

Mikozis fungoidesli Olgularda Tedavi Öncesi ve Sonrası Biyopsilerde İmmunhistokimyasal CD4, CD8 ve Matriks Metalloproteinaz-9 (MMP-9) Ekspresyonunun Değerlendirilmesi

Immunohistochemical Evaluation of CD4, CD8 and Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9) Expressions in Biopsies Before and After Treatment of Mycosis Fungoides Patients

¹Yeliz Uçar Tavlı, ²Hacı Hasan Esen, ³İnci Mevlütoğlu

¹Milas Devlet Hastanesi Dermatoloji Kliniği, Muğla

²Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Konya

³Istanbul Medikal Park Göztepe Hastanesi Dermatoloji Bölümü, İstanbul

Özet

CD4/CD8 T lenfosit oranının mikozis fungoides (MF) hastalarında yükseldiği birçok çalışmada belirtilmektedir. Dokudaki matriks metalloproteinaz (MMP) düzeyindeki yükseklik ve tümör yayılımı arasında paralel bir ilişki olduğu bildirilmektedir. Bu çalışmada, tedavi öncesi ve sonrasında MF hastalarının CD4, CD8 ve tümöral invazyonun göstergesi olan MMP-9 düzeylerindeki değişiklikleri değerlendirmek amaçlanmıştır. Çalışmaya Selçuk Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı'nda biyopsileri örnekleri alınarak plak evresinde patolojik MF tanısı konulan 32 hasta ile nonspesifik kronik dermatoz olarak tanı alan 10 kontrol hastası dahil edildi. MF tanılı hastaların tümüne 3 ay süreyle fototerapi uygulandı ve 3 ay sonunda kontrol biyopsileri alındı. Yirmi hastada MF lehine bulgu saptanmazken 12 hastada patolojik olarak MF ile uyumlu bulgular saptandı. Histopatolojik inceleme için Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı'nda yeterli sayıda kesitler alınarak kontrol grupları yanı sıra tedavi öncesi ve tedavi sonrası MF'li hasta gruplarına CD4, CD8 ve MMP-9 immunohistokimyasal boyamalar uygulandı. Çalışmada tedaviden fayda görmeyenlerde epitel altı CD4/CD8 değerleri ile epitel içi MMP-9'un anlamlı yüksek olduğu gözlemlendi. Tedaviden fayda görenlerde epitel içi ve altı CD4/CD8 değerleri ile epitel altı MMP-9 değeri tedavi sonrasında anlamlı düşük tespit edildi. MF hastalarında kontrol grubuna göre CD4/CD8 ve MMP-9 düzeyleri anlamlı yüksek bulundu ve tedaviden fayda gören olgularda bu oranlarda düşme gözlemlendi. Tüm bulgular ışığında çalışmanın literatür bilgileriyle paralellik gösteren sonuçlar içerdiği gözlemlendi.

Anahtar kelimeler: Mikozis fungoides, CD4, CD8, MMP-9

Abstract

Several studies reported increased CD4/CD8 ratio in patients with mycosis fungoides (MF). A parallel relationship was indicated between tumor progression and elevated matrix metalloproteinase (MMP) levels. The aim of this study was to evaluate levels of CD4, CD8 and MMP-9, which is an indicator of tumoral invasion, in before and after treatment of MF patients. A total of 10 control patients and 32 patients with plaque stage MF pathologically diagnosed as nonspecific chronic dermatosis were included. Biopsies were taken at the Department of Dermatology, Meram Faculty of Medicine, Selçuk University. Phototherapy was performed for 3 months on all patients diagnosed with MF and control biopsies were taken at the end of 3 months. In 20 patients, there were no findings in favor of MF was diagnosed. MF pathological findings were observed in the other 12 patients. For histopathological examination, sections were taken from a sufficient number of control groups and as well as groups of MF patients before and after treatment. CD4, CD8 and MMP-9 immunohistochemical staining was performed at the Department of Pathology, Meram Faculty of Medicine. Intraepithelial MMP-9 and subepithelial CD4/CD8 values were found to be significantly higher in MFA patients having no benefit from the treatment. It was determined that subepithelial MMP-9, intraepithelial and subepithelial CD4/CD8 values were significantly lower after treatment in the MF patients who had benefit for the treatment. Comparing with the controls, CD4/CD8 and MMP 9 levels were significantly higher in MF patients, and these levels were observed to be decreased in patients who respond well to treatment. Findings of this study were concordant with literature.

