

Vitiligo Tedavisinde Matriks Metalloproteinaz-2'nin Rolü

The Role of Matrix Metalloproteinase-2 in Vitiligo Treatment

Heybet Özkaya Çelik, Demet Yılmaz*, Damla Atacan, Fatma Eskioğlu, Murat Alper*

Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Deri ve Zührevi Hastalıklar Kliniği, Ankara, Türkiye

*Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji Kliniği, Ankara, Türkiye

Özet

Amaç: Vitiligo deride fonksiyonel melanosit kaybı neticesinde görülen, iyi sınırlı depigmente maküllerle karakterize akkiz bir hipomelanotik bozukluktur. Dar bant ultraviyole B (dbUVB) vitiligo tedavisinde kullanılmaktadır. Tedavi sürecinde dbUVB'nin immün yanıtın düzenlenmesi, melanosit proliferasyonu ve migrasyonu gibi mekanizmalarla etkili olduğu düşünülmektedir. Melanosit migrasyonuna matriks metalloproteinaz-2 (MMP-2) aktivasyonunu artırarak katkı sağladığı yönünde yayınlar mevcuttur. Biz çalışmamızda dbUVB tedavisi ile repigmentasyon sağladığımız vitiligo plaklarında tedavi öncesine göre MMP-2 seviyesinin artıp artmadığını, dolayısıyla vitiligo tedavisinde rolü olup olmadığını immünohistokimyasal olarak test etmek istedik.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamıza vitiligo tanısı alan, öncesinde tedavi almamış, herhangi bir sistemik hastalığı bulunmayan 23 erişkin hasta dahil edildi. Hastalara dbUVB tedavisi uygulandı. Tedavi öncesi vitiligo plağından alınan biyopsi materyali ile, aynı vitiligo plağının dbUVB tedavisi sonrası pigmente olan bölgesinden alınan biyopsi materyali MMP-2 tutulum şiddeti açısından immünohistokimyasal olarak incelendi.

Bulgular: Tedavi öncesi ve sonrasındaki MMP-2 antikor boyanma şiddetleri değerlendirildi ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Sonuç: Çalışma sonuçlarımız, MMP-2'nin dbUVB tedavisi ile artabildiği ve vitiligo repigmentasyon sürecinde etkin bir role sahip olabileceği yönündedir. (*Türkderm 2010; 44: 216-9*)

Anahtar Kelimeler: Vitiligo, dbUVB, MMP-2

Summary

Background and Design: Vitiligo is an acquired hypomelanotic disorder characterized by circumscribed depigmented macules in the skin resulting from the loss of functional melanocytes. Narrowband-ultraviolet B (NB-UVB) has been used in vitiligo treatment. Possible mechanisms by which NB-UVB induces repigmentation in vitiligo are: regulation of the immune response, melanocyte proliferation and melanocyte migration. In melanocyte migration, the efficacy of NB-UVB might derive from induction of metalloproteinase-2 (MMP-2). In our study, we aimed to test whether there would be an increase in MMP-2 levels by NB-UVB treatment.

Material and Method: Twenty-three adult vitiligo patients without any systemic disease and who have not received treatment previously were included in this study. The patients were treated with NB-UVB irradiation. Biopsy specimens taken from all patients before and after the treatment were compared in terms of MMP-2 immunoreactivity.

Results: There were statistically significant differences in MMP-2 immunostaining between the tissue specimens taken before and after the treatment.

Conclusion: Our study results suggest that the NB-UVB therapy can increase the MMP-2 activity, and MMP-2 may have an important role in vitiligo repigmentation process. (*Türkderm 2010; 44: 216-9*)

Key Words: Vitiligo, narrowband UVB, MMP-2

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Heybet Özkaya Çelik, Eriş Mah. Hava-Subay Lojmanı, A-14/10 Etimesgut, Ankara, Türkiye
E-posta: heybetozkayacelik@yahoo.com

Geliş Tarihi/Received: 21.04.2010 **Kabul Tarihi/Accepted:** 28.06.2010

*Türkderm-Deri Hastalıkları ve Frengi Arşivi Dergisi, Galenos Yayınevi tarafından basılmıştır.
Türkderm-Archives of the Turkish Dermatology and Venerology, published by Galenos Publishing.*

