5139	±69,6361	52,50	0,00	296,50
Tanı grupları ve alt gruplar					
"İnflamatuar dermatit"	35,9750	±39,1973	22,50	0,00	151,00
"Yama MF"	32,3333	±40,2453	20,00	0,00	159,00
"Plak MF"	85,9125	±63,9972	70,50	20,00	219,00
"Tümör MF"	157,7375	±85,6959	145,50	63,00	423,00
"Erken MF"	50,4958	±55,2919	25,00	0,00	219,00
"İlerleyen MF" Erken dönem	60,2292	±54,7690	33,00	10,00	179,25
"İlerlemeyen MF" Erken dönem	14,4444	±6,7474	15,00	5,00	24,00
"İlerleyen MF" Tanı biyopsi	54,3182	±49,5753	30,00	10,00	144,00
"İlerleyen MF" Takip biyopsi	164,5500	±106,4783	159,75	39,00	423,00
BHD					
Var	115,6304	±69,8233	138,75	15,00	219,00
Yok	62,0446	±77,9932	32,50	0,00	423,00
İmmünfenotip					
CD4+	88,2984	±84,1707	72,50	0,00	423,00
CD8+	34,7917	±43,4623	20,50	5,00	159,00
CD4/CD8 "double" pozitif	49,6667	±13,0511	54,00	35,00	60,00
CD4/CD8 "double" negatif	46,5000	±44,5477	46,50	15,00	78,00
CD5 ifade kaybı					
Var	41,7000	±44,7779	25,00	5,00	144,00
Yok	86,6587	±83,7857	70,00	0,00	423,00
CD7 ifade kaybı					
Var	71,0515	±77,4713	37,50	0,00	423,00
Yok	125,3500	±81,6343	120,25	30,00	296,50
Serum LDH seviyesi					
Düşük	30,0000	-	30,00	30,00	30,00
Normal	75,3897	±60,9990	61,50	0,00	204,00
Yüksek	148,1167	±111,7120	148,00	5,00	423,00
Klinik evre					
Erken evre	45,4946	±49,8966	24,50	0,00	179,25
İleri evre	129,3952	±89,0937	128,00	5,00	423,00
Tedavi yöntemi					
Deri hedefli	55,0682	±82,1076	22,00	0,00	423,00
Sistemik	112,6548	±80,2346	100,00	5,00	296,50
Deri hedefli+Sistemik	82,1667	±63,8983	72,50	0,00	204,00

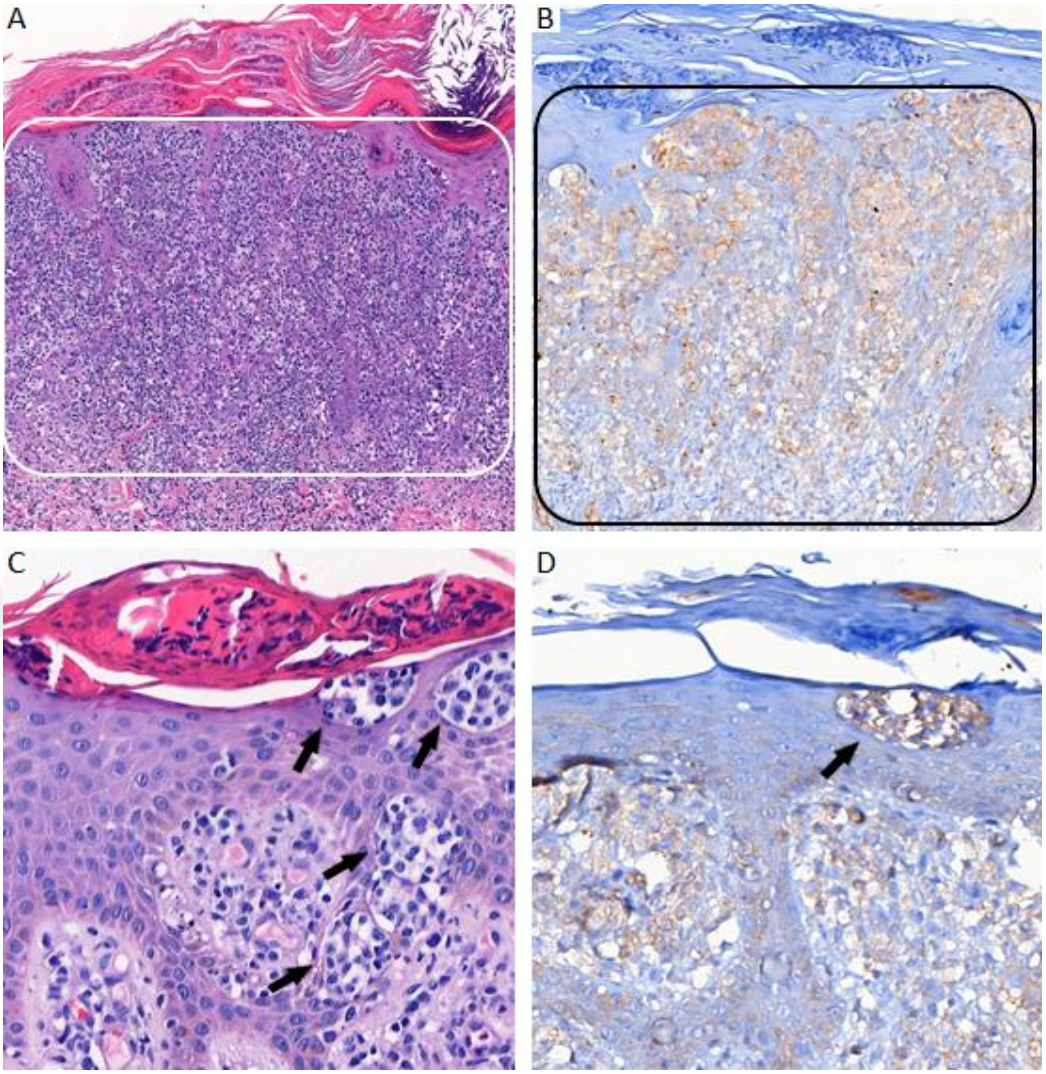
Yaş ve cinsiyet ile Notch1 ifadesi arasında anlamlı düzeyde ilişki saptanmamıştır (sırasıyla p=0.796, p=0.109) (Tablo 4.5).

Ortalama Notch1 H-skoru "inflamatuar dermatit" tanı grubunda 35.9, "yama MF" tanı grubunda ise 32.3'tür ve "inflamatuar dermatit" grubunda görece yüksek bulunmuştur. Ancak bu iki grup arasında H-skoru açısından istatistiksel anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (p=1,000) (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. "İnflamatuar dermatit" tanı grubu ile "yama MF" tanı gruplarının Notch1 H-skorlarının (minimum, medyan ve maksimum) karşılaştırması (p=1,000)

Sitoplazmik/membranöz boyanma ve keratinositlerdeki Notch1 ifadesi nedeniyle atipik hücrelerde Notch1 ifadesinin değerlendirilmesi zor olsa da, bazı olgularda Pautrier mikroabselerindeki neoplastik hücrelerde Notch1 ifadesi izlenmiştir (Resim 4.5).

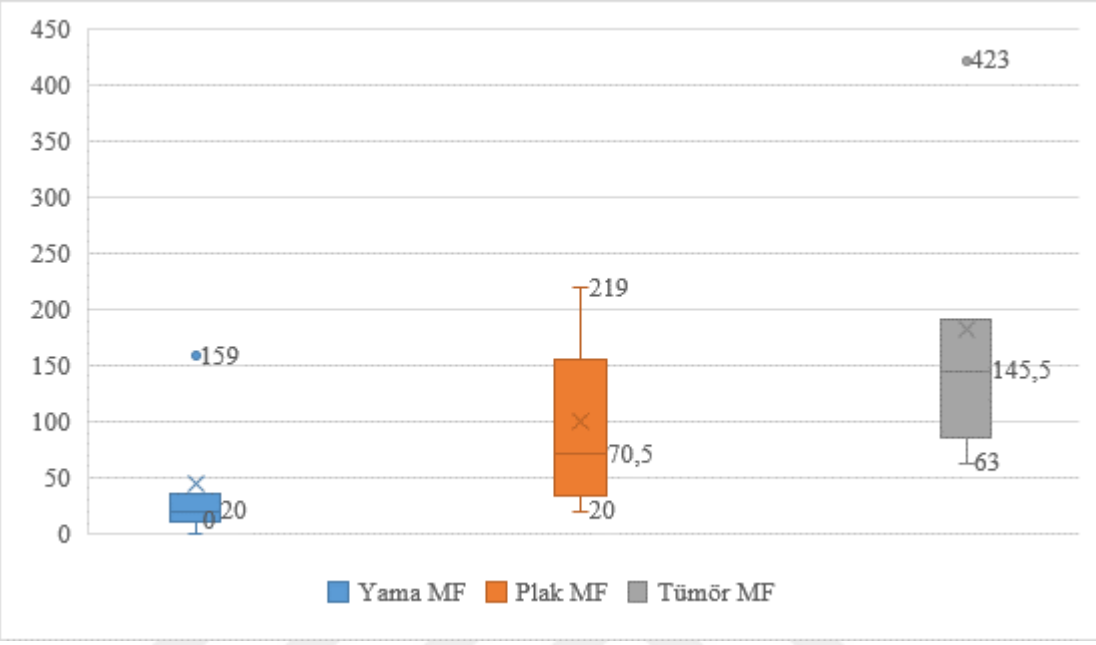


Resim 4.5. "Plak MF" olgularında atipik lenfoid hücrelerde Notch1 ifadesi.

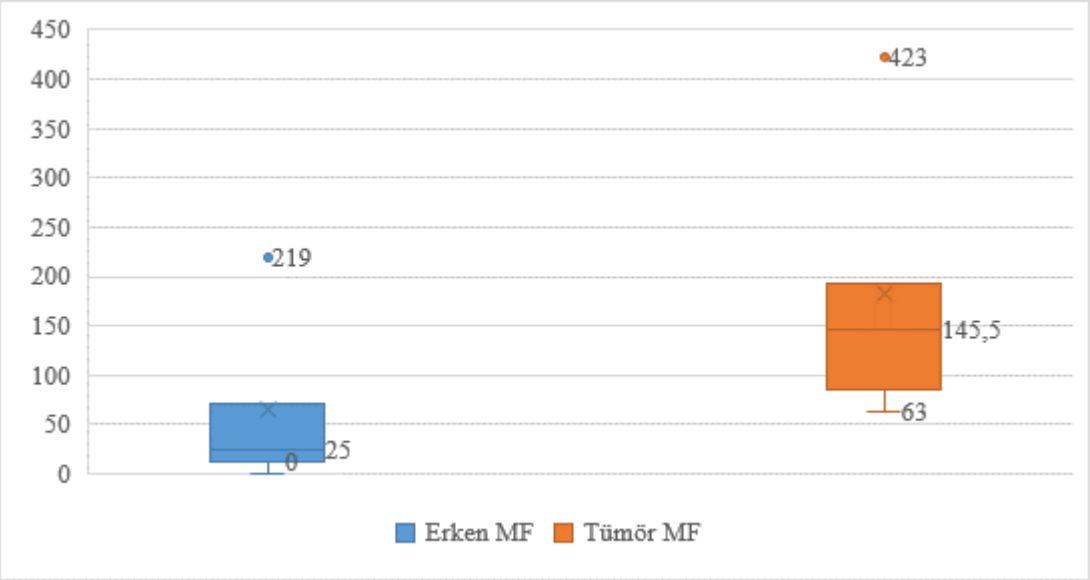
A) Epidermisin neredeyse tamamını dolduran büyük Pautrier mikroabseleri (işaretli alan) izlenmekte (H-Ex100). B) Pautrier mikroabselerindeki neoplastik hücrelerde yaygın Notch1 ifadesi (işaretli alan) (Notch1x200). C) Epidermiste Pautrier mikroabseleri (ok) şeklinde epidermotropizm bulunmakta (H-Ex400). D) Dermisteki hücreler yanı sıra Pautrier mikroabsesindeki atipik hücrelerde de sitoplazmik/membranöz Notch1 boyanması (ok) (Notch1x400)

MF'in farklı dönemine ait tanı gruplarının H-skoru değerlerine bakıldığında; yama döneminden tümör dönemine doğru hastalığın evresi ilerledikçe H-skoru artmaktadır. MF tanı grupları arasında, "yama MF" ve "plak MF" dönemi ile "yama MF" ve "tümör MF" dönemi tanı grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmiştir (sırasıyla p=0.002, p=0.000). "Plak MF" ve "tümör MF" dönemine ait tanı grupları arasında ise anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (p=0,189) (Şekil 4.15).

"Erken MF" (yama MF+plak MF) tanı grubunda "tümör MF" grubuna göre Notch1 ifadesinin daha düşük olduğu gözlenmiştir (p=0.005) (Şekil 4.16).

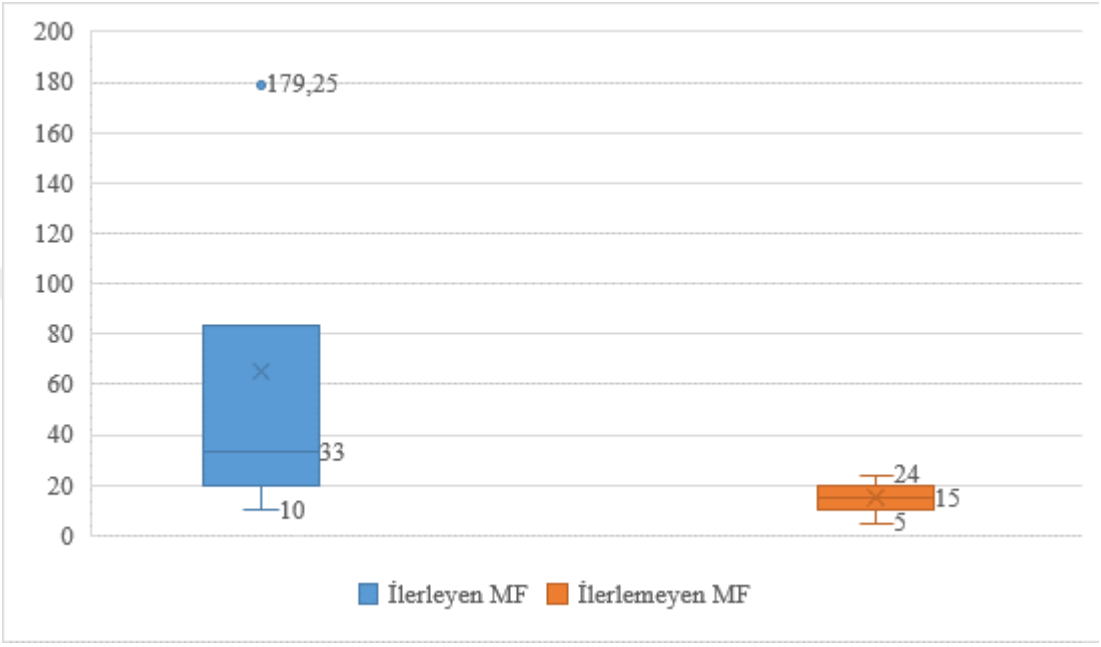


Şekil 4.15. "Yama MF", "plak MF" ve "tümör MF" tanı gruplarına ait minimum, medyan ve maksimum Notch1 H-skor değerleri karşılaştırması (yama MF-plak MF p=0.002; yama MF-tümör MF p=0.000)



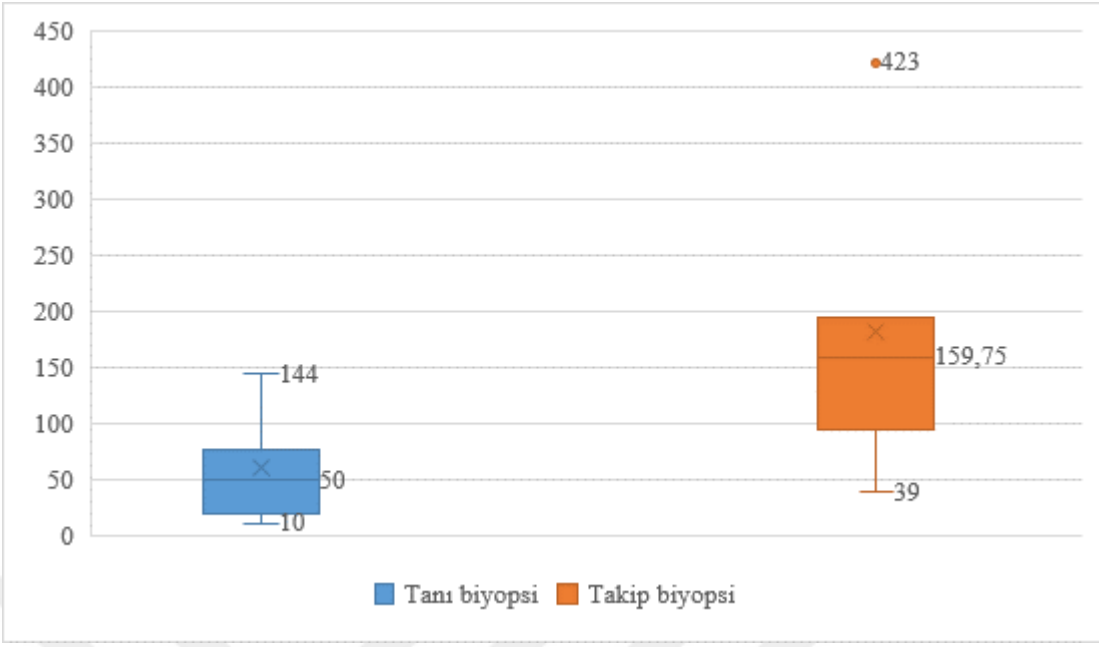
Şekil 4.16. Notch1 ifadesinin "erken MF" (yama MF+plak MF) ve "tümör MF" tanı gruplarında karşılaştırması (p=0,005)

Hastalık ilerlemesi açısından karşılaştırılan "ilerleyen MF" grubu (n=12) ve "ilerlemeyen MF" grubunun (n=9) erken dönem biyopsilerinin minimum, medyan ve maksimum Notch1 H-skoru değerleri Şekil 4.17'de gösterilmiştir. "İlerleyen MF" grubunda H-skorunun anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur (p=0,006).



Şekil 4.17. "İlerleyen MF" ve "ilerlemeyen MF" gruplarına ait minimum, medyan ve maksimum Notch1 H-skor değerleri karşılaştırması (p=0,006)

"İlerleyen MF" grubundaki hastaların tanı (yama/plak/tümör) (n=11) ve takip (tümör/BHD gösteren) (n=10) biyopsileri incelendiğinde; Notch1 ifadesinin bu grupta takip biyopsilerinde anlamlı düzeyde artmış olduğu saptanmıştır (p=0,017) (Şekil 4.18).



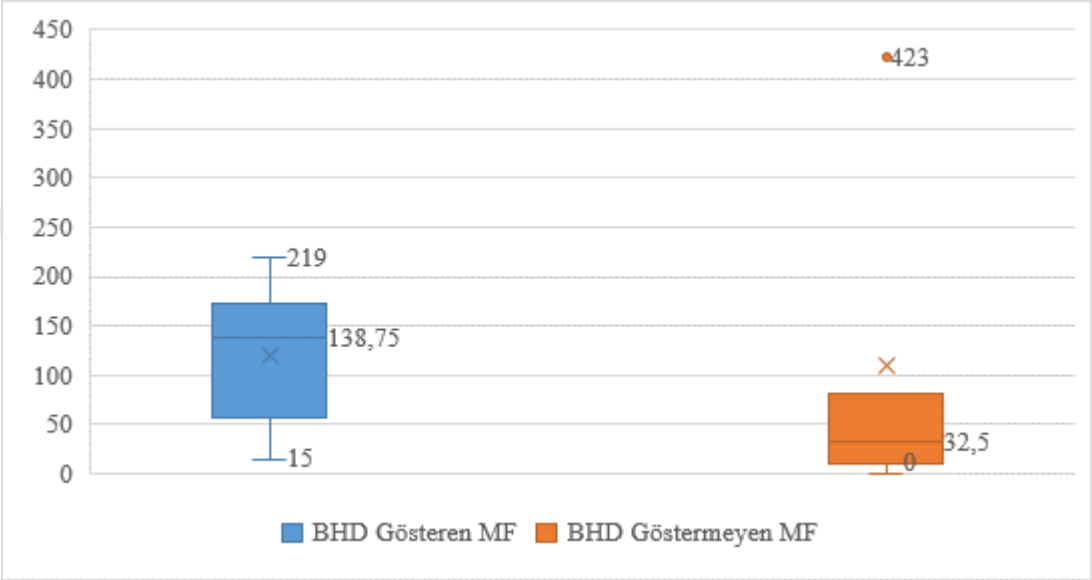
Şekil 4.18. "İlerleyen MF" grubunun tanı ve takip biyopsilerine ait minimum, medyan ve maksimum Notch1 H-skor değerleri karşılaştırması (p=0,017)

Aynı hastaya ait (n=6) eş zamanlı alınan farklı dönem (yama, plak, tümör) biyopsi örnekleri (n=15) arasında Notch1 ifade farkı izlenmemiştir (p=0,120) (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. Aynı hastaya ait eş zamanlı alınan farklı dönem (yama, plak, tümör) biyopsi örneklerinin medyan, minimum ve maksimum Notch1 H-skoru değerleri

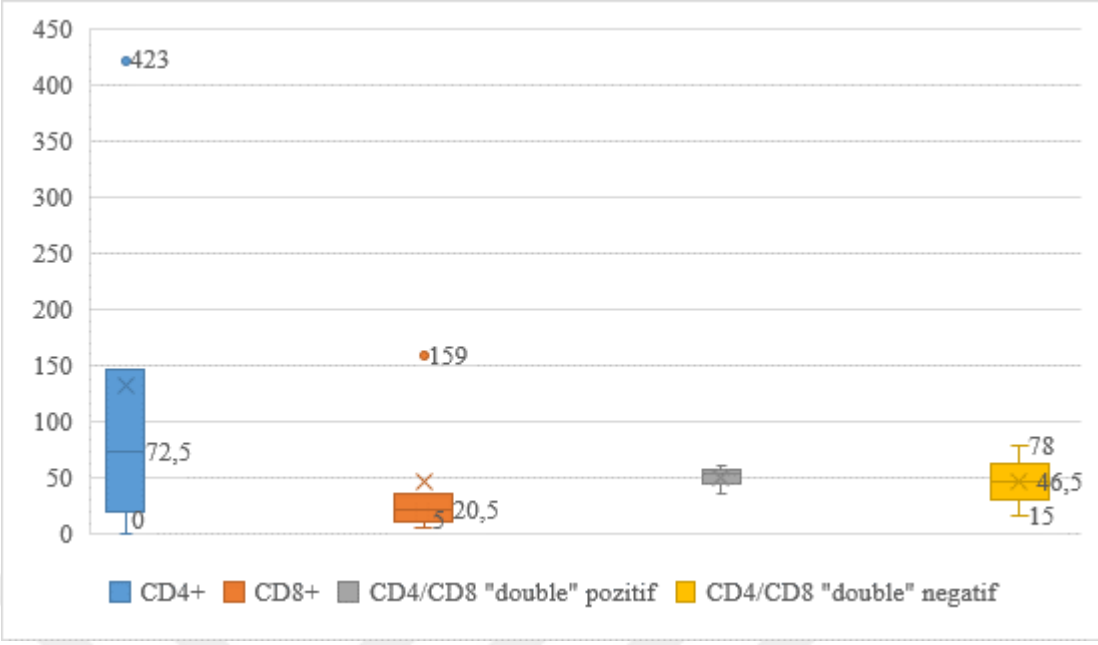
	Notch1 H-skoru		
	Medyan	**Minimum**	**Maximum**
"Eş zamanlı yama MF" (n=4)	47,7500	20,00	90,00
"Eş zamanlı plak MF" (n=7)	54,0000	20,00	179,25
"Eş zamanlı tümör MF" (n=4)	158,0000	100,00	296,50

BHD ile Notch1 ifadesi arasındaki ilişkiye bakıldığında; BHD gösteren olgularda (n=23) BHD göstermeyen olgulara (n=56) göre H-skoru daha yüksek bulunmuştur (p=0,000). BHD ile Notch1 ifade artışının ilişkili olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.19). Notch1 ifadesi ile CD30 pozitiflik oranı arasında korelasyon saptanmamıştır (p=0,932).



Şekil 4.19. "BHD gösteren MF" ve "BHD göstermeyen MF" gruplarına ait minimum, medyan ve maksimum Notch1 H-skor değerleri karşılaştırması (p=0,000)

MF tanı gruplarında immünfenotipik özellikler ile Notch1 ifadesinin ilişkisi incelendiğinde; CD4+ fenotipe sahip biyopsilerde CD8+ olanlara göre daha yüksek H-skoru olmasına rağmen 4 farklı immünfenotipe sahip biyopsiler arasında Notch1 H-skoru açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (p=0,131) (Şekil 4.20).

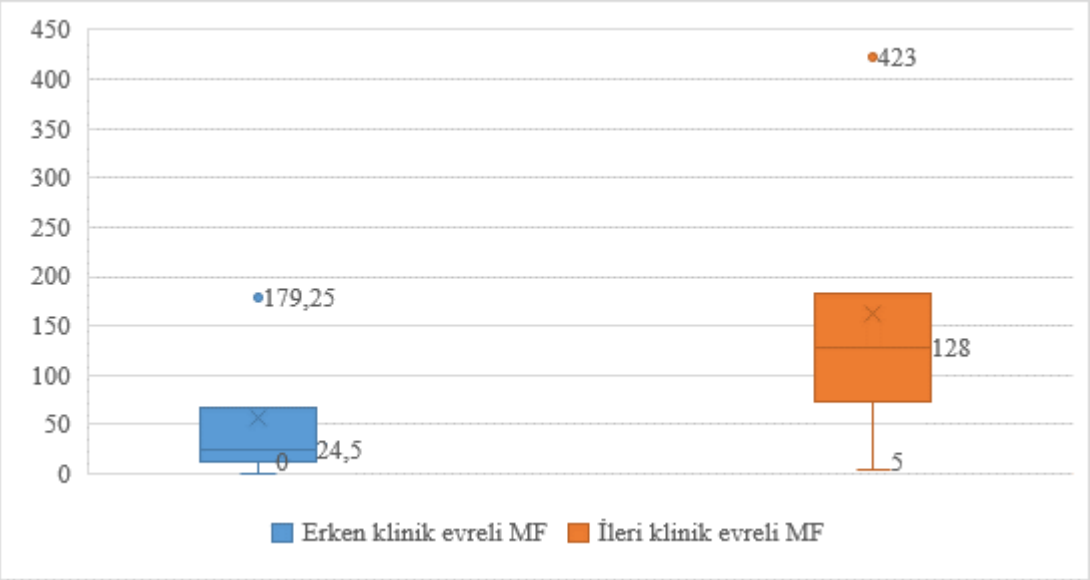


Şekil 4.20. Notch1 ifadesi açısından CD4+, CD8+, CD4/CD8 "double" pozitif ve CD4/CD8 "double" negatif immünfenotiplerinin karşılaştırması

Notch1 ifadesi ile CD5 ifade kaybı arasında ilişki izlenmezken (p=0,068), CD7 ifade kaybı olan biyopsilerde Notch1 H-skoru anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur (p=0,014) (Tablo 4.5).