Key words: Mycosis fungoides, CD4, CD8, MMP-9

GİRİŞ

Mikozis fungoides (MF), kutanöz T hücreli lenfomalar (KTHL) içinde en sık görülen tiptir. Daha çok erişkin ve yaşlılarda görülür. Çeşitli evreleri vardır. Erken lezyonlar kalça ve güneşten korunan bölgelerde ortaya çıkar. Histopatolojik incelemenin MF tanısında önemli bir yeri vardır; hastalığın histolojisi küçük serebriform pleomorfik hücrelerle karakterli olup ileri evre MF olgularında tanıda büyük bir zorluk yaşamamakla birlikte erken yama ve plak evrelerinde çeşitli dermatozlarla karışabilen klinik ve patolojik bulgular vermesi nedeniyle tanıda zorluk vardır

(2,3). Hastalığın ilerlemesiyle büyük hücre profiline transformasyon (immunoblast, büyük anaplastik hücreler, büyük pleomorfik hücreler) kötü prognozun göstergesidir. Birçok olguda immunohistoloji T-helper fenotipini (CD3+, CD4+, CD45RO+, CD8-,45RA-) gösterir (2,4). Hastalık henüz erken evrede iken tanı konması, hastalığın takip ve tedavisi yanı sıra kişinin yaşam süresini etkileyen bir faktör olarak önem taşımaktadır. MF'de daha çok epidermotropizm gösteren, dermal infiltratta da izlenebilen hastalığın ilerlemesiyle kan ve lenfoid dokulara da yayılan CD4/CD8 lenfositler bulunmaktadır (5). CD4/CD8 oranının hastalığın

ilerlemesinde ve prognozda belirleyici olduğu ifade edilmekle birlikte bu konuda yapılmış pek fazla araştırma bulunmamaktadır. Yapılan birçok çalışmada CD4/CD8 oranının yüksekliği kötü prognoz göstergesi olarak gösterilmiştir (6). Matris metalloproteinazların (MMP) tümör yayılımı ve agresivitesinde önemli rol oynadıkları, kötü prognoz göstergesi oldukları farklı malignite tiplerinde yapılan araştırmalarla gösterilmiş olmasına rağmen MF'li hastalarla ilgili yapılan bu tip bir çalışmaya rastlanmamıştır (7). Bu çalışmada, MF olgularında tedavi öncesi ve sonrasında epitel içi ve altında CD4/CD8 ile MMP-9 düzeyleri değerlendirilmiş ve literatür bilgileriyle karşılaştırılmıştır. CD4/CD8 ve MMP-9'un fonksiyonel işlevleri dikkate alındığında elde edilecek sonuçlar patolojik incelemelerde rutin işlem haline getirilerek yaygın bir şekilde kullanılabilir ve MF'in erken tanı ve tedavisine katkı sağlayabilir. Ayrıca kişinin tedaviden fayda görüp görmediği veya ne ölçüde fayda gördüğü takip edilebilir. CD4/CD8 ve MMP-9'un birlikte değerlendirilmiş olmasının ise çalışmanın güvenilirliğini pekiştirmek açısından yararlı olacağı düşünülmüştür.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya 01.01.2008-01.06.2010 tarihleri arasında Selçuk Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı'nda biyopsileri alınan 32 plak evresinde MF hastası ve non spesifik dermatoz tanısı alan 10 hasta kontrol olarak alındı. Hastalardan alınan biyopsiler Selçuk Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı'nda incelendi. Mikozis fungoides tanılı hastaların tümüne 3 ay süreyle dar bant UVB fototerapi uygulandı ve 3 ay sonunda kontrol biyopsileri alındı. MF tanılı 32 hastanın tedavi öncesi ve sonrası olmak üzere toplamda 64 adet biyopsileri, kontrol grubunun ise toplamda 10 adet biyopsileri incelendi. Bu olguların parafin bloklarından immunhistokimyasal (İHK) CD4, CD8 ve MMP-9 boyamaları uygulamak üzere lizinli lamlara kesitler alındı. İHK boyama işlemleri tamamlanan dokular ışık mikroskopunda değerlendirmeye hazır hale geldi. Tüm olguların birer adet Hematoksilin-Eozin ve üçer adet de İHK boyamalara ait preparatları Olympus BX51 marka ışık mikroskopunda değerlendirildi. İHK lamaları mikroskopun X40'luk objektif büyütmesinde hem epitel içinde hem de epitel altında pozitif boyanan hücre sayıları ayrı ayrı not edilerek değerlendirildi.