Giriş

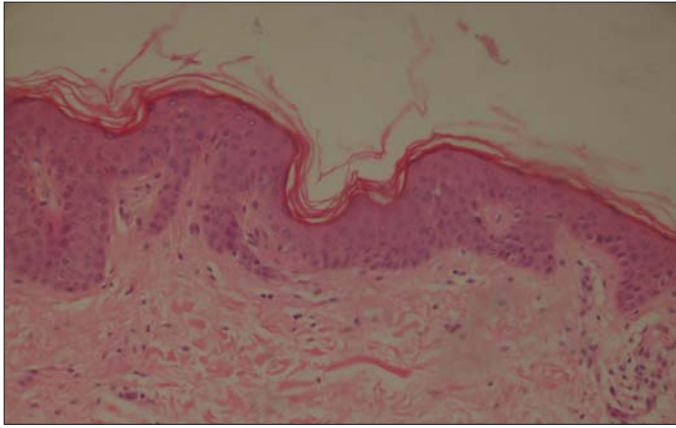
Vitiligo melanosit yıkımı ile seyreden, deride renk kaybı ile karakterize bir hastalıktır. Henüz etyopatogenezi tam olarak aydınlatılmamış ve tedavisinde istenen başarı oranı sağlanamamıştır¹. Son yıllarda dar bant UVB'nin vitiligo tedavisinde etkili olduğu üzerinde durulmaktadır².

Ekstrasellüler matris makromoleküllerinin yıkımı ve doku remodelizasyonunda önemli görevleri bulunan matris metalloproteinazlar (MMP), çinko ve kalsiyum bağımlı endopeptidazları içeren 26 proteinazdan oluşmuş geniş bir enzim ailesidir^{3,4,5}. MMP-2'nin melanoblastların depigmente bölgeye göçünde ekstrasellüler matris doku bariyerindeki makromoleküllerin yıkımı ve doku remodelizasyonu görevlerini üstlenerek melanositlere yol açtığı düşünülmektedir⁶.

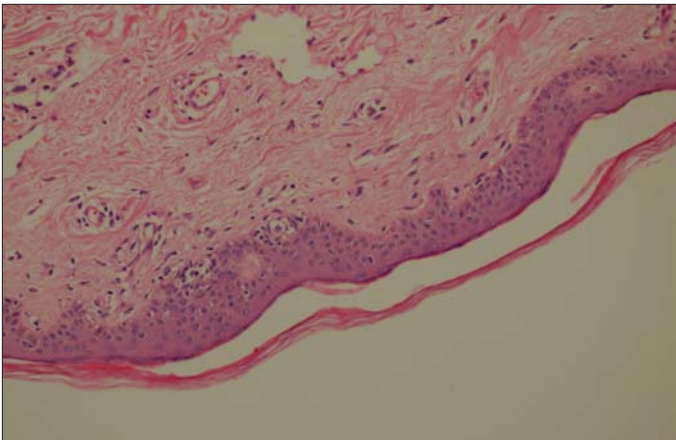
Çalışmamızda dbUVB tedavisi ile repigmente olan vitiligo plaklarında MMP-2'nin artıp artmadığını ve dolayısıyla vitiligo tedavisinde rolü olup olmadığını test etmek istedik.

Gereç ve Yöntem

Çalışmaya klinik ve histopatolojik olarak vitiligo tanısı konan, öncesinde vitiligoya yönelik tedavi almamış, herhangi bir sistemik hastalığı bulunmayan 23 erişkin hasta dahil edildi. Hasta seçiminde cinsiyet ve meslek ayrımı yapılmadı. Çalışmaya