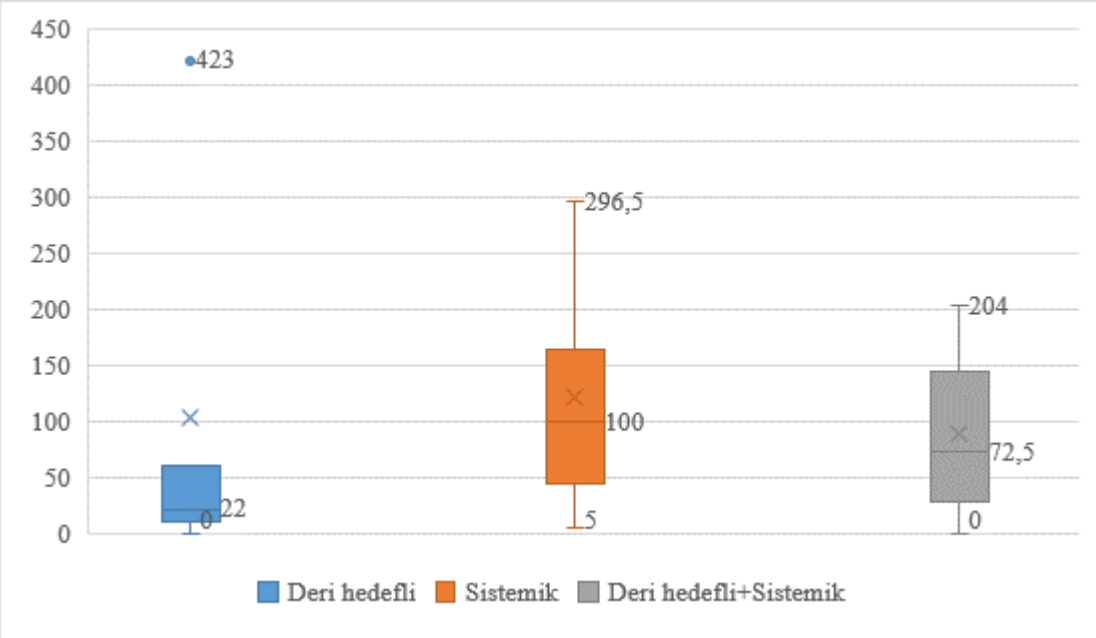
Serum LDH seviyesi ile Notch1 ifadesi arasında ise anlamlı düzeyde ilişki saptanmamıştır (p=0.063) (Tablo 4.5).

Klinik evreye göre Notch1 ifadesi incelendiğinde; ileri evre MF olgularında erken evre MF olgularına göre anlamlı olarak yüksek Notch1 ifadesi izlenmiştir (p=0.000) (Şekil 4.21).



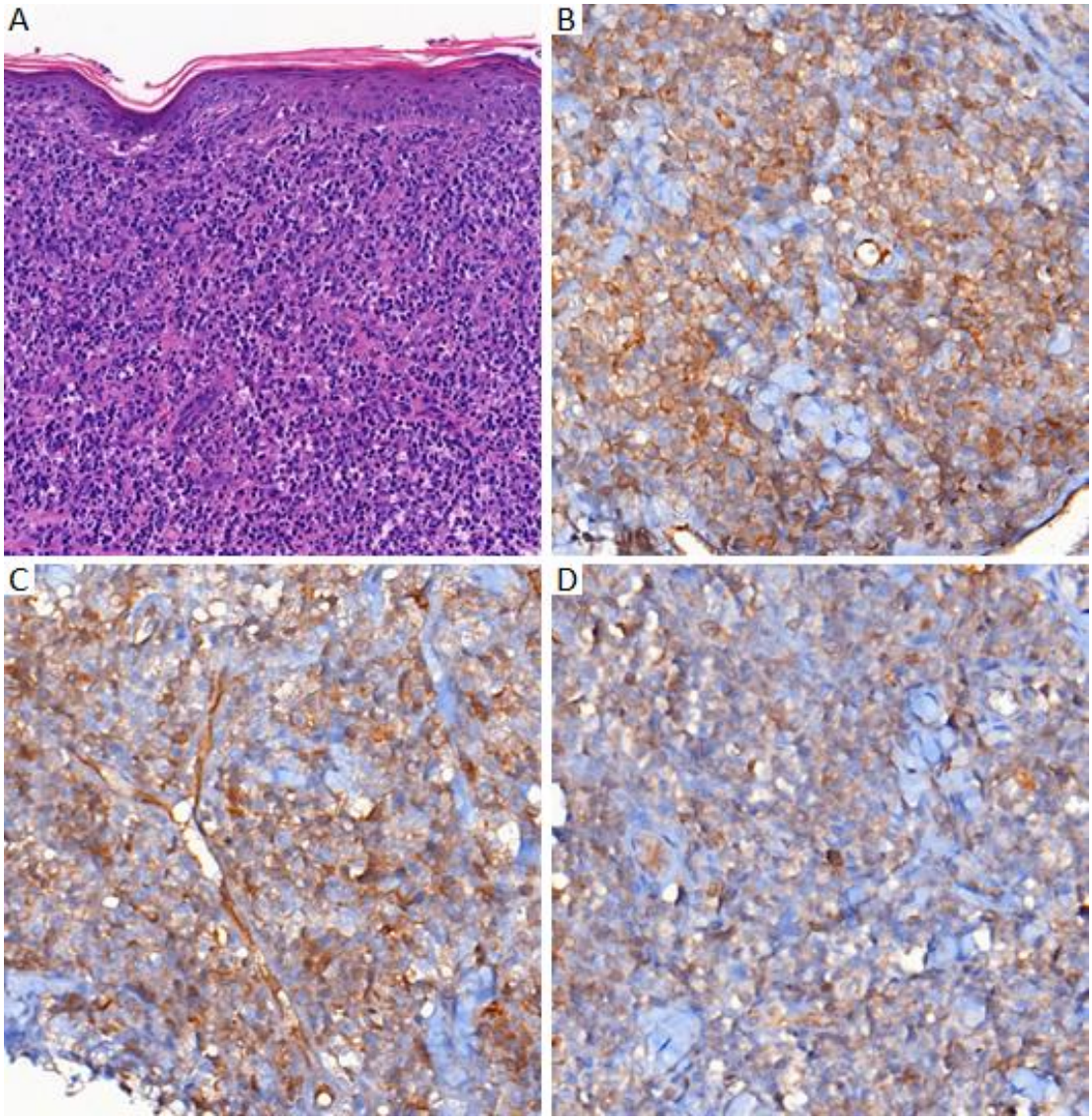
Şekil 4.21. "Erken klinik evreli MF" ve "ileri klinik evreli MF" gruplarına ait minimum, medyan ve maksimum Notch1 H-skor değerleri karşılaştırması (p=0.000)

Tedavi yöntemlerine bakıldığında; Notch1 ifadesinin sistemik tedavi alan olgularda en yüksek, deri hedefli tedavi alanlarda ise en düşük olduğu gözlenmiş, bu iki grup arasında fark anlamlı bulunmuştur (p=0.005) (Şekil 4.22).



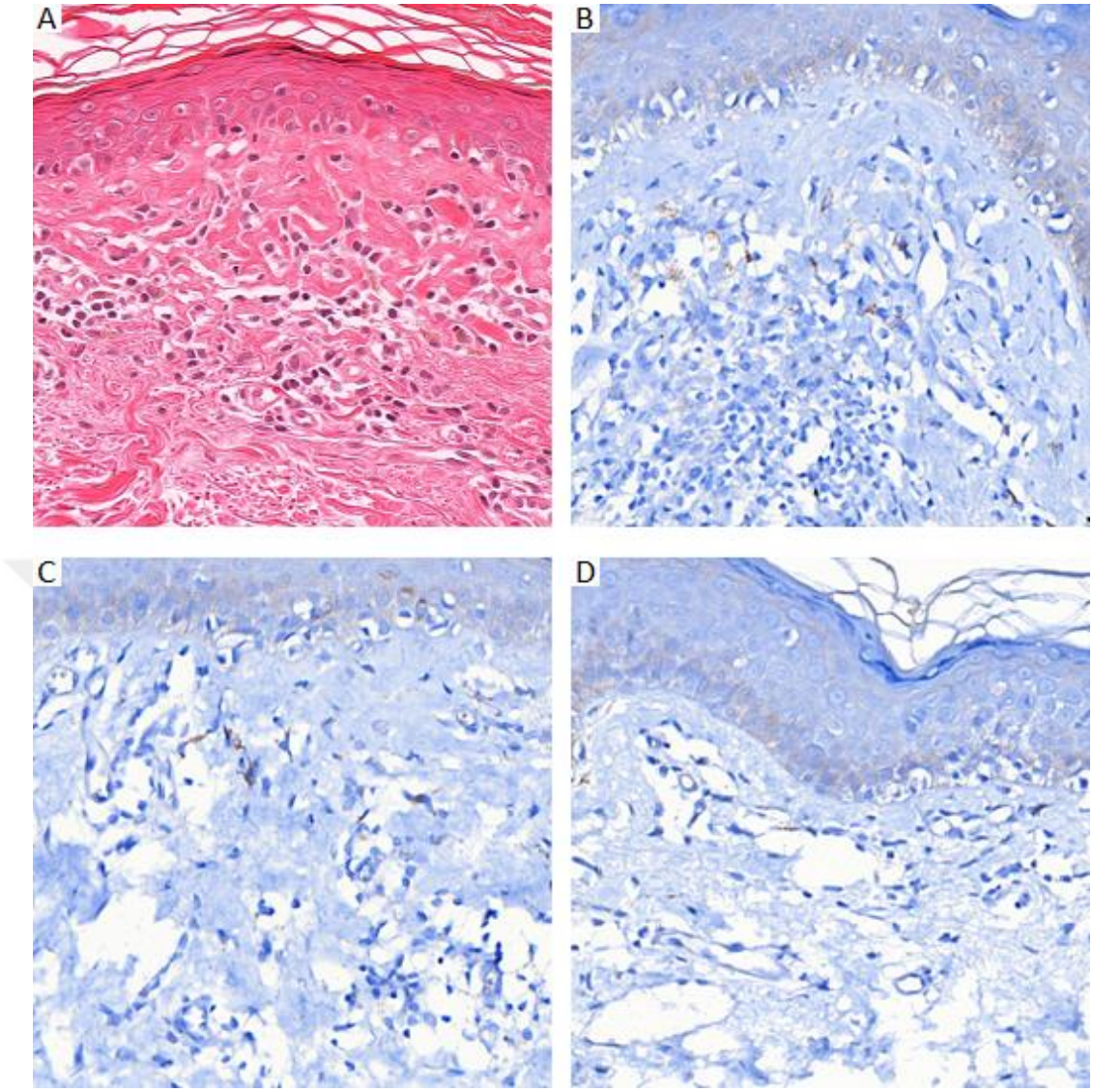
Şekil 4.22. Deri hedefli, sistemik ve deri hedefli+sistemik tedavi alan olguların Notch1 ifadelerinin karşılaştırması (Deri hedefli-sistemik p=0.005)

Resim 4.6-Resim 4.8'de "yama MF", "tümör MF" ve "inflamatuar dermatit" gruplarına ait H-E ve Notch1 boyalı örnekler bulunmaktadır.



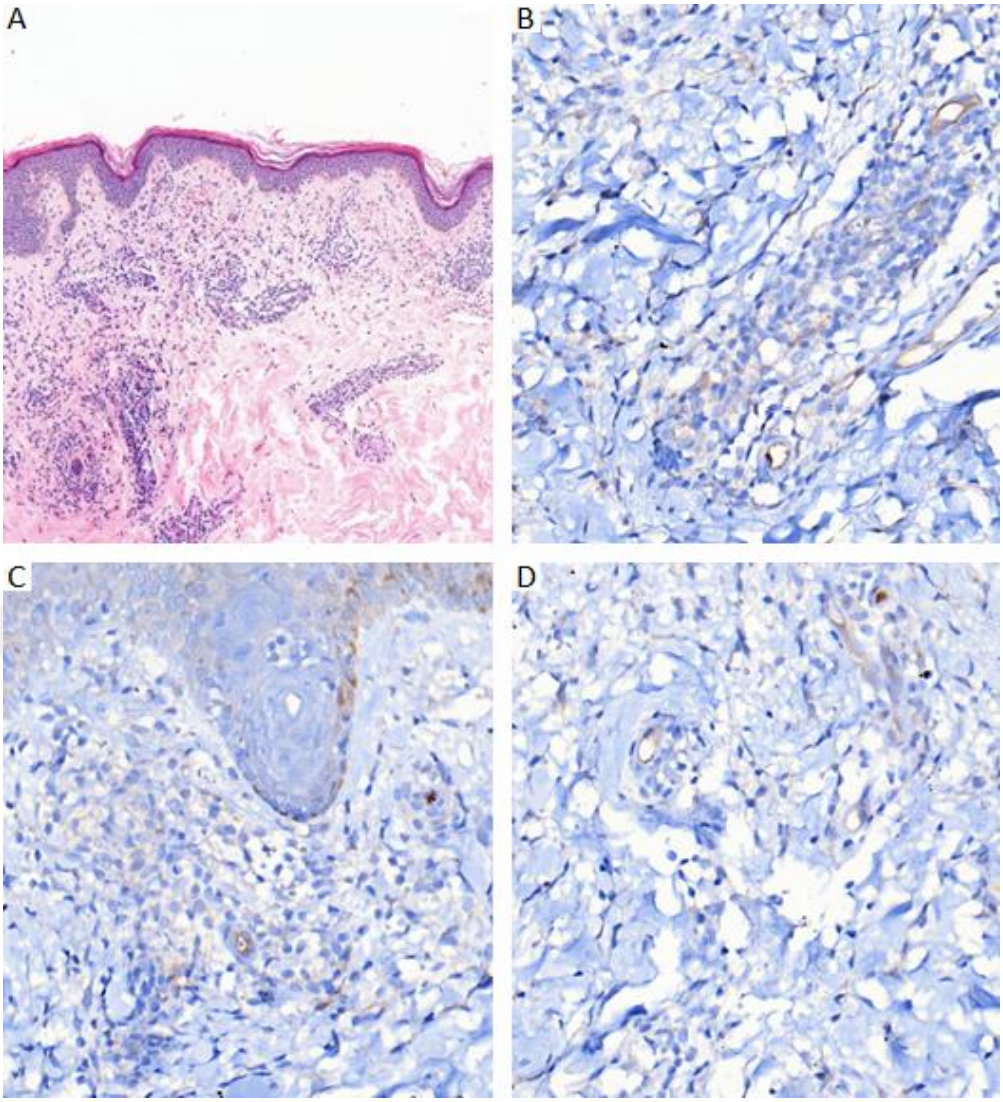
Resim 4.6. "Tümör MF" olgusunda Notch1 ifadesinin değerlendirilmesi.

A) Dermisi dolduran diffüz atipik hücre infiltrasyonu gözlenmekte (H-Ex200). B) Dermiste infiltrasyonu oluşturan hücrelerde %95 pozitiflik; %70 kuvvetli, %30 zayıf boyanma (Notch1x400). C) Dermiste infiltrasyonu oluşturan hücrelerde %95 pozitiflik; %70 kuvvetli, %30 zayıf boyanma (Notch1x400). D) Dermiste infiltrasyonu oluşturan hücrelerde %80 pozitiflik; %20 kuvvetli, %80 zayıf boyanma (Notch1x400), H-skoru:423



Resim 4.7. "Yama MF" olgusunda Notch1 ifadesinin değerlendirilmesi.

A) Epidermiste basiler dizilim gösteren atipik hücreler, dermiste hafif fibrozis ve kollajen lifleri arasında atipik hücre infiltrasyonu (H-Ex400). B-D) Epidermiste atipik hücrelerde ve dermisteki infiltrasyonda Notch1 ile boyanma yok (Notch1x400), H-skoru:0



Resim 4.8. Pigmente purpurik dermatoz olgusunda Notch1 ifadesinin değerlendirilmesi.

A) Dermiste perivasküler ve interstisyel orta şiddette iltihabi hücre infiltrasyonu (H-Ex100). B) Dermisteki hücrelerde %25 pozitiflik; %10 kuvvetli, %90 zayıf boyanma (Notch1x400). C) Dermisteki hücrelerde %15 zayıf boyanma (Notch1x400). D) Dermisteki hücrelerde %5 zayıf boyanma (Notch1x400), H-skoru:47.5

4.2.3 FOXP3 İfadesi

FOXP3 mikroçevrede yer alan reaktif lenfositlerde ve epidermisteki atipik hücrelerde ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Reaktif lenfositlerde FOXP3 ifadesi "yama MF" ve "inflamatuar dermatit" gruplarında hem epidermal hem de dermal komponentte, "plak MF" ve "tümör MF" gruplarında ise dermal komponentte değerlendirilmiştir.

Cinsiyete, tanı ve alt gruplarına, BHD'ye, immünfenotipe, CD5 ifade kaybına, CD7 ifade kaybına, serum LDH seviyesine, klinik evreye ve tedavi yöntemine göre epidermisteki atipik hücrelerin ve dermisteki lenfositlerin ortalama, standart sapma, medyan, minimum ve maksimum FOXP3 boyanma oranı değerleri Tablo 4.7-Tablo 4.8'de özetlenmiştir.

Tablo 4.7. Genel ve klinikopatolojik özelliklere göre epidermisteki atipik hücrelerde FOXP3 boyanma oranı değerleri

	Epidermisteki atipik hücrelerde FOXP3 boyanma oranı (%)				
Parametreler	**Ort**	**SS**	**Med**	**Min**	**Maks**
Cinsiyet					
Kadın	18,5300	±12,1802	20,50	1,60	62,00
Erkek	20,2520	±12,5357	18,00	1,00	50,00
Tanı grupları ve alt gruplar					
"Yama MF"	21,2500	±12,0846	20,50	1,00	62,00
"Plak MF"	19,3550	±10,5323	21,00	2,00	46,00
"Tümör MF"	16,5700	±14,4391	11,50	1,30	47,00
"Erken MF"	20,6183	±11,5355	20,50	1,00	62,00
"İlerleyen MF" Erken dönem	16,0167	±6,8896	15,50	5,00	29,00
"İlerlemeyen MF" Erken dönem	20,8889	±8,0069	21,00	12,00	38,00
"İlerleyen MF" Tanı biyopsi	14,8364	±6,8135	14,00	5,00	29,00
"İlerleyen MF" Takip biyopsi	17,3273	±10,4162	18,00	1,60	36,00
BHD					
Var	14,0667	±9,5085	15,00	1,00	36,00
Yok	21,9804	±12,7397	21,00	1,60	62,00
İmmünfenotip					
CD4+	19,7857	±13,7028	18,00	1,00	62,00
CD8+	18,0000	±5,2223	18,50	8,00	25,00
CD4/CD8 "double" pozitif	23,3333	±1,5275	23,00	22,00	25,00
CD4/CD8 "double" negatif	18,0000	±5,6568	18,00	14,00	22,00
CD5 ifade kaybı					
Var	16,6400	±11,5399	14,00	4,00	43,00
Yok	20,3578	±12,6067	21,00	1,00	62,00
CD7 ifade kaybı					
Var	18,5362	±12,1458	17,00	1,00	62,00
Yok	27,3500	±12,1797	24,00	5,00	47,00
Serum LDH seviyesi					
Düşük	24,0000	-	24,00	24,00	24,00
Normal	16,5273	±12,2267	16,00	1,00	62,00
Yüksek	20,7875	±13,6909	21,00	1,60	47,00
Klinik evre					
Erken evre	20,3587	±11,4710	20,00	1,00	62,00
İleri evre	18,5625	±13,9783	17,00	1,30	47,00
Tedavi yöntemi					
Deri hedefli	20,9875	±10,4470	21,00	1,60	50,00
Sistemik	16,4636	±13,9778	12,05	1,00	47,00
Deri hedefli+Sistemik	20,6958	±13,5874	17,00	6,00	62,00

Tablo 4.8. Genel ve klinikopatolojik özelliklere göre dermisteki lenfositlerde FOXP3 boyanma oranı değerleri

	Dermisteki lenfositlerde FOXP3 boyanma oranı (%)				
Parametreler	**Ort**	**SS**	**Med**	**Min**	**Maks**
Cinsiyet					
Kadın	31,1348	±13,6621	32,10	1,50	59,80
Erkek	23,2333	±12,3887	21,40	0,90	51,20
Tanı grupları ve alt gruplar					
"İnflamatuar dermatit"	31,4100	±10,6926	30,00	15,40	59,80
"Yama MF"	31,3975	±12,4809	30,75	4,90	51,40
"Plak MF"	23,1200	±14,1125	23,15	0,90	50,70
"Tümör MF"	17,0150	±11,6918	13,25	1,50	39,00
"Erken MF"	28,6383	±13,5126	28,85	0,90	51,40
"İlerleyen MF" Erken dönem	26,1833	±12,0989	29,45	5,00	51,40
"İlerlemeyen MF" Erken dönem	34,6222	±11,4695	38,20	19,50	51,20
"İlerleyen MF" Tanı biyopsi	25,7364	±12,7123	29,40	5,00	51,40
"İlerleyen MF" Takip biyopsi	22,5818	±15,0817	18,80	1,50	50,70
BHD					
Var	20,5208	±14,4933	19,75	0,90	50,70
Yok	27,9661	±13,2350	27,75	1,50	51,40
İmmünfenotip					
CD4+	23,5159	±14,1437	23,00	0,90	51,40
CD8+	34,7500	±9,5390	35,75	21,20	51,20
CD4/CD8 "double" pozitif	33,7333	±12,9388	40,80	18,80	41,60
CD4/CD8 "double" negatif	29,4500	±12,3743	29,45	20,70	38,20
CD5 ifade kaybı					
Var	26,6333	±16,4233	26,80	4,00	50,30
Yok	25,2422	±13,3771	70,00	0,90	51,40
CD7 ifade kaybı					
Var	26,1435	±14,1901	26,80	0,90	51,40
Yok	21,1100	±11,3511	21,65	5,00	39,00
Serum LDH seviyesi					
Düşük	25,6000	-	25,60	25,60	25,60
Normal	23,7853	±14,1700	24,60	3,40	49,80
Yüksek	21,3438	±13,9248	18,60	0,90	51,40
Klinik evre					
Erken evre	29,5391	±12,3382	29,45	4,90	51,40
İleri evre	19,6375	±14,3489	15,15	0,90	50,70
Tedavi yöntemi					
Deri hedefli	30,5545	±12,3676	30,30	1,50	51,40
Sistemik	15,9864	±14,0000	11,20	0,90	50,30
Deri hedefli+Sistemik	26,8333	±11,9261	25,70	7,80	50,70

Epidermisteki atipik hücrelerin ve dermisteki lenfositlerin FOXP3 ifadesi yaş ile ilişkisizdir (sırasıyla, p=0.304, p=0.448).

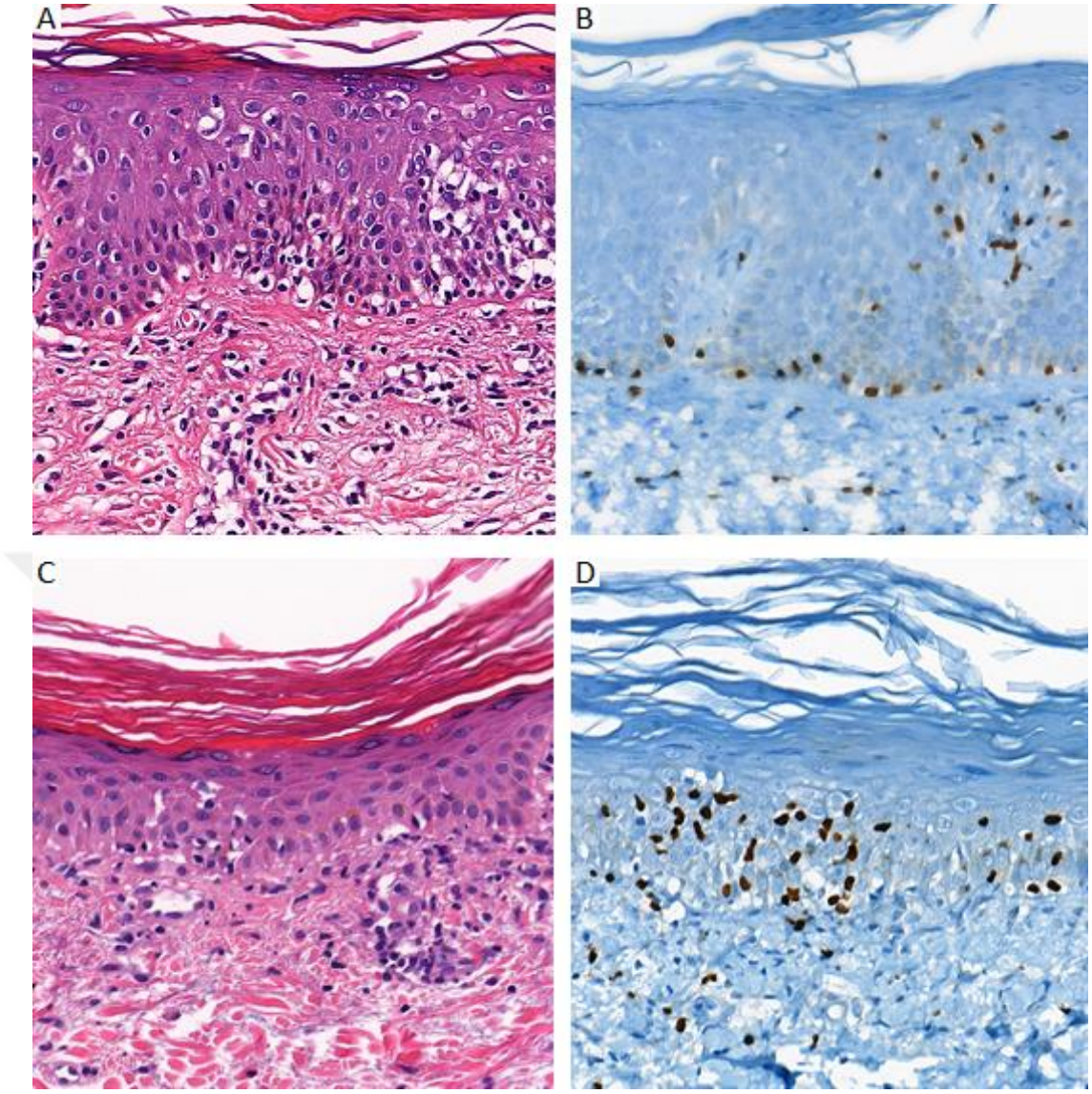
Cinsiyet ile FOXP3 ilişkisi incelendiğinde, dermisteki FOXP3 ifade eden lenfosit oranı kadınlarda erkeklere göre daha yüksek bulunmuş (p=0,003); epidermisteki FOXP3 ifade eden atipik lenfoid hücre sayısı açısından anlamlı fark gözlenmemiştir (p=0,633) (Tablo 4.7-Tablo 4.8).

"Yama MF" ve "inflamatuar dermatit" tanı grupları mikroçevredeki reaktif lenfositlerde FOXP3 ifadesi açısından karşılaştırıldığında, "yama MF" tanı grubunda epidermisteki ve dermisteki FOXP3 ifade eden reaktif lenfositlerin ortalama değeri %27 ve %31.3; inflamatuar dermatit tanı grubunda %29.9 ve %31.4 olarak bulunmuştur. İki grup arasında epidermisteki ve dermisteki reaktif lenfositlerde FOXP3 ifadeleri açısından anlamlı fark yoktur (sırasıyla, p=0.834, p=1.000) (Tablo 9).