Elde edilen veriler bilgisayar ortamına aktararak SPSS 17.0 paket programı yardımıyla analiz edildi. Verilerin özetlenmesinde frekans (sayı), yüzde (%), aritmetik ortalama±standart sapma (X±SS) kullanıldı. Kategorik verilerin dağılımının karşılaştırılması ki-kare (χ^2) testi ile yapıldı. Sürekli sayısal verilerin normal dağılıma uygunluğu, "bir örnek Kolmogorov-Smirnov testi" ve "varyasyon katsayısı" birlikte değerlendirilerek belirlendi. Sürekli sayısal verilerden normal dağılıma uyan parametrelerin iki grup yönünden karşılaştırılması "bağımsız gruplarda Student - t testi" ile, normal dağılıma uymayan parametrelerin karşılaştırılması ise "Mann-Whitney U testi" ile gerçekleştirildi. Normal dağılıma uymayan parametrelerin bir gruptaki tedavi öncesi (TÖ) ve tedavi sonrası (TS) değerlerinin karşılaştırılmasında Wilcoxon İşaretili Sıra testi kullanıldı. Tüm analizlerde, p<0.05 farkın istatistiksel olarak önemli olduğu kabul edildi.

BULGULAR

Bu çalışmada, 10 kontrol ve 32 MF hastası alındı. Kontrol grubunda

Tablo 1. MF ve kontrol gruplarında cinsiyet karşılaştırması

Gruplar	Kadın		Erkek		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
MF	17	53.1	15	46.9	32	100.0
Kontrol	5	50.0	5	50.0	10	100.0

5 (%50) erkek, 5 (%50) kadın hasta, MF grubunda ise 17 kadın (%53.1) ve 15 (%46.9) erkek hasta bulunmaktaydı (Tablo 1). Hastaların yaşları 21 ile 68 yıl arasında değişiyordu. Olguların yaş ortalaması kontrol grubunda 41.70±8.654, MF grubunda ise 43.0±12,06 idi (Tablo 2). Kontrol grubu olguların tamamında alınan biyopsiler patolojik olarak nonspesifik dermatoz olarak yorumlandı.

Hasta ve kontrol grubunda yaş ve cinsiyet yönünden anlamlı bir fark saptanmadı (p>0.05). MF olgularında hem tedavi öncesi hem de tedavi sonrası epitel içi CD4/CD8 oranı, MMP-9 sayısı, epitel altı CD4/CD8 oranı, MMP-9 sayısına bakılırken, kontrol grubunda sadece CD4/CD8 oranı, MMP-9 sayılarına bakıldı. Tedavi öncesi MF grubu ve kontrol grubu epitel içi MMP-9 ve CD4/CD8 oranları arasında anlamlı fark saptandı (p<0.05). MF olgularında değerler daha yüksek olarak bulundu. Epitel altı CD4/CD8 oranına bakıldığında MF grubunda değer daha yüksek olmasına rağmen, istatistiki olarak anlamlı değildi, MMP-9 düzeyi MF grubunda anlamlı derecede yüksekti. (p<0.05; Tablo 3).

Tedaviden fayda gören olgularda tedavi öncesinde epitel içi MMP-9 düzeyleri fayda görmeyen olgularda daha yüksek bulundu. CD4/CD8 düzeyi fayda gören olgularda rakamsal olarak daha yüksekti fakat istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0.05). Epitel altında ise MMP-9 ve CD4/CD8 düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmadı (p>0.05; Tablo 4)

Tedaviden fayda gören olgularda tedavi sonrasında epitel içi CD4/CD8 oranı fayda görmeyen olgularda daha yüksek bulundu, ancak MMP-9 düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmadı (p>0.05). Epitel altı değerlerinde ise tedavi sonrasında, CD4/CD8 oranı arasında istatistiki olarak anlamlı fark bulunmazken, tedaviden fayda görmeyen olgularda MMP-9 düzeyi daha yüksek bulundu (Tablo 5).

Tedaviden fayda gören olgularda, uygulanan tedavi sonucu epitel içindeki CD4/CD8 oranının anlamlı derecede azaldığı görülürken, MMP-9 miktarında ise her ne kadar bir azalma gözlenirse de, bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi. Epitel altındaki değerlere bakıldığında; hem CD4/CD8 oranının hem de MMP-9 miktarında istatistiksel olarak bir azalma gözlenmedi (Tablo 6).

Tedaviden fayda görmeyen olgularda, uygulanan tedavi sonucu epitel içindeki CD4/CD8 oranındaki azalma istatistiki olarak anlamlı değilken, MMP-9 miktarında azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Epitel altındaki değerlere bakıldığında; epitel içi değerlerin tam tersi bir durum görülmektedir. CD4/CD8 oranında istatistiki olarak anlamlı bir azalma gözlenirken, MMP-9 miktarında ise istatistiksel olarak bir anlamlı azalma gözlenmedi (Tablo 7).

