

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DERİ VE ZÜHREVİ HASTALIKLAR ANABİLİM DALI

PEMFİGUS VULGARİS HASTALARINDA HLA-E GEN POLİMORFİZMİNİN
ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ece ALTUN

TRABZON 2014

T.C
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DERİ VE ZÜHREVİ HASTALIKLAR ANABİLİM DALI

PEMFİGUS VULGARİS HASTALARINDA HLA-E GEN POLİMORFİZMİNİN
ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ece ALTUN

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Savaş YAYLI

TRABZON 2014

ÖNSÖZ

Dermatoloji uzmanlık eğitimim süresinde bilgi ve tecrübeleriyle katkıda bulunan, tez çalışmalarımda yardım ve desteğini benden hiçbir zaman esirgemeyen Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi ve tez danışmanım sayın Doç. Dr. Savaş YAYLI'ya çok teşekkür etmek istiyorum. Asistanlığım süresince bilgi ve deneyimlerini paylaşan ve her zaman yanımda olduklarını hissettiğim sayın hocalarım Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Sevgi BAHADIR ve Yrd. Dr. Deniz AKSU ARICA'ya; tezimin hazırlanmasında ve verilerin çalışmasında destek ve yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Ersan KALAY ve öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Bayram TORAMAN'a; dört yıl boyunca yanımda olan arkadaşım Uzm. Dr. Leyla BAYKAL'a; beraber çalıştığım asistan arkadaşlarıma; kliniğimizin hemşire ve personeline; öğrenim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen annem, babam ve kardeşlerime en içten teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Ece ALTUN

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR	vi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Pemfigus	2
2.1.1. Tanım	2
2.1.2. Sınıflama	2
2.1.3. Tarihçe	2
2.1.4. Epidemiyoloji	3
2.1.5. Patogenez	3
2.1.5.1. Desmozomun Yapısı	3
2.1.5.2. Pemfigus Antijenleri	4
2.1.5.3. Pemfigusta Patojenik Otoantikorlar	5
2.1.5.4. Desmoglein Kompansasyon Teorisi	6
2.1.5.5. Pemfigusta Patojenik Otoantikor Üretiminin İmmünolojik Mekanizması	7
2.1.5.6. Endojen ve Eksojen Faktörler	8
2.1.6. Klinik Bilgiler	9
2.1.6.1. Pemfigus Vulgaris	9
2.1.6.1.1. Pemfigus Vejetans (Neumann tip ve Hallopeau tip)	10
2.1.6.2. Pemfigus Foliaseus	10
2.1.6.2.1. Endemik Pemfigus Foliaseus (FogoSelvagem)	10
2.1.6.2.2. Pemfigus Eritematozus (Senear-Usher Sendromu)	10
2.1.6.3. Paraneoplastik Otoimmün Multiorgan Sendromu (PAMS)	11
2.1.6.4. IgA Pemfigus	11
2.1.7. Histopatoloji	

	iv
2.1.8. İmmüno Floresan (İF) İnceleme	13
2.1.9. Enzim Aracılı İmmünokimyasal Tetkik (ELİSA)	14
2.1.10. Ayırıcı Tanı	14
2.1.11. Tedavi	15
2.1.11.1. Kortikosteroid Tedavisi	15
2.1.11.2. Adjuvan Ajanlar	16
2.1.12. Prognoz	18
2.2. Majör Doku Uyum Kompleksi (Major Histocompatibility Complex=MHC)	18
2.2.1. HLA Antijenlerinin Sınıflandırılması	19
2.2.2. HLA ve İlişkili Hastalıklar	21
3. MATERYAL VE METOD	23
3.1. Çalışma Örneklerinin Toplanması	23
3.2. Örneklerden DNA İzolasyonu	24
3.3. Spektrofotometrede DNA Konsantrasyonunun Ölçümü	24
3.4. HLA-E Geninin DNA Dizi Analizi ile Taranması	24
3.5. Kontrol Grubunun Taranması	25
3.6. İstatistiksel Analiz	25
4. BULGULAR	26
4.1. HLA-E Genotipleri Varlığının Karşılaştırılması	29
4.2. HLA-E Genotiplerinin Cinsiyete Göre Dağılımı	30
4.3. HLA-E*0101/0103X ve HLA-E*0103X/0103X Genotip Alt Tiplerinin Varlığının Karşılaştırılması	31
4.4. HLA-E*0101/0103X ve HLA-E*0103X/0103X Genotip Alt Tiplerinin Cinsiyet ile İlişkisi	31
4.5. HLA-E Allel Varlığının Karşılaştırılması	32
4.6. HLA-E Genotiplerinin Hasta ve Kontrol Grubunda Cinsiyete Göre Karşılaştırılması	33
4.7. HLA-E*0101/0103X ve HLA-E*0103X/0103X Genotip Alt Tiplerinin Hasta ve Kontrol Grubunda Cinsiyete Göre Karşılaştırılması	34
4.8. Hasta grubunda HLA-E Genotiplerinin Varlığının Pemfigus Vulgaris Klinik Tiplerine Göre Karşılaştırılması	35
5. TARTIŞMA	37
6. SONUÇLAR	44
7. ÖZET	46

	v
8. SUMMARY	48
9. KAYNAKLAR	50
10. EKLER	60

KISALTMALAR LİSTESİ

BPAG	: Büllöz pemfigoid antijeni
C3	: Kompleman 3
CMV	: Sitomegalovirüs
DİF	: Direkt immünfloresan
DNA	: Deoksiribonükleik asit
Dsg	: Desmoglein
EBV	: Epstein-barr virüsü
ELİSA	: Enzim aracılı immünokimyasal teknik
HLA	: Human lökosit antijen
HSV	: Herpes simpleks virüs
Ig	: İmmünglobin
IVIG	: İntravenöz İmmünoglobulin
İEN	: İnterapidermal nötrofilik dermatoz
İF	: İmmünfloresan
İİF	: İndirekt immünfloresan
kDa	: Kilodalton
MHC	: Majör doku uyum kompleksi
NaCl	: Sodyum klorür
NSAİİ	: Non-Steroid anti-inflamatuar ilaçlar
PAMS	: Paraneoplastik otoimmün multiorgan sendromu
PCR	: Polimeraz zincirleme tepkimesi
PF	: Pemfigus foliaceus
PUVA	: Psoralen ve ultraviyole A
PV	: Pemfigus vulgaris
RNA	: Ribonükleik asit
SPD	: Subcorneal püstüler dermatoz
TPMT	: Tiyopürin metiltransferaz

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Pemfigus, deri ve mukozalarda gevşek, ağrılı büller ve erozyonlar ile karakterize nadir görülen hayati tehdit eden bir otoimmün büllöz hastalık grubudur. Histolojik olarak keratinositler arasındaki adezyonların kaybına bağlı gelişen intraepidermal büller mevcuttur. İmmünopatolojik olarak doğrudan keratinositlerin hücre yüzeyi antijenlerinden desmoglein 1 ve/veya 3'e karşı IgG karakterinde otoantikorlar saptanır (1-3). Son yıllarda gelişen tedavi seçenekleri ile mortalite oranları azalan bu yıkıcı otoimmün sürecin etyopatogenezi net değildir.

İnsan Lökosit Antijenleri (Human Leukocyte Antigens=HLA) plazma membranında yer alan transmembran glikoproteinlerdir. İnsan genomunda HLA antijenlerini kodlayan genler, 6. kromozomun kısa kolu üzerinde sentromere yakın bir bölgede ardışık olarak yer almaktadır (6p21.3). Pemfigus grubunun en sık görülen hastalığı olan pemfigus vulgaris hastalığı olan bireylerle çeşitli toplumlarda gerçekleştirilen genetik çalışmalarda hastalık ile özellikle klasik HLA grupları arasında anlamlı ilişkiler saptanmıştır (4-11).

Non-klasik bir HLA sınıfı olan HLA-E gen polimorfizminin de erken başlangıçlı tip I diyabetes mellitus ve Behçet hastalığı gibi çeşitli otoimmün hastalıklara yatkınlıkta rolü olduğu gösterilmiştir (12).

Bu çalışmada amaç, pemfigus vulgarisli hastalarda HLA-E gen polimorfizminin araştırılması yolu ile bu genin pemfigus vulgarise yatkınlık yaratıp yaratmadığının ortaya konmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pemfigus

2.1.1. Tanım

Pemfigus, deri ve mukozalarda intraepitelyal büller ve erozyonlar ile karakterize otoimmün bir hastalıktır (1). Keratinositler arasındaki bağlantıyı sağlayan adezyon moleküllerine karşı gelişen antikorlar akantolize neden olur (2, 3).

2.1.2. Sınıflama

Klinik ve immünopatolojik özelliklerine göre pemfigus ailesi; pemfigus vulgaris (PV), pemfigus foliaceus (PF), IgA pemfigusu ve paraneoplastik pemfigus (paraneoplastik otoimmün multiorgan sendromu = PAMS) olmak üzere başlıca dört gruba ayrılır (13).

2.1.3. Tarihçe

Pemfigus terimi Yunanca b l veya baloncuk anlamına gelen Pemphix kelimesinden köken almıştır. Pemfigus ilk kez 1791'de Wichmann tarafından kronik büllöz bir hastalık olarak tanımlanmıştır (14, 15). Willan 1808'de pemfigus vulgarisi, Cazenave 1844'de pemfigus foliaceusu, Neumann 1876'da pemfigus vejetansı ve Senear ise 1926'da pemfigus eritematozusu tanımlamıştır (16). 1964 yılında Beutner ve Jordon tarafından PV'li hastaların serumunda keratinositlerin hücre yüzeyine karşı gelişmiş dolaşan antikorlar keşfedilmiştir (17). 1982 ve 1984'te Stanley ve ark. tarafından PV antijeninin 130 kDa ağırlığında bir glikoprotein olduğu (Desmoglein 3) ve PF antijeninin de 160 kDa ağırlığında bir polipeptid olduğu (Desmoglein 1) gösterilmiştir (18, 19).

2.1.4. Epidemiyoloji

Pemfigus, dünyada yaygın dağılım gösteren bir hastalıktır. Hastalık en sık 40-60 yaş grubunda görülür (9). Kadın ve erkekler eşit sıklıkta etkilenir. İnsidansı milyonda 0,7-5 yeni olgu/yıl arasında değişmektedir. Ancak Yahudi ırkında bu insidans daha fazladır (milyonda 16 ile 32 yeni olgu/yıl) (20). Finlandiya, Tunus ve Brezilya dışında birçok ülkede pemfigus vulgaris, pemfigus foliaceus daha yaygındır. Finlandiya’da pemfigus eritematosus’un, Tunus’ta pemfigus foliaceus’un en sık görülen tip olduğu bildirilmiştir. Endemik pemfigus foliaceus (fogo selvagem), Güney Amerika’nın kırsal kesimlerinde, Brezilya’nın bazı bölgelerinde siktir ve aynı aile bireylerinde görülür (21-23).