Tablo 4.9. Epidermisteki ve dermisteki lenfositlerde FOXP3 boyanma oranına göre "yama MF" ve "inflamatuar dermatit" tanı gruplarının karşılaştırması (sırasıyla, p=0.834, p=1.000)

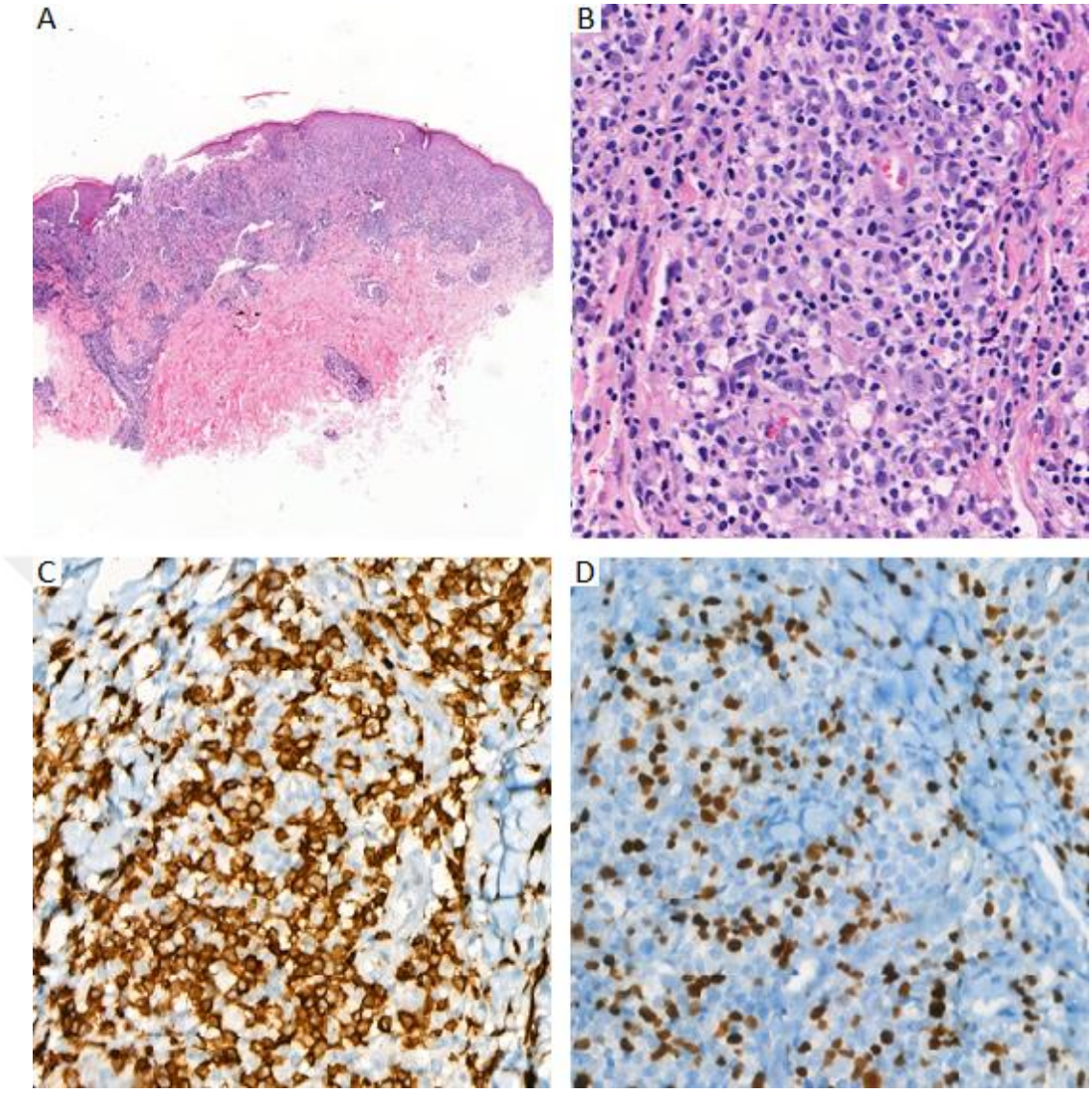
	Epidermisteki lenfositlerde FOXP3 boyanma oranı (%)		**Dermisteki lenfositlerde FOXP3 boyanma oranı (%)**	
	Ortalama	Standart sapma	Ortalama	Standart sapma
"Yama MF" (n=40)	27,0775	12,85175	31,3975	±12,48095
İnflamatuar dermatit (n=20)	29,9850	13,64587	31,4100	±10,69264

MF biyopsilerinde özellikle epidermiste tanımlanabilen büyük düzensiz nükleuslu, halolu, basiler dizilim gösteren atipik hücrelerde açıkça FOXP3 ifadesi (%1-62) dikkat çekmiştir (Resim 4.9). Dermisteki orta-büyük nükleuslu atipik hücrelerde de FOXP3 ifadesi olduğu izlenmiş, ancak yüzdesel değer olarak hesaplanmamıştır (Resim 4.10).



Resim 4.9. "Yama MF" olgularında epidermisteki atipik hücrelerde FOXP3 ifadesi.

A,B) Epidermiste basiler dizilim gösteren atipik hücreler ve bu hücrelerin bir kısmında FOXP3 ifadesi (sırasıyla H-Ex400, FOXP3x400). C,D) Epidermiste keratinosit nükleusundan büyük, düzensiz nükleuslu ve halolu atipik hücreler ve bu hücrelerin büyük bir kısmında FOXP3 ifadesi (sırasıyla H-Ex400, FOXP3x400)

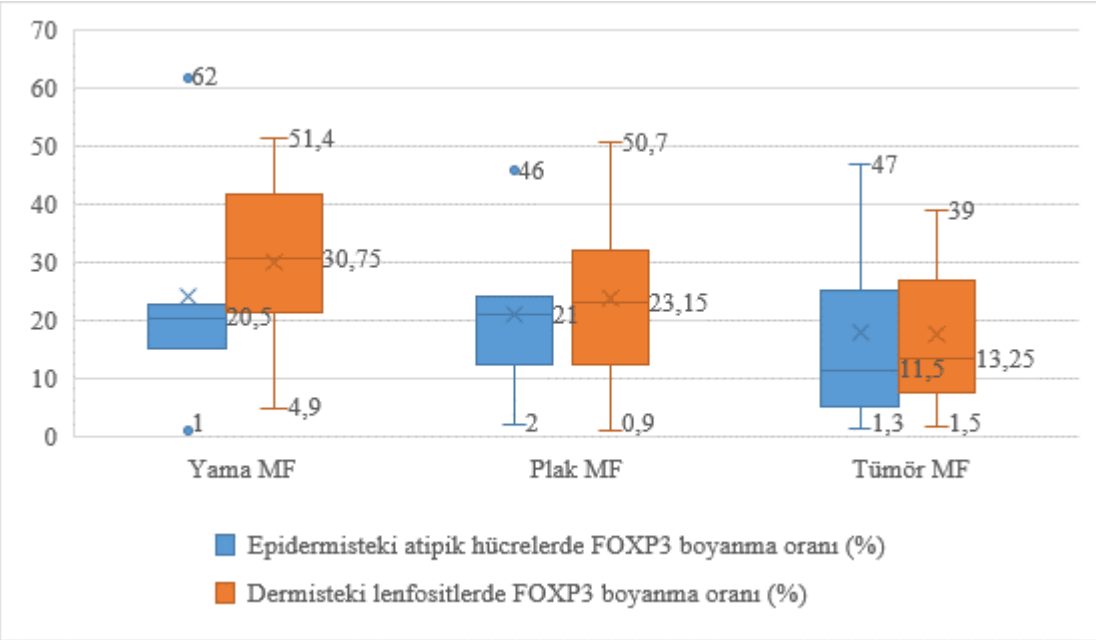


Resim 4.10. BHD gösteren plak MF olgusunda FOXP3 ifadesi.

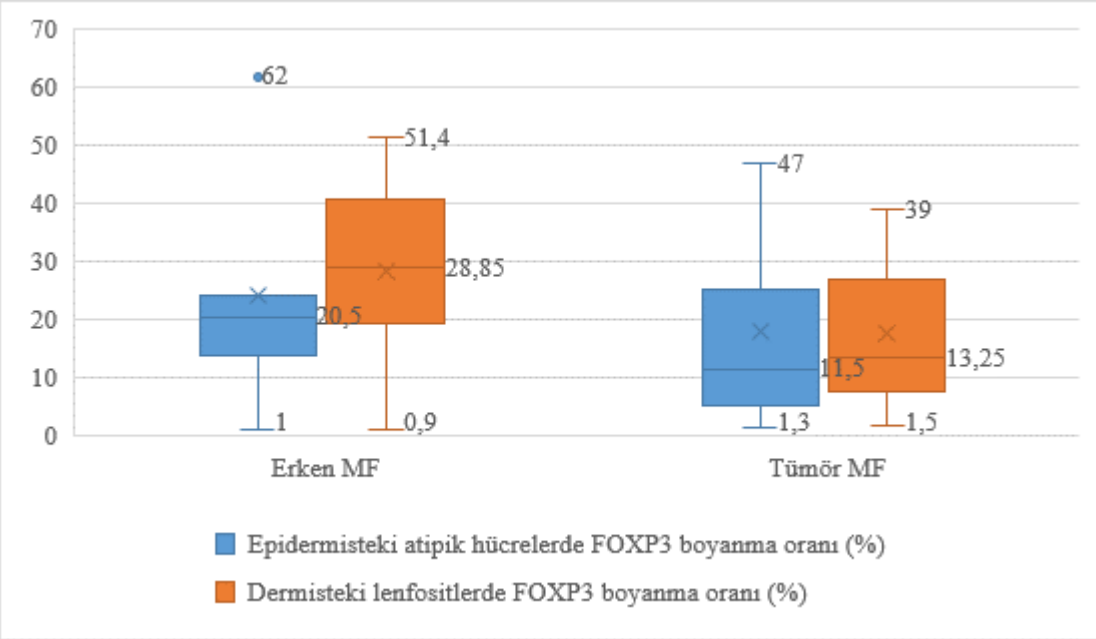
A) Yüzeyel dermisi dolduran orta dermise de uzanım gösteren yoğun lenfoid infiltrasyon (H-Ex40). B) Dermiste orta-büyük nükleuslu atipik hücreler (H-Ex400). C) CD3 ile lenfoid hücrelerde boyanma (CD3x400). D) Dermisteki orta-büyük nükleuslu atipik lenfoid hücrelerde nükleer FOXP3 ifadesi (FOXP3x400)

MF farklı dönem tanı gruplarında, epidermiste FOXP3 ifade eden atipik hücrelere bakıldığında; hastalık ilerledikçe sırayla yama, plak, tümör dönemine doğru FOXP3 ifadesinin azaldığı gözlenmiştir. Ancak tanı grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (p=0,302). Bu gruplar arasında dermiste FOXP3 pozitif lenfosit oranı karşılaştırıldığında ise; sadece "yama MF" grubu ve "tümör MF" grubu arasında anlamlı fark saptanmıştır (p=0,000). "Yama MF" ve "plak MF" grupları ile "plak MF" ve "tümör MF" grupları arasında anlamlı düzeyde fark

bulunmamıştır (sırayla p=0.075, p=0.404) (Şekil 4.23). Dermiste FOXP3 pozitif hücre oranının da sırayla yama, plak, tümör dönemine doğru azaldığı izlenmiştir. "Erken MF" (yama MF+plak MF) tanı grubu ile "tümör MF" tanı grubu arasında epidermisteki atipik hücrelerde FOXP3 ifadesi açısından anlamlı fark saptanmamış (p=0.125); dermisteki lenfositlerde FOXP3 ifadesi "tümör MF" grubunda daha düşük gözlenmiştir (p=0.001) (Şekil 4.24).



Şekil 4.23. "Yama MF", "plak MF" ve "tümör MF" tanı gruplarına ait epidermisteki atipik hücrelerde ve dermisteki lenfositlerde minimum, medyan ve maksimum FOXP3 boyanma oranlarının karşılaştırması (dermisteki lenfositlerde yama MF-tümör MF p=0.000)



Şekil 4.24. Epidermisteki atipik hücrelerde ve dermisteki lenfositlerde FOXP3 ifadesi açısından "erken MF" (yama MF+plak MF) ve "tümör MF" tanı gruplarının karşılaştırması (sırasıyla, p=0.125, p=0.001)

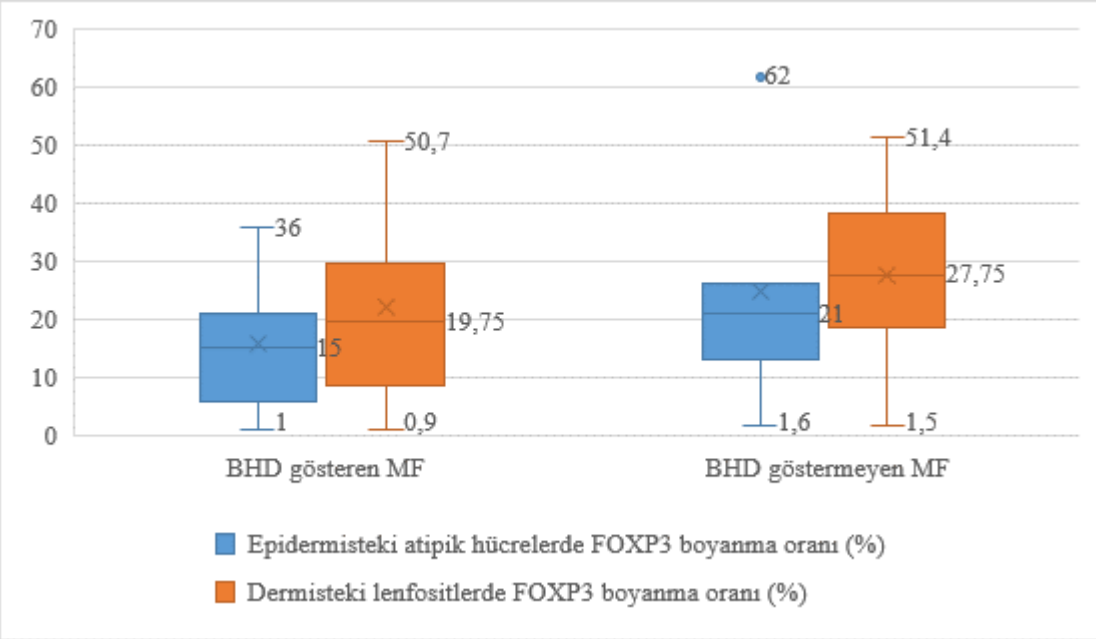
"İlerleyen MF" grubu ile "ilerlemeyen MF" grubu erken dönem biyopsileri epidermisteki atipik hücrelerde ve dermisteki lenfositlerde FOXP3 ifadesi açısından birbirleri ile karşılaştırıldığında; iki değerlendirme için de gruplar arasında anlamlı fark izlenmemiştir (sırayla, p=0.083, p=0.217) (Tablo 4.7-Tablo 4.8).

"İlerleyen MF" grubu tanı (yama/plak/tümör) ve takip (tümör/BHD gösteren) biyopsileri arasında (Tablo 4.7-Tablo 4.8) ve aynı hastaya ait eş zamanlı alınan farklı dönem biyopsiler arasında epidermisteki atipik hücrelerde ve dermisteki lenfositlerde FOXP3 ifadesinde istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir (sırasıyla, p=0.286, p=0.594, p=0.087, p=0.152) (Tablo 4.10).

Tablo 4.10. Epidermisteki atipik hücrelerde ve dermisteki lenfositlerde FOXP3 boyanma oranına göre aynı hastaya ait eş zamanlı alınan farklı dönem (yama, plak, tümör) biyopsilerin karşılaştırması (sırasıyla, p=0.087, p=0.152)

	Epidermisteki atipik hücrelerde FOXP3 boyanma oranı (%)			**Dermisteki lenfositlerde FOXP3 boyanma oranı (%)**	
	Medyan	Minimum	Maksimum	Ortalama	Standart sapma
"Eş zamanlı yama MF" (n=4)	21,5000	8,00	25,00	23,9500	±6,78356
"Eş zamanlı plak MF" (n=7)	22,0000	9,00	27,00	21,5571	±15,10649
"Eş zamanlı tümör MF" (n=4)	5,5000	4,00	47,00	14,2000	±8,27406

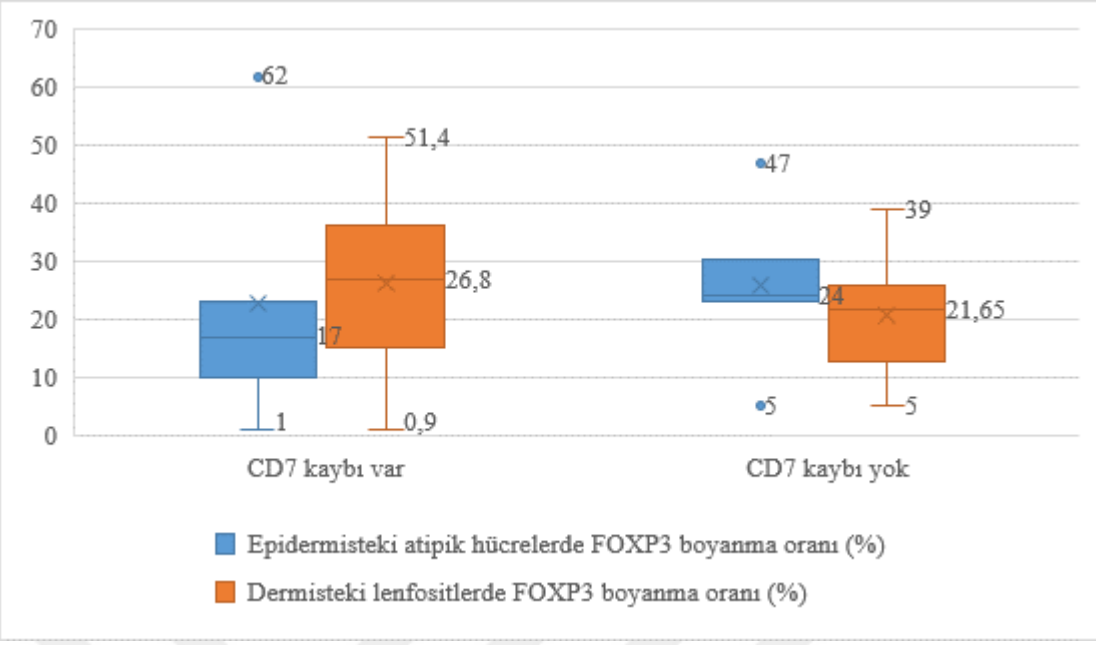
FOXP3 ifadesi açısından "BHD gösteren MF" grubu ile "BHD göstermeyen MF" grubu karşılaştırıldığında, "BHD gösteren MF" grubunda epidermisteki atipik hücrelerde ve dermisteki lenfositlerde FOXP3 ifadesi anlamlı düzeyde daha düşük bulunmuştur (sırasıyla, p=0.012, p=0.028) (Şekil 4.25). Epidermisteki atipik hücrelerde ve dermisteki lenfositlerde FOXP3 ifadesi ile CD30 pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (sırasıyla p=0.820, p=0.980).



Şekil 4.25. Epidermisteki atipik hücrelerde ve dermisteki lenfositlerde FOXP3 boyanma oranına göre "BHD gösteren MF" ve "BHD göstermeyen MF" gruplarının karşılaştırılması (sırasıyla, p=0.012, p=0.028)

İmmünfenotip ve CD5 ifade kaybı epidermisteki atipik hücrelerin ve dermisteki lenfositlerin FOXP3 ifadesi ile ilişkisizdir (sırasıyla, p=0.687, p=0.052; p=0.159, p=0.730) (Tablo 4.7-Tablo 4.8).

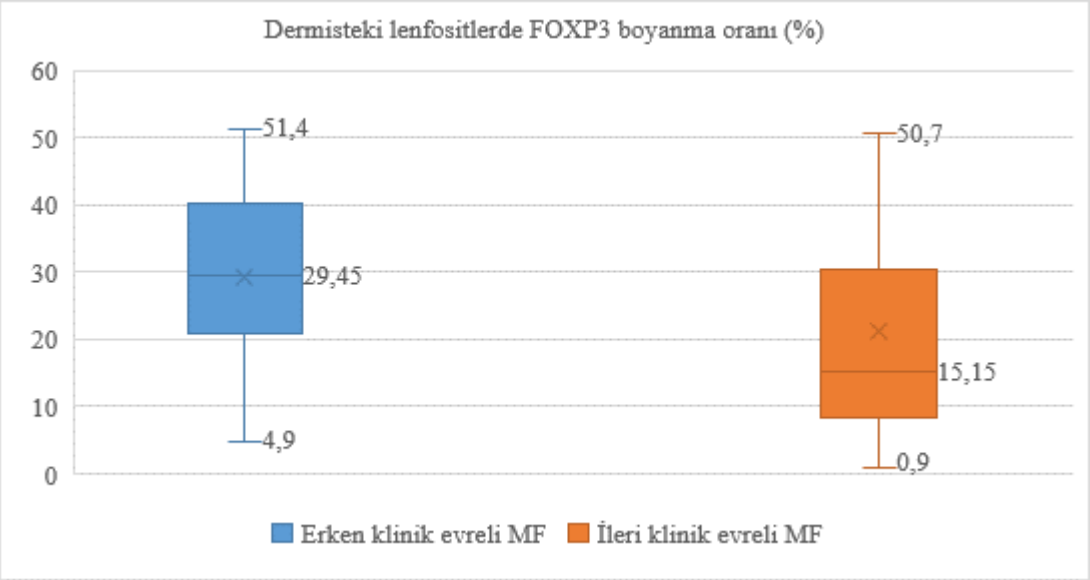
CD7 ifade kaybı ile dermisteki lenfositlerin FOXP3 ifadesi arasında ilişki izlenmezken (p=0,287), epidermisteki atipik lenfoid hücrelerin FOXP3 ifadesi CD7 ifade kaybı olan olgularda anlamlı düzeyde daha düşük bulunmuştur (p=0.012) (Şekil 4.26).



Şekil 4.26. CD7 ifade kaybı olan olgular ile CD7 ifade kaybı olmayan olguların epidermisteki atipik hücrelerde ve dermisteki lenfositlerde FOXP3 ifadeleri açısından karşılaştırması (epidermisteki atipik hücrelerde p=0.012)

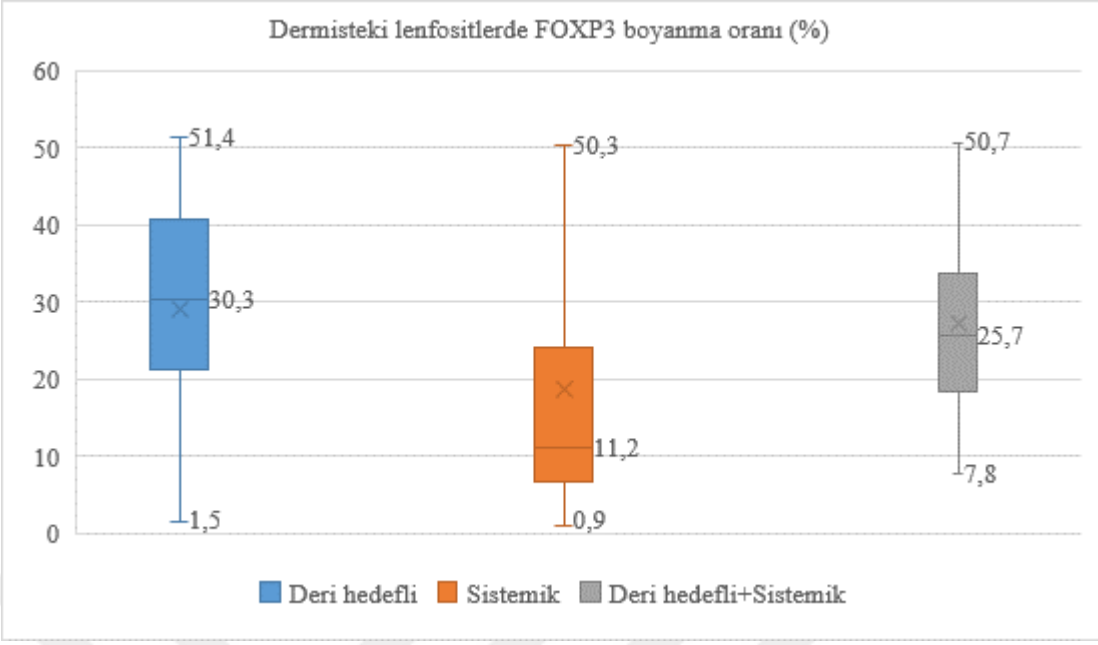
Serum LDH seviyesi ile atipik hücrelerin ve dermisteki lenfositlerin FOXP3 ifadesi arasında ilişki saptanmamıştır (sırasıyla, p=0.380, p=0.865) (Tablo 4.7-Tablo 4.8).

Epidermisteki atipik hücrelerde FOXP3 ifadesi ile klinik evre arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (p=0.437). Dermisteki lenfositlerde FOXP3 ifadesi ise, erken klinik evreli MF olgularında ileri klinik evreli MF olgularına göre daha yüksek saptanmış ve klinik evre ile anlamlı ilişki izlenmiştir (p=0,002) (Şekil 4.27).



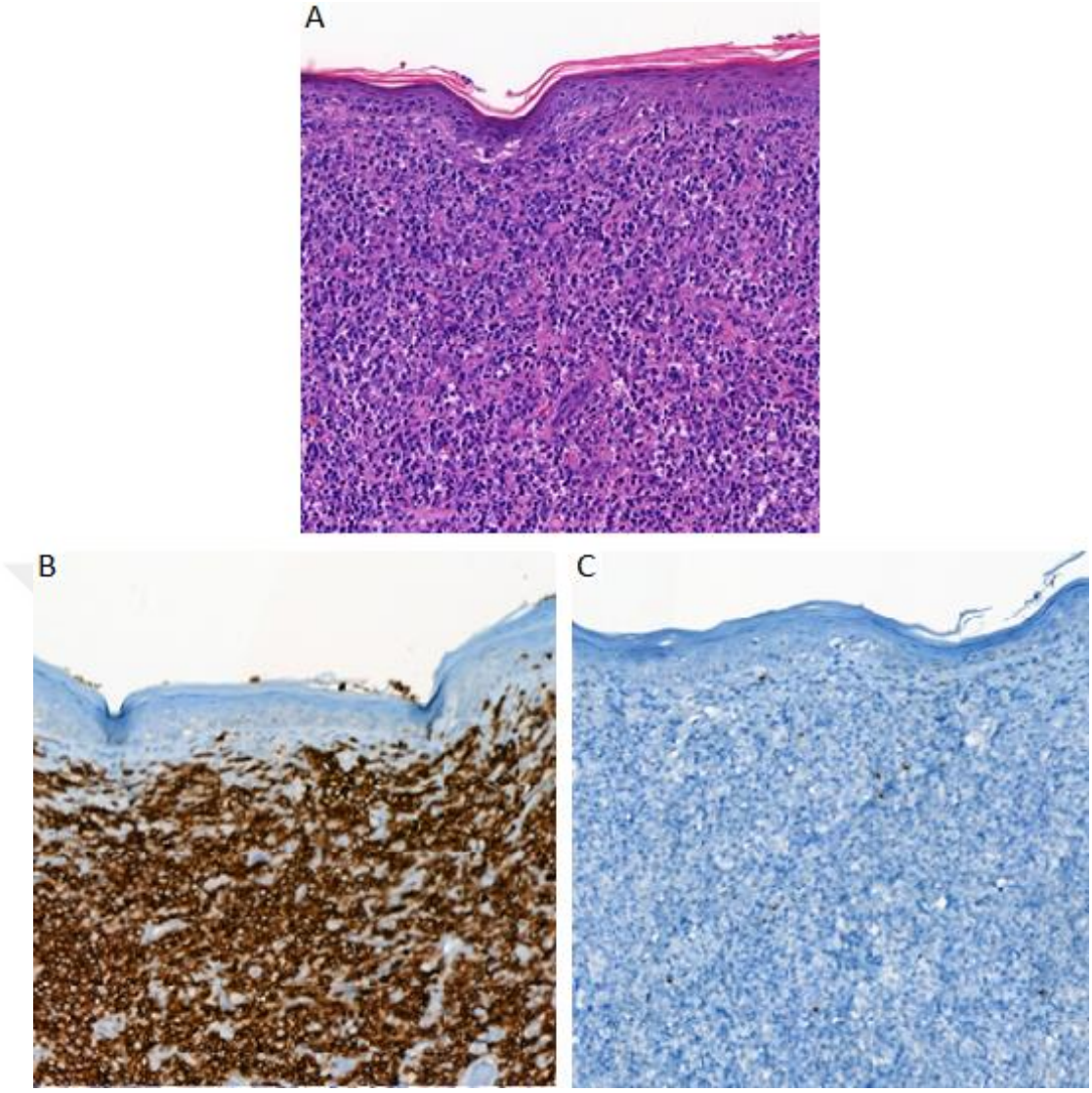
Şekil 4.27. Erken klinik evreli MF ile ileri klinik evreli MF olgularının dermisteki lenfositlerde FOXP3 boyanma oranı açısından karşılaştırması (p=0.002)

Deri hedefli tedavi alan olgular, sistemik tedavi alan olgular ile deri hedefli ve sistemik tedaviyi birlikte alan olgular FOXP3 ifadesine göre karşılaştırıldığında; epidermisteki atipik lenfoid hücrelerde FOXP3 ifadesi ile tedavi yöntemleri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (p=0,250). Dermisteki lenfositlerde FOXP3 ifadesi ise, en yüksek deri hedefli tedavi alan olgularda, en düşük ise sistemik tedavi alan olgularda izlenmiştir. Sistemik tedavi alan olgular ile deri hedefli+sistemik tedavi alan olgular ve deri hedefli tedavi alan olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmiştir (sırasıyla, p=0.025, p=0.000) (Şekil 4.28).