TARTIŞMA

KTHL deride yerleşmiş olan başlıca CD3+CD4+ T-hücre fenotipinde nonhodgkin lenfoma grubundandır (5). MF, hastalığın

Tablo 2. MF ve kontrol gruplarında yaş ortalaması, SS, minimum ve maksimum değerleri

Gruplar	Ortalama yaş	Standart sapma (±SS)	Minimum değer	Maksimum değer
MF	43.00	12.72	21	68
Kontrol	41.00	8.12	29	56

Tablo 3. MF ve kontrol grubunun tedavi öncesi epitel içi ve epitel altı CD4/CD8 ve MMP-9 düzeyleri (ortama±SS)

	MF (Tedavi öncesi)	Kontrol	P değeri
Epitel içi CD4/CD8	4.61±3.12	0.55±1.25	<0.05*
Epitel içi MMP-9	23.69±10.69	4.90±2.64	<0.05*
Epitel altı CD4/CD8	2.89±1.5665	1.84±1.1621	0.740
Epitel altı MMP-9	137.63±55.425	32.40±21.141	<0.05*

*P<0.05 anlamlı

erken dönemlerinde kabuklu eritematöz yama şeklinde lezyonlar ve plaklarla karakterli KTHL'lar içinde en sık görülen tiptir (8). Klinik seyir iyi olmakla birlikte bazı hastalarda tümör evresine ilerler, bu durumda klinik gidiş daha kötüdür. Biyolojik davranıştaki farklılığın altında yatan patofizyolojik mekanizma büyük ölçüde bilinmemektedir. Bununla birlikte birçok ilerlemiş MF olgusunda immunomodülatör terapilerin yararlı olması, tümör-spesifik immün cevabın rolünü ortaya koymaktadır. *In vitro* çalışmalar MF'deki malign hücrelerin salgıladıkları tümör-spesifik antijenlerin CD8+ T'nin otoğu olduğunu göstermiştir (9,10). Tüm bu bilgiler ışığında değerlendirme yapılacak olursa KTHL'larda antitümör immün evrelerde CD8+ T'nin oynadıkları kritik rolü görebiliriz. KTHL'ların değişik evrelerinde CD8+ T'nin sayısı ve immunofenotipi ile alakalı çok az sayıda çalışma olduğundan klinik davranışlarla ilgili çelişkili sonuçlar ortaya konmaktadır (11,12).

Femiano ve ark. MF lezyonlarındaki T hücrelerinin T helper1 (TH1) sitokin (IL-2 ve interferon- γ) profilinde olduğunu belirtmişlerdir (13). MF'de CD4+ T lenfositlerin hemen yanı başında non-neoplastik CD8+ T hücreleri görülür. Neoplastik lezyonlarda CD8+ hücrelerin yoğun olması yaşam süresinin daha uzun olmasına neden olur (12,14,15). MF'in erken evrelerinde lezyonlu deri yanı sıra lenf nodülleri ve periferik kanda da T hücre klonları görülebilir. Bu evrede ekstrakutanöz kompartmanda görülen bu hücreler deride görülenlerden farklıdır ve bunlar dolanan neoplastik hücrelerin aksine normal T-hücre popülasyonunun reaktif çoğalmasıyla karakterlidir (16).

Ortonne ve ark. MF'den şüphelenilen hastalarda yüksek CD4/CD8 lenfosit oranının histopatolojik tanı için kabul edilebilir fakat erken lezyonlarda morfolojik kriterler olmadığından tartışmalı olduğunu çünkü histiyositlerin de CD4 salgıladıklarını belirtmişlerdir. Bu durumda CD3/CD8 bakılmasının daha yararlı olduğu görüşü savunulmuştur (17). Bu bilgiler dikkate alındığında CD4/CD8 ve matris metalloproteinazların birlikte değerlendirilmiş olması çalışmayı daha sağlam temellere oturtmaktadır ve literatür taramalarında daha önce yapılmış böyle bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmada CD8/CD3 oranı özellikle epidermal infiltratta dermale göre tanısız destek açısından daha anlamlı ve güvenilir bulunmuştur (17). Bu çalışmada, tedaviden fayda gören ve görmeyen olguların tedavi öncesi sonuçları karşılaştırıldığında epitel içi ve altındaki CD4/CD8 oranı anlamlı bulunmamıştır. Ancak, MF'li hasta grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında epitel içi CD4/CD8 oranı MF grubunda anlamlı yüksek çıkmıştır. Buna karşılık epitel altı dokuda bu oran anlamlı bulunmamıştır. Bu sonuçlar, Ortonne ve arkadaşlarının

yaptıkları çalışmayla uyumluluk içermektedir. Tedavi sonrası tedaviden fayda gören ve görmeyen olguların karşılaştırılmasında epitel içi CD4/CD8 oranı anlamlı yüksek çıkarken epitel altında bu oran anlamlı bulunmamıştır. Elde edilen bu sonuçlar da literatür bilgileriyle uyumlu olup, MF lezyonlarında neoplastik hücrelerin epidermotropizm göstermesi ile alakalı olabilir. Bu çalışmanın Ortonne ve ark.'nın (17) yaptıkları çalışmayla benzer yanları bulunsun da daha farklı ve ayrıntılı parametreler içermektedir, elde edilen sonuçlara birbirini destekler niteliktedir (17).