2.1.5. Patogenez

Pemfigusun temel özelliği serumdaki otoantikolar aracılığıyla epidermal keratinositler arasındaki intersellüler bağların kaybolmasıyla akantolizin oluşmasıdır. Çok katlı skuamöz epitelde hücreler arası bağlantıyı sağlayan yapı desmozomlardır. Desmozomal proteinler tüm intraepidermal büllü hastalıklarda oluşan otoantikoların hedefidir (24).

2.1.5.1. Desmozomun Yapısı

Kaderinler, doku bütünlüğünün sağlanmasında rolü olan kalsiyum bağımlı hücreler arası adezyon molekülleridir. Kaderinler; klasik kaderinler (E-, P-, N- gibi kaderinler) ve desmozomal kaderinler (desmogleinler ve desmokollinler) olmak üzere iki alt gruba ayrılırlar. Klasik kaderinler, aktin mikrofilaman demetlerinin olduğu yapışma bölgelerinde yer alırlar (24, 25).

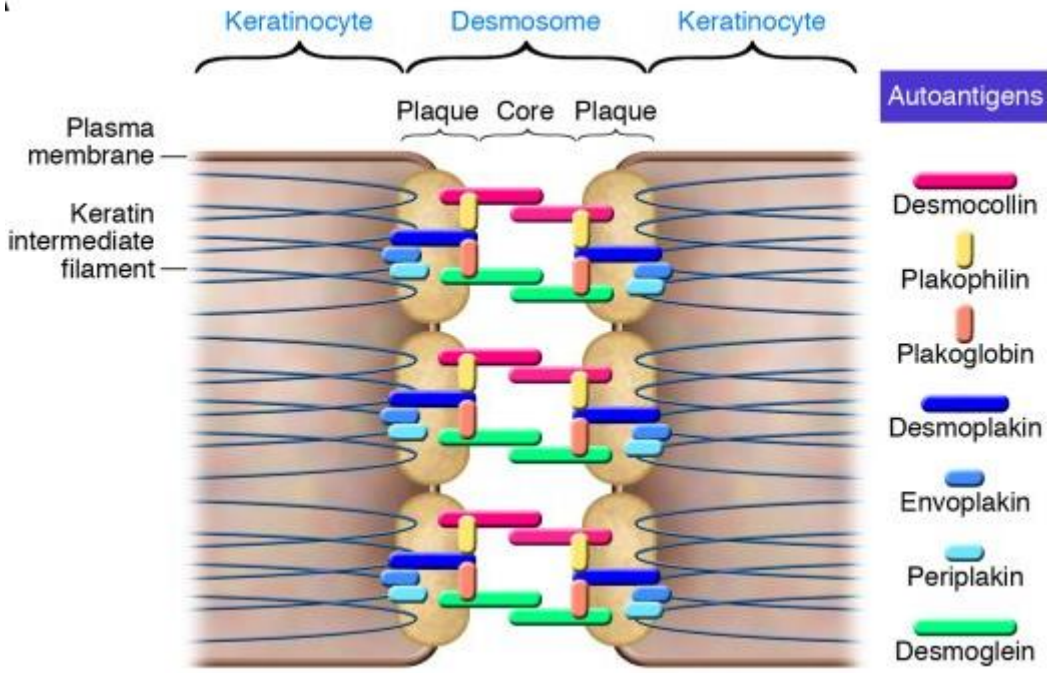
Desmozomlar disk şeklinde intersellüler bağlantılardır. Desmozom bir hücrenin keratin iskeletini, komşu hücrenin keratin iskeletine bağlar. Desmozomda yapıyı oluşturan proteinler üç fonksiyonel gruba ayrılırlar. Bu proteinler; transmembran proteinler olan desmogleinler, desmogleinlere bağlanan plazma membranının hemen altında bulunan plaklin proteinler ve plaklin proteinlere bağlanan keratin filamanlardır. Desmogleinler desmozomların transmembranöz halkasıdır. Desmogleinler komşu hücrenin desmogleinine bağlanır. Desmoglein plakine, plaklin de keratine bağlanarak iki hücrenin

birbirine tutunmasını sağlar. Desmokollinler ise desmozomun yapısında bulunan transmembran glikoproteinlerdir. Desmozomlarda desmogleinler ve desmokollinler her zaman birlikte bulunurlar (24-27).

Desmogleinlerin Dsg1, Dsg2, Dsg3 ve Dsg4 olmak üzere dört izoformu vardır. Dsg2, basit epitel ve miyokardı da içeren desmozoma sahip tüm dokularda eksprese olmaktadır. Dsg4 kıl folikülünde önemli bir role sahiptir. Dsg1 ve Dsg3 ise çok katlı yassı epitelde bulunur (24).

2.1.5.2. Pemfigus Antijenleri

Pemfigus antijenleri desmozomal molekül komplekslerinden oluşmaktadır. İmmünelektron mikroskopisi yardımıyla PV ve PF antijenlerinin desmozomal birleşim bölgelerinde yerleştiği gösterilmiştir. İmmunblot yöntemi ile PF antijeni transmembran glikoprotein olan desmoglein 1 (160 kDa ağırlığında), PV antijeni ise desmoglein 3 (130 kDa ağırlığında) olarak tanımlanmıştır (25, 26, 28). Deride, Dsg1 yüzeysel tabakalarda daha yoğun olmak üzere bütün epidermis boyunca eksprese olurken, Dsg3 ise epidermisin daha alt kısmında özellikle bazal ve parabazal tabakalarda eksprese olmaktadır. Müköz membranlarda, Dsg1 ve Dsg3 bütün mukozal epitelde eksprese olur, ancak Dsg3 ekspresyonu Dsg1'den daha fazladır (4, 29). Neonatallerde ise Dsg3 dağılımı müköz membranlardakine benzer bulunur. PAMS antijenleri, desmoplakin I (250 kDa), BPAG1 (230 kDa), envoplakin (210 kDa) ve periplakin (190kDa)'dir. IgA pemfigusunun antijenleri ise desmokollin 1 (115 kDa) ve desmokollin 2 (105 kDa)'dir (28, 30). Pemfigusta antijenlerin epidermal adezyondaki rolü Şekil 1'de gösterilmektedir (3).



Şekil 1. Pemfigus antijenleri

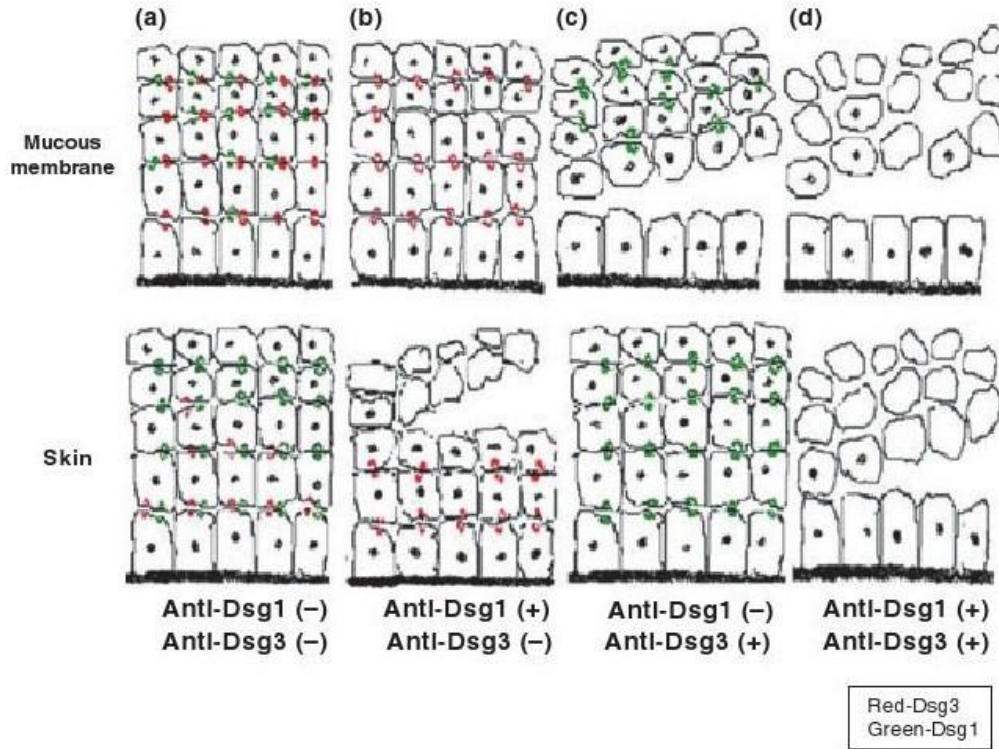
2.1.5.3. Pemfigusta Patojenik Otoantikolar

Pemfigus patogenezinde en önemli bulgu keratinosit hücre yüzeylerine karşı gelişen immünglobulin G (IgG) yapısındaki otoantikordur. Bu otoantikorlar, keratinositler arasındaki hücre adezyonunu bozarak akantolize neden olurlar. Desmogleinlere karşı gelişen antikorlar direkt ve indirekt immünfloresan yöntemleri ile saptanmaktadır. Pemfigus vulgarisli annelerde plasentadan geçen maternal IgG'ler yenidoğanda hastalığa neden olabilir ve maternal antikorlar parçalandığı için hastalık kendiliğinden düzelir (31, 32).

Doku kültürlerinde IgG antikorlarının plazminojen aktivatörünü açığa çıkararak kompleman ve inflamatuvar hücreler olmaksızın bül oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir. Plazminojen aktivatörü baskılanmış farelerde ve normal farelerde IgG ile aynı derecede bül oluştuğu gözlemlendiğinden plazminojen aktivatörünün antikora bağlı bül oluşumunda kesinlikle gerekli olduğu söylenememektedir (31, 33, 34).