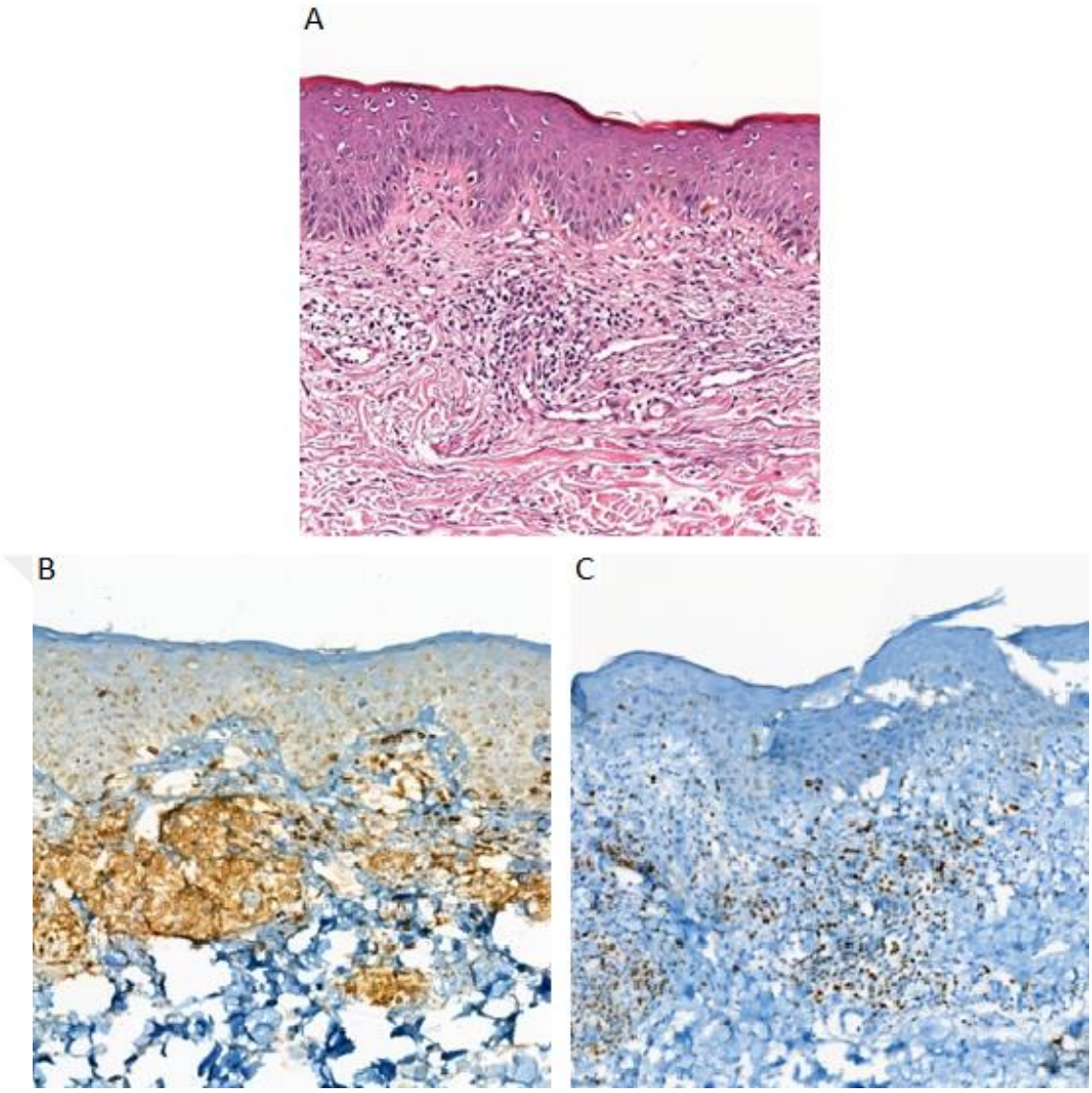
Şekil 4.28. Deri hedefli, sistemik ve deri hedefli+sistemik tedavi alan olguların dermisteki lenfositlerde FOXP3 ifadelerinin karşılaştırması (sistemik-deri hedefli+sistemik p=0.025; deri hedefli-sistemik p=0.000)

Resim 4.11-Resim 4.13'de "yama MF", "tümör MF" ve "inflamatuar dermatit" gruplarına ait H-E ve FOXP3 boyalı örnekler bulunmaktadır.



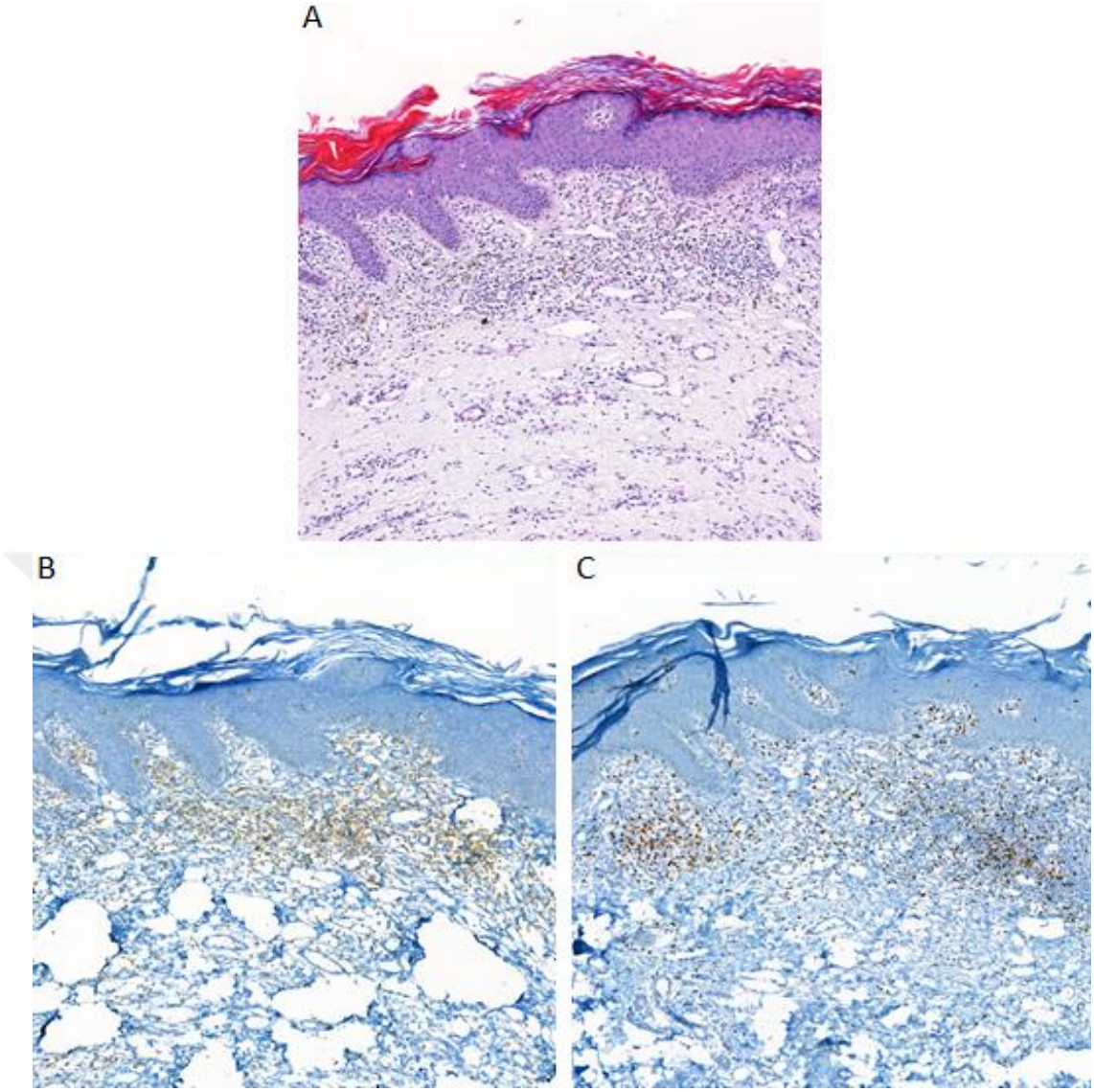
Resim 4.11. "Tümör MF" olgusunda FOXP3 ifadesinin değerlendirilmesi.

A) Dermisi dolduran diffüz atipik hücre infiltrasyonu izlenmekte (H-Ex200). B) CD3 immün boyası ile dermisteki lenfoid hücrelerde boyanma (CD3x200). C) Dermisteki lenfositlerde %1,5 oranında kuvvetli nükleer boyanma (FOXP3x200)



Resim 4.12. "Yama MF" olgusunda FOXP3 ifadesinin değerlendirilmesi.

A) Dermiste perivasküler ve interstisyel orta şiddette atipik lenfoid infiltrasyon (H-Ex200). B) CD3 immün boyası ile dermisteki lenfoid hücrelerde boyanma (CD3x200). C) Dermisteki lenfositlerde %49,8 oranında kuvvetli ve zayıf nükleer boyanma (FOXP3x200)



Resim 4.13. Liken planus olgusunda FOXP3 ifadesinin değerlendirilmesi.

A) Epidermiste düzensiz akantoz, hiperkeratoz ve yüzeyel dermiste bant şeklinde infiltrasyon izlenmekte (H-Ex100). B) CD3 immün boyası ile dermisteki lenfositlerde boyanma (CD3x100). C) Dermisteki lenfositlerde %36,7 oranında kuvvetli ve zayıf nükleer boyanma (FOXP3x100)

5. TARTIŞMA

MF, genellikle deride sınırlı yama ve plak lezyonları ile uzun süre yavaş bir seyir izler [3]. Erken evre hastalık, klinik ve histolojik olarak inflamatuar süreçlere benzerliğiyle tanısal problem oluşturabilir. Ayırıcı tanıda yardımcı olabilecek bazı özellikler inflamatuar dermatitlerde de görülebilir. Bu nedenle ayırıcı tanıda güvenilir belirteçlere ihtiyaç vardır. Ancak hastaların bir kısmında hastalığın ilerlemesiyle tümörler ve deri dışı tutulum gelişir ve prognoz kötüleşir [4]. Yama ve plaktan tümör dönemine geçişten sorumlu mekanizmalar bilinmemektedir, ancak mikroçevresel etkilerin de önemli olduğu öne sürülmüştür [99]. Daha agresif bir seyir gösterecek hastaları belirleyebilmek için güvenilir belirteçlere ihtiyaç vardır [101]. İleri evre hastalarda tedavinin etkisi kısa sürmekte ve sık nüksler gözlenmektedir [6]. Bu nedenle prognozu öngörebilmek ve ileri evre hastalık için yeni tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi için MF'in oluşumu ve ilerlemesinde altta yatan moleküler mekanizmalara dair yeni bilgilere ihtiyaç bulunmaktadır [3].

Son yıllarda yapılan çalışmalarla MF'in etiyolojisinde, miRNA'ların rol oynadığı epigenetik değişikliklerin de etkili olduğu bulunmuştur. Sinyal yolakları ile ilişkili çeşitli moleküllerin ve bazı proteinlerin miRNA'lar tarafından düzenlenebileceği gösterilmiştir [4]. Çalışmamızda araştırılan ve ifadeleri miRNA'lar tarafından düzenlenen p-STAT3, Notch1 ve FOXP3 ile ilgili az sayıda çalışma bulunmaktadır. Çalışmamız doku düzeyinde inflamatuar dermatitler ile erken evre MF ayrımında ve MF ilerlemesinde, bu 3 belirtecin tanısal ve prognostik öneminin bir arada araştırıldığı ilk çalışmadır.

5.1 p-STAT3

Çalışmamız ayırıcı tanı amaçlı inflamatuar dermatit ile yama dönemi MF olguları arasında p-STAT3 ifadesini inceleyen ilk çalışma olma özelliğindedir. Bu iki grup arasında STAT3 aktivasyonu açısından anlamlı fark bulunamamıştır (p=1.000). Bu bulgu kontrol amaçlı inflamatuar dermatit olgularını kullanan ve yama dönemi MF olgularının boyanma paterninin inflamatuar dermatitlere benzer olduğu bildiren Sommer ve ark.'nın (2004) çalışmasındaki bulgularla örtüşmektedir [5]. Bu sonuçlar,

inflamatuar dermatit ile yama dönemi MF ayırıcı tanısında p-STAT3'ün bir belirteç olarak kullanılamayacağını göstermektedir.

STAT3 aktivasyonunun birçok malignitenin patogenezinde rol oynadığı bildirilmiştir [107]. KTHL'ların gelişiminde STAT3 etkisini araştırmak için in vivo olarak yapılan ilk çalışmada Sommer ve ark. (2004), STAT3 aktivasyonunu gösteren p-STAT3 ile yama ve plak dönemi MF lezyonlarında dermiste inflamatuar dermatitlere benzer seyrek boyanma izlemişler, Pautrier mikroabselerindeki atipik hücrelerde boyanma gözlememişlerdir. Tümöral dönem MF lezyonlarında ise, dermiste atipik lenfositlerde yoğun boyanma saptamışlardır. Bu nedenle STAT3'ün hastalığın ileri evrelerinde yapısal olarak aktive edildiğini ve hastalığın ilerlemesinde rol oynadığını söylemişlerdir. KTHL hücreleri üzerindeki rolünü anlamak için hücre kültürleri ile in vitro olarak araştırma yapmışlar, STAT3'ün tümör hücrelerinde apopitoza direnci sağladığını göstermişlerdir. Böylece STAT3'ün, inhibitörü tarafından aktivasyonunun baskılanması ile MF hücrelerinde apopitozu tetikleyerek yeni bir tedavi hedefi olabileceğini ileri sürmüşlerdir [5]. p-STAT3 ifadesinin histolojik evreyle ilişkili olmadığını bildiren çalışmalar da bulunmaktadır [3, 107]. Witkiewicz ve ark. 13 yama dönemi, 22 plak dönemi, 12 tümör dönemi MF olgusu ile yaptıkları çalışmada (2007), p-STAT3 ile her dönemdeki lezyonda boyanma izlemişlerdir. Ayrıca lezyonlarda dermiste büyük olan, dermoepidermal bileşkede bulunan ve Pautrier mikroabselerini oluşturan lenfositlerde de boyanma gözlemişlerdir. p-STAT3'ün erken dönemden itibaren bir kısım atipik hücrede ifade edilmeye başladığını ve bu nedenle MF'de STAT3 aktivasyonunu hedefleyen tedavilerin faydalı olabileceğini belirtmişlerdir [107]. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde yama, plak ve tümör olmak üzere her döneme ait lezyonda boyanma izlenmiştir. Ayrıca ileri dönem lezyonlarındaki atipik hücrelerin yanı sıra erken dönem lezyonlarının da bir kısmında epidermisteki atipik hücrelerde boyanma gözlenmiştir. Farklı dönem MF lezyonlarında p-STAT3 ifadesi karşılaştırıldığında, hastalık yama lezyonundan tümöre doğru ilerledikçe p-STAT3 ifadesinin arttığı izlenmiştir. "Yama MF" ile "tümör MF" arasında anlamlı fark saptanmış ($p=0.005$); "yama MF" ve "plak MF" ile "plak MF" ve "tümör MF" grupları arasında anlamlı fark izlenmemiştir (sırasıyla, $p=0.158$, $p=1.000$). Ayrıca yama+plak dönemi MF lezyonları içeren erken evre grubu, tümör dönemi lezyonlarla karşılaştırıldığında, erken evre lezyonlarda p-

STAT3 ifadesi tümör dönemi lezyonlarına göre anlamlı olarak düşük saptanmıştır (p=0.005). Bu bulgular, p-STAT3 ifadesinin MF'de histolojik evre ile ilişkili olduğunu, aktivasyonun erken histolojik evreye göre ileri histolojik evrede daha fazla olduğunu ve hedefe yönelik tedavide kullanılabileceğini desteklemektedir.

Literatürde MF'de büyük hücre dönüşümünde p-STAT3 ifadesini araştıran tek çalışma vardır. Bu çalışmada da BHD ile STAT3 aktivitesi arasında ilişki saptanmıştır [108]. Çalışmamızda bu gözlemi destekler şekilde "BHD gösteren MF" grubunda (n=23) "BHD göstermeyen MF" grubuna göre daha yüksek p-STAT3 ifadesi saptanmıştır (p=0.001). Çalışmamızda yama, plak ve tümör lezyonlarında BHD açısından anlamlı bir farklılık saptanmaması nedeni ile kötü prognostik histolojik bulgulardan olan BHD ile p-STAT3 ifadesi arasındaki ilişkinin hastalığın yama, plak ve tümör şeklindeki ilerlemesinden bağımsız olduğunu düşündürmüştür.

Perez ve ark. çalışmasında (2020), klinik olarak erken evre ve ileri evre ardışık biyopsileri olan 4 olgu ile ilerleyen hastalığı olmayan ardışık aynı histolojik evre biyopsiye sahip 3 olguyu karşılaştırmışlardır. İlerleyen hastalığa sahip olgulardan 3'ünde sadece ileri evre biyopsi örneğinde p-STAT3 ifadesi gözlemişlerdir. Hastalığı ilerlemeyen grupta ise, ardışık biyopsilerin son örneklerinde p-STAT3 ifadesi saptamamışlardır. Bu bulgunun MF ilerlemesinde STAT3 aktivasyonunun katkısını doğrulayabileceğini ve ileri evre göstergesi olabileceğini belirtmişlerdir [108]. Çalışmamızda ise "ilerleyen MF" grubunun tanı ve takip biyopsileri arasında STAT3 aktivasyonu açısından anlamlı fark saptanmamıştır (p=0.445). Literatürdeki çalışmadan farklı bu sonuç, çalışmamızda "ilerleyen MF" grubunda klinik olarak evresi ilerlemeyen, BHD gösteren olguların da bulunmasından kaynaklanabilir. Ancak çalışmamızdaki BHD ile p-STAT3 ifadesi arasındaki ilişki göz önüne alındığında bu sonuç, agresif seyir gösteren olgularda JAK/STAT yolağının hastalığın başından beri farklı etki mekanizmasına sahip olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda ayrıca ilerleyen hastalığı olan grup ile hastalığı ilerlemeyen grubun erken dönem biyopsileri karşılaştırılmış, "ilerleyen MF" grubunun biyopsilerinde (n=12) p-STAT3 ifadesi anlamlı olarak yüksek saptanmıştır (p=0.007) (ort. %4,6-%16,5). Aynı hastaya ait eş zamanlı alınan farklı dönem (yama, plak, tümör) biyopsiler arasında ise STAT3 aktivasyonu açısından anlamlı fark

görülmemiştir (p=0.229). Bu bulgular, STAT3 aktivasyonunun bir hasta grubunda hastalığın erken evrelerinden itibaren başlayabileceğini, prognozu öngörerek p-STAT3'ün hedef tedavi için hasta seçiminde bir belirteç olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir. Ancak yüzdesel değerlerin oldukça düşük olması değerlendirmede gözlemciler arası uyumsuzluk yaratabileceğinden güvenilirliği azaltabilir. Bu nedenle destekleyici ek bulgularla birlikte kullanımının daha uygun olabileceği düşünülmüştür. Bu konuda daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır.

İmmünfenotip ile p-STAT3 ifadesi ilişkisinin araştırıldığı Levidou ve ark. çalışmasında (2013), 39 CD4+, 7 CD8+, 2 CD4/CD8 "double" pozitif, 1 CD4/CD8 "double" negatif ve 1 fenotipi belirsiz MF olgusu incelenmiştir. p-STAT3 ile immünfenotipler arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır [3]. Daha geniş hasta serisine sahip çalışmamızda ise 63 CD4+, 12 CD8+, 3 CD4/CD8 "double" pozitif, 2 CD4/CD8 "double" negatif MF biyopsisi incelenmiş; p-STAT3 ifadesi CD4+ olgularda CD8+ fenotipe sahip olgulara göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır (p=0.006). Son yıllarda literatürde CD8+ fenotipin daha yavaş seyirli olduğunu bildiren çalışmalar [76, 109] göz önüne alındığında, bu sonuç STAT3 aktivasyonunun agresif seyre katkısını düşündürmektedir.

Çalışmamızda ayrıca yaş, cinsiyet, CD30 pozitiflik oranı, CD5 ifade kaybı, CD7 ifade kaybı ve serum LDH seviyesi gibi klinikopatolojik özellikler ile p-STAT3 ilişkisi araştırılmış, bu özelliklerle p-STAT3 ifadesi arasında ilişki saptanmamıştır (p>0.05). Benzer şekilde farklı dönem MF olgularıyla yapılan bir çalışmada, bu özelliklerden yaş, cinsiyet ve CD30 pozitifliği ile p-STAT3 arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır [3].

Literatürde p-STAT3 ifadesinin klinik evre ile ilişkisiz olduğunu gösteren bir çalışmanın [3] aksine, Perez ve ark. çalışmasında (2020) 58 erken klinik evreli MF ile 17 ileri klinik evreli MF olgusunu karşılaştırmış ve STAT3 aktivasyonunun ileri evrede arttığını göstermiştir. MF'de p-STAT3'ün ileri evrenin biyobelirteci olabileceğini belirtmişlerdir [108]. Çalışmamızda benzer şekilde klinik olarak 46 erken evre ve 32 ileri evre MF olgusunda p-STAT3 ifadesi karşılaştırıldığında, ileri klinik evreli olguların p-STAT3 ifadesi daha yüksek bulunmuştur (p=0.010). Bu sonuç, STAT3 aktivasyonunun klinik evreyle ilişkili olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda olguların deri dışı hastalık tutulumu (lenf nodu, metastaz, periferik kan tutulumu) ile ilgili bilgiler ayrıntılı olarak incelenmemiştir. Ancak klinik evrelemede (TNMB) lezyonların yaygınlığına ve dönemine (yama, plak, tümör veya eritrodermi) göre belirlenen T evresinin önemi göz önüne alındığında, histolojik evreye paralel olarak artan p-STAT3 ifadesinin, erken ve ileri klinik evre arasındaki p-STAT3 ifadesi farkına da yansıdığı düşünülmüştür.

Çalışmamız tedavi yöntemleri ile p-STAT3 ifadesini inceleyen ilk çalışmadır. Deri hedefli tedavi, sistemik tedavi ve deri hedefli ile sistemik tedaviyi birlikte alan olgular kendi aralarında p-STAT3 ifadesi açısından karşılaştırılmış ve anlamlı bir sonuç elde edilememiş (p=0.149), p-STAT3 ifadesi ile tedavi yöntemleri arasında ilişki saptanmamıştır.

Yapılan bir çalışmada STAT3 aktivasyonunun miRNA'lar ile düzenlenebileceği de gösterilmiştir. Bu çalışmada, MiRNA-146a'nın, hastalığın ilerlemesiyle STAT1'i baskılayarak STAT3'ün aşırı ifadesine yol açtığı saptanmıştır. Bir onkogen olarak kabul edilen STAT3'ün tümoral dönem MF örneklerinde aşırı ifade edildiği gösterilmiştir. Bu nedenle, JAK/STAT sinyal yolağı veya miRNA146a inhibitörlerinin neoplastik T hücre apopitozuna yol açarak bir hedef tedavi yöntemi olarak kullanılabileceği öngörülmüştür [4]. Çalışmamızda hem histolojik evre hem de klinik evre ilerledikçe p-STAT3 ifadesinin arttığının gözlenmesi, JAK/STAT sinyal yolağı inhibitörlerinin hedef tedavi yöntemi olarak kullanılabileceği görüşünü desteklemektedir. MF'de immünhistokimyasal yöntemle p-STAT3 ifadesinin araştırıldığı çalışmalar ile bizim çalışmamızın verileri Tablo 5.1'de özetlenmiştir.

Tablo 5.1. MF'de STAT3 aktivasyonunun immünhistokimyasal olarak değerlendirildiği diğer çalışmalar ile mevcut çalışmanın verileri

Çalışma	Olgu Sayısı	Antikor Klonu ve Boyanma	Yöntem ve Değerlendirme Kriteri	Sonuçlar
Sommer ve ark. (2004) [5]	8 MF hastası (6 yama dönemi, 4 plak dönemi, 3 tümör dönemi, 1 BHD gösteren tümör dönemi)	-Tyr705 -Nükleer	-İHK, Hücre kültürü ve Western blot analizi -Belirtilmemiş	-STAT3 aktivasyonu agresif seyre geçişi gösterebilir. -STAT3, KTHL hücrelerinde apopitoza direnç sağlar. -STAT3 ileri evrede yeni hedef tedavi seçeneği olabilir.
Witkiewicz ve ark. (2007) [107]	47 MF (13 yama dönemi, 22 plak dönemi, 12 tümör dönem)	-Belirtilmemiş -Nükleer	-İHK -Boyanma yüzdesi Negatif: %0-2, Zayıf pozitif: %3-25, Orta derecede pozitif: %26-50, Kuvvetli pozitif: >%50	-Erken evre yama ve plak lezyonlarda da boyanma -p-STAT3 atipik lenfositlerin bir kısmında erken dönemde ifade edilebilir. -STAT3 hedef tedavi seçeneği olabilir.
Levidou ve ark. (2013) [3]	54 MF (21 tümör dönemi, 30 plak dönemi ve 3 folikülotropik MF)	-D3A7 (Tyr705) -Nükleer	-İHK -H-skoru: Neoplastik hücrelerin boyanma yüzdesi x Boyanma yoğunluğu	-Plak ve tümör dönemi MF lezyonları arasında p-STAT3 ifade farkı yok -p-STAT3 hastalık evresi ve klinik evre ile ilişkisiz
Perez ve ark. (2020) [108]	-58 erken klinik evre MF -17 ileri klinik evre MF	-Belirtilmemiş -Nükleer	-İHK ve PCR -Skor0:<%5, Skor1:%5-25, Skor2:%25-50, Skor3:>50 Pozitif: Skor 2-3	-STAT3 aktivasyonu ileri klinik evre ve BHD ile ilişkili -p-STAT3 ileri evre ve hedef tedavi için belirteç olabilir.
Bizim çalışmamız (2020)	-80 MF (40 yama dönemi, 20 plak dönemi, 20 tümör dönemi / 24'ü BHD gösteren ve 56'sı BHD göstermeyen)	-D3A7 (Tyr705) -Nükleer	-İHK -Dermiste 3 temsili alanda x400 BBA'da p-STAT3 pozitif hücrelerin toplam hücrelere oranı	-p-STAT3 ifadesi histolojik evre ve klinik evre ile ilişkili -STAT3 aktivasyonu tedaviye yönelik bir moleküler hedef ve p-STAT3 tedavi hedefi için hasta seçiminde bir belirteç olabilir. -p-STAT3 ifadesi BHD ile ilişkili -CD4+ fenotipte CD8+ fenotipe göre daha yüksek p-STAT3 ifadesi -Erken MF ve inflamatuar dermatit ayrımında yararlı değil.