MF tanısında CD4/CD8 oranının tanısız değerini belirlemek için daha önce yapılmış olan bazı çalışmalarda ise sonuçlar tartışmalı bulunmuştur. Bergman ve ark. 1998 yılında yaptıkları bir çalışmanın sonucunda MF, non-MF ve tanısız şüpheli hastalarda CD8+ hücrelerinin oranlarında (%) bir farklılık bulamamışlardır (17,18). Nuckols ve ark.'nın çalışmalarında MF lezyonlarının %65'inde CD4/CD8 oranı >2 olarak bulunmuş ve bunun MF tanısı için spesifik olduğuna karar verilmiştir (17,19).

Maarten ve ark. (20) CD8+T'lerin herhangi bir evresinde CTL'de oransal bir farklılık olmadığını ve hücre sayısındaki artışın sürvi üzerine olumlu etkisi olduğunu, eksikliğini ise kötü prognoz göstergesi olduğunu belirlemişlerdir (20). Benzer bir sonucu Hoppe ve ark. da yaptıkları bir çalışmada elde etmişlerdir (12). Fakat Vonderheid ve ark. (11) yaptıkları bir çalışmada farklı sonuçlar ortaya koymuştur. CD8+ CTL yüzdelere MF'li hastalarda yama plak ve tümör evrelerinde oransal olarak düşme gösterdiğini saptanmış, ancak bu farklılığın sürvi ile ilişkili olmadığı sonucuna varmışlardır (11). Bu konuyla ilgili yapılmış az sayıda çalışma bulunmaktadır.

Herrera ve ark. iyi klinik seyir izleyen hastalarda, plak evresinde ve boyutları 1-3 cm arasında değişen nodüllerle karakterli stabil lezyonları olan hastalarda CD4+ T lenfositlerin değişen oranlarda bulunduğunu birkaç hastada ise tamamen ortadan kalktığını buna ilaveten CD8+ lenfositlerin infiltrasyonunun yoğun olduğunu göstermişlerdir. Buna karşılık saldırgan bir ilerleyişle karakterli hastalarda, tümör nodüllerinin 5 cm ya da üzerinde ve hızlı büyüyen kitleler şeklinde olduğunu ve bu kişilerde az sayıda CD8+ T lenfosit varlığını saptamışlardır (21). CD8+ T lenfositler ortamda ne kadar az ise tümör ilerleyişi o kadar hızlı sürvi aynı oranda kısa ve tedaviye cevap o kadar kötüdür (22,23).

Nuckols ve ark. MF ve inflamatuvar dermatozlarda epidermal CD4/CD8 hücre oranlarını araştırmışlar, MF'li hastalarda bu oran oldukça yüksek (4.0±4.76), inflamatuvar dermatozlarda ise daha

Tablo 4. Tedaviden fayda gören olgular ile fayda görmeyen olguların tedavi öncesi epitel içi ve epitel altı CD4/CD8 ve MMP-9 düzeyleri (ortama±SS)

MF hastaları (n=32)	Fayda görenler (n=20)	Fayda görmeyenler (n=12)	P değeri
Epitel içi CD4/CD8	5.24±3.5696	3.57±1.8821	0.239
Epitel içi MMP-9	18.20± 8.377	32.83±7.433	<0.05*
Epitel altı CD4/CD8	2.81±1.8113	3.03±1.1035	0.209
Epitel altı MMP-9	133.70± 65.054	144.17±35.675	0.239

*P<0.05 anlamlı

Tablo 5. Tedaviden fayda gören olgular ile fayda görmeyen olguların tedavi sonrası epitel içi CD4/CD8 ve MMP-9 düzeyleri (ortama±SS)

MF hastaları (n=32)	Fayda görenler (n=20)	Fayda görmeyenler (n=12)	P değeri
Epitel içi CD4/CD8	1.75±1.7468	1.83±1.8299	0.012*
Epitel içi MMP-9	15.60±7.708	13.58±5.567	0.604
Epitel altı CD4/CD8	1.17±1.1772	0.69±0.6953	0.195
Epitel altı MMP-9	14.39±14.391	25.62±25.627	<0.05*

*P<0.05 anlamlı

düşük (0.6±0.42; p=0.001) saptanmıştır. Sonuçta parafin kesitlerde bu oranın yüksek olmasının MF tanısında histopatolojik yardımcı bir faktör olduğunu belirtmişlerdir (24).