2.1.5.4. Desmoglein Kompansasyon Teorisi

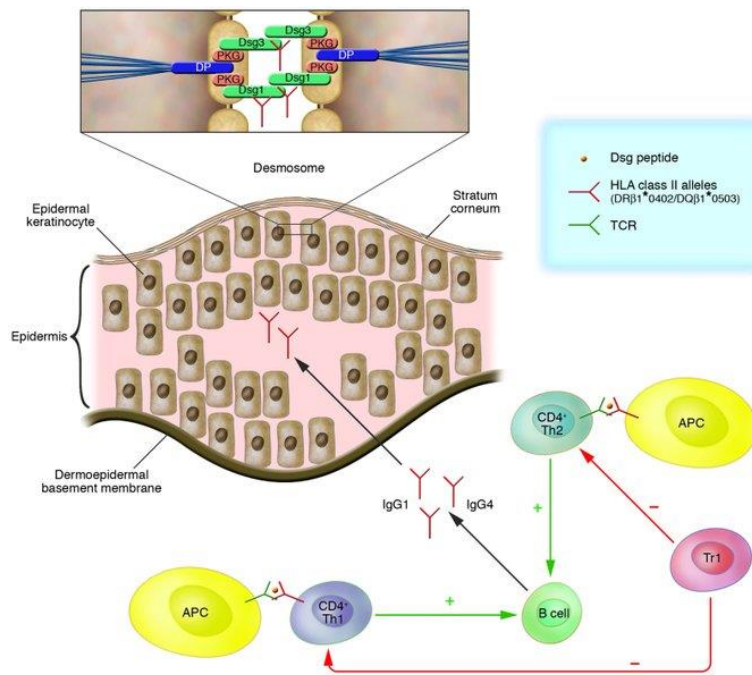
Pemfigusta anti-desmoglein otoantikolar tarafından hücreler arası adezyon bozular. Pemfigus vulgariste epidermin derin kısımlarında akantoliz olurken, pemfigus foliaseusta ise yüzeysel epidermiste akantoliz olur. Dsg1 ve Dsg3 aynı hücrede birlikte eksprese oldukları için birbirlerinin adeziv fonksiyonlarını kompanse ederler (35). Bu kompanseasyon teorisi ile pemfigusun klinik özellikleri açıklanabilir. PF'da anti-Dsg1 IgG, epidermin yüzeysel tabakalarında akantolize neden olurken, derin epidermiste ve mukozada Dsg3 ekspresyonu, Dsg1'in kaybını kompanse ettiği için, akantoliz olmamaktadır. Mukozal PV'de anti-Dsg3 IgG, müköz membranların derin tabakalarında akantolize neden olurken, Dsg1'in yüksek oranda eksprese olduğu deride epidermal bütünlüğü bozamaz. Mukokutanöz PV'de hem anti-Dsg1 hem de anti-Dsg3 antikolar oluştuğu için, hem mukozada hem de deride akantoliz olmaktadır (Şekil 2), (36, 37).



Şekil 2. Desmogleinlerin kompanseasyon teorisi

2.1.5.5. Pemfigusta Patojenik Otoantikor Üretiminin İmmünolojik Mekanizması

Pemfigus hastalarında bazı HLA doku gruplarının daha sıklıkla pozitif olması, patogeneizde genetik bir yatkınlığa işaret etmektedir. PV'de B lenfositler tarafından patojenik antikorların üretilmesinde T lenfositlerin destek sağladığı düşünülmektedir. Riskli HLA allelleri, Th₂ lenfositlerine desmoglein-3 peptidini sunarlar, aktive olan T lenfositler B lenfositlerin aktivasyonuna neden olur. B lenfositler tarafından üretilen ve desmogleine bağlanan IgG otoantikorlar, desmogleinin adeziv fonksiyonunu bozar ve epidermiste bül oluşumuna neden olur (Şekil 3). Desmoglein 3'ün yapısındaki bazı peptidler HLA allellerin bazı peptid bağlayan kısımlarına uyar ve T lenfositleri uyarır. Bu allelleri taşıyan sağlıklı bireylerde de aynı desmoglein antijenine yanıt verir ama hastalık gelişmez. T lenfosit yanıtı hastalığın başlaması için yeterli değildir (3, 38, 39).



Şekil 3. PV patogenezinde T lenfositlerin rolü

PV hastalarında CD4⁺ reseptörleri, CD8⁺ reseptörlerinden daha fazla eksprese olmaktadır. Th₁ ve Th₂ benzeri Dsg3-spesifik T hücreleri PV hastalarında belirlenmiştir. Th₂'den salınan interlökin (IL)-4 ve IL-13'ün, aktive B lenfositler tarafından gerçekleştirilen IgG ve IgE üretimini düzenlendiği gösterilmiştir. PV serumunda Dsg3'e

karşı Th₁ ile düzenlenen IgG₁ ve Th₂ ile düzenlenen IgG₄, IgA pemfigusunda ise IgA otoantikordardan dolayı otoreaktif Th₁ ve Th₂ hücrelerinin her ikisi de, direkt B lenfositlerden patojenik otoantikor üretiminin düzenlenmesini sağlamaktadır. IgG1 ve IgG4, aktif hastalarda en sık görülen antikor alt sınıfları olmakla birlikte IgG4 daha patojeniktir ve hastalık aktivitesini göstermektedir. (3, 38, 40-42).

2.1.5.6. Endojen ve Eksojen Faktörler

Pemfigus antikor ve hedef antijenin birbirine bağlanmasında ilaçlar, maliniteler, viral enfeksiyonlar veya yanıklar gibi çeşitli eksojen faktörler etkilidir (43). Pemfigusun ortaya çıkmasında veya hastalığın tetiklenmesinde etkili olduğu düşünülen faktörler:

İlaçlar: Bazı ilaçların pemfigusu indüklediği gösterilmiştir. İlaça bağlı pemfigus hastalarında genelde Dsg1 ve/veya Dsg3'e karşı dolaşan otoantikor gelişir. Pemfigusu indüklemeye potansiyeli olan ilaçlar, moleküllerinde sülfidril grubu içerenler (penisilamin, kaptopril, tiopurine, altın, proksikam) ve içermeyenler (penisilinler, sefalosporinler, pirizalon derivatları ve rifampisin) olmak iki ana gruba ayrılır. Sülfidril grubu içeren ilaçlar, desmogleinlerde bulunan sülfidril gruplarıyla etkileşime girerek hastalığa yol açmaktadırlar. Penisilamin gibi sülfidril grubu içeren ilaçların pemfigusu gerçekten indüklediği, sülfidril grubu olmayan ilaçların ise sadece yatkınlık olan bireylerde hastalığı tetiklediği düşünülmektedir. Penisilamin ve kaptoprilin doku kültürlerinde otoantikörlerin yokluğunda da akantolizi indükleyebildikleri gösterilmiştir. Pemfigusu indükleyen diğer ilaçlar ise enalapril, interlökin 2, kalsiyum kanal blokerleri, NSAİİ ve levadopadır. İlacın indüklediği pemfigus hastalarının sadece %10-15'inde oral lezyonlar görülmektedir. Hastaların büyük bir kısmında ilaç kesildikten sonra hastalık gerilemektedir (44-47).

Maliniteler: Non-Hodgkin lenfoma, kronik lenfositik lösemi, Castleman hastalığı, timoma, sarkomlar, Waldenström makroglobulinemisi, PAMS ile en sık bildirilen malinitelerdir (48).

Hormonlar: Hamilelikte ve postnatal dönemde alevlenen pemfigoid gestasyon hormonal etyolojiyi düşündürmektedir (49).

Yiyecekler: Fenol içeren (mango, manyok) bitkilerin ve sarımsak, soğan, pırasa gibi alyum grubundaki sebzelerin pemfigusu tetiklediği bildirilmektedir (43).

Enfeksiyonlar: EBV, CMV, HSV ve Stafilokokus aureus'un tetikleyici olabildiği belirtilmektedir (50).

UV Radyasyon: PUVA'nın pemfigusu tetiklediği bildirilmiştir (51, 52).

2.1.6. Klinik Bulgular

Pemfigusun; pemfigus vulgaris, pemfigus foliaceus, PAMS ve IgA pemfigusu olmak üzere başlıca dört klinik tipi tanımlanmıştır (53).

2.1.6.1. Pemfigus Vulgaris

Pemfigusun en sık görülen klinik tipidir. Hastaların tamamına yakınında oral lezyonlar mevcuttur. Genellikle oral mukozada ağrılı erozyonlar şeklinde başlar. Sağlam bül nadiren görülür. Lezyonlar tüm oral kaviteyi tutabilmekle birlikte en sık yanak ve damak mukozasında görülür. Oral mukoza dışında skuamöz epitelini içeren farinks, larinks, özofagus, konjunktiva, serviks, üretra ve anal mukoza gibi diğer mukozalar da tutulabilmektedir. Tutulan müköz membran bölgeleri ile ilişkili olarak ses kısıklığı, dispne (larinks tutulumu), odinofaji, disfaji ve retrosternal ağrı (farinks, özofagus tutulumu), nazal konjesyon, epistaksis (nazal kavite tutulumu), kanlı pürülen genital akıntı (vagina, serviks tutulumu), hematokezya (anorektal tutulum) gibi bulgular gözlenebilmektedir (53, 54).

PV'de deri belirtileri, genellikle oral mukoza tutulumundan 4-8 ay sonra ortaya çıkar (55). İlk tutulan deri alanları saçlı deri, yüz ve gövdedir. Primer deri lezyonu, normal görünümlü veya bazen eritemli zemin üzerinde gevşek, ince duvarlı ve kolay patlayan vezikülobüllerdir (54). Vezikül ve büller kolayca açılırlar, bu nedenle deri lezyonları genellikle erozyonlar şeklindedir. Lezyonlar sikatris bırakmadan postinflamatuar hiperpigmentasyon ile iyileşir (56). Bül veya erozyonun kenarındaki normal görünümlü deriye bası uygulandığında epiderminin kolayca ayrıştığı gözlenir ve bu bulguya Nikolsky fenomeni ismi verilir (53). Pemfigusta bazı bölgelerin tutulumu gözden kaçabilir. Hastalık bazen göbek içerisinde pürülen akıntıya yol açabilir. Periungual alanların tutulumu sonucu tırnak değişiklikleri ve akut paronişi gelişebilir. Paronişi pemfigusun ilk bulgusu veya hastalığın alevlenme belirtisi olabilir (57).

2.1.6.1.1. Pemfigus Vejetans (Neumann tip ve Hallopeau tip)

Pemfigus vejetans PV'nin nadir (olguların %1-2) görülen vejetatif bir varyantıdır. Özellikle intertrijinöz alanlarda, saçlı deri ve yüzde önce erozyonlar sonra fungoid vejetasyonlar veya papillomatöz proliferasyonlara neden olan gevşek büller ile karakterizedir. Neumann ve Hallopeau olmak üzere iki alt tipi vardır. Neumann tipinde, PV'nin erode lezyonları üzerinde vejetasyon gelişir. Hastalarda genellikle mukoza tutulumu mevcuttur ve PV'ye göre daha erken yaşta ortaya çıkar. Hallopeau tipinde ise lezyonlar püstüller şeklinde başlayıp hızla vejetasyonlara dönüşür, bül izlenmez. Oral mukoza tutulumu Neumann tipindeki gibi sık değildir (58).

2.1.6.2. Pemfigus Foliaseus

PF'de lezyonlar göğüs üst kısmı, yüzün orta kısmı ve saçlı deri gibi seboreik bölgelerde ortaya çıkar. Mukoza tutulumu gözlenmez (1). Akantoliz epidermisin üst tabakalarında olduğu için lezyonlar hemen erode olur ve klinik olarak sağlam bül görmek mümkün değildir. Şiddetli olgularda lezyonlar tüm deri yüzeyini kaplayarak eksfoliyatif eritrodermiyi andıran bir klinik tabloya dönüşür (19, 23).

2.1.6.2.1. Endemik Pemfigus Foliaseus (Fogo Selvagem)

Pemfigus foliaseusun bu formu Brezilya'nın belli bölgelerinde endemik olarak görülür ve hastalığın ortaya çıkmasında çeşitli çevresel faktörlerin rol aldığı düşünülmektedir. Hastalar klinik, histolojik ve immünoopatolojik özellikleri bakımından pemfigus foliaseus hastalarına benzemektedir. Çoğunlukla orta yaş ve yaşlıların hastalığı olan sporadik pemfigus foliaseusun aksine Fogo Selvagem daha çok 2. ve 3. dekatta hastalık görülür (23, 59, 60).