Şekil 1. H&Ex200. Tedavi öncesi H&E boyalı preparat - 4. hasta



Şekil 2. H&E X200. Tedavi sonrası H&E boyalı preparat- 4. hasta

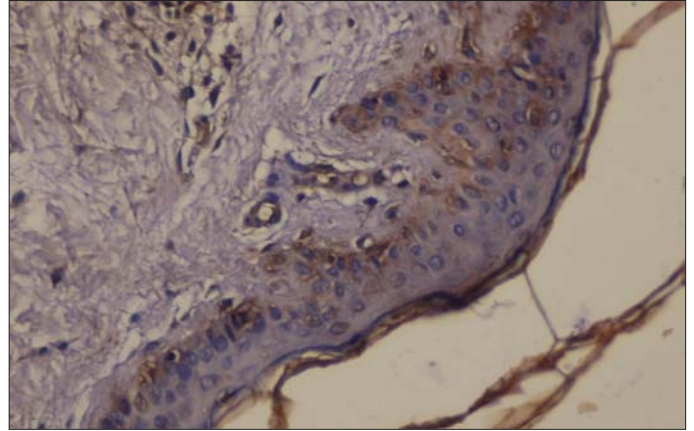
dahil edilen tüm hastaların hastalık süreleri kaydedildi; klinik tiplendirme yapıldı. Çalışmaya dahil olma kriterlerine uygun olan hastalardan alınan 2mm'lik punch biyopsi materyalleri vitiligo tanısını histopatolojik olarak doğrulamak üzere kullanıldı; kalan kesitler tedavi öncesi biyopsi materyali olarak immünohistokimyasal değerlendirme için saklandı.

Çalışmaya dahil edilen tüm hastalara haftada 3 seans, toplam 60 seans dbUVB tedavisi uygulandı. Altmış seans dbUVB tedavisi bitiminde tedavi öncesi biyopsi aldığımız vitiligo plağının dbUVB tedavisi ile çillenme görülen alanından 2 mm'lik punch biyopsi materyali alındı.

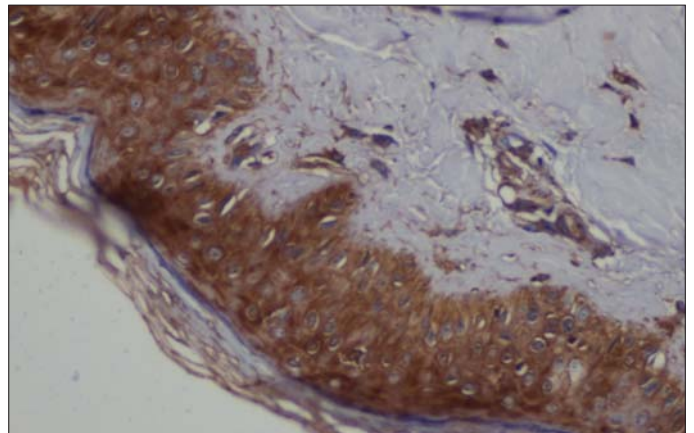
Tedavi öncesi ve sonrası biyopsi materyalleri formalin (%10) ile tespit edildikten sonra örneklenerek rutin doku takibine alındı. Rutin takip sonrası hematoksil-eozin boyalı preparatlar değerlendirildi.

İmmünohistokimyasal boyamalar, parafin bloklardan hazırlanan kesitlere peroksidaz-antiperoksidaz (PAP) yöntemi ile DAB kromojeni kullanılarak uygulandı. MMP-2 antikoru (monoklonal, mouse, Anti MMP-2 Ab-1 (Clone CA-4001), Thermo Scientific); sekonder antikor (biotinylated goat antipolivalent, Lab Vision) ve MMP-2 antikoru için pozitif kontrol olarak plasenta dokusu kullanıldı.

İmmünohistokimyasal olarak boyanan preparatlar ışık mikroskobu ile tek patolog tarafından değerlendirildi.



Şekil 3. MMP2X400. Tedavi öncesi MMP-2 ab boyalı preparat - 4. hasta



Şekil 4. MMP2X400. Tedavi sonrası MMP-2 ab boyalı preparat - 4. hasta

İncelemede epidermis dikkate alındı. Boyanmayan hücreler negatif olarak kabul edildi. Pozitif boyanan hücreler, epidermiste boyanmanın şiddeti yönünden değerlendirildi. Boyanma şiddeti semikantitatif olarak (+), (++) , (+++) olarak skorlandı. Veriler SPSS 13.0 programında değerlendirildi; istatistiksel olarak Wilcoxon Signed Ranks Test ile analiz edildi.