Bu çalışmada görüldüğü gibi kronik dermatozlar, MF hastaları ayrıca tedaviden fayda gören ve görmeyen hastalarda epidermis ve dermiste elde edilen CD4/CD8 oranları anlamlı sonuçlar içermekte ve literatür bilgilerini destekler niteliktedir.

Matriks metalloproteinazlar (MMP) 23 adet birbiriyle yapısal olarak ilişkili çinko-bağımlı nötral proteazlar multigen ailesindedir. Ekstrasellüler matriks komponentleri ile bazal membran proteinlerini parçalama özellikleri vardır (25). MMP'lar mezenşimal hücreler, makrofajlar, keratinositler ve diğer epitelyal hücreler, T lenfositler, endotel hücreleri, hematopoetik hücreler ve farklı tümör hücre tiplerinden ve mast hücreleri gibi birçok hücreler tarafından salgılanırlar (26). MMP'lar ayrıca kansere ait stromal malign hücreler tarafından da salgılanırlar, kanser invazyonu ve metastaz oluşumundaki rolleri önem taşımaktadır (27). MMP-9 farklı malignitelerde kötü klinik gidişin göstergesidir, tümörün hızlı büyümesi, yayılması ve anjiogeneziste önemli rol oynar (28).

Singh ve ark., MMP'lar (MMP-2, MMP-9) ve doku inhibitörlerini (TIMP-1, TIMP-2) oral skuamöz hücreli karsinomların farklı stajelerinde kanda ELISA yöntemiyle, dokuda ise immunohistokimyasal olarak araştırmışlar ve kontrol grubu ile karşılaştırmışlardır. Tümör diferansiyasyonu ayrıca stage'i ile MMP'lar ve doku inhibitörlerinin pozitif bir korelasyon gösterdiğini tespit etmişler ve bu parametrelerin kullanımının klinik açıdan çok belirleyici olacağını vurgulamışlardır (29). Bir grup gastrik kanser olgusunda MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9, TIMP-1 ve TIMP-2'yi immunohistokimyasal olarak irdelemiş ve kontrol grubuna göre yüksek bulmuşlardır. Ayrıca patolojik tanıda kullanılmalarının yararlı olabileceği belirtilmiştir (30). Literatür taramalarında MMP'ların farklı birçok tümör tiplerinde çalışıldığı görülmekle birlikte MF'li hastalar ve MMP'ların ilişkisine dair çok az sayıda çalışma bulunmaktadır.

Kutanöz MF'li hastalarda tümör ilerleyişini sağlayan faktörler tam olarak aydınlanmasa da salgılanan MMP-9'un ekstrasellüler matriksi parçalaması ve anjiogenezisteki rolünün etkili olduğu belirtilmektedir (31). Hoda ve ark. MF olgularında epidermis ve dermisin tümü dikkate alındığında, MMP-9 ekspresyonunu kontrol gurubuna göre yine benzer şekilde tümör evresinde yama evresine göre oldukça yüksek tespit etmiştir. Hastalığın klinik ilerleyişi ile deri lezyonundaki MMP-9 ekspresyonu arasında ise anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (32).

Bu çalışmada olgu ve kontrol grupları karşılaştırıldığında hem epitel içi hem de epitel altı kompartmanda MMP-9'un MF'li grupta anlamlı bir şekilde yüksek olduğu ve literatür bilgileriyle uyuşan bir tablo sergilediği görülmektedir. Çalışmada farklı olarak tedavi öncesi; tedaviden fayda gören ve görmeyenlerin epitel içi ve epitel altı MMP-9 değerleri belirlenerek karşılaştırılmış olup; tedaviden fayda görmeyenlerde epitel içi değerler anlamlı yüksek bulunurken iki grup arasındaki epitel altı değerler anlamlı bir farklılık göstermemiştir. Tedavi sonrası; tedaviden fayda gören ve görmeyen gruplar karşılaştırıldığında epitel içi MMP-9 oranlarında anlamlı bir ilişki bulunmamış buna karşılık epitel altı değerler tedavi sonrası tedaviden fayda görmeyenlerde anlamlı yüksek bulunmuştur. Bu durum tedavi öncesi epitel içi yüksek MMP-9 bulunduran hastaların tedavi sonrasında MMP-9 oranlarının epitel içi kompartmanda düşüğünü göstermekte yani tedavinin bu alanda etkili olduğunu düşündürmektedir. Yine de tedavi sonrasında tedaviden fayda görmeyen hasta grubunda epitel altı MMP-9 oranının tedaviden fayda görenlere oranla yüksek olduğu görülmektedir. Tedaviden fayda gören grup; kendi içinde tedavi öncesi ve sonrası değerler açısından karşılaştırıldığında tedavi sonucunda literatürle uyumlu bir şekilde epitel içi ve altı CD4/CD8 oranlarında anlamlı bir düşüş gösterirken MMP-9 epitel içi alanda anlamsız epitel altında ise yine literatür bilgilerine paralel olarak tedavi sonrasında anlamlı düşüş göstermiştir. Tedaviden fayda görmeyenleri kendi içinde tedavi öncesi ve sonrası değerler açısından incelersek CD4/CD8 oranları epitel içinde anlamsız bulunurken epitel altında yine literatürle uyumlu olarak tedavi sonrasında anlamlı düşük bulunmuştur. MMP-9 ise epitel içi alanda tedavi sonrası beklenildiği gibi düşük bulunmuş olup epitel altında anlamlı bir farklılık göstermemiştir. Bu konuda yapılmış yeterli çalışma mevcut değildir ve konunun daha ayrıntılı izahı için konuyla ilgili farklı parametreler içeren çok sayıda araştırma yapılmasına ihtiyaç bulunmaktadır.