2.1.6.2.2. Pemfigus Eritematozus (Senear-Usher Sendromu)

PF'nin lokalize varyantıdır ve daha benign seyirlidir. Keskin sınırlı eritemli skuamlı lezyonlar yüzün malar bölgesinde ve diğer "seboreik" alanlarda görülür. Hastaların %80'inde lupus band testi ve %30'unda antinükleer antikor pozitifliği saptanabilmektedir.

Direkt immüno Floresanda bazal membranda IgG ve C₃ birikimi ile epidermiste intersellüler IgG ve C₃ birikimi hastalığın pemfigus ile lupus arasında bir geçiş sendromu olabileceği düşündürmektedir (23, 61).

2.1.6.3. Paraneoplastik Otoimmün Multiorgan Sendromu (PAMS)

Paraneoplastik pemfigusun çeşitli organları tutan heterojen bir otoimmün sendrom olması nedeniyle, Nguyen ve ark. tarafından paraneoplastik otoimmün multiorgan sendromu (PAMS) terimi öne sürülmüştür (62). PAMS altta yatan malin veya benin neoplazmlarla birliktelik gösterir. En sık eşlik eden neoplazmlar; non-hodgkin lenfoma, kronik lenfositik lösemi, Castelman hastalığı, malin ve benin timomalar, Waldenström makroglobulinemisi, inflamatuvar fibrosarkom, bronkojenik skuamöz hücreli kanserdir. Hastalarda başta oral mukozada olmak üzere müköz membranlarda şiddetli, inatçı erozyon ve ülserasyonlar gözlenir. Kutanöz bulgular oldukça polimorfik karakterde olup büller, erozyonlar, eritema multiforme benzeri lezyonlar ve likenoid döküntüler şeklindedir. Aynı zamanda palmoplantar yerleşimli hedef benzeri lezyonlar görülür. Mukokutanöz tutulum hastaların 2/3'ünde neoplazm ile birlikte gözlenirken, 1/3'ünde neoplastik lezyonlardan önce saptanır (61, 63, 64).

2.1.6.4. IgA Pemfigusu

IgA pemfigusu, vezikülopüstüler döküntü, deride nötrofilik infiltrasyon ve keratinosit hücre yüzeyine karşı gelişmiş IgA antikoru ile kendini gösteren otoimmün intraepidermal büllöz bir hastalıktır. İntraepidermal nötrofilik (İEN) ve subkorneal püstüler dermatoz (SPD) olmak üzere iki tipi tanımlanmıştır. Her iki tipinde de eritematöz veya normal görünümlü deri üzerinde gevşek vezikül veya püstüller görülür. En sık tutulum bölgeleri koltuk altı bölgeleri ve kasıklar olmakla birlikte gövde, ekstremiteler üst kısımları ve karın alt kısımları da tutulabilmektedir. Her ikisinde de kaşıntı önemli bir semptomdur (65, 66).

2.1.7. Histopatoloji

Pemfigusun temel patolojik bulgusu akantolitik hücrelerin eşlik ettiği intraepidermal ayrışmadır.

Pemfigus Vulgaris: PV’de karakteristik histopatolojik bulgu keratinosit nekrozu olmaksızın keratinositlerin hücre-hücre adezyonlarındaki kayıp sonucu intraepidermal bül oluşumudur. Akantoliz genellikle suprabazal bölgede olmaktadır. Bül kavitesi içerisinde epidermal hücre kümeleri ve koyu boyanan nükleusları hafif boyalı bir halo ile çevrili olan akantolitik hücreler mevcuttur. Bazal keratinositler komşu hücreler ile üst ve yan bağlantılarını kaybetmelerine rağmen hemidesmozomlar aracılığıyla bazal membrana tutunmayı sürdürerek “mezar taşı sırası” görünümünü meydana getirir. Spongiotik epidermiste eozinofil veya nadiren nötrofil birikimi görülebilir. Sitolojik inceleme (Tzanck smear), bülün tabanından alınan sürüntünün Giemsa ile boyanmasıyla tipik akantolitik keratinositleri (Tzanck hücreleri) gösterilebilir. Pemfigus vejetansta belirgin papillamatoz, akantoz ve hiperkeratoz gözlenir. Karakteristik olarak çok sayıda eozinofil içeren intraepidermal apseler saptanabilir (16, 61, 67).

Pemfigus Foliaseus: PF’de akantoliz intraepidermal ve genellikle granüler tabakada, stratum korneumun hemen altında yerleşir. Granüler tabaka altındaki epidermis sağlamdır. Bül içerisinde nötrofiller ve akantolitik hücrelerden meydana gelen subkorneal püstüller ve eozinofilik spongiöz gözlenebilir (67).

Pemfigus Eritematozus: Yüzeysel akantolize ek olarak bazal tabakada vakuoler dejenerasyon ve lenfositik perivasküler infiltrat gözlenir (68).

Paraneoplastik Otoimmün Multiorgan Sendromu: Klinik olarak lezyonlar çok polimorfik olduğundan PAMS’da görülen histopatolojik bulgular PV ve PF’tan farklıdır. Liken planus, eritema multiforme ve her ikisinin kombinasyonu şeklinde histopatolojik özellikler izlenir. PAMS’in ana histolojik bulguları suprabazal ayrışma, bazal hücrelerde vakuolizasyon, diskeratotik keratinositler, likenoid infiltrasyon ve lenfositik ekzositoz, bazal hücre dejenerasyonu ve üst dermiste lenfositik infiltrasyonudur (61, 68).

IgA Pemfigusu: IgA Pemfigusunun karakteristik histolojik özelliği intraepidermal püstül veya veziküldür. Püstül içeriği ağırlıklı olarak nötrofillerden oluşur. Püstülün seviyesine göre IgA Pemfigusu iki alt tipe ayrılır (65). SPD’de püstüller üst dermiste subkorneal yerleşirken, İEN tipinde ise tüm epidermisi kaplayan püstüller gözlenmektedir (68).

2.1.8. İmmüno Floresan (İF) İnceleme

Flourescein ile işaretli antikorların doku veya hücredeki belirli antijene bağlanıp floresan ışık veren kaynağa sahip mikroskopik inceleme ile görünebilir hale gelmesine dayanan bir testtir. İF inceleme, pemfigusta otoantikoları gösterir. Dokuya fikse otoantikoları göstermeye yönelik olarak direkt immüno floresan (DİF) ve serumdaki dolaşan otoantikoları göstermeye yönelik olarak ise indirekt immüno floresan (İİF) test uygulanır (69).

Direkt İmmüno Floresan (DİF) İnceleme: DİF pemfigus formları için en duyarlı ve güvenilir tanı yöntemidir. DİF için biyopsi örnekleri perilezyonel normal veya eritematöz görünümlü deriden veya müköz membranlardan alınmalıdır. Bu tetkik keratinosit hücre yüzeyindeki desmozomlara in vivo bağlanmış antikorların depolanmasını göstermeye yöneliktir. Tüm epidermis boyunca intersellüler aralıkta kesintisiz “balık ağı” görünümündeki elma yeşili floresan veren depolanma pemfigus açısından patognomik bulgudur. PV’de daha çok suprabazal immünglobulin (IgG) ve kompleman (C3) birikimi görülürken, PF’de ise daha çok subkorneal depolanma görülür. IgG birikimi sağlam ve etkilenmiş alanlarda, C3 birikimi ise sadece akantolitik alanlarda gözlenir. Pemfigus eritematozusda intersellüler ve bazal membranda IgG ve C3 birikimi görülür (61,70).

PAMS’ta intersellüler aralıkta ağ benzeri, bazal membranda ise lineer IgG ve C3 birikimi görülebilmektedir. IgA pemfigusunda, SPD tipinde IgA otoantikoları üst epidermiste, İEN tipinde ise tüm epidermis boyunca birikim gösterir (63, 65). İlaça bağlı pemfigusta hastaların 2/3’ünde PF’ye benzer depolanma, 1/3’ünde ise PV’ye benzer birikim olmaktadır (70).

Pemfigus vulgaris ve pemfigus foliaseusta DİF negatif ise pemfigus tanısı sorgulanmalıdır (46-47).

İndirekt İmmüno Floresan (İİF) İnceleme: Pemfigus vulgaris ve pemfigus foliaseus hastaların %80’den fazlasında dolaşan intersellüler antikorlar (IgG) indirekt immüno floresan tekniğiyle saptanabilir (58). Substrat olarak maymun özefagusu ve normal insan derisi kullanılmaktadır. PV (anti-Dsg3 antikorları) için maymun özefagusu, PF (anti-Dsg1 antikorları) için normal insan derisi veya kobay özefagusu daha sensitiftir. Sıçan mesanesi ise PAMS (antiplakin antikorları) için kullanılır. Çünkü PAMS’da çok katlı yassı epitel dışında basit veya transizyonel epitele karşı da otoantikolar bulunmaktadır (70).

2.1.9. Enzim Aracılı İmmünokimyasal Teknik (ELISA)

ELISA, pemfigus hastaların serumlarındaki Dsg1 (PF/kutanöz PV) ve Dsg3 (mukozal PV)'e karşı gelişen IgG antikorlarını saptamak için kullanılan yöntemdir. PV ve PF tanısında İİF'den daha sensitif ve spesifiktir (58). Pemfigus hastalarında serum otoantikör seviyelerinin ölçümünün, tedaviye yanıt ve hastalık aktivitesinin izlenmesinde değerli bir araç olabileceği düşünülmektedir (71-73).

2.1.10. Ayırıcı Tanı

Pemfigus Vulgaris: Mukozal PV'nin, mukozada erozyon veya büllere neden olan diğer hastalıklar ile ayırıcı tanısı yapılmalıdır. Aftöz stomatit, akut herpetik stomatit, eritema multiforme, pemfigusun diğer varyantları, müköz membran pemfigoidi, mukozal linear IgA büllöz dermatozu, epidermolizis büllöza akuisita, Stevens-Johnson sendromu gibi hastalıklardan ayrılmalıdır. Pemfigus vulgarisin kutanöz lezyonları için ayırıcı tanıyı pemfigusun diğer formları, büllöz pemfigoid, linear IgA büllöz dermatozu, eritema multiforme ve Hailey-Hailey hastalığı oluşturur. Klinik tanı histopatoloji ve immünfloresan ile doğrulanmalıdır (16).

Pemfigus Foliaceus: PF lezyonları seboreik dermatit, büllöz impetigo, subkorneal püstüler dermatoz, subakut kutanöz lupus eritematozus ve lineer IgA dermatozu ile karışabilir (16).

PAMS: PAMS'ın ayırıcı tanısı büllü hastalıklar, liken planus, eritema multiforme, inatçı herpes simpleks enfeksiyonları ile yapılmalıdır (15).