Sonuç olarak; bulgularımız STAT3'ün MF gelişiminde rol oynadığını ve agresif seyir ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir. p-STAT3 ifadesinin yamadan tümör dönemine doğru olan histolojik evre ve ayrıca klinik evre ilerlemesine paralel olarak artışı, özellikle yeni tedavi seçeneklerine ihtiyaç olan ileri evrede alternatif bir tedavi hedefi olarak kullanılmasını desteklemektedir. Başka malignitelerde STAT3 aktivasyonunun tümör ilerlemesiyle ilişkili bulunması klinik olarak uygun ilaçların geliştirilmesine öncülük etmiştir. Bu durum, gelecekte MF'de STAT3 baskılanmasının tedavide kullanımı açısından umut vaat etmektedir.

Ayrıca takiplerde ilerleyen hastalık geliştiren hastalarda erken dönem biyopsilerinde, hastalığı yavaş seyir gösterenlere göre STAT3 aktivasyonun daha fazla olduğu izlenmiştir. Bu durum, ilerleyen hastalık geliştirecek grupta bu yolakla ilgili değişikliklerin hastalığın daha erken başlangıç aşamalarında da rol oynadığını, agresif seyredebilecek hastaların öngörülmesinde faydalı olabileceğini ve hedef tedavi açısından hasta seçimi için bir belirteç olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir. Ancak bu düşüncenin desteklenmesi için daha geniş hasta grubuyla yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

5.2 NOTCH1

Literatürde erken evre MF lezyonları (yama/plak dönem) ile inflamatuar dermatitlerin ayırıcı tanısında Notch1 ifadesinin tanısal önemini doku düzeyinde araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Sadece bir çalışmada, psöriazis ve atopik egzema hastalarından alınan deri biyopsilerinde reaktif hücrelerin çoğunluğu tarafından SS hastalarına benzer oranda Notch1 ifadesi gözlenmiştir [110]. Çalışmamızda inflamatuar dermatitler ile erken evre yama dönem MF lezyonları arasında H-skoru açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir (p=1.000). İnflamatuar dermatitler arasında en yüksek H-skoru liken planus olgusunda izlenmiştir (H-skoru=151). Bu değer "plak MF" ve hatta bazı "tümör MF" olgularının değerleriyle örtüşmektedir. Bu durum, inflamatuar dermatitlerle MF'in ayrımında immünhistokimyasal olarak saptanan Notch1 ifadesinin tanısal açıdan faydasının olmadığını göstermektedir.

Notch1 ifade artışı ile Notch sinyal yolağının bazı hematolojik malignitelerin patogenezinde rol oynadığı ve tedavi için potansiyel yeni bir hedef olabileceği bildirilmiştir [89, 90]. Bu durum, patogenezi ve gelişimi net olarak bilinmeyen MF hastalığında da Notch1'in araştırılmasına öncülük etmiştir. Buna yönelik ilk çalışmada Kamstrup ve ark. (2010), SS ve tüm klinik evrelerde (I-IV) MF hastalarından alınan deri biyopsilerinde (n=40) immünhistokimyasal olarak Notch1 ifadesine bakmışlar, yama ve plak lezyonlarına (n=16) göre tümör lezyonlarında (n=9) Notch1 ifadesinin arttığını gözlemişlerdir. Bu durumun, lenfoma ilerlemesinde Notch sinyal yolağının rolünü desteklediğini belirtmişlerdir [6]. Yapılan başka bir çalışmada, plak ve tümör dönemi MF lezyonlarında Notch1 ifadesi karşılaştırılmış ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmasa da (p=0,065) tümörlerde plaklara göre ifadenin arttığı belirtilmiştir [3]. Bir çalışmada ise; Pautrier mikroabselerindeki tümör hücrelerinin Notch1 ile boyandığı bildirilmiştir [110]. Bizim çalışmamızda benzer şekilde Pautrier mikroabselerindeki neoplastik hücrelerde Notch1 ifadesi izlenmiştir. Çalışmamızda MF hastalığının farklı histolojik evreleri arasında Notch1 ifadesine bakıldığında, yama ve plak dönemi lezyonları ile yama ve tümör dönemi lezyonları arasında anlamlı olarak ifade farkı saptanmıştır (sırasıyla, p=0.002, p=0.000). "Erken MF" (yama+plak dönem) lezyonlarına göre tümöral dönem lezyonlarında Notch1 ifadesinin anlamlı düzeyde arttığı gözlenmiştir (p=0.000). Ayrıca benzer şekilde tümör dönemi lezyonlarında, plak dönemi lezyonlarına göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da yüksek Notch1 ifadesi bulunmuştur (p=0,189). Hastalığın ilerlemesi ile korele olarak yama döneminden tümör dönemine doğru ifadenin artmış olduğu dikkat çekmiştir. Literatürdeki çalışmalara benzer bu bulgular, T hücre gelişiminde önemli rolü olan Notch sinyal yolağının MF patogenezinde de rol oynadığını ve Notch1 ifadesinin artmasının daha agresif bir seyre geçişi gösterdiğini desteklemektedir.

Literatürde Notch1 ifadesinin immünhistokimyasal yöntemle araştırıldığı az sayıda çalışma bulunmaktadır. Çalışmaların çoğu, Notch sinyal yolağının KTHL'lardaki etki mekanizmasının anlaşılması ve inhibitörlerinin hedefe yönelik tedavi olarak kullanılmasına ilişkin olduğu için çoğunlukla moleküler yöntemler ve hücre kültürleri ile araştırmalar yapılmıştır. MF'de Notch1 sinyal aktivasyonuna yol açan net bir mekanizma henüz aydınlatılamamıştır. Buna yönelik yapılan çalışmalarda Notch sinyal yolağının Akt/mTOR, NF-κB ve fosfoinositid 3-kinaz

yolakları gibi farklı sinyal yolakları ile çapraz iletişim halinde oldukları gösterilmiştir [3, 6, 88]. Van der Fits ve ark. tarafından yapılan çalışmada (2012), SS hastalarının periferik kanında CD4+ T hücrelerinden genomik DNA ve RNA izole edilerek PCR yöntemi ile mutasyon analizi yapılmış ve Notch aktivasyonuna yönelik mutasyon saptanmamıştır [110].

Notch1 mutasyonu içermeyen kanserlerde, Notch yolağı aktivasyonunun epigenetik değişiklikler ile düzenlenebileceği gösterilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada ise, Notch1 aktivasyonunu yönlendiren potansiyel bir epigenetik mekanizma olarak tümöral dönem MF'de inflamatuar dermatitlerden farklı miRNA profili belirlenmiş, KTHL hücre kültürlerinde bu miRNA azalması ile Notch1 aktivasyonu arasında doğrudan bağlantı izlenmiştir [88]. Manso ve ark'ları tarafından yapılan çalışmada (2018), MF'in farklı dönem lezyonları arasında miRNA-181a'nın farklı ifade edildiği ve Notch sinyal yolağını düzenlediği gösterilmiştir. Histolojik olarak ileri evre MF'lerde miRNA-181a'nın artmasıyla Notch1 ifadesinde artış saptanmıştır. MiRNA181a ve Notch1'in MF'te potansiyel bir tedavi hedefi olabileceği belirtilmiştir. MiRNA'ların hastalığın ilerleyişinin belirlenmesi ve klinik seyir tahmini için prognostik ve özellikle ileri evre MF hastaları için tedavi belirteci olarak kullanılabileceği söylenmiştir [4].

Çalışmamız Notch1'in hastalığın ilerlemesini öngörmede bir biyobelirteç olarak kullanılabilirliğini araştırmak amacıyla, ilerleyen hastalığı olan olguların tanı ve takip biyopsilerini de içerecek şekilde kurgulanan ilk çalışmadır. "İlerleyen MF" hastalığı olan grubun (n=11) tanı ve takip biyopsilerinde Notch1 ifadesi incelendiğinde, takip biyopsilerinde tanı biyopsilerine göre H-skoru anlamlı olarak daha yüksek saptanmıştır (p=0,017). Ayrıca aynı hastaya ait eş zamanlı alınan farklı dönem biyopsiler arasında H-skor değeri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p=0.120). Bu bulgular Notch1'in hastalığın ilerlemesini gösteren prognostik bir belirteç olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir. Bu düşünceyi desteklemek için yapılacak daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Notch1 ifade değişikliği görülen birçok malignitede Notch sinyal yolağını baskılamak için GSI'ler ile çalışmalar yapılmaktadır. KTHL'larda da Notch1 inhibitörlerinin hedefe yönelik tedavi olarak kullanımını araştırmak için çalışmalar

yapılmıştır. Çalışmalarda, MF ve SS hastalarından izole edilen hücre kültürlerinde GSI'ler tarafından Notch1 sinyalinin baskılanmasının tümör hücrelerinde apopitozu uyardığı gösterilmiştir. Notch aktivitesinin tümör hücrelerinde apopitoza direnç sağlayarak hastalık gelişiminde rol oynadığı ve KTHL'larda önemli bir tedavi hedefi olabileceği belirtilmiştir [6, 110].

Bu bulgularla çalışmamızda MF tedavisini yönlendirmeye yönelik analizler de yapılmıştır. İlerleyen hastalığı olan hastalar ile hastalığı ilerlemeyen hastaların erken dönem biyopsileri Notch ifadesi açısından karşılaştırılmıştır. Notch1 ifadesinin "ilerleyen MF" hastalığı olan grupta olmayan gruba göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır (p=0.006). Bu bulgular, Notch1 inhibitörleri ile hedef tedaviden yarar sağlayabilecek bir hasta grubunun varlığını ve Notch1 inhibitörlerinin tedavide önemli bir seçenek olarak kullanılabileceğini desteklemektedir.

MF hastalarının bir kısmında BHD görülmektedir ve patogenezindeki mekanizmalar bilinmemektedir [20]. Literatürde büyük hücre dönüşümü gösteren olgular ile göstermeyen olguların Notch1 ifadesini karşılaştıran çalışma bulunmamaktadır. İmmünhistokimyasal olarak sadece Kamstrup ve ark.'larının yaptığı çalışmada (2010) Notch1 ifadesi bakılan MF grupları arasında BHD gösteren grup da bulunmaktadır. Bu çalışmada BHD gösteren olgularda Notch1 ifadesi, yama ve plak dönem olgularına göre yüksek, tümöral dönem olgulara göre düşük bulunmuştur [6]. Bizim çalışmamızda da Notch1 H-skoru "BHD gösteren MF" grubunda (medyan değer=138,75) "yama MF" ve "plak MF" grubuna (medyan değer=25,0) göre yüksek, "tümör MF" grubuna (medyan değer=145,5) göre düşük saptanmıştır. Çalışmamızda ayrıca BHD gösteren olgular ile BHD göstermeyen olgular da birbirleriyle karşılaştırılmış, BHD gösteren olgularda BHD göstermeyen olgulara göre Notch1 H-skoru istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (p=0.000). Bu bulgu, kötü prognostik faktör olan ve agresif seyirle ilişkili BHD'de Notch sinyal yolağındaki bozuklukların da etkili olabileceği veya eşlik edebileceği düşüncesine neden olmuştur.

Levidou ve ark. çalışmasında (2013) Notch1 ifadesi ile yaş, cinsiyet, immünfenotip, CD30 pozitifliği, lenfadenopati varlığı ve periferik kanda klonalite varlığı gibi klinikopatolojik özellikler arasında ilişki saptanmamıştır [3]. Bizim

çalışmamızda da benzer şekilde Notch1 ifadesi ile yaş, cinsiyet, immünfenotip, CD30 pozitiflik oranı yanı sıra CD5 ifade kaybı ve serum LDH seviyesi ilişkisiz bulunmuştur ($p>0.05$). Notch1 H-skoru, CD7 ifade kaybı olan olgularda ifade kaybı olmayan olgulara göre daha düşük saptanmıştır ($p=0.014$). Neoplastik yönde destekleyici bulgulardan olan CD7 ifade kaybında düşük Notch1 ifadesi ilgi çekici bir bulgudur. Ancak CD7 ifade kaybı malignite için spesifik değildir ve inflamatuar süreçlerde de bildirilmiştir.

Literatürde Notch1 ifadesi ile klinik evre ilişkisini araştıran iki çalışmada da, klinik evre ilerledikçe Notch1 ifadesinin arttığı saptanmış, Notch1 ifadesi ile klinik evre ilişkili bulunmuştur [3, 6]. Bizim bulgularımız da bu sonuçlara benzerdir. Otuz iki ileri klinik evreli MF olgusunda, 46 erken klinik evreli MF olgusuna göre anlamlı olarak yüksek Notch1 ifadesi izlenmiş ($p=0.000$), Notch1 ifadesinin klinik evre ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. Yapılan çalışmalarda da klinik evrelemede (TNMB) bulunan histolojik evre (T) ile Notch1 ifadesi arasında pozitif korelasyonun gözlenmesi, bu durumun klinik evreye de yansıdığını göstermektedir.

Literatürde tedavi yöntemleri ile Notch1 ifadesini karşılaştıran çalışma bulunmamaktadır. Ancak Kamstrup ve ark'larının yaptığı bir çalışmada (2017), MF ve SS hastalarından oluşturulan hücre kültürlerinde hücrelere kemoterapi ve radyasyon uygulanması sonrasında PCR ile mRNA ve Western blot yöntemi ile protein seviyelerinde artış ile Notch1 aktivasyonu gözlenmiştir. Bu bulgu ile KTHL hücrelerinin, olası bir koruyucu mekanizma şeklinde kemoterapi ve radyoterapi yöntemlerine yanıt olarak Notch yolunu in vitro aktive edebileceği düşünülmüştür [111]. Çalışmamızda deri hedefli tedavi alan olgulara göre sistemik tedavi alan olgularda Notch1 ifadesi anlamlı olarak yüksek saptanmıştır ($p=0,005$). Tedavi seçiminde klinik evre önemli rol oynamaktadır ve ileri klinik evrede tercih edilen sistemik tedavi yöntemindeki sonuçlarla klinik evre ilerlemesi ile artan Notch1 ifadesinin örtüştüğü gözlenmiştir. Tedavi yöntemleri ile Notch sinyal yolağı arasındaki ilişkinin anlaşılabilmesi ve Notch inhibitörleriyle yapılacak olası kombine tedavilere yön verebilmesi açısından bu konuda daha ayrıntılı çalışmaların yapılması gerekmektedir. Çalışmamız da dahil olmak üzere Notch1 ifadesinin MF'de ve SS'te immünhistokimyasal yöntemle incelendiği çalışmalar Tablo 5.2'de özetlenmiştir.

Tablo 5.2. MF'de ve SS'te Notch1 ifadesinin immünhistokimyasal yöntemle araştırıldığı çalışmaların ve çalışmamızın özeti

Çalışma	Olgu Sayısı	Antikor Klonu ve Boyanma	Yöntem ve Değerlendirme Kriteri	Sonuç
Kamstrup ve ark. (2010) [6]	-35 MF (6 yama dönemi, 10 plak dönemi, 9 tümör dönemi, 10 BHD gösteren) -5 SS	-Klon C20 -Sitoplazmik, bazen nükleer	-İHK ve Hücre kültürü -Tümör hücreleri negatif (%0-<10), kısmen pozitif (%10-50), pozitif (>%50)	-Notch1 ifadesi histolojik evre ve klinik evre ilerledikçe artar. -Notch inhibitörleri ile KTHL hücrelerinin apopitozu tetiklenebilir. -KTHL'larda Notch1 potansiyel hedef tedavi seçeneği olabilir.
van der Fits ve ark. (2012) [110]	-12 SS hastası -8 inflamatuar dermatit (4 psöriazis, 4 atopik dermatit)	-Klon belirtilmemiş -Nükleer	- İHK, Flow sitometri ve PCR -Belirtilmemiş	-Bütün olgularda Notch1 ifadesi -GSİ tarafından Notch1 inhibisyonu ile Sezary hücrelerinin apopitozu indüklenebilir. - Notch1 SS patogenezinde rol oynar ve tedavi için yeni bir tedavi hedefini temsil edebilir.
Levidou ve ark. (2013) [3]	50 MF hastası 54 biyopsi (30 plak dönemi, 21 tümöral dönem ve 3 folikülotropik MF)	-E10861 -Sitoplazmik ve nükleer	-İHK -H-skoru: Neoplastik hücrelerin boyanma yüzdesi x Boyanma yoğunluğu	-Tümör döneminde plak dönemine göre artmış Notch1 ifadesi -Klinik evre ilerledikçe Notch1 ifadesi artar.
Bizim çalışmamız (2020)	80 MF (40 yama dönemi, 20 plak dönemi, 20 tümör dönemi / 24'ü BHD gösteren ve 56'sı BHD göstermeyen)	-D1E11 -Sitoplazmik ve membranöz	-İHK -Dermiste temsili olarak seçilen 3 BBA (x400)'da H-skoru: Boyanma şiddeti x Boyanma yaygınlığı (%5'lik değerler şeklinde)	-Histolojik evre ve klinik evre ilerledikçe Notch1 ifadesi artar. -Notch1 ifadesi BHD ile ilişkili -Notch1 MF patogenezinde rol oynar. -Notch1 klinik seyri öngörmede ve hedef tedavi seçiminde bir belirteç olarak kullanılabilir. -Erken MF ve inflamatuar dermatit ayrımında yararlı değil.

Bulgularımız Notch1'in MF patogenezinde oldukça önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Diğer malignitelerde Notch inhibitörleriyle klinik çalışmaların gerçekleştirilmesi, yakın gelecekte MF hastalarında da bir tedavi seçeneği olarak önünü açmaktadır. Ancak Notch sinyal yolağının etki mekanizmasına ilişkin daha fazla bilgi edinilmesi tedaviden yarar sağlayacak hasta popülasyonunu belirlemede ve tedavi etkinliğini arttırmada yardımcı olacaktır.

5.3 FOXP3

Çalışmamızda MF ve inflamatuar dermatit olmak üzere tüm olgularda dermisteki FOXP3 pozitif lenfosit sayısı kadınlarda erkeklere göre anlamlı olarak fazla bulunmuştur (p=0.003). Cinsiyet ile MF'de FOXP3 ilişkisini araştıran bir çalışmada ise anlamlı fark bulunmamıştır [101]. Çalışmamızdaki bu sonucun, daha fazla sayıda FOXP3+ lenfosit içeren inflamatuar dermatit grubunun çoğunluğunun kadın hastalardan (n=16) oluşmasına bağlı olabileceği düşünülmüştür.

FOXP3 ifadesi açısından KTHL'lar ile inflamatuar dermatitleri karşılaştıran az sayıda çalışma bulunmakta olup bu çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir (Tablo 5.3). Çalışmalarda FOXP3+ hücre oranı; MF'te epidermiste %5-%44.6, dermiste %14-%43 ve inflamatuar dermatitlerde epidermiste %20-%45.9, dermiste %5.2-%38 arasında değişmektedir [104, 105, 112-114]. Yapılan bir çalışmada, inflamatuar dermatit grubunda epidermiste ve dermiste MF grubuna göre daha fazla FOXP3+ Treg saptanmış, ancak hücre yüzdelerinin az olması ve değerlendirmenin yarı kantitatif olması nedeniyle, FOXP3'ün ayırıcı tanıda kullanılmasının güvenilir olmadığı belirtilmiştir [105]. Bizim çalışmamızda "yama MF" grubunda epidermisteki ve dermisteki FOXP3+ lenfositlerin ortalama değeri %27 ve %31.3, "inflamatuar dermatit" grubunda %29.9 ve %31.4 olarak literatürdeki değer aralığında bulunmuştur. "Yama MF" grubu ile inflamatuar dermatit grubu arasında epidermiste ve dermiste FOXP3 ifadeleri açısından anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla,

p=0.834, p=1.000). Epidermisteki atipik hücrelerde gözlenen FOXP3 pozitifliği göz önüne alındığında, epidermiste ve dermisteki FOXP3+ hücrelerin bir kısmının bu fenotipe sahip neoplastik hücreler olması anlamlı fark bulunamamasının nedeni olabilir. Ayrıca inflamatuar dermatit grubunda farklı sonuçlar izlenmesinin nedenlerinden biri, çalışmaların oldukça heterojen FOXP3 pozitif Treg hücre sayısına sahip farklı dermatit gruplarıyla yapılması, MF grubunda ise yama ve plak lezyonların bir arada değerlendirilmesi olabilir. İnflamatuar dermatit spektrumunda MF ayırıcı tanısına giren oldukça çok hastalık olduğu için FOXP3 kullanımının ayırıcı tanıda yarar sağlamayacağı düşünülmüştür. Çalışmamızın da bulunduğu KTHL'lar ile inflamatuar dermatitlerin FOXP3 ifadesinin karşılaştırıldığı çalışmalar Tablo 5.3'te gösterilmiştir.

Tablo 5.3. KTHL'lar ile inflamatuar dermatitlerin FOXP3 ifadesinin karşılaştırıldığı çalışmalar ile çalışmamızın verileri

Çalışma	Olgu sayısı	Antikor Klonu-Yöntem	Değerlendirme Kriteri	Sonuç
Klemke ve ark. (2006) [104]	-30 KTHL (2 küçük/orta boyutlu pleomorfik KTHL, 4 lenfomatoid papülozis, 16 MF, 8 SS) -28 inflamatuar dermatit (15 kronik dermatit, 10 atopik dermatit, 3 psöriazis)	-236A/E7 -İHK	Dermiste 6 farklı alanda FOXP3+ hücrelerin CD4+ lenfositlere oranı	-Ortalama Treg değeri MF'de %43, inflamatuar dermatitlerde %33-38 -Tümör hücreleri FOXP3 negatif
Solomon ve Magro (2008) [113]	-33 reaktif durum (Likenoid ve egzematöz dermatit, kollajen vasküler hastalıklar, akut GVHD) -40 prelenfomatöz kutanöz T hücre diskrazisi (PPD ve PLK) -22 T hücreli lenfoma (Orta dereceli ve agresif)	-236A/E7 -İHK ve PCR (TCR analizi)	FOXP3 pozitif boyanan hücre yüzdesi (%5'lik değerler şeklinde)	-Ortalama FOXP3+ hücre oranı MF'de %14, Reaktif durumlarda %23 - Agresif lenfomalarda FOXP3 pozitif hücre yok/nadir -FOXP3+ Treg hücrelerinin azalması klonal genişlemeyi kolaylaştırabilir.
Fujimura ve ark. (2008) [112]	-17 yama/plak dönemi MF -16 psöriazis vulgaris -18 egzematöz dermatit -10 normal deri	-Klon belirtilmemiş -İHK	Dermiste ve epidermiste 3 temsili alanda x400 BA'da 1 cm2'de FOXP3+/CD3+, FOXP3+/CD4+, FOXP3+/CD8+, FOXP3+/CD25+ hücrelerin toplam CD3+, CD4+, CD8+ ve CD25+ hücre sayısına oranı (%)	- FOXP3+/CD3+ ve FOXP3+/CD4+ hücre oranı Epidermis: Psöriazis vulgaris (%45.9) ve MF (%44.6) > Egzematöz dermatit (%26.8) -Dermis: Egzematöz dermatit (%14.9) ve MF (%19.1) > Psöriazis vulgaris (%5.2)
Wada ve ark. (2010) [105]	-13 MF (12 yama/plak dönemi, 1 tümör dönemi) -7 SS -22 inflamatuar dermatit (11 spongiotik, 11 likenoid/interfaz dermatit)	-236A/E7 -İHK	Epidermiste ve dermiste 5 alanda x200 BA'da FOXP3 pozitif hücre sayısının toplam CD3+ lenfosit sayısına oranı (%5'lik değerler şeklinde)	-Neoplastik hücreler FOXP3 negatif -Epidermal ve dermal FOXP3 pozitif lenfosit oranı KTHL'de inflamatuar dermatitlere göre daha düşük -FOXP3 pozitif hücreler infiltratın az bir kısmını oluşturmakta ve değerlendirmenin yarı kantitatif olması nedeniyle ayırıcı tanıda kullanılması güvenilir değil
Hanafusa ve ark. (2013) [114]	-11 KTHL (7 MF, 2 SS, 1 ATLL-Yetişkin T hücreli lösemi, 1 Subkutanöz KTHL) -10 atopik dermatit -9 psöriazis	-236A/E7 -İHK	-Üst dermiste komşu olmayan 3 BBA'da ortalama FOXP3+ Treg sayısı/CD4+ T lenfosit sayısı -Epidermis ve üst dermiste FOXP3+ Treg sayısı/CD8+ T lenfosit sayısı	- Treg sayısı atopik dermatitte (%38.8) KTHL'ya (%20.9) göre daha fazla -Treg sayısı, bu iki hastalık için ayırıcı tanıda yardımcı olabilir.
Çalışmamız (2020)	-40 yama dönemi MF -20 inflamatuar dermatit (10 digitat dermatoz, 5 PPD, 5 liken planus)	-236A/E7 -İHK	Epidermis ve dermiste 5 alanda x400 BBA'da FOXP3+ hücrelerin CD3+ hücrelere oranı	-Epidermiste ve dermiste FOXP3+ lenfosit oranı MF (%27,%31.3) ve inflamatuar dermatitlerde (%29.9, %31.4) benzer -MF'de FOXP3+ hücrelerin bir kısmı muhtemel neoplastik lenfositler -Ayırıcı tanıda güvenilir bir belirteç değil

MF'de FOXP3 ifadesi oldukça tartışmalı bir konudur. MF'in doğası gereği özellikle erken evre lezyonlarda (yama ve plak dönem) neoplastik ve reaktif hücreleri ayırt etmek zordur [99]. Tümör mikroçevresinde FOXP3+ Treg hücreleri de bulunmaktadır [106]. Son yıllarda mikroçevrenin tümör ilerlemesinde rol oynadığı ve prognostik bir faktör olduğu, farklı malignitelerde yapılan birçok çalışma ile ortaya konmuştur. Bu nedenle T hücreli bir lenfoma olan MF'de FOXP3+ Treg hücrelerinin tümör gelişimindeki rolü merak konusu olmuştur [37]. Ayrıca yapılan çalışmalarda MF'de tümör hücrelerinin farklı fenotip gösterebileceği ve miRNA'ların bu durum ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir [4]. Bu durum MF'de dokuda FOXP3 ifadesini değerlendirmeyi zorlaştırmaktadır.