Tablo 6. Tedaviden fayda gören olgularda tedavi öncesi ve sonrası epitel içi ve altı CD4/CD8 oranı ve MMP-9 düzeyleri (ortama±SS)

Fayda Görenler (n=20)	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	P değeri
Epitel içi CD4/CD8	5.245±3.5696	1.417±1.7468	<0.05*
Epitel içi MMP-9	18.20±8.377	15.60±7.708	0.232
Epitel altı CD4/CD8	2.817±1.8113	1.389±1.1772	<0.05*
Epitel altı MMP-9	133.70±65.054	32.60±14.391	<0.05*

*P<0.05 anlamlı

Tablo 7. Tedaviden fayda görmeyen olgularda tedavi öncesi ve sonrası epitel içi ve altı CD4/CD8 oranı ve MMP-9 düzeyleri (ortama±SS)

Fayda Görmeyenler (n=12)	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	P değeri
Epitel içi CD4/CD8	3.574±1.8821	3.034±1.8299	0.508
Epitel içi MMP-9	32.83±7.433	13.58±5.567	0.002*
Epitel altı CD4/CD8	3.029±1.1035	1.640±0.6953	0.010*
Epitel altı MMP-9	144.17±35.675	137.75±25.627	0.347

*P<0.05 anlamlı

KAYNAKLAR

1. Bagot M, Echchakir H, Mami-Chouaib F, et al. Isolation of tumor-specific cytotoxic CD4+ and CD4+CD8 dim+ T-cell clones infiltrating a cutaneous T-cell lymphoma. *Blood* 1998;11:4331-41.
2. Damandidou E, Cohen PR, Kurzrock R. Mycosis fungoides and Sezary syndrome. *Blood* 1996;88:2385-409.
3. Siegel RS, Pandolfino T, Guitart J, Rosen S, Kuzel TM. Primary cutaneous T-cell lymphomas: review and current concepts. *J Clin Oncol* 2000;18:2908-25.
4. Pandolfino T, Siegel RS, Kuzel TM, Rosen S, Guitart J. Primary cutaneous B-cell lymphomas: review and current concepts. *J Clin Oncol* 2000;18:2152-68.
5. Williemze R, Jaffe ES, Burg G, Cerroni L, Berti E. WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. *Blood*, 2005;105:3768-85.
6. Fung MA, Murphy M, Hoss DM, Grant-Kels JM. Practical evaluation and management of cutaneous lymphoma, *J Am Acad Dermatol* 2002;46:325-57.
7. Willemze R, Jaffe Es, Burg G, et al. EORTC classification for primary cutaneous lymphomas: a proposal from the Cutaneous Lymphoma Study Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer. *Blood* 1997;90:354-71.
8. Van Doorn R, Van Haselen CW, van Voorst-Vader PC, et al. Mycosis fungoides disease evolution and prognosis of 309 Dutch patients. *Arch Dermatol* 2000;136:504-10.
9. Berger CL, Wang N, Christensen I, et al. The immune response to class I-associated tumor-specific cutaneous T-cell lymphoma antigens. *J Invest Dermatol* 1996;107:392-7.
10. Echchakir H, Bagot M, Dorothee G, et al. Cutaneous T-cell lymphoma reactive CD4₊ cytotoxic T lymphocyte clones display a Th1 cytokine profile and use a fas-independent pathway for specific tumor cell lysis. *J Invest Dermatol* 2000;115:74-80.
11. Vonderheid EC, Tan E, Sobel EL, et al. Clinical implications of immunologic phenotyping in cutaneous T-cell lymphoma. *J Am Acad Dermatol* 1987;17:40-52.
12. Hoppe RT, Medeiros LJ, Warnke R, Wood GS. CD8-positive tumor-infiltrating lymphocytes influence the long-term survival of patients with mycosis fungoides. *J Am Acad Dermatol* 1995;32:448-53.
13. Weiss A. Structure and fonction of the T cell antigen receptor. *J Clin Invest.* 1990; 86(4):1015-22.
14. Smoller BR. Mycosis fungoides: what do/do not we know? *J Cutan Pathol* 2008;35:35-9.
15. Horst BA, Kasper R, LeBoit PE. CD4+, CD56+ mycosis fungoides: case report and review of the literature. *Am J Dermatopathol* 2009;31:74-6.