Bulgular

Çalışmaya dahil edilen 23 hastanın 14'ü kadın (%60,87), 9'u erkek (%39,13) idi. Hastaların yaşları 18-57 arasında değişmekte olup, yaş ortalaması 38,5±11,8 idi. Çalışma kapsamına alınan hastaların hastalık başlangıç yaşı en erken 3, en geç 56 olarak saptandı; ortalama başlangıç yaşı 28,1±16,0 bulundu. Hastaların hastalık süreleri 1-30 yıl arasında değişiyordu. Hastalık süreleri ortalaması 10,3±8,7 idi.

Hastalar klinik değerlendirmede fokal vitiligo, segmental vitiligo, jeneralize vitiligo ve üniversal vitiligo olmak üzere 4 kategoride incelendi. Hastaların 6'sında (%26,1) fokal vitiligo, 17'inde (%73,9) jeneralize vitiligo saptandı. Hastaların hiçbirinde segmental ve üniversal vitiligoya rastlanmadı.

Altmış seans dbUVB tedavisi sonrasında klinik olarak vitiligo lezyonlarındaki iyileşme/repigmentasyon yüzde olarak değerlendirildiğinde 23 hastanın 8'inde (%34,8) %25'den az, 11'inde (%47,8) %25-%50 arasında, 3'ünde (%13,0) %50-%75 arasında ve 1'inde (%4,3) ise %75-%100 arası oranlarda repigmentasyon sağlandığı görüldü. (Tablo 1).

Tedaviye yanıt histopatolojik olarak da değerlendirildi. Hastaların tedavi öncesi ve sonrası biyopsi materyallerinin hematoksilen-eozin boyalı preparatlarının karşılaştırılmasında, tedavi süreci sonunda melanosit sayısında artış saptandı. (Şekil 1 ve 2'de örnek olarak alınan 4 numaralı hastanın tedavi öncesi ve sonrası hematoksilen-eozin boyalı preparatları görülmektedir.)

Hastalardan tedavi öncesi ve sonrası alınan punch biyopsi materyalleri MMP-2 antikoru kullanılarak immünohistokimyasal olarak boyandı ve epidermal boyanmanın şiddeti yönünden değerlendirildi. Boyanmayan hücreler negatif kabul edildi. Boyanma şiddeti (+), (++) , (+++) olarak skorlandı (Tablo 2). (Şekil 3 ve 4'de örnek olarak seçilen aynı hastanın MMP-2 antikoru boyalı preparatları görülmektedir)

Tedavi öncesi ve sonrası MMP 2 antikoru boyanma şiddeti değerlerinin karşılaştırılmasında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$).

Tartışma

Vitiligo, oldukça fazla çalışma yapılmasına rağmen hala etyopatojenezi tam olarak aydınlatılamamış ve tedavisinde istenen

başarı oranı sağlanamamış bir hastalıktır. Uzun süreli tedavi gerektirir ve tedaviye yanıt düşüktür. Vitiligoda etyolojiye yönelik, etkili ve tam olarak ideal bir tedavi henüz mevcut değildir⁷. Tek başına veya fotoduyarlandırıcılarla birlikte uygulanan güneş ışığı uzun zamandır vitiligo tedavisinde kullanılmaktadır⁷. Özellikle sistemik psoralenlerle birlikte uygulanan UVA tedavisi geniş tutulum alanı gösteren ve diğer tedavileri tatmin edici bulmayan hastalarda etkili bir tedavi seçeneği olarak görülmektedir.

Son yıllarda dbUVB fototerapinin vitiligo tedavisinde etkili olduğu üzerinde durulmaktadır². Yaklaşık 6 ay boyunca haftada 3 kez dbUVB fototerapi uygulanarak yapılan bir çalışmada %42,9 repigmentasyon sağlandığı bildirilmiştir⁸.