MF'de tümör hücrelerinde FOXP3 ifadesinin varlığını gösteren az sayıda çalışma bulunmaktadır. İlk olarak Berger ve ark. tarafından (2005) in vitro deneylerde KTHL hücrelerinin, apopitotik KTHL hücreleri ile yüklü dendritik hücreler tarafından uyarıldıklarında FOXP3 ifadesi ve baskılayıcı aktiviteyle bir Treg hücre fenotipi edinebileceği gösterilmiştir. Ancak in vivo incelemede olguların (n=50) sadece 2'sinde Treg fenotipi izlenmiş, bu fenotipin bazı hastalarda meydana gelebileceği ve tedavi hedefi için bir seçenek olabileceği ileri sürülmüştür [91]. Kasprzycka ve ark.'nın benzer olarak MF ve SS hücre kültürleri ile yaptıkları çalışmada (2008), lokal çevresel uyaranlar aracılığı ile in vivo olarak KTHL hücrelerinin sonradan Treg fenotipi edinebileceği ortaya konmuştur. FOXP3 ifade eden hücrelerin bir kısmının malign hücreler olduğunu kanıtlayabilmek için FOXP3/CD7 "double" boyaması yapmışlar, özellikle Pautrier mikroabselerindeki büyük, hiperkromatik ve düzensiz nükleusa sahip ve CD7 ifade kaybı olan atipik hücrelerin FOXP3+ olduğunu saptamışlardır. Atipik hücrelerdeki FOXP3 ifadesinin tümöral dönem lezyonlarda (~%10) yama/plak dönemi erken lezyonlara (~%40) göre azaldığını, BHD gösteren olgularda ise <%5 olduğunu göstermişlerdir. Treg fenotipinin özellikle hastalığın erken evresinde KTHL hücrelerine karşı bağışıklık tepkisini önlemede rol oynayabileceğini ve hastalığın ilerlemesiyle değişen çevresel uyaranların bu durum üzerindeki etkisinin henüz net bilinmediğini belirtmişlerdir [115]. Çalışmamızda benzer şekilde epidermisteki atipik hücrelerde FOXP3 ifadesi izlenmiş, bu hücrelerde yama-plak döneminden tümör dönemine doğru FOXP3 ifadesinin azaldığı dikkat çekmiştir. Ancak farklı dönem MF biyopsileri arasında atipik hücrelerin FOXP3

ifadesindeki bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır (p=0,302). Çalışmamızda daha doğru sonuçlar elde edebilmek adına neoplastik hücrelerde FOXP3 ifadesini değerlendirmek için, epidermotropizm gösteren büyük (keratinosit nükleusuna eşit veya bundan büyük) düzensiz nükleuslu/halolu/basiler dizilim gösteren atipik hücreler seçilmiştir. Literatürdeki birçok çalışmada atipik hücre özelliklerinden ve atipik hücre seçimine ait net bir kriterden bahsedilmemektedir. Lenfositlerde atipi değerlendirmesinin gözlemcilere bağlı değişkenlik gösterebilmesi farklı sonuçlara neden olabilir.

Gjerdrum ve ark. çalışmasında (2007), tümör hücrelerinde FOXP3 (klon 236A/E7) ifadesini >%10 boyanma varlığında pozitif olarak kabul etmişlerdir. Neoplastik hücrelerde >%10 boyanmanın sadece bir olguda bulunduğunu, 5 olguda ise tümör hücrelerinde nadir zayıf boyanmanın olduğunu belirtmişlerdir [37]. Çalışmalarında periferal T hücreli lenfoma-NOS, MF, SS ve anjioimmünoblastik T hücreli lenfoma olgularında FOXP3 (klon belirtilmemiş) ifadesini değerlendiren Satou ve ark. (2016) ise tümör hücrelerinde >%30 boyanmayı pozitiflik kriteri olarak kabul etmiş, 11 periferal T hücreli lenfoma ve 2 MF olgusunu pozitif olarak değerlendirmiştir [116]. Çalışmalardaki bu farklı sonuçların nedenleri arasında farklı antikor klonları ve değerlendirme kriterleri olabilir. FOXP3 ifadesinin pozitif olarak kabul edilmesi için belirlenmiş bir eşik değer bulunmamaktadır. Bu nedenle, daha güvenilir ve kesin sonuçlar elde edebilmek için çalışmamızda FOXP3 (klon 236A/E7) ifadesi sadece yüzdesel değer olarak değerlendirilmiştir.

Bizim çalışmamıza benzer değerlendirme kriterleri ve klonla yapılan Fried ve ark. (2012) çalışmasında, 14 MF hastasına ait ardışık 15 yama/plak ve 14 tümör dönemi biyopsisinde FOXP3 ifadesini incelemiştir. Neoplastik T hücrelerinde FOXP3 ifadesini belirlemek için yama/plak lezyonlarında intraepidermal atipik lenfositleri, tümöral lezyonlarda ise dermisteki orta-büyük atipik neoplastik hücreleri dikkate almışlardır. Dört yama/plak dönem biyopsisinde intraepidermal atipik hücrelerin tamamının, 5 tümör dönemi biyopsisinde ise neoplastik tümör hücrelerinin %10'undan daha azının FOXP3 pozitif olduğunu saptamışlar ve neoplastik hücrelerin bir kısmının FOXP3 ifade ettiğini belirtmişlerdir. Sadece 1 olgunun hem yama hem de tümöral dönem biyopsilerindeki neoplastik hücrelerin FOXP3 pozitif olması nedeniyle, FOXP3 ifadesinin hastalık seyri sırasında elde edilebileceğini veya

kaybedilebileceğini belirtmişlerdir [99]. Çalışmamızda benzer şekilde tanı ve takip biyopsilerine sahip "ilerleyen MF" grubundaki hastaların (n=11) biyopsileri arasında ve aynı hastaya ait (n=6) eş zamanlı alınan farklı dönem biyopsiler arasında epidermisteki atipik hücrelerde FOXP3 ifadesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla, p=0.286, p=0.087). Daha az sayıda hastadan oluşan bu gruplar ile değerlendirmemizde, atipik hücrelerde FOXP3 ifadesinin hastalığın seyri sırasında anlamlı düzeyde değişebileceği veya sadece hastalık evresine bağlı olabileceği ile ilgili bir bulgu elde edilememiştir.

Çalışmamızda "BHD gösteren MF" grubunda (n=24) "BHD göstermeyen MF" grubuna (n=56) göre dermisteki lenfositlerde ve atipik hücrelerde FOXP3 ifadesi daha düşük saptanmıştır (sırasıyla p=0.028, p=0.012). Bu bulgu FOXP3 ifadesinin BHD ile ilişkili olabileceği şüphesine neden olmuştur. Literatürde BHD gösteren MF olgularında FOXP3 ifadesi ile ilgili yalnızca birkaç çalışma bulunmaktadır. Hallermann ve ark.'larının çalışmasında (2007), BHD gösteren MF (n=5) ve BHD göstermeyen MF (n=4) olguları karşılaştırılmıştır. Dört BHD gösteren MF olgusunda sitoplazmik FOXP3 ifadesi saptanmışken, diğer olgularda FOXP3 ifadesi gözlenmemiştir. Buldukları bu sonuçlara göre, BHD gösteren hücrelerin Treg hücre fenotipi gösterebileceğini ve bunun agresif seyir ile ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir [98]. Başka çalışmalarda atipik hücrelerde FOXP3 ifadesi saptanmaması üzerine, ilk kullandıkları hFOXy ve 236A/E7 klonunun da bulunduğu 4 farklı klon ile 2 olguya boyama yaparak çalışmalarını tekrar etmişlerdir. Olgularda hFOXy klonu dışında boyanma saptamamışlar, sitoplazmik boyanma görülen bu klonunun da non-spesifik boyanmaya neden olduğunu ifade etmişlerdir. ATLL (Adult T-cell leukemia/lymphoma) için spesifik olarak kabul edilen 236A/E7 klonunun tanısal olarak kullanılması gerektiğini belirtmişlerdir [117]. 236A/E7 klonu ile atipik hücrelerde boyanma izleyen Fried ve ark.'larının çalışması (2012) bir kısmı BHD gösteren tümöral dönem MF biyopsilerini de içermektedir. Bu biyopsilerden (n=14) 5'inde dermisteki orta-büyük atipik neoplastik hücrede <%10 FOXP3 ifadesi gözlenmiştir [99]. Bizim çalışmamızda da oran vermek zor olsa da, farklı dönemlerde (yama-plak-tümör) BHD gösteren MF olgularında dermisteki orta-büyük, düzensiz nükleuslu atipik hücrelerde FOXP3 ifadesi (klon 236A/E7) dikkati çekmiştir. Ancak BHD gösteren olgularda atipik hücrelerde FOXP3 ifadesinin daha düşük saptanması,

agresif seyrin tümör hücrelerindeki bu fenotip ile ilişkili olmayabileceğini düşündürmektedir.

İmmünhistokimyasal ve moleküler yöntemlerle neoplastik hücrelerde FOXP3 ifadesinin kanıtlandığı çalışmaların bir kısmında ise olgular MF dışı KTHL'lardan oluşmaktadır [118-122]. MF olgularını da içeren bir çalışmada, sadece agresif epidermotropik CD8+ sitotoksik KTHL tanılı bir olguda tümör hücrelerinde FOXP3 ifadesi görülmüştür [37]. Başka bir çalışmada ise CD8+ fenotipte 2 lenfomada boyanma bildirilmiştir. Bu çalışmada genellikle CD4+/CD8- fenotipe sahip Treg hücrelerinin farklı T hücresi alt gruplarından da oluşabileceğinin gösterildiği, bu nedenle farklı fenotipteki bu olguların da Treg hücre kökenli olabileceği ileri sürülmüştür [116]. FOXP3 ifadesinin Treg hücre dışındaki hücrelerde de ifade edilebileceği bilinmektedir [123]. Yapılan bazı çalışmalarda, KTHL olgularındaki bir kısım hücrede Treg fenotipi gözlense de fonksiyonel olarak baskılayıcı aktivite izlenmemiştir. Bu hücrelerin tümör hücreleri olmayabileceği veya tümör hücreleri olsa da Treg hücre kökenli olmayabilecekleri, bu nedenle FOXP3 ifadesinin dikkatle yorumlanması gerektiği belirtilmiştir. Ayrıca hedefe yönelik tedaviler açısından bu durumun aydınlatılması gerektiği ifade edilmiştir [103, 119]. Bizim çalışmamızda 4 farklı immünfenotipe sahip olgularda epidermisteki atipik hücrelerde FOXP3 ifadesi izlenmiş olup, bu olgular arasında FOXP3 ifadesi açısından anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0.687$). Bu bulgu farklı fenotipteki olgularda da FOXP3 ifadesinin varlığını desteklemektedir. Ancak malign hücrelerin kökeni hakkında yorum yapabilmek için bu konuda daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır.

KTHL hücrelerinde FOXP3 ifadesinin olmadığını bildiren çalışmalar da mevcuttur [101, 104, 105, 117]. Farklı hematopoetik seri hücrelerinden oluşturulan hücre kültürlerinde PCR ile FOXP3 mRNA ifadesinin araştırıldığı bir çalışmada, bütün hücre serilerinde FOXP3 mRNA ifadesi izlenmiştir. Bazı hücre serilerinde yüksek seviyelerde mRNA ifadesine karşılık FOXP3 protein ifadesi izlenememiştir. Bu bulgularla FOXP3 protein ifadesinin posttranskripsiyonel düzeyde mekanizmalarla kontrol edilebileceği ileri sürülmüştür [123]. Son yıllarda epigenetik değişikliklerin MF patogenezinde rol oynadığı gösterilmiştir [4]. Krejsgaard ve ark. çalışmasında (2008) ise SS hastalarının bir grubunda hücre kültürleri, Western blot analizi ve PCR ile malign T hücrelerinde ifade edilen, 236A/E7 antikor klonu ile belirlenebilen iki

farklı FOXP3 izoformu tanımlamıştır [120]. Literatürdeki tümör hücrelerinde boyanma izlenmeyen çalışmalara karşın çalışmamızda, bütün olgularda epidermisteki atipik hücrelerde oldukça değişken oranda (%1-62) FOXP3 ifadesi (klon 236A/E7) izlenmiştir. Hastaya göre değişebilen bir FOXP3 izoformu profili olasılığı bu sonucun nedeni olabilir. Bu çelişkili sonuçlar FOXP3 ifadesinin epigenetik mekanizmalar tarafından düzenlenebileceği görüşünü desteklemektedir.

Literatürde atipik hücrelerde FOXP3 ifadesi ile klinik evreyi karşılaştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Bu açıdan ilk olan çalışmamızda, erken klinik evreli MF olguları ile ileri klinik evreli MF olguları arasında FOXP3 ifade eden atipik hücre sayısına bakıldığında; klinik evre ilerledikçe FOXP3 ifade eden atipik hücre sayısının görece azaldığı izlenmiş, ancak erken ve ileri klinik evreli olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,437). Literatürde bildirilen neoplastik hücrelerde hastalığın seyri sırasında Treg fenotipi edinilebileceği görüşünün aksine, bulgularımız atipik hücrelerdeki Treg fenotipinin hastalığın yama, plak, tümör dönemleri (histolojik evre) yanı sıra klinik evreyle de ilişkili olmadığını göstermektedir. Bu bulguların, daha fazla sayıda çalışma ile desteklenmesi gerekmektedir.

Kanserlerin bir kısmında gözlenen tümör ilerlemesindeki rolünün aksine, hematolojik malignitelerde Treg hücrelerinin malign hücreleri de baskılayabileceği düşünülmüştür. Gjerdrum ve ark.'nın çalışmasında (2007) 69 MF ve 17 KTHL olgusunda immünhistokimyasal olarak FOXP3+ Treg hücrelerinin hastalık evresi ve seyri ile ilişkisi araştırılmıştır. Tanı grupları arasında Treg sayısı en yüksek infiltre plakları olan MF'de izlenmiş; yama/plak döneminden tümör dönemi ve BHD gösteren MF'e doğru hastalık ilerledikçe Treg sayısı azalmıştır. Sağkalım azaldıkça da Treg hücre sayısının azaldığını ve prognostik önemi olduğunu saptamışlardır. Böylece Treg hücrelerin solid tümörlere göre lenfomada farklı bir rol oynadığı düşüncesinin desteklenebileceğini belirtmişlerdir [37]. Daha sonra yapılan çalışmalarda da benzer olarak erken evre (yama ve plak dönemi) hastalıkta daha fazla sayıda Treg hücresi saptanmıştır [101, 102]. Çalışmamızda en yüksek FOXP3 ifadesi yama dönemi lezyonlarda bulunmuş, histolojik evre ilerledikçe dermiste FOXP3+ lenfosit sayısı azalmıştır. Ancak sadece yama ve tümör MF grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p=0,000). Yama ve plak dönemi ile plak ve tümör dönem

lezyonları arasında anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla, p=0.075, p=0.404). Yama ve plak dönemi lezyonların birlikte değerlendirildiği "erken MF" grubuna göre "tümör MF" grubunda dermisteki lenfositlerde FOXP3 ifadesi daha düşük gözlenmiştir (p=0.001). Ayrıca dermiste FOXP3+ lenfosit sayısının klinik evre ile ilişkisi incelendiğinde, ileri klinik evreli MF olgularında erken klinik evreli MF olgularına göre daha az sayıda FOXP3+ lenfosit izlenmiştir (p=0,002). Bu bulgular Treg hücre sayısının hastalık ilerlemesi ve klinik evre ile korele olduğunu ve prognostik bir öneme sahip olabileceğini desteklemektedir.

Epigenetik değişikliklerin MF gelişimindeki rolünü araştıran Manso ve ark'ları tarafından yapılan çalışmada (2018), PCR kullanılarak erken evre (plak dönemi) (n=38) ve ileri evre (tümör dönemi) (n=27) MF örneklerinde farklı miRNA'ların ifadesi araştırılmıştır. MiRNA-222 ve miRNA-26a ifadesinin erken MF lezyonlarında, miRNA-146a ve miRNA-181a ifadesinin ise ileri MF lezyonlarında arttığı saptanmıştır. Ayrıca 11 hastaya ait plak ve tümör dönemi MF lezyonlarında PCR ile miRNA-146a ve miRNA-181a ifadesi ve immünhistokimyasal olarak FOXP3 ifadesi karşılaştırılmıştır. Tümör dönemi lezyonlarda miRNA-146a ve miRNA-181a'nın ifadesi artarken, FOXP3 ifadesinin azaldığını gözlemlemişlerdir. MiRNA-146a ve miRNA-181a'nın FOXP3 ile ilişkisini araştırmak için, intraepidermal ve dermal FOXP3 pozitif hücrelerle miRNA'ların ifadesi karşılaştırılmış ve bu miRNA'ların FOXP3 gen ifadesini düzenlediği gösterilmiştir. MF hastalarından hazırlanan hücre kültürlerinde hücrelerde miRNA-146a ve miRNA-181a'nın aşırı ifade edilmesi sonrası Western blot yöntemi ile FOXP3 protein ifade seviyelerinde düşüş gözlenmiştir. Böylece hastalığın ilerlemesi ile FOXP3 ifadesinin azaldığını göstermişlerdir. MiRNA 181a, miRNA-146a ve FOXP3'ün hastalığın ilerleyişi ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir [4]. Benzer olarak aynı hastaya ait ardışık biyopsilerde yapılan bir çalışmada ise Treg sayısının evreden bağımsız ve hastalığın seyri ile ilişkili olmadığı belirtilmiştir [99]. Çalışmamızda da ardışık biyopsilere sahip olguların ("ilerleyen MF" grubu) (n=11) tanı ve takip biyopsileri arasında ve aynı hastaya ait (n=6) eş zamanlı alınan farklı dönem biyopsiler arasında dermisteki lenfositlerde FOXP3 ifadesi açısından anlamlı fark saptanmaması (sırasıyla, p=0.594, p=0.152), çalışmaların değişik hasta popülasyonlarıyla yapılmasına (farklı epigenetik mekanizmalar vb.) veya hasta sayısındaki kısıtlılığa bağlı olabilir.

Klinik olarak erken MF olan hastalar arasından ilerleyen hastalık geliştirecek olanların önceden belirlenebilmesi, tedavi yöntemlerini düzenlemek ve hastalığın ilerlemesini önlemek amacıyla önemlidir. Bunu araştıran Johnson ve ark. çalışmasında (2014), klinik takiplerinde ilerleyen hastalık geliştirmiş olduğu bilinen hastaların (n=8) ve hastalığı ilerlemeyen hastaların (n=10) erken evre biyopsileri FOXP3 ifadesi açısından PCR ile incelenmiştir. İlerlemeyen hastalığı olanlara kıyasla, hastalık progresyonu olan hastaların biyopsilerinde FOXP3'ün ifadesinde azalma izlenmiş, ilerleyen hastalığı olanlarda ilerlemeyen gruba göre Treg hücresi sayısının daha az olabileceğini ifade etmişlerdir. FOXP3 mRNA ifadesinin azalmasının hastalığın ilerlemesi ile ilişkili olduğu söylenmiş, erken evre MF hastalarında hastalık ilerlemesi açısından FOXP3'ün mRNA ifadesinin değerlendirilebileceği, ancak prognostik değerini anlamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu bildirilmiştir [124]. Çalışmamızda FOXP3'ün immünhistokimyasal olarak prognostik değerini anlamak için "ilerleyen MF" (n=12) ve "ilerlemeyen MF" gruplarının (n=9) erken dönem biyopsilerini karşılaştırdığımızda, dermisteki lenfositlerde ve atipik hücrelerde FOXP3 ifadesinde anlamlı fark izlenmemiştir (sırasıyla, p=0.217, p=0.083). Literatürdeki çalışmadan farklı bu sonuç, çalışmamızda "ilerleyen MF" grubunda klinik olarak evresi ilerlemeyen, BHD gösteren olguların da bulunmasından kaynaklanabilir. Ancak çalışmamızdaki BHD ile FOXP3 ifadesi arasındaki ilişki düşünüldüğünde bu bulgu, tanı anında hastalığın ilerlemesini belirlemek amacıyla immünhistokimyasal yöntemle FOXP3 ifadesi değerlendirmenin güvenilir olmadığını göstermektedir. Daha önce de belirtildiği gibi FOXP3 mRNA ve protein ifadelerinin farklı saptanabilmesi de bu duruma neden olabilir. Ancak olgu sayısının az olması nedeniyle, bu hipotezin daha geniş olgu serileri içeren çalışmalarla immünhistokimyasal ve moleküler yöntemlerle karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi gerekmektedir.

Literatürde FOXP3+ Treg sayısı ile immünfenotip ilişkisini geniş bir olgu serisinde inceleyen çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamız bu yönden ilk çalışma olabilir. 80 MF biyopsisinde farklı fenotipler arasında FOXP3+ Treg hücre sayısı açısından fark bulunamamıştır (p>0.05). Çeşitli KTHL'ların da bulunduğu MF ve SS olgularında immünhistokimyasal olarak FOXP3 ifadesinin incelendiği çalışmaların ve bizim çalışmamızın materyal-metod bilgileri ve sonuçları Tablo 5.4'te derlenmiştir.

Tablo 5.4. MF ve SS olgularında immünhistokimyasal olarak FOXP3 ifadesinin incelendiği çalışmalar ile çalışmamızın materyal-metod bilgileri ve sonuçları

Çalışma	Olgu Sayısı	Antikor Klonu ve Boyanma	Yöntem ve Değerlendirme Kriteri	Sonuç
Berger ve ark. (2005)	50 KTHL	-Klon belirtilmemiş (Keçi antikoru) -Sitoplazmik	-İHK ve Hücre kültürü -Belirtilmemiş	-KTHL hücreleri in vitro olarak Treg fenotipi edinebilir ve baskılayıcı aktivite gösterebilir. -İn vivo olarak 2 olguda Treg fenotipi gösterilebilmiş -Treg fenotipi bir kısım hastada gelişir ve yeni tedavi seçeneği olabilir.
Klemke ve ark. (2006)	-30 KTHL (2 küçük/orta boyutlu pleomorfik KTHL, 4 lenfomatoid papülozis, 16 MF, 8 SS) -28 inflamatuar dermatit (15 kronik dermatit, 10 atopik dermatit, 3 psöriazis)	-236A/E7 -Nükleer	-İHK ve PCR -Dermiste 6 farklı alanda FOXP3 pozitif hücrelerin CD4+ lenfositlere oranı	-Tümör hücreleri FOXP3 negatif -MF'de SS'e göre Treg hücre sayısı oldukça fazla -Treg hücreleri tümör büyümesini baskılama potansiyeline sahip olabilir.
Gjerdrum ve ark. (2007)	-69 MF -17 KTHL	-236A/E7 -Nükleer	-İHK -Treg sayısı: x400 BBA'da 3 temsili alanda pozitif hücre sayısı -Tümör hücreleri: 0-<%10 negatif, %10-50 kısmen pozitif, >%50 pozitif -Boyanma şiddeti: Zayıf/orta/ kuvvetli	-Tümör hücreleri negatif/nadiren zayıf pozitif -Erken evre lezyonlarda tümör ve BHD gösteren lezyonlara göre daha fazla Treg var -Sağkalım azaldıkça Treg sayısı azalır. -Treg hücre sayısı hastalık evresi ve sağkalım ile ilişkili
Hallermann ve ark. (2007)	5 BHD gösteren MF ve 4 BHD göstermeyen MF	-hFoxy -Sitoplazmik	-İHK -Lenfoma hücrelerinde >% 50 boyanma varsa pozitif	-BHD gösteren hücreler Treg fenotipi gösterebilir. -Treg fenotipi agresif seyre katkıda bulunabilir.
Banham ve ark. (2008)	2 BHD gösteren KTHL	-hFoxy: Sitoplazmik -236A/E7, 86D/D6, 259D/C7: Nükleer	-İHK -Belirtilmemiş	-hFoxy klonu ile spesifik olmayan boyanma -ATLL'deki gibi 236A⁄E7 klonu ile nükleer FOXP3 boyanması tanısal
Kasprzycka ve ark. (2008)	-22 KTHL (7 yama, 9 plak ve 6 tümör dönemi) -9 KTHL tutulumu gösteren lenf nodu (3 BHD gösteren)	-236A/E7 -Nükleer	-İHK (FOXP3/CD7 "double"), Hücre kültürü ve Western blot, -3 temsili alanda 100 atipik hücrede ve tüm lenfoid hücrelerde FOXP3 pozitif hücre sayısı	-KTHL hücrelerinde lokal çevresel uyaranlar aracılığıyla sonradan Treg hücre fenotipi edinilebilir. -Histolojik evre ilerledikçe atipik hücrelerde FOXP3 ifadesi azalır. -FOXP3 ifadesi için STAT3 de gerekli ve Treg özelliklerini baskılamak için STAT inhibisyonu yeni tedavi yöntemi olabilir.
Krejsgaard ve ark. (2008)	15 SS	-236A/E7 -Nükleer, daha düşük oranda sitoplazmik boyanma	-İHK ve PCR -Malign T hücrelerinde <%10 boyanma negatif, %10-%50 boyanma kısmen pozitif, >%50 pozitif	-Olguların bir kısmında İHK ile FOXP3 ifadesi -Malign T hücreleri farklı fonksiyonel özelliklere sahip iki FOXP3 izoformu ifade eder. -İn vitro olarak malign T hücrelerinin Treg hücreleri gibi baskılayıcı özellik gösterdiği saptanmıştır.
Heid ve ark. (2009)	-29 KTHL (14 MF, 15 SS) -10 psöriazis	-236A/E7 -Belirtilmemiş	-İHK, Flow sitometri ve PCR -FOXP3+/CD4+ hücre oranı	-Bir grup SS hastasında Treg hücre fonksiyonel özelliklerine sahip FOXP3+ CD25- tümör hücreleri var. -FOXP+ ve FOXP3- hastalarda farklı prognoz görülebilir ve farklı tedavi yöntemine gereksinim olabilir.

Fried ve ark. (2012)	14 MF hastasına ait ardışık 15 yama/plak dönem, 14 tümör dönem biyopsi	-236A/E7 -Nükleer	-İHK -**Treg sayısı:** Nükleer FOXP3 pozitif lenfositler/toplam lenfoid hücre sayısı **Neoplastik hücre:** Yama/plak dönem: Epidermotropik lenfositler BHD gösteren tümör dönemi: Orta-büyük atipik lenfositler	-Epidermotropik ve dermal neoplastik hücrelerin bir kısmında FOXP3 ifadesi -Treg sayısı evreden bağımsız ve prognostik önemi yok
Wada ve ark. (2013)	2 eritrodermik SS hastası	-236A/E7 -Nükleer	-İHK ve PCR -Belirtilmemiş	-Mikroçevrede artan Treg hücreler iyi prognozla ilişkili -FOXP3 ifade eden bir SS olgusu -FOXP+ malign T hücreleri baskılayıcı özelliklere sahip değil -Tümör hücrelerinin FOXP3+ olması fonksiyonel Treg kökenini desteklemeyebilir.
Zhang ve ark. (2014)	89 MF (69 yama dönemi, 12 plak dönemi, 8 tümör dönemi)	-236A/E7 -Nükleer	-İHK -x400 BBA'da 3-8 temsili alanda ortalama pozitif hücre sayısı	-Tümör hücreleri FOXP3 negatif -FOXP3 ifade eden hücre sayısı yama ve plak döneminde tümör döneminden daha fazla -Bu durum, yeni tedavi hedeflerinin geliştirilmesinde önemli
Shareef ve ark. (2015)	-48 MF (10 yama dönemi, 30 plak dönemi, 8 tümör dönemi) -6 SS -4 büyük plak parapsöriazis	-A00744 -Nükleer	-İHK -5 alanda x400 BBA'da ortalama FOXP3 pozitif hücre sayısı	-Tümör hücreleri FOXP3 negatif -MF erken evrede tümöre göre Treg hücre sayısı daha fazla -Parapsöriaziste Treg sayısı tümör evresinden de daha az
Satou ve ark. (2016)	-33 periferal T hücreli lenfoma, NOS -10 KTHL/MF -2 anjioim münoblastik T hücreli lenfoma -1 SS	-Klon belirtilmemiş -Nükleer	-İHK ve PCR (TCR) -Tümör hücrelerinde >%30 boyanma varsa pozitif	-KTHL'ların FOXP3 pozitif fenotipik alt tipi -FOXP3 pozitif alt tip MF'de yavaş seyir ile ilişkili
Manso ve ark. (2018)	11 MF hastasına ait ardışık 11 plak dönemi ve 11 tümör dönemi biyopsi	-236A/E7 -Nükleer	-İHK ve PCR -Tümöral hücrelerde >%10 nükleer boyanma varsa pozitif	-MiRNA-146a ve miRNA-181a FOXP3 gen ifadesini düzenler. -Plak lezyonlarına (%40) göre tümöral MF'lerde (%5-10) daha düşük FOXP3 ifadesi -miRNA'lar klinik seyir tahmini için prognostik belirteç ve tedavi belirteci olarak kullanılabilir.
Çalışmamız (2020)	80 MF (40 yama dönemi, 20 plak dönemi, 20 tümör dönemi)	-236A/E7 -Nükleer	-İHK -Treg sayısı: Epidermiste ve dermiste temsili 5 alanda x400 BBA'da FOXP3+/CD3+ lenfosit oranı Neoplastik hücreler: Epidermotropizm gösteren 100 atipik hücrede pozitif boyanan hücre sayısı	-Atipik hücrelerde FOXP3 ifadesi bu hücrelerin Treg fenotipini desteklemekte -Treg fenotipi histolojik evre ve klinik evre ile ilişkili değil -BHD gösteren olgularda atipik hücrelerde ifade azaldığı için bu fenotip agresif seyir ile ilişkisiz -Treg sayısı histolojik evre ve klinik evre ile azalır, prognostik önemi olabilir. -FOXP3 hedef tedavide kullanılabilir. -İHK olarak FOXP3'ün prognostik belirteç olarak kullanımı güvenilir değil. -İnflamatuar dermatitler ile MF ayrımında yararlı değil.