16. Duncan K, Heald P. Cutaneous T-cell lymphoma: centuries of controversy. *Semin Cutan Med Surg* 1998;17:133-40.
17. Ortonne N, Buyukbabani N, Delfau-Larue MH, Bagot M, Wechsler J. Value of the CD8-CD3 ratio for the diagnosis of mycosis fungoides. *Mod Pathol* 2003;16:857-62.
18. Bergman R, Faclieru D, Sahar D, et al. Immunophenotyping and T-cell receptor gamma gene rearrangement analysis as an adjunct to the histopathologic diagnosis of mycosis fungoides. *J Am Acad Dermatol* 1998;39:554-9.
19. Nuckols JD, Shea CR, Horenstein MG, Burchette JL, Prieto VG. Quantitation of intraepidermal T-cell subsets in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue helps in the diagnosis of mycosis fungoides. *J Cutan Pathol* 1999;26:169-75.
20. Vermeer MH, van Doorn R, Dukers D, et al. CD8 T Cells in cutaneous T-cell lymphoma: expression of cytotoxic proteins, Fas ligand, and killing inhibitory receptors and their relationship with clinical behavior. *J Clin Oncology* 2001;19:23:4322-9.
21. Herrera AG, Colomo L, Cimes M, et al. Primary cutaneous small/medium CD4 T-cell lymphomas: a heterogeneous group of tumors with different clinicopathologic features and outcome. *J Clin Oncol.* 2008;26:20:3364-71.
22. Feldman AL, Berthold F, Arceci RJ, et al. Clonal relationship between precursor T-lymphoblastic leukaemia/lymphoma and Langerhans-cell histiocytosis. *Lancet Oncol* 2005;6:435-7.
23. Bakels V, van Oostveen JW, Van der Putte SC, Meijer CJ, Willemze R. Immunophenotyping and gene rearrangement analysis provide additional criteria to differentiate between cutaneous T-cell lymphomas and pseudo-T-cell lymphomas. *Am J Pathol* 1997;150:1941-9.
24. Nuckols JD, Christopher RS, Marcelo GH, James LB, Victor GP. Quantitation of intraepidermal T-cell subsets in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue helps in the diagnosis of mycosis fungoides. *J Cutan Pathol* 1999;46:169-75.
25. Nagase H, Woessner JF. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999;274:21491-2.
26. Loukopoulos BA, Mungall RC, Staw JR, Thornton JR, Robinson WF. Matrix metalloproteinases-2 and -9 involvement in canine tumours. *Vet Pathol* 2003;40:382-94.
27. Ohtani H, Motohashi H, Sato H. Dual over-expression pattern of membrane-type metalloproteinase-1 in cancer and stromal cells in human gastrointestinal carcinoma revealed by insitu hybridization and immunoelectron microscopy. *Int J Cancer.* 1996;68:565-70.
28. Hartlapp I, Abe R, Saeed RW, et al. Fibrocytes induce an angiogenic phenotype in cultured endothelial cells and promote angiogenesis in vivo. *FASEB J* 2001;15:2215-24.
29. Ragini DS, Haridas N, Jayendra BP, et al. Matrix Metalloproteinases and their inhibitors: correlation with invasion and metastasis in oral cancer. *Ind J Clin Biochem* 2010;25(3):250-9.
30. Murraya GI, Duncanb ME, Arbucklea E, Melvinb WT, Fothergillb JE. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gastric cancer. *Cancer Gut* 1998;43:791-7
31. Vacca A, Moretti S, Ribatti D. Progression of mycosis fungoides in associated with changes in angiogenesis and expression of the matrix metalloproteinases 2 and 9. *Eur J Cancer* 1997;33:1685-92.
32. Gantcheva M, Lalova A, Broshilova V, Negenzova Z, Tsankov N. Vesicular mycosis fungoides. *J Dtsch Dermatol Ges* 2005;11:898-900.