Pemfigus eritematozus: Pemfigus eritematozus'un ayırıcı tanısında seboreik dermatit ve lupus eritematozus düşünülmelidir.

IgA pemfigusu: IgA pemfigusu dermatitis herpetiformis, subkorneal püstüler dermatoz, büllöz impetigo, püstüler psöriazis ve lineer IgA büllöz dermatozundan ayırt edilmelidir. Klinikleri örtüşen bu hastalıkların ayırıcı tanısında histopatolojik ve immünfloresan incelemeler yapılmalıdır (74).

2.1.11. Tedavi

Pemfigus tedavisinde temel amaç hastalığı kısa sürede remisyona sokabilmek ve otoantikör sentezini baskılamaktır. Hastalığın kontrolünü ve uzun süreli remisyonunu sağlayabilmek için erken sistemik tedavi gerekir. Tedavi standart yaklaşımlar çerçevesinde hastaya özgü olmalıdır. Diyabet, hipertansiyon, tüberküloz, kronik böbrek yetmezliği, karaciğer hastalıkları vs gibi eşlik eden sistemik hastalıklar dikkate alınmalı, ilaç seçenekleri ve dozu buna göre belirlenmelidir (75, 76).

2.1.11.1. Kortikosteroid Tedavisi

Pemfigusun ilk tedavi seçeneği kortikosteroidlerdir.

Topikal Kortikosteroidler: Pemfigus'un hafif olgularında güçlü topikal kortikosteroidler kullanılabilirler. Pemfigus'ta dolaşan antikörler deriye bağlanmaya devam ettiği sürece yeni lezyonlar çıkar, bu nedenle topikal kortikosteroidlerin tek başlarına kullanımı hastalık kontrolü açısından yetersiz kalır (74).

İntralezyonel Kortikosteroidler: Az sayıda veya inatçı lezyon varsa sistemik steroid tedavisinin dozunu düşük tutmak için kullanılabilirler (74).

Sistemik Kortikosteroidler: Kortikosteroidler direkt olarak immün sistem hücrelerinin nükleer reseptörlerine bağlanarak gen ekspresyonunu değiştirirler ve proinflamatuvar faktörlerin üretimini baskılamış olurlar (77). Sistemik kortikosteroid tedavisi pemfigusun başlangıç tedavisi olup genellikle prednisolon veya metilprednisolon gibi orta etkili kortikosteroidlerle yapılmaktadır. Pemfigusta kortikosteroid doz şeması büyük oranda empiriktir ve klinik deneyimlere dayandırılmaktadır. Genellikle 0,5-1,5 mg/kg/gün prednisolon standart başlangıç dozudur. 15 gün sonraki değerlendirmede hastalık kontrol altına alınmamış ise steroid dozu %25-30 artırılır. Tedavi etkinliğinin değerlendirilmesi klinik durumun düzelmesine göre yapılır. Mevcut erozyon ve ülserlerin %80'nin epitelize olması, son 15 gün içinde yeni lezyon çıkışının durması, başlangıçta pozitif ise Nikolsky belirtisinin negatifleşmesi hastalığın kontrol altına alındığının klinik işareti. Hastalık kontrol altına alındıktan sonra steroid dozu iki haftada bir %25 oranında kademeli olarak azaltılır. Doz azaltımı sırasında birkaç adet yeni lezyon çıkışı olursa steroid dozu bir önceki doz basamağına geri çıkarılır. Relaps (ayda 3 veya daha fazla ve bir hafta içerisinde spontan iyileşmeyen yeni lezyon çıkışı veya varolan lezyonun genişlemesi)

olursa steroid dozu iki basamak öncesine yükselir ve bu dozda lezyon çıkışı kontrol altına alınana kadar devam edilir. Hastalık kontrol altına alınamazsa tedavinin başlangıç dozuna geri dönülür ve kortikosteroidler tek başına verilmişse adjuvan immünoşüpresif tedavi eklenir. Pemfigusta relaps en sık günlük 20 mg prednisolon dozunun altındaki dozlarda olur, bu nedenle doz azaltımı daha yavaş yapılmalıdır. Kortikosteroidlerin ihtiyacını azaltabilmek veya tedavi etkinliğini artırabilmek amacıyla tedavinin başlangıcında adjuvan immünoşüpresif tedavinin eklenmesi güncel klavuzların önerisidir (76-81).

Pulse İntravenöz Kortikosteroidler: Pulse tedavi genellikle metilprednisolonun yüksek dozda (1gr/gün, 5 gün üst üste) aralıksız verilmesidir. Tedavinin amacı oral tedaviye göre daha hızlı hastalık kontrolüdür. Ciddi ve dirençli pemfiguslu hastalarda remisyon sağlamak için kullanılabilir (74).

2.1.11.2. Adjuvan Ajanlar

Adjuvan tedavinin amacı; kortikosteroidlerin yan etkilerinden korunmak, mortalite oranını düşürmek ve remisyon oranını ve süresini arttırmak için gerekli kümülatif kortikosteroid dozunu azaltmaktır.

Azatioprin: Pemfigus tedavisinde en sık kullanılan adjuvandır. DNA ve RNA sentez ve tamir mekanizmalarını inhibe eden bir pürin analogudur ve in vivo olarak hızla aktif metaboliti olan 6-merkaptopürine dönüşür. T ve B lenfositlere afinitesi vardır ve immünoşüpresif etkisini bu yolla gösterir. Tedavi öncesi hastanın tiyopürin metiltransferaz (TPMT) aktivitesinin belirlenmelidir. Enzim aktivitesi düşük olanlarda 0,5 mg/kg/gün gibi düşük dozda kullanılmalıdır. Azatioprin genellikle 1-3 mg/kg/gün dozunda kullanılmaktadır. İlk hafta 50 mg/gün başlanır sonra doz artımı yapılır (81, 82). En sık görülen yan etkileri; mielosüpresyon, pansitopeni, hepatotoksite, bulantı-kusma, artralji, ilaç ateşi ve pankreatittir (75).

Mikofenolat mofetil / Mikofenolik asit: Pürin sentezini daha selektif inhibe ederek T ve B lenfosit fonksiyonlarını baskılayan adjuvandır. Mikofenolat mofetil'in etkili dozu 2 gr/gün, mikofenolik asit'in ise 1440 mg/gün'dür. İkiye bölünmüş dozlarda prednisolon ile beraber kullanılabilir. Etkinliği 2-3 ay sonra ortaya çıkmaktadır. Mikofenolat mofetil tedavisinde hafif nötropeni, gastrointestinal semptomlar, bazen kemik ağrısı ve halsizlik nedeniyle intolerans gözlenebilmektedir (83, 84).

Siklofosfamid: Alkilleyici bir ajan olan siklofosfamid hematopoetik hücreleri koruyarak lenfopoetik hücreleri selektif olarak baskılar. B lenfositleri baskılayarak pemfigus gibi birçok otoimmün hastalıkta etkili olduğu gösterilmiştir. Kombinasyon tedavisinde prednizolonla birlikte oral 2 mg/kg/gün dozunda kullanıldığında etkilidir. Aylık intravenöz siklofosfamid pulse (500 mg) tedavisi ile birlikte deksametazon kombinasyonu ile başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Oral olarak uzun süreli kullanımı lenfoma, lösemi ve mesane kanseri riskini artırmaktadır. Sterilite geliştirme riski yüksektir. Erken dönem yan etkileri hemorajik sistit ve miyelosüpresyondur (84-86).

Metotreksat: Bir folik asit antagonistidir. Dihidrofolat redüktazı inhibe ederek DNA, RNA ve protein sentezini inhibe eder. Önerilen doz 10-20 mg/haftadır (87). Metotreksat pnömoni ve tüberküloz aktivasyonu gibi yan etkiler ve yüksek doz steroid alanlarda sepsis riskini artırmaktadır (74, 81).

Dapson: Antiinflamatuvar etkisi olan bir sülfon türevidir. Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz eksikliği bulunanlarda hemoliz ve methemoglobinemiye yol açması nedeniyle kullanımı sınırlar. Dapson 100 mg/gün veya 1,5 mg/kg/gün dozunda steroidlerle beraber kullanılabilir (84, 88).

İntravenöz İmmüno globulin (IVIG): Pemfigusa neden olan ve hasta serumunda bulunan antikorların seviyesini azaltmaktadır. Klasik tedavilere yanıt vermeyen veya diğer tedavilere bağlı ciddi yan etki gelişen pemfigus olgularında kullanılabilir. Tedavi verilmeden önce IgA yetmezliği araştırılmalıdır. İntravenöz olarak birkaç saat içerisinde ve 2 gr/kg/gün dozunda 3-5 günlük sikluslar halinde verilir. Duruma göre 2-4 haftada bir tekrarlanır. Klinik iyileşme hızlı olur ve tedaviye devam edilmezse etki geçicidir. Bilinen yan etkiler; ateş, myalji, baş ağrısı, yüzde ani eritem, gastrointestinal semptomlar ve hipotansiyondur (84, 89).

Plazmaferez: Serumdaki patojenik antikorları hızla elimine eden bir yöntemdir. Antikor titresindeki rebound artışı önlemek için hastaya siklofosfamid veya kortikosteroidlerle immünsüpresyon tedavisi verilmelidir. En ciddi komplikasyonu sepsistir (84).

Rituksimab: B lenfositleri üzerindeki CD20 antijenini hedef alan bir monoklonal antikordur. Dolaşan B hücrelerini ve bu hücrelerin plazma hücresine dönüşümünü baskılar. Pemfigus tedavisinde sıklıkla 2 hafta ara ile 2 defa 1000 mg/gün (romatoid artrit protokolü) şeklinde uygulanır. Bir hafta ara ile dört defa 375 mg/m² (lenfoma protokolü) infüzyon şeklinde uygulama da mevcuttur. Bildirilen yan etkileri anafilaksi, sistemik

enfeksiyonlar, derin ven trombozu, uzun süreli hipogammaglobulinemi ve nütropenidir (90, 91).