Sonuç olarak, spesifik olarak bildirilen klonla (236A/E7) yapılan çalışmamızda atipik lenfoid hücrelerdeki FOXP3 ifadesi bu hücrelerin Treg fenotipi gösterdiğini desteklemektedir. Ayrıca neoplastik hücre oranı düşük olan erken evrelerde yüksek FOXP3 ifadesi bu hücrelerin önemli bir kısmının Treg hücresi olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda immünhistokimyasal olarak FOXP3'ün prognostik belirteç olarak ve erken evre MF (yama dönemi MF) ile inflamatuar dermatit ayrımında tanısal kullanımı güvenilir bulunmamıştır. Ancak hastalığın ilerlemesiyle değişen Treg hücre sayısı ve atipik hücrelerin FOXP3 ifadesi, FOXP3'ün tedavi hedefi olarak kullanılmasına olanak sağlayabilir. Literatürde FOXP3 ifadesi ile ilişkili çelişkili sonuçlar nedeniyle, bu düşüncelerin doğrulanabilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

6. SONUÇLAR

- Çalışmamızda erken evre MF'lerde epigenetik değişikliklere neden olan miRNA'ların ifadelerinin etkilediği p-STAT3, Notch1 ve FOXP3 ifadesinin immünhistokimyasal yöntemler ile inflamatuar dermatitler ve MF ayrımında tanısal değerinin araştırılması planlanmıştır. Ayrıca hastalık progresyonu açısından farklı dönem MF lezyonlarında p-STAT3, Notch1 ve FOXP3 ifadesinin karşılaştırılması ve klinik, histopatolojik prognostik parametreler ve fenotipik özellikler ile ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.
- 20 inflamatuar dermatit (10 digitat dermatoz, 5 pigmente purpurik dermatoz ve 5 liken planus), 40 yama dönemi MF, 20 plak dönemi MF ve 20 tümör dönemi MF olmak üzere toplam 100 deri biyopsisi çalışmaya dahil edilmiştir.
- MF grubu içinde, araştırılan belirteçlerin hastalık ilerlemesindeki yerini değerlendirmek amacıyla, 80 biyopsi arasından farklı zamanlarda çoklu biyopsileri olan ve bu biyopsilerde histolojik evreleri ilerleyen veya BHD gelişen 11 hastanın yer aldığı "ilerleyen MF" alt grubu ile histolojik evresinde ilerleme olmayan veya BHD saptanmayan, 7 hastadan oluşan "ilerlemeyen MF" alt grubu oluşturulmuştur. "İlerleyen MF" grubunda her hastaya ait birer tanı biyopsisi ile takip biyopsisi istatistiksel analizlerde yer almıştır. "İlerleyen MF" grubu ve "ilerlemeyen MF" gruplarının karşılaştırması ise, bu gruplardaki hastaların yama ve plak lezyonlarına ait bir kısmı çok lokalizasyonlu bütün erken dönem tanı biyopsileri üzerinden yapılmıştır.
- Ayrıca zamandan ve progresyondan bağımsız bir şekilde hastaya ait bireysel özellikleri araştırabilme amacı ile sadece histolojik evre ile belirteçlerin ilişkisini değerlendirebilmek için aynı hastaya ait eş zamanlı alınan farklı dönem biyopsileri içeren bir alt grup da belirlenmiştir. Bu grupta 6 hastadan alınan 4 "yama MF", 7 "plak MF" ve 4 "tümör MF" olmak üzere 15 biyopsi bulunmaktadır.

- Tüm olguların yaş ortalaması 52,8 (8-85)'dir. İnflamatuar dermatit, yama MF, plak MF, tümör MF grupları arasında yaş dağılımı açısından fark yoktur (p=0.109).
- Olguların %46'sı kadın, %54'ü erkektir. MF olgularının çoğu erkek, inflamatuar dermatit olgularının çoğu ise kadın hastalardan oluşmaktadır (p=0.001).
- "İlerleyen MF" ve "ilerlemeyen MF" grupları arasında yaş ve cinsiyet dağılımı açısından anlamlı fark yoktur (sırasıyla, p=0.536, p=0.637).
- Lezyonlar sıklık sırasına göre gövde, ekstremite ve baş-boyun yerleşimlidir.
- Yama MF, plak MF, tümör MF tanı grupları arasında BHD ve CD30 pozitiflik oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur (p>0.05).
- BHD gösteren olgularda CD30 pozitiflik oranı ortalama %28,12 (0-%80) olarak saptanmıştır.
- "İlerleyen MF" grubunun tamamı CD4+ fenotipte; "ilerlemeyen MF" grubunun çoğunluğu (%57.1) ise CD8+ fenotiptedir (p=0.003). Bu durum literatürde CD8+ MF olgularının biraz daha yavaş seyirli olmasına dair gözlemleri desteklemektedir.
- Yama, plak, tümör MF tanı grupları arasında CD7 ifade kaybı açısından anlamlı fark saptanmışken (p=0.007), CD5 ifade kaybı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir (p>0.05). Yama, plak, tümör MF tanı grupları arasında CD7 ifade kaybı en fazla "yama MF" grubunda izlenmiştir.
- "İlerleyen MF" grubu ile "ilerlemeyen MF" grubu arasında CD5 ifade kaybı ve CD7 ifade kaybı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir (p>0.05).
- Yama, plak, tümör MF tanı grupları arasında serum LDH seviyesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir (p=0.720).
- MF olgularının %59'u erken klinik evreli, %41'i ileri klinik evrelidir.

- Yama, plak, tümör MF tanı grupları arasında deri hedefli tedavi alan olgular daha çok "yama MF" grubunda bulunmaktadır (p=0.001). Lezyonların histolojik dönemi klinik evreyi etkilemekte, klinik evre de tedavi şeklini etkilemektedir. Bu nedenle deri hedefli tedavi alan olguların daha çok "yama MF" grubunda bulunması beklenen bir bulgudur.
- MF ve inflamatuar dermatit olmak üzere tüm olgularda dermisteki FOXP3 ifade eden lenfosit sayısı kadınlarda erkeklere göre daha fazla bulunmuş (p=0,003), epidermisteki atipik hücre sayısı açısından fark gözlenmemiştir (p=0,633). Bu sonucun, dermiste daha fazla sayıda FOXP3+ lenfosit içeren inflamatuar dermatit grubunun çoğunluğunun kadın hastalardan (n=16) oluşmasına bağlı olabileceği düşünülmüştür.
- p-STAT3 ve Notch1 ifadesi ile yaş ve cinsiyet; atipik hücrelerin ve dermisteki lenfositlerin FOXP3 ifadesi ile yaş arasında ilişki saptanmamıştır (p>0.05).
- "İnflamatuar dermatit" grubu ile "yama MF" grubunun p-STAT3, Notch1, epidermisteki ve dermisteki lenfositlerin FOXP3 ifadelerinin birbirine benzer olduğu izlenmiştir (sırasıyla, p=1.000, p=1.000, p=0.834, p=1.000). İnflamatuar dermatit ile yama dönemi MF ayrımında p-STAT3, Notch1 ve FOXP3 immünhistokimyasal ifade durumunun ayırıcı tanıda katkısı yoktur.
- MF olgularında dermisteki atipik hücreler yanı sıra bütün dönemler dahil olmak üzere, olguların bir kısmında epidermisteki atipik hücrelerde p-STAT3 ifadesi, Pautrier mikroabselerindeki neoplastik hücrelerde Notch1 ifadesi izlenmiştir.
- Epidermiste (%1-62) ve dermisteki atipik hücrelerde FOXP3 ifadesi dikkat çekmiştir. Spesifik olarak bildirilen klonla (236A/E7) yapılan çalışmamızda atipik hücrelerdeki FOXP3 ifadesi bu hücrelerin Treg fenotipi gösterdiğini desteklemektedir.
- MF'te p-STAT3 ve Notch1 ifadesi yama döneminden tümör dönemine doğru, özellikle yama ile tümör dönemleri arasında olmak üzere anlamlı düzeyde artış göstermektedir (sırasıyla, p=0.005, p=0.000). Ayrıca "erken

MF" (yama+plak dönemi) grubunda "tümör MF" grubuna göre p-STAT3 ve Notch1 ifadesi anlamlı olarak düşüktür (sırasıyla, p=0.005, p=0.005). p-STAT3 ve Notch1 ifadesi histolojik evre ile ilişkilidir.

- Dermisteki lenfositlerde FOXP3 ifadesi açısından "yama MF" ve "tümör MF" grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p=0,000). Ayrıca "tümör MF" grubunda dermisteki lenfositlerde, yama ve plak dönemi lezyonların birlikte değerlendirildiği "erken MF" grubuna göre FOXP3 ifadesi daha düşüktür (p=0.001). Bu durum, Treg hücre sayısının histolojik evre ile ilişkili olduğu düşüncesini desteklemektedir. Histolojik evre ilerledikçe Treg hücre sayısı azalmaktadır.
- Epidermisteki atipik hücrelerde hastalık ilerledikçe sırayla yama, plak, tümör dönemine doğru istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olmasa bile FOXP3 ifadesinde azalma olmaktadır (p=0,302). Yama ve plak dönemi lezyonların birlikte değerlendirildiği "erken MF" grubu ile "tümör MF" grubu arasında atipik hücrelerde FOXP3 ifadesi açısından anlamlı fark yoktur (p=0.125).
- "İlerleyen MF" grubunda "ilerlemeyen MF" grubuna göre p-STAT3 ifadesi de (p=0.007) Notch1 H-skoru da (p=0.006) anlamlı olarak yüksektir. p-STAT3 hedefe yönelik tedavide ve prognozu öngörerek hedefe yönelik tedavi için hasta seçiminde bir belirteç olarak kullanılabilir. Ayrıca Notch1 de Notch inhibitörleriyle tedaviden yarar sağlayabilecek bir hasta grubunun varlığını göstererek tedavide önemli bir seçenek olarak yer alabilir.
- İlerleyen MF" grubu ile "ilerlemeyen MF" grubu arasında epidermisteki atipik hücrelerde ve dermisteki lenfositlerde FOXP3 ifadesi açısından anlamlı fark izlenmemiştir (sırayla, p=0.083, p=0.217). İmmünhistokimyasal olarak FOXP3'ün prognostik belirteç olarak kullanımı güvenilir bulunmamıştır. Ancak Treg hücre sayısının histolojik ve klinik evre ile ilişkisi göz önüne alındığında, bu sonuç gruplarda az sayıda olgu bulunmasından veya FOXP3 mRNA ve protein ifadelerinin farklı saptanabilmesinden kaynaklanabilir.

- “İlerleyen MF” grubu içinde takip biyopsilerinde tanı biyopsilerine göre Notch1 H-skoru anlamlı olarak daha yüksektir (p=0,017). Notch1 hastalığın ilerlemesini gösteren prognostik bir belirteç olarak kullanılabilir.
- “İlerleyen MF” grubu içinde tanı ve takip biyopsileri arasında p-STAT3 ifadesinde fark görülmemiştir (p>0.05). Bu durum STAT3 aktivasyonunun bir hasta grubunda hastalığın erken evrelerinden itibaren başlayabildiğini göstermekle birlikte, “ilerleyen MF” grubunda histolojik ilerlemenin göstergesi olan BHD gösteren olguların da bulunmasından kaynaklanabilir. Bununla birlikte çalışmamızdaki BHD ile p-STAT3 ifadesi arasındaki ilişki düşünüldüğünde, agresif seyir gösteren olgularda JAK/STAT yolağı hastalığın başından beri farklı etki mekanizmasına sahip olabilir.
- “İlerleyen MF” grubunda tanı ve takip biyopsileri arasında epidermisteki atipik hücrelerde ve dermisteki lenfositlerde FOXP3 ifadesinde istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir (p>0.05). Daha az sayıda hastadan oluşan bu gruplar ile değerlendirmemizde, atipik hücrelerde FOXP3 ifadesinin hastalığın seyri veya hastalık evresi ile ilişkisine dair bir bulgu elde edilmemiştir.
- Aynı hastaya ait eş zamanlı alınan farklı dönem biyopsiler arasında p-STAT3, Notch1 ve FOXP3 ifadeleri açısından anlamlı fark izlenmemiştir (p>0.05). Az sayıda hastadan oluşan bu grup ile değerlendirmemizde, bu belirteçlerin ifadelerinin zamandan ve progresyondan bağımsız ve hastaların bireysel özelliklerine bağlı bir şekilde, sadece histolojik evre ile ilişkisi lehine bulgu elde edilmemiştir.
- BHD gösteren olgularda BHD göstermeyen olgulara göre p-STAT3 ve Notch1 ifadesi daha yüksek, atipik hücrelerde ve dermisteki lenfositlerde FOXP3 ifadesi daha düşük bulunmuştur (sırayla, p=0.001, p=0,000, p=0.012, p=0.028). Bu sonuçlara göre, FOXP3 ifadesi BHD ile ilişkili olabilmekle birlikte; BHD gösteren olgularda atipik hücrelerde FOXP3 ifadesinin daha düşük saptanması nedeniyle tümör hücrelerindeki bu fenotip muhtemelen agresif seyirde rol oynamamaktadır. Ayrıca agresif seyirle ilişkili BHD’de Notch ve JAK/STAT sinyal yolağındaki

bozukluklar da etkili olabilir veya eşlik edebilir. Çalışmamızda yama, plak ve tümör lezyonlarında BHD açısından anlamlı bir farklılık saptanmaması nedeni ile BHD ile p-STAT3, Notch1 ve dermisteki lenfositlerde FOXP3 ifadesi arasında saptanan ilişki, muhtemelen hastalığın yama, plak ve tümör şeklinde ilerlemesinden bağımsızdır.

- CD30 pozitiflik oranı ile p-STAT3, Notch1 ve FOXP3 ifadeleri ilişkisizdir ($p>0.05$).
- CD4+ fenotipe sahip olgular CD8+ olgulara göre daha fazla p-STAT3 ifadesi göstermektedir ($p=0.006$). Son yıllarda literatürde CD8+ fenotipin daha yavaş seyirli olduğuna dair gözlemler göz önüne alındığında, bu sonuç STAT3 aktivasyonunun agresif seyre katkısını desteklemektedir.
- İmmünfenotip ile hem Notch1 ifadesi arasında hem de epidermisteki atipik hücrelerde ve dermisteki lenfositlerde FOXP3 ifadesi arasında ilişki yoktur ($p>0.05$).
- CD7 ifade kaybı olmayan olguların CD7 ifade kaybı olan olgulara göre daha yüksek Notch1 H-skoruna sahip olduğu görülmüştür ($p=0.014$). Neoplastik yönde destekleyici bulgulardan olan CD7 ifade kaybında düşük Notch1 ifadesi ilgi çekici bir bulgudur. Ancak CD7 ifade kaybı malignite için spesifik değildir ve inflamatuar süreçlerde de bildirilmiştir.
- CD7 ifade kaybı ile dermisteki lenfositlerin FOXP3 ifadesi arasında ilişki izlenmezken ($p=0,287$), atipik hücrelerin FOXP3 ifadesi CD7 ifade kaybı olan olgularda daha düşüktür ($p=0.012$).
- p-STAT3 ifadesi ile CD5 ve CD7 ifade kaybı; Notch1 ifadesi ile CD5 ifade kaybı; atipik hücrelerin ve dermisteki lenfositlerin FOXP3 ifadesi ile CD5 ifade kaybı ilişkisizdir ($p>0.05$).
- p-STAT3, Notch1, epidermisteki atipik hücrelerin ve dermisteki lenfositlerin FOXP3 ifadeleri ile serum LDH seviyeleri ilişkisizdir ($p>0.05$).
- İleri klinik evreli MF olgularında, erken klinik evreli MF olgularına göre p-STAT3 ve Notch1 ifadesi daha yüksektir (sırasıyla, $p=0.010$, $p=0.000$).

Bu nedenle, STAT3 aktivasyonu ve Notch1 ifadelerinin klinik evreyle ilişkili olduğu düşünülmüştür. Klinik evrelemede (TNMB) lezyonların yaygınlığına ve dönemine göre belirlenen T evresinin önemi göz önüne alındığında, histolojik evreye paralel olarak artan p-STAT3 ve Notch1 ifadesi, erken ve ileri klinik evre arasındaki p-STAT3 ve Notch1 ifadesi farkına da yansımıştır.

- Dermisteki lenfositlerde FOXP3 ifadesi, erken klinik evreli MF olgularında ileri klinik evreli MF olgularına göre daha yüksek saptanmıştır (p=0,002). Klinik evre ilerledikçe Treg hücre sayısı azalmaktadır. Treg hücre sayısının prognostik bir önemi olabilir.
- Epidermisteki atipik hücrelerde FOXP3 ifadesi klinik evre ile ilişkisizdir (p=0.437).
- Deri hedefli tedavi alan olgulara göre sistemik tedavi alan olgularda Notch1 ifadesi anlamlı olarak yüksektir (p=0,005). Tedavi şekli genellikle klinik evreye göre belirlendiği için, erken klinik evrede tercih edilen deri hedefli tedavide görülen düşük Notch1 ifadesi bu durumun yansıması olabilir. Bununla birlikte, tedavi yöntemleri ile Notch sinyal yolağı arasındaki ilişkinin anlaşılabilmesi ve Notch inhibitörleriyle yapılacak olası kombine tedavilere yön verebilmesi açısından bu konuda daha ayrıntılı çalışmalar yapılabilir.
- Tedavi yöntemlerine göre dermiste FOXP3 ifadesinin değiştiği gözlenmiş; en yüksek ifade deri hedefli tedavi alan olgularda, en düşük ifade ise sistemik tedavi alan olgularda gözlenmiştir. Tedavi şekli genellikle klinik evreye göre belirlendiği için, erken klinik evrede tercih edilen deri hedefli tedavide görülen yüksek FOXP3 ifadesi bu durumun yansıması olabilir.
- p-STAT3 ve epidermisteki atipik hücrelerdeki FOXP3 ifadesi ile tedavi yöntemi arasında ilişki saptanmamıştır (p>0.05).
- Çalışmamız p-STAT3, Notch1 ve FOXP3'ün doku düzeyinde inflamatuar dermatitler ile erken evre MF ayrımında ve MF ilerlemesinde tanısal ve prognostik öneminin bir arada araştırıldığı ilk çalışmadır.

- STAT3, Notch1 ve FOXP3'ün MF patogenezinde rol oynadığına ve alternatif tedavi hedefleri olarak kullanılabileceğine dair sonuçlar elde edilmiştir. Ancak bu bulguların daha ayrıntılı çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

ÖZET

İnflamatuar Dermatit ve Erken Evre Mikozis Fungoides Ayırıcı Tanısında ve Mikozis Fungoides Progresyon Spektrumunda MikroRNA İlişkili Proteinlerin İfadesinin Değerlendirilmesi

AMAÇ: MF, genellikle yama ve plak lezyonlarla yavaş seyir gösteren, bir kısım hastada deride tümörler ve deri dışı tutulum ile ilerleyen ve sistemik yayılım gösterebilen KTHL'dır. Ayrıca erken evrede, klinik ve histopatolojik olarak inflamatuar dermatitlerle benzerlik gösterebilmesi tanısal sıkıntı yaratmaktadır. Sağkalımın azaldığı ve mortalitede belirgin artışın görüldüğü ileri evreye ilerleyebilecek hastaları öngörebilecek biyobelirteçlerin bulunması ve mevcut tedavi yöntemlerinin yetersiz kaldığı ileri evre için yeni tedavi hedeflerinin belirlenmesi önem kazanmaktadır. Son yıllarda MF patogenezinde, miRNA'ların rol oynadığı epigenetik değişiklikler bildirilmiştir. Çalışmamızda inflamatuar dermatitler ile erken evre MF ayrımında ve MF ilerlemesinde, miRNA'lar tarafından ifadeleri düzenlenen STAT3, Notch1 ve FOXP3'ün birlikte, immünhistokimyasal yöntemle tanısal ve prognostik öneminin ve etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL-METOD: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2006-2019 yılları arasında incelenmiş; 20 inflamatuar dermatit, 40 yama MF, 20 plak MF ve 20 tümör MF olgusu çalışmaya dahil edilmiştir. Ayrıca hastalık ilerlemesini değerlendirmek amacıyla, 80 MF olgusundan "ilerleyen MF" ve "ilerlemeyen MF" grupları oluşturulmuştur. "İlerleyen MF" grubunda takip sırasında histolojik evresi ilerleyen veya BHD gösteren 11 hastanın tanı ve takip biyopsileri yer almıştır. "İlerlemeyen MF" grubu ise takip sırasında hastalığı erken evre olarak devam eden 7 hastanın biyopsilerinden oluşturulmuştur. Ayrıca hastaya ait bireysel özelliklerin etkisini araştırabilme amacı ile zamandan ve hastalık progresyonundan bağımsız bir şekilde, sadece histolojik evre ile belirteçlerin ilişkisini değerlendirebilmek için 6 hastaya ait eş zamanlı alınan 15 biyopsi içeren bir alt grup da belirlenmiştir. Bütün olguların yaş, cinsiyet, lezyon lokalizasyonu gibi genel bilgileri; MF olgularının büyük hücre dönüşümü, serum LDH seviyesi ve klinik evre gibi prognostik faktörleri ile immünfenotip, CD5 ifade kaybı, CD7 ifade kaybı, CD30

pozitiflik oranı ve tedavi yöntemi gibi klinikopatolojik özellikleri belirlenmiştir. Tüm olgulara immünhistokimyasal olarak p-STAT3, Notch1 ve FOXP3 antikorları uygulanmış, dijital görüntüler üzerinden değerlendirme yapılmıştır. Verilerin analizi "SPSS for Windows 11,5" paket programında yapılmış, $p<0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

SONUÇLAR: "İlerleyen MF" grubunun tamamı CD4+, "ilerlemeyen MF" grubunun çoğunluğu (%57,1) ise CD8+ fenotiptedir (p=0.003). MF olgularında p-STAT3 ve Notch1 ifadesi yama döneminden tümör dönemine doğru, özellikle yama ile tümör dönemleri ve erken MF ile tümör MF arasında olmak üzere anlamlı düzeyde artma göstermiştir (p-STAT3, p=0.005, p=0.005; Notch1, p=0.000, p=0.005). FOXP3 ile ise yama döneminden tümör dönemine doğru atipik lenfositlerde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olmayan ifade azalması gözlenmiştir. Bununla birlikte yama ve plak MF grubunun birleştirildiği "erken MF" grubunda dermisteki lenfositlerde FOXP3 ifadesi "tümör MF" grubundan daha yüksektir (p=0.001). CD4+ fenotipe sahip olgular CD8+ olgulara göre daha fazla p-STAT3 ifadesi göstermektedir (p=0.006). "İlerlemeyen MF" grubunda "ilerleyen MF" grubuna göre p-STAT3 ve Notch1 ifadesi daha düşüktür (sırasıyla, p=0.007, p=0.006). "İlerleyen MF" grubunun takip biyopsilerinde tanı biyopsilerine göre Notch1 H-skoru daha yüksektir (p=0,017). İleri klinik evreli MF olgularında erken klinik evreli MF olgularına göre p-STAT3 ve Notch1 ifadesi daha yüksek (sırasıyla, p=0.010, p=0.000); dermisteki lenfositlerde FOXP3 ifadesi ise daha düşük bulunmuştur (p=0,003). Sistemik tedavi alan olgularda deri hedefli tedavi alan olgulara göre daha yüksek Notch1 H-skoru saptanmıştır (p=0,005). En yüksek FOXP3 ifadesi deri hedefli tedavi alan olgularda, en düşük ifade ise sistemik tedavi alan olgularda gözlenmiştir. "İnflamatuar dermatit" ve "yama MF" grupları arasında p-STAT3, Notch1 ve FOXP3 ifadesi açısından fark saptanmamıştır. Ayrıca "BHD gösteren MF" grubunda "BHD göstermeyen MF" grubuna göre p-STAT3 ve Notch1 ifadesi daha yüksek, atipik hücrelerde ve dermisteki lenfositlerde FOXP3 ifadesi daha düşüktür (sırasıyla, p=0.001, p=0.000, p=0.012, p=0.028).

TARTIŞMA: Çalışmamızda saptanmış olan p-STAT3 ve Notch1 ifadesinin histolojik evre ve klinik evre ilerlemesine paralel olarak artışı ve BHD ile ilişkisi, STAT3 ve Notch1'in MF patogenezinde rol oynadığını, agresif seyir ile ilişkili olduğunu ve alternatif tedavi hedefi olabileceğini desteklemektedir. İlerleme

potansiyeline sahip olabilecek hasta grubunda JAK/STAT yolağının hastalığın daha erken aşamalarında da rol oynayabileceği düşünülmüştür. p-STAT3 ile Notch1 hedefe yönelik tedaviden fayda görebilecek bir grup hastanın seçiminde bir belirteç olarak kullanılabilir. Ayrıca ilerleyen hastalığı olan grupta hastalık ilerlemesi ile Notch1 ifadesinin artması, Notch1'in klinik seyri öngörmede prognostik bir belirteç olarak kullanımını desteklemektedir. Atipik hücrelerdeki FOXP3 ifadesi bu hücrelerin Treg fenotipini desteklemekte, ancak BHD gösteren olgularda ifadenin azalması bu fenotipin agresif seyirde rol oynamadığını düşündürmektedir. Treg hücre sayısının histolojik evre ve klinik evre ilerlemesi ile azalması prognostik bir öneme sahip olabileceğini düşündürmesine rağmen, immünhistokimyasal olarak FOXP3'ün prognostik belirteç olarak kullanımının güvenilir olmayabileceği sonucuna varılmıştır. STAT3, Notch1 ve FOXP3 immünhistokimyasal ifade durumunun inflamatuar dermatit ile yama dönemi MF ayırıcı tanısında katkısı olmadığı saptanmıştır. Ancak bu sonuçların daha geniş hasta serilerinde de araştırılarak desteklenmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Mikozis fungoides, MiRNA, Notch1, STAT3, FOXP3

SUMMARY

Evaluation of the Expression of MicroRNA-Related Proteins in Mycosis Fungoides Progression Spectrum and in the Differential Diagnosis of Inflammatory Dermatitis and Early Stage Mycosis Fungoides

AIM: MF is a CTCL, which progresses generally slowly with patch and plaque lesions, but sometimes progression with tumors and extracutaneous involvement can be seen in some patients and can show systemic spread. In early stages, resemblance to inflammatory dermatitis both clinically and histopathologically creates a diagnostic problem. It is essential to determine biomarkers that can predict patients who may progress to the advanced stage in which demonstrate diminished survival rate and increased mortality. It is also important to find new treatment targets for the advanced stages where concurrent treatment methods are generally insufficient. In recent years, epigenetic changes which miRNAs play a role in, have been reported in the pathogenesis of MF. In our study, it was aimed to investigate the prognostic effect and diagnostic value of the expression of STAT3, Notch1 and FOXP3 which are regulated by miRNAs, in MF progression and in differential diagnosis of inflammatory dermatitis and early-stage MF.