Njoo ve ark.'nın yaptığı meta-analiz çalışmasında ise vitiligoda dbUVB ile PUVA tedavisi karşılaştırılmış ve dbUVB'nin (%63), PUVA'ya (%57) göre daha etkili bulunmuştur⁹.

Vitiligoda dbUVB'nin etki mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. İmmün yanıtın düzenlenmesi yanısıra melanosit mitogenezi, melanogenez ve melanosit migrasyonunda da önemli rol oynayabileceği düşünülmektedir¹⁰.

Epidermal melanositler bazal membran zonun hemen üzerindeki epiderminin bazal hücre tabakasında lokalizedirler. Vitiligo lezyonlarının yeniden pigmentasyonu ile ortaya çıkan melanositlerin, dış kök kılıfındaki melanosit öncülerinden (melanoblast) derive oldukları düşünülmektedir. Dış kök kılıfından depigmente alana melanosit göçü için ekstrasellüler matris doku bariyerinin penetrasyonu gerekmektedir¹². Lei ve ark. yaptıkları çalışmada melanosit öncülerinin göçünde MMP-2'nin gerektiği hipotezini test etmişler ve sonuç olarak PUVA tedavisine cevapta ve melanoblast göçünde önemli olabildiğini

Tablo 2. Hastaların MMP-2 antikoru boyanma şiddetleri (+, ++, +++ şeklinde)

Hasta No	Tedavi Öncesi	Tedavi Sonrası
1	+	++
2	++	++
3	++	+++
4	+	++
5	+	+++
6	++	++
7	+	++
8	+	++
9	+	+++
10	+	+++
11	+++	+++
12	++	++
13	++	+
14	++	+++
15	++	++
16	+	++
17	+	+++
18	++	+++
19	++	+++
20	++	+++
21	++	+++
22	+	+++
23	+	+++

Tablo 1. Klinik olarak hastaların tedaviye yanıtları

Tedaviye Yanıt	Hasta Sayısı	%
%0 -%25 arasında	8	34,8
%25-%50 arasında	11	47,8
%50-%75 arasında	3	13,0
%75-%100 arasında	1	4,3

bildirmişlerdir¹². Wu ve ark. yaptıkları çalışma sonuçlarına dayanarak, vitiligo tedavi sürecinde PUVA'nın vitiligonun aktif döneminde melanosit tahribatını azaltıp, melanositler için uygun ortam yaratarak etkili olduğunu; dbUVB'nin ise vitiligonun stabil döneminde melanositlerin proliferasyon ve migrasyonunu direkt olarak stimüle ederek etkisini gösterdiğini öne sürmüşlerdir¹³. Yapılan bir diğer çalışmada dbUVB tedavisi verilen vitiligo hastalarında tedavi öncesi ile kıyaslandığında MMP-2 aktivitesinin arttığı gösterilmiş ve MMP-2'nin melanosit migrasyonunda görev aldığı bildirilmiştir. dbUVB'nin diğer etki mekanizmalarının yanısıra MMP-2 aktivasyonu ile melanosit göçünü kolaylaştırarak vitiligo tedavisinde etkin olduğu düşünülmektedir⁶.

Vitiligo repigmentasyonundaki melanosit göçü dışında özellikle malin hücre invazyonu/ tümör metastazı gibi ekstrasellüler matris degradasyonu gereken durumlarda da MMP-2'nin immünohistokimyasal yöntemle yapılan analizlerinde pozitif immün reaksiyon verdiği gösterilmiştir^{14,15}. Bazı yayınlarda MMP-2'nin özellikle melanoma için muhtemel prognostik faktör olabileceği de bildirilmektedir¹⁶.

MMP-2'nin melanoblastların depigmente bölgeye göçünde, ekstrasellüler matris doku bariyerindeki makromoleküllerinin yıkımı ve doku remodelizasyonu görevlerini üstlenerek melanositlere yol açtığı düşünülmektedir⁹.