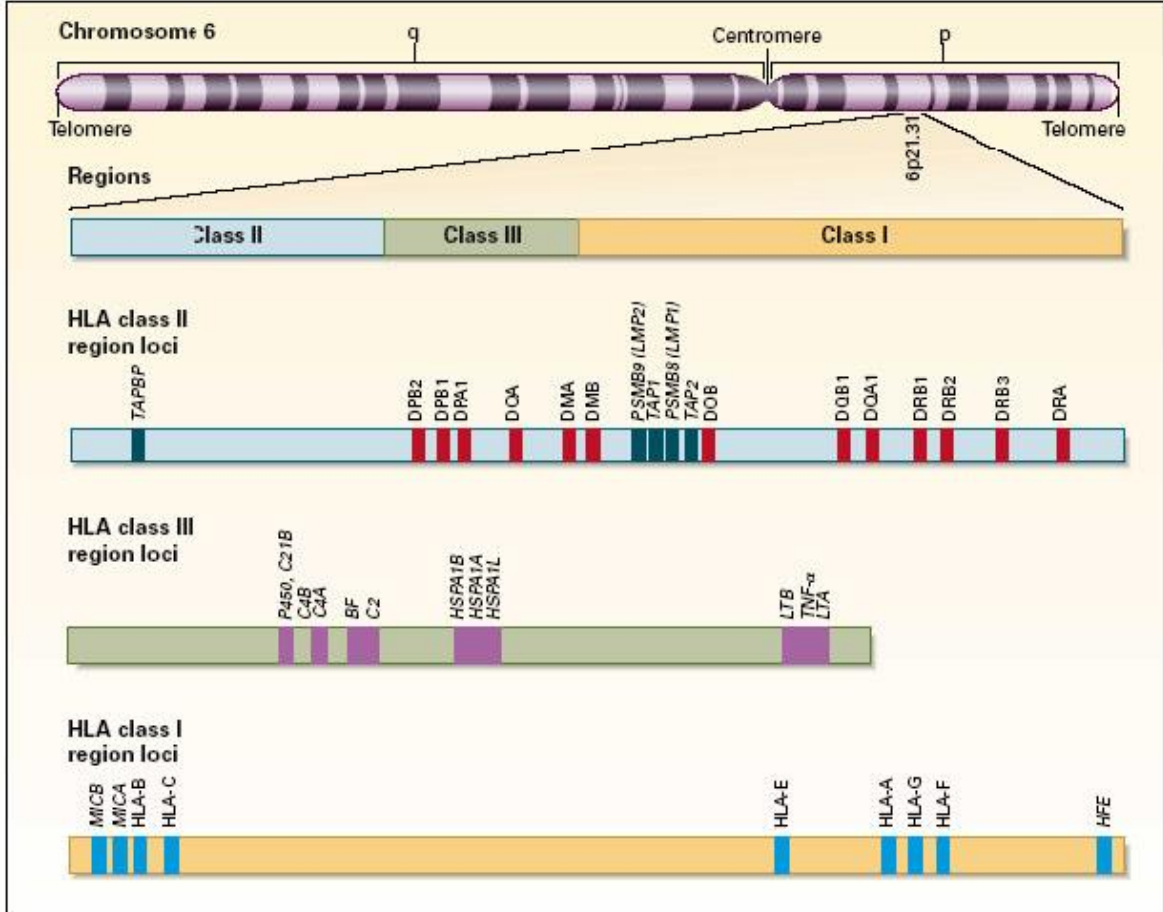
2.1.12. Prognoz

Kortikosteroidlerin kullanımından önce pemfigus hastalığı ölümlü sonuçlanıyordu. Kortikosteroidlerin uygulanmasıyla birlikte pemfiguslu hastaların prognozu dramatik olarak düzelmiştir ve mortalite azalmıştır, ancak kortikosteroidlerin yan etkilerine bağlı yaygın morbiditeler oluşabilmektedir. Tedavi edilmeyen pemfigus hastaların %80'i bir yıl içerisinde kaybedilir. Günümüzde mortalite %5-10'nun altındadır (57). Yüksek doz kortikosteroid kullanımına ihtiyacı azaltan adjuvan tedavi seçeneklerin artmış olması, enfeksiyonların yeni keşfedilen antibakteriyel ilaçlarla kontrol altında alınabilmesi, yan etkilerinin ve eşlik eden hipertansiyon, diyabetes mellitus gibi hastalıkların daha iyi tedavi edilebilmesi pemfigus prognozunun önemli oranda düzelmeye sağlayan gelişmelerdir. Kortikosteroid tedavisiyle mortalite oranında azalma olmakla birlikte ciddi morbidite nedeni olabilecek (osteoporoz, enfeksiyonlar, katarakt, diyabetes mellitus, hipertansiyon, lökopeni, hepatit, aseptik kemik nekrozu vs gibi) yan etkiler gelişiyor olması pemfigus tedavisinin olumsuzluklarıdır (58). Geçmişte hastalığın etkileri nedeniyle kaybedilen hastalar günümüzde kortikosteroid ve diğer immünoşüpresif tedavilerin yan etkileri sonucu kaybedilebilmektedir. Pemfigus seyri lezyonların yaygınlığına, tanı konuluncaya kadar aradan geçen süreye, hasta yaşına göre değişmektedir. Yaygın lezyonlar, ileri yaş ve yüksek doz kortikosteroidlerin kullanılması kötü prognostik kriterlerdir (58, 74, 81).

2.2. Majör Doku Uyum Kompleksi (Major Histocompatibility Complex=MHC)

İnsanda MHC, insan lökosit antijenleri (Human Leucocyte Antigen=HLA) olarak adlandırılır ve MHC antijenlerini kodlayan gen bölgesi 6. kromozomun kısa kolu (6p 21.3) üzerinde bir DNA alanıdır (Şekil 4). 1931 yılında Landsteiner eritrosit antijenlerinin keşfetmiş, 1930'lu yıllarda Peter A. Gorer ve George D. Snell farelerde doku antijenlerinin varlığından söz etmişler ve bunların gen bölgesine doku uyumu kompleksi adını vermişlerdir (92-94). MHC sistemi polimorfiktir ve kalıtım şekli ise Mendelyen ve kodominanttır. MHC insanda doku uygunluğunda rol oynar ve bağışıklığı denetler. HLA

moleküllerinin immün sistemdeki rolü T lenfositlere antijen sunmasıdır. T lenfositler antijeni direkt olarak tanıyamazken, HLA moleküllerine bağlanmış küçük peptid formunda tanıma işlemi gerçekleşebilir (94-96).



Şekil 4. HLA gen bölgesinin 6. kromozom üzerinde yerleşimi ve Sınıf I, II, III bölgeleri

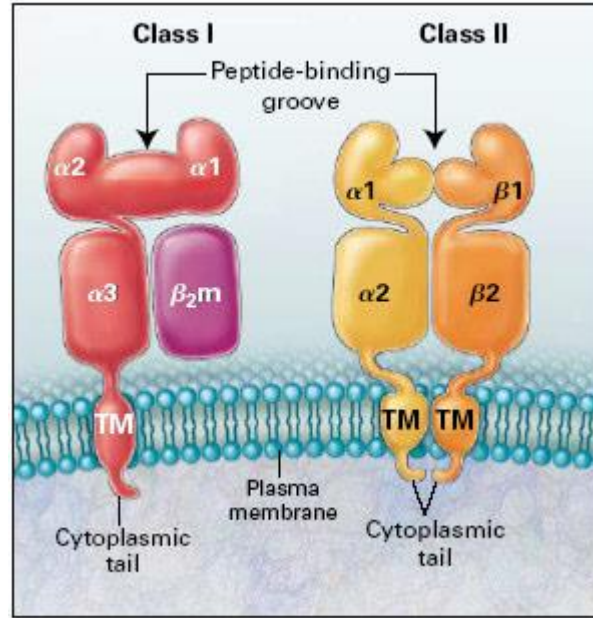
2.2.1. HLA Antijenlerinin Sınıflandırılması

HLA antijenleri yapısal ve fonksiyonel özelliklerine göre 3 gruba ayrılırlar (Şekil 4), (5, 94, 97-98).

1. Sınıf I Antijenler: Bu grupta HLA-A, -B, -C, -E, -F, -G antijenleri yer alır.
2. Sınıf II Antijenler: Bu grupta HLA-DR, -DQ, -DP antijenleri yer alır.
3. Sınıf III Antijenler: Bu grupta properdin faktör B (BF), C2, C4A, C4B, TNF, steroid-21 hidroksilaz A ve B yer alır.

CD8⁺ reseptörü Sınıf I HLA antijenlerini tanıırken, CD4⁺ reseptörleri ise Sınıf II HLA antijenlerini tanırlar.

Sınıf I Antijenler: Klasik Sınıf I (HLA-A, -B, -C) antijenleri vücutta tüm çekirdekli hücrelerin zarında bulunurlar. Alfa ($\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$) ve beta ($\beta 2$) olmak üzere farklı yapıda iki polipeptid zincirinden oluşmaktadırlar (97, 99), (Şekil 5).



Şekil 5. HLA sınıf I ve sınıf II molekülleri ⁹⁹

HLA-E,-F,-G non-klasik Sınıf-I (Class Ib) antijenleridir (5, 98). Klasik Sınıf I moleküllerine göre daha az dokuda eksprese olurlar. HLA-G; maternal fetüs toleransında rol oynadığı ispatlanmıştır (100). HLA-E, natural killer (NK) ile immün yanıtta görev alır (101). HLA-E bölgesi, klasik sınıf I genleri olan HLA-C ve HLA-A arasında lokalizedir. HLA-E geni, henüz bildirilen altı alleli (HLA-E*0101, HLA-E*0103X (HLA-E*01031, HLA-E*01032), HLA-E*0104, HLA-E*0105, HLA-E*0106, HLA-E*0107) olan gendir (102). HLA-E*0101 ve HLA-E*0103X HLA-E'de 107. kodonun 3. eksonun $\alpha 2$ alanında G'den A'ya tek nükleotidin yerine konmasıyla ayırt edilir, böylece arjinin (HLA-E*0101) yerine glisin (HLA-E*103X) aminoasidini kodlar (103). HLA-E*0103X'in yapısal olarak benzer iki varyant alt tipi mevcuttur, HLA-E*01031 ve HLA-E*01032, bunlar asparajin sentezlenmesini sağlayan HLA-E 77. kodondaki (AAT=HLA-E*01031; AAC=HLA-E*01031) T'den C'ye tek nükleotidin polimorfizminin sessiz farklılaşmasıyla oluşur (104).

Sınıf II Antijenler: Sınıf II HLA molekülleri monositler, aktive T lenfositleri, B lenfositleri, langerhans ve dendritik hücrelerin yüzeyinde bulunur. Makrofaj ve

lenfositlerin etkileşiminde rol oynamaktadırlar. HLA sınıf II molekülleri 2 alfa ($\alpha 1$, $\alpha 2$) ve 2 beta ($\beta 1$, $\beta 2$) olmak üzere iki zincirinden oluşurlar (Şekil 5), (97-99).

Sınıf III Antijenler: Sınıf III antijenleri Sınıf I ve sınıf II bölgeleri arasında yer almaktadır. Kompleman sistemin klasik yolunun C_2 , C_{4b} , C_{4a} alternatif yolun properdin faktör B komponentlerini ve tümör nekrozis faktör α ve β 'yi kodlar. Transplantasyon antijenleri olarak rol oynamazlar ve T hücrelerine antijen sunmamaktadırlar (94, 97).

2.2.2. HLA ve İlişkili Hastalıklar

HLA allellerinin tanımlanması, belirli hastalıklar ile spesifik HLA antijenleri arasındaki ilişkiyi ortaya koymaktadır. HLA-hastalık ilişkilerinin büyük kısmının etyolojik yapısı bilinmemektedir ve bunların çoğu otoimmündür. İmmün yanıt genlerdeki polimorfizmden kaynaklanan veya daha çok antijene karşı gelişmiş anormal bir immün yanıtla ilişkilidir. HLA molekülleri sadece hastalığa yatkınlığı gösteren bir özelliktir. Hastalığın ortaya çıkmasına, çok sayıda faktörün birlikte bulunması neden olmaktadır (94, 97). Sunulacak peptidleri ve oluşacak immün yanıtın özelliklerini, HLA molekülleri kadar, antijenlerin işlenmesi sırasında oluşan peptidlerin yapısı da belirlemektedir. HLA ile ilişkilendirilen çeşitli hastalıkların rölatif riskleri Tablo 1'de özetlenmektedir. Rölatif risk ne kadar yüksek ise o antijene, hasta nüfusunda o kadar sık rastlanmaktadır (105).