MATERIAL-METHOD: A total of 100 patients (20 inflammatory dermatitis, 40 patch stage MF, 20 plaque stage MF and 20 tumor stage MF) which were examined between 2006 and 2019 at Ankara University, School of Medicine, Department of Medical Pathology were included in the study. In order to evaluate the progress of disease a "progressive MF" and "non-progressive MF" groups were formed from 80 MF cases. Progressive MF group was included initial and follow-up biopsies of 11 patients whose histological stage progressed or showed large cell transformation during follow-up. Non-progressive MF group was included 7 patients' biopsies whose disease was ongoing in early stages. In order to investigate the effect of individual characteristics of the patients, a subgroup containing 15 synchronous biopsies of 6 patients was formed to evaluate only the relationship between the histological stage and pSTAT3, Notch1 and FOXP3, regardless of time and disease progression. Age, gender, lesion localization of all cases and clinicopathological and prognostic features

such as large cell transformation, immunophenotype, loss of CD5 and CD7, CD30 positivity rate, level of serum LDH, clinical stage and treatment method of MF cases were determined. p-STAT3, Notch1 and FOXP3 antibodies were applied to all cases by immunohistochemical methods and evaluations were performed on digital images. The analysis of the data was made using the "SPSS for Windows 11.5" package program and the results for $p < 0.05$ were considered to be statistically significant.

RESULTS: Immunophenotypically while the entire “progressive MF” group was CD4+, the majority of the “non-progressive MF” group (57.1%) was CD8+. In MF cases, pSTAT3 and Notch1 expression increased significantly from patch stage to tumor stage; their expression was higher especially in tumor stage according to patch stage and in tumor MF group according to early MF group where the patch and plaque groups were combined. In MF cases, a statistically insignificant decrease in expression of FOXP3 in atypical lymphocytes from patch stage to tumor stage was observed. However early MF group showed statistically significant increase in FOXP3 expression of dermal lymphocytes according to tumor MF group. Cases with CD4+ phenotype show more p-STAT3 expression than CD8+ cases ($p= 0.006$). p-STAT3 and Notch1 expression was lower in the "non-progressive MF" group compared to the "progressive MF" group ($p = 0.007$, $p = 0.006$, respectively). In the progressive MF group, the Notch1 H-scores of follow-up biopsies were higher than the initial biopsies ($p= 0.017$). The expressions of p-STAT3 and Notch1 in MF cases with advanced clinical stage are higher than those of MF with early clinical stage ($p = 0.010$, $p = 0.000$, respectively). In MF cases with advanced clinical stage the expression of p-STAT3 and Notch1 were higher, but FOXP3 expression of dermal lymphocytes was lower than those of MF with early clinical stage. Cases received systemic therapy had a higher Notch1 H-score than those received skin-directed therapy ($p = 0.005$). The highest expression of FOXP3 was observed in cases received skin-directed therapy, and the lowest expression of FOXP3 in cases received systemic therapy. There was no difference in terms of p-STAT3, Notch1 and FOXP3 expressions in “inflammatory dermatitis” and “patch MF” groups. In addition, in the “MF with large cell transformation” group, p-STAT3 and Notch1 expressions were higher and the FOXP3 expression of dermal atypical cells and lymphocytes was lower than the “MF without

large cell transformation" group, (respectively, p = 0.001, p = 0.000, p = 0.012, p = 0.028).

CONCLUSİON: In this study, the detected increase of p-STAT3 expression which is parallel with histological and clinical stage progression and its relation with LCT supports that STAT3 plays a role in MF development and it may be associated with aggressive course and may be an alternative target for treatment. The JAK / STAT pathway may play a part in the early stages of the disease in a group of patient who may have potential for progress. p-STAT3 and Notch1 can be used as a marker to define patients who may benefit from the targeted therapy. Notch1 expression which was increased with disease progression suggests that the Notch signal pathway plays a role in MF pathogenesis and can be used as a prognostic marker in predicting clinical course. The expression of FOXP3 in the atypical cells supports the presence of Treg phenotype in these cells, but the decreased expression in patients with LCT suggests that this phenotype may not be associated with an aggressive course. Although the reduction of Treg cell number in conjunction with histological stage and clinical stage suggests that it may have a prognostic significance but the immunohistochemical use of FOXP3 as a prognostic marker was not found reliable. It was found that immunohistochemical expression status of STAT3, Notch1 and FOXP3 is not contributed to the differential diagnosis of inflammatory dermatitis and patch stage MF. However, it would be beneficial to support these results in different and larger patient series.

Keywords: Mycosis fungoides, MiRNA, Notch1, STAT3, FOXP3

KAYNAKLAR

1. Vaidya, T. and T. Badri, *Mycosis Fungoides*, in *StatPearls*. 2019: Treasure Island (FL).
2. Elder, D.E., et al., *WHO classification of skin tumours*. 2018.
3. Levidou, G., et al., *A comprehensive immunohistochemical approach of AKT/mTOR pathway and p-STAT3 in mycosis fungoides.* J Am Acad Dermatol, 2013. **69**(3): p. 375-84.
4. Manso, R., et al., *Mycosis fungoides progression could be regulated by microRNAs.* PLoS One, 2018. **13**(6): p. e0198477.
5. Sommer, V.H., et al., *In vivo activation of STAT3 in cutaneous T-cell lymphoma. Evidence for an antiapoptotic function of STAT3.* Leukemia, 2004. **18**(7): p. 1288-95.
6. Kamstrup, M.R., et al., *Notch1 as a potential therapeutic target in cutaneous T-cell lymphoma.* Blood, 2010. **116**(14): p. 2504-12.
7. Ferrara, G., et al., *A specific DNA methylation profile correlates with a high risk of disease progression in stage I classical (Alibert-Bazin type) mycosis fungoides.* Br J Dermatol, 2014. **170**(6): p. 1266-75.
8. van Kester, M.S., et al., *miRNA expression profiling of mycosis fungoides.* Mol Oncol, 2011. **5**(3): p. 273-80.
9. Ralfkiaer, U., 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): p. 7207-17.
10. Elder, D.E. and W.F. Lever, *Lever's histopathology of the skin*. 2015.
11. Mills, S.E., *Histology for pathologists*. 2020.
12. Larsen, W.J., et al., *Larsen's human embryology*. 2015, Edinburgh: Churchill Livingstone.
13. Keith, L.M., *The Developing Human*. 2016: Elsevier.

14. Kierszenbaum, A.L., L.L. Tres, and X. Chen, *Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology, Fourth Edition : an introduction to pathology*. 2016.

15. Kumar, V., et al., *Robbins and Cotran pathologic basis of disease, professional edition e-book*. 2014: Elsevier health sciences.

16. Mescher, *Junqueira's Basic Histology, 2016*. 2016.

17. Ovalle, W.K. and P.C. Nahirney, *Netter's Essential Histology: with Student Consult Access*. 2013: Elsevier Health Sciences.

18. Bos, J.D. and M.L. Kapsenberg, *The skin immune system Its cellular constituents and their interactions.* Immunol Today, 1986. **7**(7-8): p. 235-40.

19. *Practical Immunodermatology*. 2017.

20. Calonje, E. and P.H. McKee, *McKee's pathology of the skin*. 2012, Edinburgh: Elsevier, Saunders.

21. Bos, J.D., *Skin immune system cutaneous immunology and clinical immunodermatology*. 2005.

22. Abbas, *Basic Immunology: Functions and Disorders of the Immune System*. 2016: Elsevier.

23. Clark, R.A., *Skin-resident T cells: the ups and downs of on site immunity.* J Invest Dermatol, 2010. **130**(2): p. 362-70.

24. Gaspari, A.A., S.K. Tyring, and D.H. Kaplan, *Clinical and basic immunodermatology*. 2017: Springer.

25. Patterson, J.W., G.A. Hosler, and D. Weedon, *Weedon's skin pathology*. 2016.

26. Willemze, R., et al., *The 2018 update of the WHO-EORTC classification for primary cutaneous lymphomas.* Blood, 2019. **133**(16): p. 1703-1714.

27. Jaffe, E.S., et al., *Hematopathology E-Book*. 2010: Elsevier Health Sciences.

28. Beyer, M., et al., *Pathogenesis of Mycosis fungoides.* J Dtsch Dermatol Ges, 2011. **9**(8): p. 594-8.

29. Tan, R.S., et al., *Mycosis fungoides--a disease of antigen persistence.* Br J Dermatol, 1974. **91**(6): p. 607-16.

30. Courgnaud, V., et al., *Absence of HTLV-related sequences in skin lesions and peripheral blood of cutaneous T-cell lymphomas.* J Invest Dermatol, 2009. **129**(10): p. 2520-2.

31. Novelli, M., et al., *Epstein-Barr virus in cutaneous T-cell lymphomas: evaluation of the viral presence and significance in skin and peripheral blood.* J Invest Dermatol, 2009. **129**(6): p. 1556-61.

32. Gupta, R.K., et al., *Cytomegalovirus seroprevalence is not higher in patients with mycosis fungoides/Sezary syndrome.* Blood, 2006. **107**(3): p. 1241-2.

33. van Kester, M.S., et al., *A meta-analysis of gene expression data identifies a molecular signature characteristic for tumor-stage mycosis fungoides.* J Invest Dermatol, 2012. **132**(8): p. 2050-9.

34. Girardi, M., P.W. Heald, and L.D. Wilson, *The pathogenesis of mycosis fungoides.* N Engl J Med, 2004. **350**(19): p. 1978-88.

35. van Doorn, R., et al., *A novel splice variant of the Fas gene in patients with cutaneous T-cell lymphoma.* Cancer Res, 2002. **62**(19): p. 5389-92.

36. Centre international de recherche sur le, c., et al., *WHO classification of skin tumours*. 2018.

37. Gjerdrum, L.M., et al., *FOXP3+ regulatory T cells in cutaneous T-cell lymphomas: association with disease stage and survival.* Leukemia, 2007. **21**(12): p. 2512-8.

38. Diamandidou, E., et al., *Transformation of mycosis fungoides/Sezary syndrome: clinical characteristics and prognosis.* Blood, 1998. **92**(4): p. 1150-9.

39. Tournier, E., et al., *Double-positive CD4/CD8 mycosis fungoides: a rarely reported immunohistochemical profile.* Journal of Cutaneous Pathology, 2014. **41**(1): p. 58-62.

40. Horst, B.A., R. Kasper, and P.E. LeBoit, *CD4+, CD56+ mycosis fungoides: case report and review of the literature.* Am J Dermatopathol, 2009. **31**(1): p. 74-6.

41. Quick, C.M., B.R. Smoller, and K.M. Hiatt, *Fli-1 expression in mycosis fungoides.* J Cutan Pathol, 2006. **33**(9): p. 642-5.

42. Fraser-Andrews, E.A., 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 Dermatol, 2006. **155**(4): p. 756-62.

43. Mahalingam, M. and V.B. Reddy, *Mycosis Fungoides, Then and Now... Have We Travelled?* Adv Anat Pathol, 2015. **22**(6): p. 376-83.

44. Yamashita, T., et al., *Mycosis fungoides and Sezary syndrome: clinical, histopathological and immunohistochemical review and update.* An Bras Dermatol, 2012. **87**(6): p. 817-28; quiz 829-30.

45. Ahn, C.S., A.L. A, and O.P. Sangueza, *Mycosis fungoides: an updated review of clinicopathologic variants.* Am J Dermatopathol, 2014. **36**(12): p. 933-48; quiz 949-51.

46. LeBoit, P.E., *Variants of mycosis fungoides and related cutaneous T-cell lymphomas.* Semin Diagn Pathol, 1991. **8**(2): p. 73-81.

47. Shapiro, P.E. and F.J. Pinto, *The histologic spectrum of mycosis fungoides/Sezary 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**(7): p. 645-67.

48. El-Shabrawi-Caelen, L., et al., *Hypopigmented mycosis fungoides: frequent expression of a CD8+ T-cell phenotype.* Am J Surg Pathol, 2002. **26**(4): p. 450-7.

49. Carter, J.B., A. Goyal, and L.M. Duncan, *Atlas of Cutaneous Lymphomas: Classification and Differential Diagnosis*. 2015: Springer.

50. Bowman, P.H., D.J. Hogan, and I.D. Sanusi, *Mycosis fungoides bullosa: report of a case and review of the literature.* J Am Acad Dermatol, 2001. **45**(6): p. 934-9.

51. Hwang, S.T., et al., *Mycosis fungoides and Sezary syndrome.* Lancet, 2008. **371**(9616): p. 945-57.

52. Beigi, P.K.M., *Clinician's Guide to Mycosis Fungoides*. 2017: Springer.

53. Scarisbrick, J.J., et al., *Prognostic factors, prognostic indices and staging in mycosis fungoides and Sezary syndrome: where are we now?* Br J Dermatol, 2014. **170**(6): p. 1226-36.

54. Mahajan, V.K., et al., *Poikiloderma vasculare atrophicans: a distinct clinical entity?* Indian J Dermatol, 2015. **60**(2): p. 216.

55. Abbott, R.A., et al., *Poikilodermatous mycosis fungoides: a study of its clinicopathological, immunophenotypic, and prognostic features.* J Am Acad Dermatol, 2011. **65**(2): p. 313-319.

56. Massone, C., et al., *Histopathologic features of early (patch) lesions of mycosis fungoides: a morphologic study on 745 biopsy specimens from 427 patients.* Am J Surg Pathol, 2005. **29**(4): p. 550-60.

57. Pimpinelli, N., et al., *Defining early mycosis fungoides.* J Am Acad Dermatol, 2005. **53**(6): p. 1053-63.

58. Wada, D.A., et al., *Specificity of IRF4 translocations for primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma: a multicenter study of 204 skin biopsies.* Mod Pathol, 2011. **24**(4): p. 596-605.

59. Olsen, E., et al., *Revisions to the staging and classification of mycosis fungoides and Sezary syndrome: a proposal of the International Society for Cutaneous Lymphomas (ISCL) and the cutaneous lymphoma task force of the European Organization of Research and Treatment of Cancer (EORTC).* Blood, 2007. **110**(6): p. 1713-22.

60. Hughes, C.F., et al., *Mycosis fungoides and Sezary syndrome: Current challenges in assessment, management and prognostic markers.* Australas J Dermatol, 2016. **57**(3): p. 182-91.

61. Agar, N.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. **28**(31): p. 4730-9.

62. Diamandidou, E., et al., *Prognostic factor analysis in mycosis fungoides/Sezary syndrome.* J Am Acad Dermatol, 1999. **40**(6 Pt 1): p. 914-24.

63. Toro, J.R., et al., *Prognostic factors and evaluation of mycosis fungoides and Sezary syndrome.* J Am Acad Dermatol, 1997. **37**(1): p. 58-67.

64. Talpur, R., et al., *Long-term outcomes of 1,263 patients with mycosis fungoides and Sezary syndrome from 1982 to 2009.* Clin Cancer Res, 2012. **18**(18): p. 5051-60.

65. Quaglino, P., et al., *Time course, clinical pathways, and long-term hazards risk trends of disease progression in patients with classic mycosis fungoides: a multicenter, retrospective follow-up study from the Italian Group of Cutaneous Lymphomas.* Cancer, 2012. **118**(23): p. 5830-9.

66. Kim, Y.H., et al., *Long-term outcome of 525 patients with mycosis fungoides and Sezary syndrome: clinical prognostic factors and risk for disease progression.* Arch Dermatol, 2003. **139**(7): p. 857-66.

67. Kern, D.E., et al., *Analysis of T-cell receptor gene rearrangement in lymph nodes of patients with mycosis fungoides. Prognostic implications.* Arch Dermatol, 1998. **134**(2): p. 158-64.

68. Sausville, E.A., et al., *Histopathologic staging at initial diagnosis of mycosis fungoides and the Sezary syndrome. Definition of three distinctive prognostic groups.* Ann Intern Med, 1988. **109**(5): p. 372-82.

69. Fraser-Andrews, E.A., et al., *Detection of a peripheral blood T cell clone is an independent prognostic marker in mycosis fungoides.* J Invest Dermatol, 2000. **114**(1): p. 117-21.

70. Vonderheid, E.C., et al., *Prognostic factors and risk stratification in early mycosis fungoides.* Leuk Lymphoma, 2014. **55**(1): p. 44-50.

71. Arulogun, S.O., et al., *Long-term outcomes of patients with advanced-stage cutaneous T-cell lymphoma and large cell transformation.* Blood, 2008. **112**(8): p. 3082-7.

72. Vergier, B., et al., *Transformation of mycosis fungoides: clinicopathological and prognostic features of 45 cases. French Study Group of Cutaneious Lymphomas.* Blood, 2000. **95**(7): p. 2212-8.

73. Barberio, E., et al., *Transformed mycosis fungoides: clinicopathological features and outcome.* Br J Dermatol, 2007. **157**(2): p. 284-9.

74. Benner, M.F., et al., *Prognostic factors in transformed mycosis fungoides: a retrospective analysis of 100 cases.* Blood, 2012. **119**(7): p. 1643-9.

75. Edinger, J.T., et al., *CD30 expression and proliferative fraction in nontransformed mycosis fungoides.* Am J Surg Pathol, 2009. **33**(12): p. 1860-8.

76. Nikolaou, V.A., et al., *Clinical characteristics and course of CD8+ cytotoxic variant of mycosis fungoides: a case series of seven patients.* Br J Dermatol, 2009. **161**(4): p. 826-30.

77. Hoppe, R.T., et al., *CD8-positive tumor-infiltrating lymphocytes influence the long-term survival of patients with mycosis fungoides.* J Am Acad Dermatol, 1995. **32**(3): p. 448-53.

78. Sugaya, M., et al., *Association of the numbers of CD163(+) cells in lesional skin and serum levels of soluble CD163 with disease progression of cutaneous T cell lymphoma.* J Dermatol Sci, 2012. **68**(1): p. 45-51.

79. Klemke, C.D., et al., *Follicular mycosis fungoides.* Br J Dermatol, 1999. **141**(1): p. 137-40.

80. van Doorn, R., E. Scheffer, and R. Willemze, *Follicular mycosis fungoides, a distinct disease entity with or without associated follicular mucinosis: a clinicopathologic and follow-up study of 51 patients.* Arch Dermatol, 2002. **138**(2): p. 191-8.

81. Hodak, E., et al., *New insights into folliculotropic mycosis fungoides (FMF): A single-center experience.* J Am Acad Dermatol, 2016. **75**(2): p. 347-55.

82. Tancrede-Bohin, E., et al., *Prognostic value of blood eosinophilia in primary cutaneous T-cell lymphomas.* Arch Dermatol, 2004. **140**(9): p. 1057-61.

83. Wasik, M.A., et al., *Increased serum concentration of the soluble interleukin-2 receptor in cutaneous T-cell lymphoma. Clinical and prognostic implications.* Arch Dermatol, 1996. **132**(1): p. 42-7.

84. Lindahl, L.M., et al., *Prognostic miRNA classifier in early-stage mycosis fungoides: development and validation in a Danish nationwide study.* Blood, 2018. **131**(7): p. 759-770.

85. Tensen, C.P. and M.H. Vermeer, *MicroRNA-155 potentiates tumour development in mycosis fungoides.* Br J Dermatol, 2017. **177**(3): p. 618-620.

86. Matsui, W.H., *Cancer stem cell signaling pathways.* Medicine (Baltimore), 2016. **95**(1 Suppl 1): p. S8-S19.

87. Netchiporouk, E., et al., *Deregulation in STAT signaling is important for cutaneous T-cell lymphoma (CTCL) pathogenesis and cancer progression.* Cell Cycle, 2014. **13**(21): p. 3331-5.

88. Gallardo, F., et al., *Notch1 Pathway Activation Results from the Epigenetic Abrogation of Notch-Related MicroRNAs in Mycosis Fungoides.* J Invest Dermatol, 2015. **135**(12): p. 3144-3152.

89. Jundt, F., et al., *Activated Notch1 signaling promotes tumor cell proliferation and survival in Hodgkin and anaplastic large cell lymphoma.* Blood, 2002. **99**(9): p. 3398-403.

90. Tohda, S. and N. Nara, *Expression of Notch1 and Jagged1 proteins in acute myeloid leukemia cells.* Leuk Lymphoma, 2001. **42**(3): p. 467-72.

91. Berger, C.L., et al., *Cutaneous T-cell lymphoma: malignant proliferation of T-regulatory cells.* Blood, 2005. **105**(4): p. 1640-7.

92. Devaud, C., P.K. Darcy, and M.H. Kershaw, *Foxp3 expression in T regulatory cells and other cell lineages.* Cancer Immunol Immunother, 2014. **63**(9): p. 869-76.

93. Triulzi, T., et al., *FOXP3 expression in tumor cells and implications for cancer progression.* J Cell Physiol, 2013. **228**(1): p. 30-5.

94. Zuo, T., et al., *FOXP3 is an X-linked breast cancer suppressor gene and an important repressor of the HER-2/ErbB2 oncogene.* Cell, 2007. **129**(7): p. 1275-86.

95. Allan, S.E., et al., *Activation-induced FOXP3 in human T effector cells does not suppress proliferation or cytokine production.* Int Immunol, 2007. **19**(4): p. 345-54.

96. Miyara, M., et al., *Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4+ T cells expressing the FoxP3 transcription factor.* Immunity, 2009. **30**(6): p. 899-911.

97. Alcantara-Hernandez, M., et al., *Overexpression of hypoxia-inducible factor 1 alpha impacts FoxP3 levels in mycosis fungoides--cutaneous T-cell lymphoma: clinical implications.* Int J Cancer, 2014. **134**(9): p. 2136-45.

98. Hallermann, C., C. Niermann, and H.J. Schulze, *Regulatory T-cell phenotype in association with large cell transformation of mycosis fungoides.* Eur J Haematol, 2007. **78**(3): p. 260-3.

99. Fried, I. and L. Cerroni, *FOXP3 in sequential biopsies of progressive mycosis fungoides.* Am J Dermatopathol, 2012. **34**(3): p. 263-5.

100. Warren, S., et al., *Unrelated immunodeficiency states may impact outcomes and immune checkpoint molecule expression in patients with mycosis fungoides: A clinicopathologic case-control study.* J Am Acad Dermatol, 2018. **78**(3): p. 530-539.

101. Shareef, M.M., L.H. Elgarhy, and S. Wasfy Rel, *Expression of Granulysin and FOXP3 in Cutaneous T Cell Lymphoma and Sezary Syndrome.* Asian Pac J Cancer Prev, 2015. **16**(13): p. 5359-64.

102. Zhang, Q.A., et al., *The number of regular T cells and immature dendritic cells involved in mycosis fungoides is linked to the tumor stage.* Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2014. **18**(4): p. 553-8.

103. Tiemessen, M.M., et al., *Lack of suppressive CD4+CD25+FOXP3+ T cells in advanced stages of primary cutaneous T-cell lymphoma.* J Invest Dermatol, 2006. **126**(10): p. 2217-23.

104. Klemke, C.D., et al., *Paucity of FOXP3+ cells in skin and peripheral blood distinguishes Sezary syndrome from other cutaneous T-cell lymphomas.* Leukemia, 2006. **20**(6): p. 1123-9.

105. Wada, D.A., et al., *Paucity of intraepidermal FoxP3-positive T cells in cutaneous T-cell lymphoma in contrast with spongiotic and lichenoid dermatitis.* J Cutan Pathol, 2010. **37**(5): p. 535-41.

106. Rubio Gonzalez, B., et al., *Tumor microenvironment in mycosis fungoides and Sezary syndrome.* Curr Opin Oncol, 2016. **28**(1): p. 88-96.

107. Witkiewicz, A., et al., *Loss of SHP-1 tyrosine phosphatase expression correlates with the advanced stages of cutaneous T-cell lymphoma.* Hum Pathol, 2007. **38**(3): p. 462-7.

108. Perez, C., et al., *Advanced-stage mycosis fungoides: role of the signal transducer and activator of transcription 3, nuclear factor-kappaB and nuclear factor of activated T cells pathways.* Br J Dermatol, 2020. **182**(1): p. 147-155.

109. Martinez-Escala, M.E., et al., *CD8(+) mycosis fungoides: A low-grade lymphoproliferative disorder.* J Am Acad Dermatol, 2017. **77**(3): p. 489-496.

110. van der Fits, L., et al., *NOTCH1 signaling as a therapeutic target in Sezary syndrome.* J Invest Dermatol, 2012. **132**(12): p. 2810-7.

111. Kamstrup, M.R., et al., *Chemotherapeutic treatment is associated with Notch1 induction in cutaneous T-cell lymphoma.* Leuk Lymphoma, 2017. **58**(1): p. 171-178.

112. Fujimura, T., et al., *Profiles of Foxp3+ regulatory T cells in eczematous dermatitis, psoriasis vulgaris and mycosis fungoides.* Br J Dermatol, 2008. **158**(6): p. 1256-63.

113. Solomon, G.J. and C.M. Magro, *Foxp3 expression in cutaneous T-cell lymphocytic infiltrates.* J Cutan Pathol, 2008. **35**(11): p. 1032-9.

114. Hanafusa, T., et al., *Increased frequency of skin-infiltrating FoxP3+ regulatory T cells as a diagnostic indicator of severe atopic dermatitis from cutaneous T cell lymphoma.* Clin Exp Immunol, 2013. **172**(3): p. 507-12.

115. Kasprzycka, M., et al., *Gamma c-signaling cytokines induce a regulatory T cell phenotype in malignant CD4+ T lymphocytes.* J Immunol, 2008. **181**(4): p. 2506-12.

116. Satou, A., et al., *FoxP3-positive T cell lymphoma arising in non-HTLV1 carrier: clinicopathological analysis of 11 cases of PTCL-NOS and 2 cases of mycosis fungoides.* Histopathology, 2016. **68**(7): p. 1099-108.

117. Banham, A.H., et al., *Is FOXP3 expressed in cutaneous T-cell lymphomas?* Eur J Haematol, 2008. **80**(1): p. 90-1.

118. Heid, J.B., et al., *FOXP3+CD25- tumor cells with regulatory function in Sezary syndrome.* J Invest Dermatol, 2009. **129**(12): p. 2875-85.

119. Wada, D.A., et al., *CD4(+)CD25(+)FOXP3(+) malignant T cells in Sezary syndrome are not necessarily functional regulatory T cells.* J Am Acad Dermatol, 2013. **69**(3): p. 485-9.

120. Krejsgaard, T., et al., *Malignant Tregs express low molecular splice forms of FOXP3 in Sezary syndrome.* Leukemia, 2008. **22**(12): p. 2230-9.

121. Capriotti, E., et al., *Expression of T-plastin, FoxP3 and other tumor-associated markers by leukemic T-cells of cutaneous T-cell lymphoma.* Leuk Lymphoma, 2008. **49**(6): p. 1190-201.

122. Marzano, A.V., et al., *Primary cutaneous T-cell lymphoma expressing FOXP3: a case report supporting the existence of malignancies of regulatory T cells.* J Am Acad Dermatol, 2009. **61**(2): p. 348-55.

123. Yamamoto, M., et al., *Comprehensive analysis of FOXP3 mRNA expression in leukemia and transformed cell lines.* Leuk Res, 2008. **32**(4): p. 651-8.

124. Johnson, V.E., et al., *Genetic markers associated with progression in early mycosis fungoides.* J Eur Acad Dermatol Venereol, 2014. **28**(11): p. 1431-5.