Biz de çalışmamızda dbUVB tedavisine klinik ve histopatolojik olarak yanıt aldığımız vitiligolu hastalarda tedavi öncesi ve sonrası MMP-2 düzeylerini immunohistokimyasal olarak karşılaştırdık ve tedavi sonrasında istatistiksel olarak anlamlı oranda artış bulduk. Yapılan diğer çalışma sonuçlarını da göz önüne alarak MMP-2'nin melanosit göçü için gerekli olduğunu ve dbUVB'nin diğer etki mekanizmalarının yanında MMP-2 aktivasyonu da yaparak vitiligo tedavisinde etkin olabileceğini düşündük. Çalışmamız diğer çalışma sonuçlarıyla benzer bulgulara sahiptir. Daha ileri çalışmaların vitiligo tedavisi ve MMP-2 arasındaki ilişkiyi netleştireceği inancındayız.

Kaynaklar

1. Ortonne JP, Bahadoran P, Fitzpatrick TB et al. Hypomelanoses and hypermelanoses. Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine'de. Ed. Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K et al. New York, McGraw-Hill, 2003;836-81.

2. Natta R, Somsak T, Wisuttida T, Laor L: Narrowband ultraviolet B radiation therapy for recalcitrant vitiligo in Asians. J Am Acad Dermatol 2003;49:473-6.
3. Verma RP, Hansch C: Matrix metalloproteinases (MMPs):chemical-biological functions and (Q)SARs. Bioorg Med Chem 2007;15:2223-68.
4. Fingleton B: Matrix metalloproteinases as valid clinical targets. Curr Pharm Des 2007;13:333-46.
5. Seltzer JL, Eisen AZ. The role of extracellular matrix metalloproteinases in connective tissue remodeling. Dermatology in General Medicine. Ed: Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K et al. New York, McGraw-Hill,2003;200-9.
6. Wu CS, Yu CL, Lan CC, Yu HS: Narrow-band Ultraviolet-B stimulates proliferation and migration of cultured melanocytes. Exp Dermatol, 2004;13:755-63.
7. Sehgal VN, Srivastava G: Vitiligo treatment options: an evolving scenario. J Dermatol Treat 2006;17:262-75.
8. Hamzavi I, Jain H, McLean D, Shapiro J, Zeng H, Lui H: Parametric modeling of narrowband UV-B phototherapy for vitiligo using a novel quantitative tool: the Vitiligo Area Scoring Index. Arch Dermatol 2004;140:677-83.
9. Njoo MD, Spuls PI, Bos JD, Westerhof W, Bossuyt PM: Nonsurgical repigmentation therapies in vitiligo: meta-analysis of the literature. Arch Dermatol 1998;134:1532-40.
10. Akman A, Yılmaz E: Vitiligoda dar-band UVB Tedavisi. Türkderm 2006;4:130-2.
11. Birol A, Kısa Ü, Kurtipek GS ve ark. Vitiligo olgularında serum ve deride IL-1 α , TNF- α ve temel fibroblast büyüme faktörü düzeylerinin değerlendirilmesi. XX. Ulusal Dermatoloji Kongresi Kitabı. 2004;176.
12. Lei TC, Vieira WD, Hearing VJ: In vitro migration of melanoblasts requires matrix metalloproteinase-2: Implications to vitiligo therapy by photochemotherapy. Pigment Cell Res 2002;15:426-32.
13. Wu CS, Lan CC, Wang LF, Chen GS, Wu CS, Yu HS: Effects of psoralen plus ultraviolet A irradiation on cultured epidermal cells in vitro and patients with vitiligo in vivo. Br J Dermatol 2007;156:122-9.
14. Shim KN, Jung SA, Joo YH, Yoo K: Clinical significance of tissue levels of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in gastric cancer. J Gastroenterol 2007;42:120-8.
15. Hofman UB, Westpal JR, Zendman AJW, Becker JC, Ruiten DJ, van Muijen GN: Expression and activation of matrix metalloproteinase-2 and its co-localization with membrane-type-1 matrix metalloproteinase correlate with melanoma progression. J Pathol 2000;191:245-56.
16. Vaisanen A, Tuominen H, Kallioinen M, Turpeenniemi-Hujanen T: Matrix metalloproteinase-2 (72 kD type IV collagenase) expression occurs in the early stage of human melanocytic tumour progression and may have prognostic value. J Pathol, 1996;180:283-9.