Tablo 1. HLA ile ilişkilendirilen çeşitli hastalıklar

Hastalık	HLA	Rölatif Risk
Ankilozan spondilit	B27	87.4
Dermatitis Herpetiformis	DR3	56.4
Reiter hastalığı	B27	37.0
Reaktif artrit	B27	29.7
Üveit	B27	14.6
Subakut tiroidit	B35	13.7
Sjögren sendromu	DR3	9.7
Amiloid ve romatoid artrit	B27	8.2
Tüberküloid lepra	DR2	8.1
Multipl sklerozis	DR2	4.8
Myastenia gravis	B8	4.4

HLA Antijenleri ve Pemfigus İlişkisi: HLA antijenleri ile pemfigus ilişkisini gösteren çalışmalar mevcuttur. Pemfigus vulgaris hastaları ile çeşitli toplumlarda gerçekleştirilen genetik çalışmalarda hastalık ile HLA grupları arasında anlamlı ilişkiler saptanmıştır. Japon ve Yahudi pemfigus vulgarisli hastalarda HLA-A10 insidansının arttığı tespit edilmesiyle pemfigusun etyopatogenezeine genetik predispozisyon ilk kez gündeme gelmiştir (106, 107). Ülkemizde gerçekleştirilen, pemfigus ve HLA ilişkisini değerlendiren çalışmalara göre, pemfigus grubunda HLA-B35, B44, CW4, DR4, DR14, DQ8, DQ4, CW*01, DRB1*04, DRB1*14, DQB1*05 ve DPB1*0401 kontrol grubuna göre yüksek saptanmıştır.(7-9). Yan ve arkadaşları 2012 yılında yayınlanan bir metaanalizle tüm toplumlarda çeşitli çalışmalarda bildirilen HLA-DRB1 polimorfizminin pemfigusla ilişkisini değerlendirmişler, sonuç olarak HLA-DRB1*04, DRB1*08 ve DRB1*14'ü pemfigus vulgaris için yatkınlık faktörü olarak tanımlamışlardır (10).

HLA-E gen polimorfizminin Behçet hastalığı, tip 1 diyabetes mellitus, deneysel otoimmün ensefalomyelit, multipl skleroz ve çölyak hastalığı gibi çeşitli otoimmün hastalıklara yatkınlıkta rolü olabileceğine dair çalışmalar mevcuttur (12, 108-111). Heterozigot HLA-E*0101/*0103X genotip erken başlangıçlı tip I diyabetes mellitus ile homozigot HLA-E*0103/*0103* genotipi ise Behçet hastalığı ile ilişkili olduğu saptanmıştır (12, 108). Dhaval ve arkadaşların yaptığı çalışmada, pemfigus hastalarında kontrol grubundan farklı olarak saptanan HLA-E*0103X/*0103X genotipin hastalığa yatkınlık nedeni olabileceği ileri sürülmüştür (4).

Gazit ve arkadaşları HLA-G ekspresyonu ile Yahudi pemfigus vulgaris hastaları arasında ilişkili olduğunu göstermiştir (5). Yari ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada RT-PCR yöntemi kullanılarak PV hastaların epidermal hücreleri sağlıklı bireyler ile karşılaştırıldı. PV hastalarında kontrol grubuna göre HLA-G1 transkripsiyonunda artış, HLA-G2 transkripsiyonun da ise azalma saptandı. Bu da PV ve sağlıklı bireylerin epidermal hücrelerinde HLA-G transkripsiyonun farklı olduğunu göstermektedir (98).

3. MATERYAL VE METOD

Çalışmaya, Mayıs 2013-Mayıs 2014 tarihleri arasında Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı rutin polikliniklerine ve/veya Büllü Hastalıklar spesifik polikliniğine başvuran, dermatolojik muayeneleri yapılarak, klinik, histolojik ve direkt immünofloresan bulguları ile pemfigus vulgaris tanısı konulan hastalar çalışmaya davet edildi.

Çalışmaya dahil olma kriterleri:

1. Dermatolojik muayene, histolojik ve IF incelemeler sonucunda Pemfigus vulgaris tanısı konmuş olmak
2. Çalışmaya katılma konusunda onam vermiş olmak
3. Ek otoimmün hastalığı bulunmamak

Çalışmaya dahil olma kriterlerine uyan yaşları 23 ve 79 arasında olan 49 ardışık PV hastası çalışmaya alındı.

Kontrol grubu olarak ise bilinen herhangi bir sistemik hastalığı olmayan, yaş ve cinsiyet özellikleri çalışma grubuna benzer ve çalışmaya katılma konusunda onam veren 50 sağlıklı birey çalışmaya davet edildi.

Çalışmaya alınan bireylerin adı, soyadı, cinsiyeti, hastanın başvuru şikayeti, lezyonların ilk çıkış zamanı, lezyonların başlangıç yeri, lezyon sayısı, tanı araçları, alınan sistemik ve topikal tedaviler ve süreleri, hastalık ve ilaç öyküsü veri formuna (Ek.1) kaydedildi.

3.1. Çalışma Örneklerinin Toplanması

Her iki gruptaki olgulardan Hasta Onam Formu (Ek.2)'nu imzalayıp çalışmaya katılmayı kabul eden bireylerin her birinden 8-10 ml periferik kan örneği EDTA'lı tüplere alındı.

3.2. Örneklerden DNA İzolasyonu

10 ml'lik EDTA'lı tüplerdeki periferik kan örneklerinden DNA izolasyonları yapıldı. EDTA'lı kan 50 ml'lik falkon tüplere boşaltıldı ve üzerine 40 ml 121 °C'de 30 dakika otoklavlanmış eritrosit lizis tamponu eklenerek eritrositlerin parçalanması için 30 dakika buzda bekletildi. 2500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve üst faz kısmı atıldı. Bu yıkama işlemi iki kez tekrarlandıktan sonra, çökelti üzerine 3 ml nüklei lizis tamponu, 200 µl %10'luk SDS, 150 µl proteinaz K (10 mg/ml) eklenerek 37°C'lik etüvde bir gece (O/N) bekletildi. Etüvden çıkartılan tüplere yaklaşık 1–1,5 ml 6M NaCl eklenerek 10 saniye hızlıca çalkalandı. Oda sıcaklığında 10 dakika bekletilen tüpler 6000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi. Üst faz temiz bir tüpe alındı. Üst fazın üzerine, 3 katı kadar %96'luk soğuk (-20 °C) etil alkol döküldü. Etil alkol dökülen tüp hafifçe alt-üst edildi ve bu şekilde DNA'nın presipite olması sağlandı. Presipite olan DNA pipet ucuyla 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpe alınarak üzerine 500 µL %70'lik soğuk (-20 °C) etil alkol eklendi ve alt-üst edilerek santrifüjde 10.000 rpm'de 30 saniye çevrilerek DNA'nın çökmesi sağlandı. Hızlı santrifüj işlemi tekrarlandı ve tüpte kalan etil alkol pipet ucu ile alındı. 65°C'lik etüvde DNA 20 dakika kurutulduktan sonra üzerine 500 µL TE eklenerek çözüldü (112).

3.3. Spektrofotometrede DNA Konsantrasyonunun Ölçümü

İzole edilen DNA'ların dilüsyonları hazırlandıktan sonra eppendorf marka spektrofotometrede 5 µl örnek + 95 µl dH₂O olacak şekilde sulandırılarak 260/280, 260/230 oranları ve DNA'nın konsantrasyonu ölçüldü. DNA'lar istenen konsantrasyonlarda sulandırılarak çalışma solüsyonları hazırlandı.

3.4. HLA-E geninin DNA dizi analizi ile taranması

DNA dizi analizi hastaların genomik DNA'sı üzerinden yapıldı. Öncelikle HLA-E geninin kodlayan bölgelerini amplifiye edebilecek primer dizileri dizayn edildi. Primer dizaynı için Primer3 program kullanıldı (113). Dizayn edilen primerler kullanılarak HLA-E geninin protein kodlayan bölgeleri PCR ile amplifiye edildi. PCR ürünleri agaroz jelde yürütülerek kaliteleri kontrol edildi ve PCR ürünleri pürifikasyon kitleri ile genomik DNA, dNTP ve primer kalıntılarından arındırıldı. Saflaştırılmış PCR ürünleri amplifikasyon

pirimerleri kullanılarak ABI PRISM BigDye Terminator v3.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit ile amplifiye edildi. Cycle Sequencing reaksiyon ürünleri sefadekten geçirilerek saflaştırıldı ve Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalının altyapısında bulunan Genetik Analizör cihazında (ABI Prism 3130) yürütülerek dizleme işlemi gerçekleştirildi. Elde edilen diziler HLA-E geninin referans dizisi (NM_005516) ile Genetik Analizör cihazı üzerinde bulunan SeqScape programı aracılı ile karşılaştırılarak hasta DNA'larındaki varyasyonlar belirlendi.

3.5. Kontrol grubunun taranması

Çalışma grubunu oluşturan bireylerde aminoasit değişimine neden olan bir nükleotid değişimi görüldüğünde bu değişim 50 kişiden oluşan kontrol grubunda RFLP, ARMS veya DNA dizi analizi gibi bir mutasyon tarama yöntemi kullanılarak tarandı.

HLA-E referans DNA dizisinde bulunan nükleotid değişimlerinin hangi HLA-E haplotiplerine karşılık geldiğini belirlemek için HLA referans dizi haplotipleri kullanıldı (114).

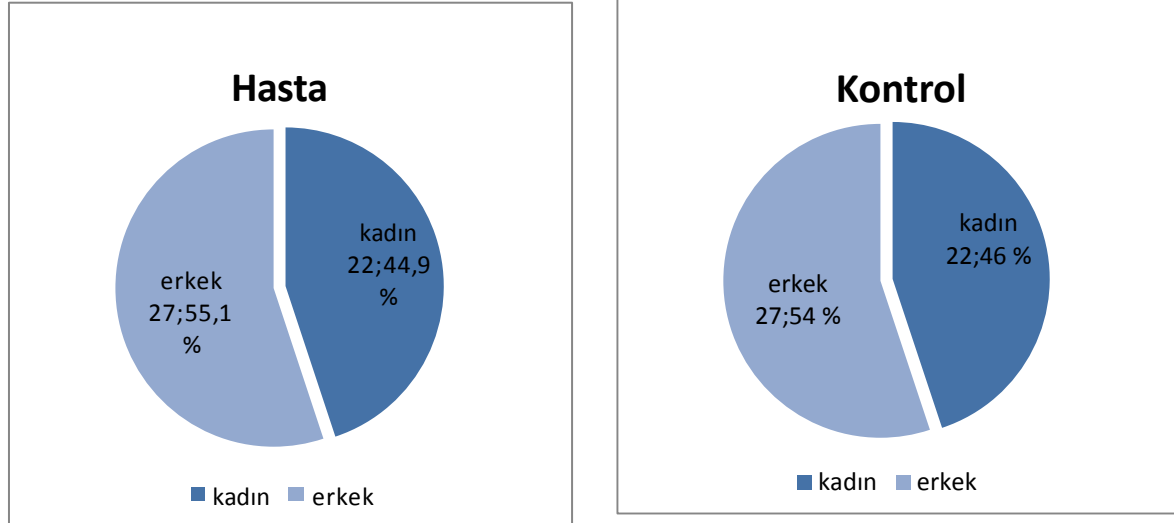
3.6. İstatistiksel Analiz

Çalışmanın istatistiksel analizlerinde SPSS 13.0 paket programı kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler sayı, yüzde, ortalama ve standart sapma olarak özetlenmiştir. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ki-kare testi, iki grup arasındaki ölçümsel verilerin karşılaştırılmasında veriler normal dağılıma uyduğunda Student t testi, uymadığında Mann Whitney U Testi kullanılmıştır. Çalışmadaki istatistiksel analizlerde p değeri 0.05'in altındaki karşılaştırmalar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 49 pemfigus vulgaris hastasının 22'si (%44,9) kadın, 27'si (%55,1) erkek idi. Kontrol grubu ise 23 (%46) kadın, 27 (%54) erkek olmak üzere toplam 50 kişiden oluşmaktaydı. Pemfigus vulgaris hastalarının yaşları 23 ile 79 arasında, kontrol grubundaki bireylerin yaşları 24 ile 79 arasında idi. Hasta ve kontrol gruplarının yaş ortalamaları sırası ile $53,28 \pm 14,70$ ve $53,22 \pm 14,71$ idi. Gruplar arasında cinsiyet ve yaş açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Hasta ve kontrol grubunun cinsiyet ve yaş açısından karşılaştırılması Şekil 6 ve Tablo 2'de verilmiştir.

Şekil 6. Pemfigus vulgarisli hastalar ve kontrol grubunun cinsiyete göre dağılımları

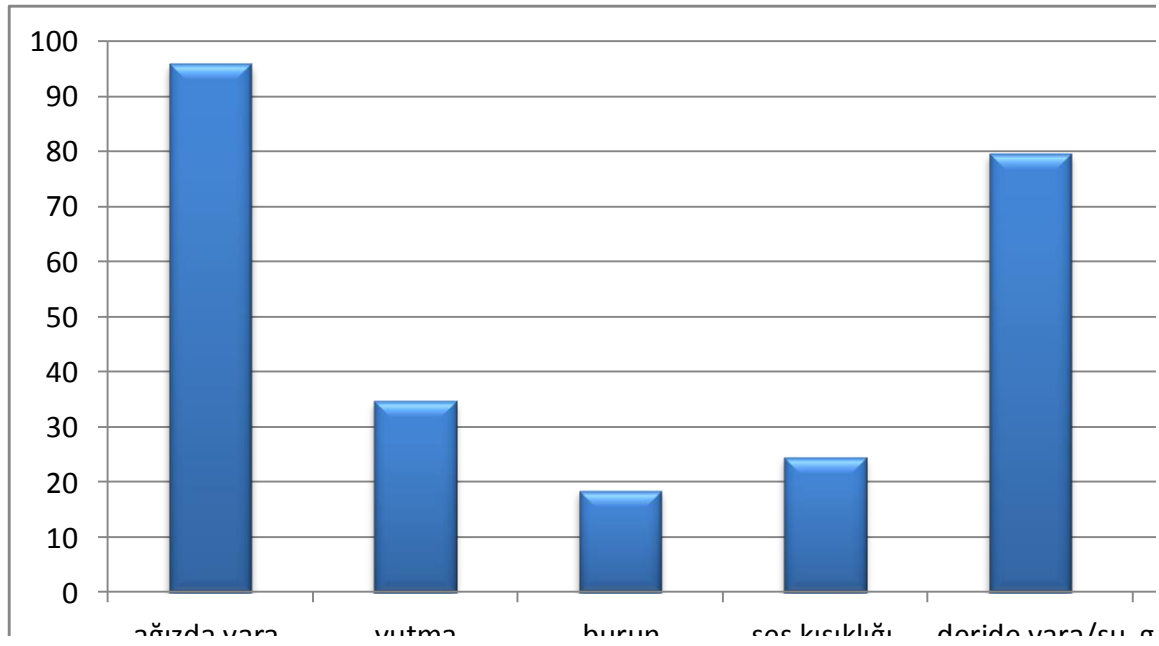


Çalışmamızda pemfigus vulgarisli hasta grubunda 11 kişide (%22,4), kontrol grubunda ise 13 kişide (%26) anne ve baba arasında akraba evliliği öyküsü saptandı. Akraba evliliği sıklığı açısından hasta grubu ve kontrol grubu karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,859$), (Tablo 2).

Tablo 2. Pemfigus vulgarisli hastalarında klinik özellikler

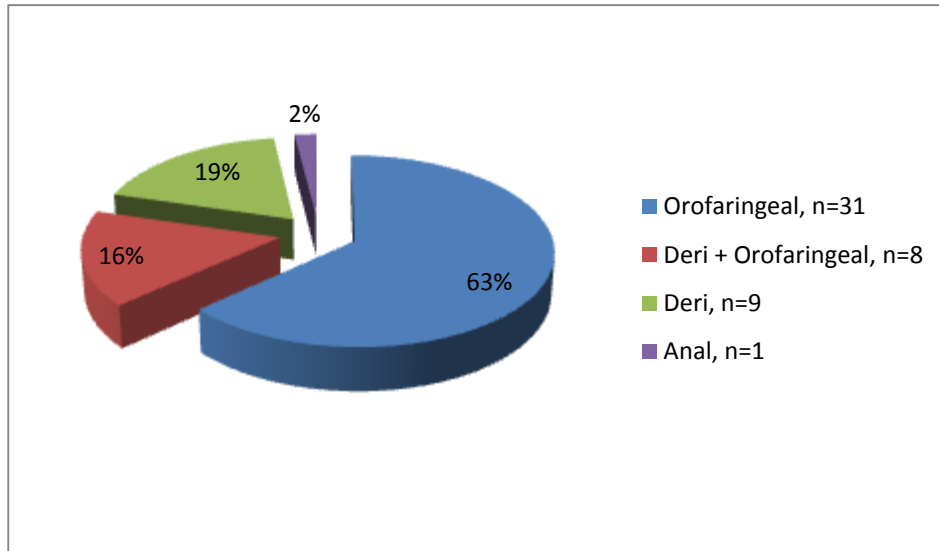
		Pemfigus	Kontrol	p
Yaş (± SD)		53,28 ± 14,70	53,22± 14,71	0,985
Cinsiyet	Kadın, n (%)	22 (%44,9)	23 (%46)	1,000
	Erkek, n (%)	27 (%55,1)	27 (%54)	
Akraba evliliği		11 (%22,4)	13 (%26)	0,859
Klinik tip	Mukokutanöz, n (%)	38 (77,6)		
	Mukozal, n (%)	10 (20,4)		
	Deri, n (%)	1 (2)		
Hastalık süresi (ay)		44,45±45,68		
PDA skoru	Aktivite yok	19/49 (38,8)		
	Çok hafif (1-5)	10/49 (20,4)		
	Hafif (6-10)	8/49 (16,3)		
	Orta (11-40)	7/49 (14,3)		
	Şiddetli (41-100)	4/49 (8,2)		
	Çok şiddetli (101-250)	1/49 (2)		

Çalışmaya alınan pemfigus vulgarisli hastalarda başvuru şikayetleri sırasıyla şunlardır: Ağızda yara (47/49), yutma güçlüğü/ağrı (17/49), burun kanaması (9/49), ses kısıklığı (12/49), deride yara/su toplama (39/49) ve gözde kızarma (7/49) (Şekil 7).



Şekil 7. Pemfigus vulgarisli hastalarda başvuru şikayetlerin dağılımı

Çalışmaya alınan pemfigus vulgarisli hastalarda lezyonların başlangıç yerleri sırasıyla: Orofaringeal (%63,3), deri ve orofaringeal birlikteliği (%16,3), deri (%18,4) ve anal (%2) (Şekil 8).



Şekil 8. Pemfigus vulgarisli hastalarda lezyonların başlangıç bölgelerine göre dağılımı

4.1. HLA-E genotipleri varlığının karşılaştırılması

Pemfigus vulgaris ve HLA-E arasındaki ilişkiyi belirleyebilmek için çalışma grubundaki hastalar ve sağlıklı kontrol grubu arasında HLA-E genotiplerinin sıklığını karşılaştırdık (Tablo 3). HLA-E genotipleri sırasıyla şunlardır: *0101/*0101, *0101/*0103X (*0101/*010301, *0101/*010302), *0103X/*0103X (*010301/*010301, *010301/*010302, 010302/*010302) ve *0101/*0106.

Homozigot HLA-E*0103X/*0103X genotip varlığı, hasta grubunda 7 kişide (%14,3), kontrol grubunda ise 17 kişide (%34) saptandı. Bu genotipin varlığı açısından hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,040$), (Tablo 3).

Homozigot HLA-E*0101/*0101 genotip varlığı, hasta grubunda 9 kişide (%18,4), kontrol grubunda ise 10 kişide (%20) saptandı. Bu genotipin varlığı açısından hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında aradaki istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=1,000$), (Tablo 3).

Heterozigot HLA-E*0101/*0103X genotip varlığı, hasta grubunda 32 kişide (%65,3), kontrol grubunda ise 23 kişide (%46) saptandı. Bu genotipin varlığı açısından hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,084$), (Tablo 3).

Heterozigot HLA-E*0101/*0106 genotip varlığı, hasta grubunda sadece 1 kişide (%2) saptandı, kontrol grubunda ise saptanmadı. Bu genotipin varlığı açısından hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,495$), (Tablo 3).

Tablo 3. Pemfigus vulgarisli hastalar ve kontrol grubunun HLA-E genotiplerinin varlığı açısından karşılaştırılması

	HLA-E*0101/*0101 (%)			HLA-E*0101/*0103X (%)			HLA-E*0103X/*0103X (%)		
	PV	Kontrol	p	PV	Kontrol	P	PV	Kontrol	p
Toplam	18,4 (9/49)	20 (10/50)	1,000	65,3 (32/49)	46 (23/50)	0,084	14,3 (7/49)	34 (17/50)	0,040
Erkek	11,1 (3/27)	11,1 (3/27)	1,000	81,5 (22/27)	48,1 (13/27)	0,023	3,7 (1/27)	40,7 (11/27)	0,003
Kadın	27,3 (6/22)	30,4 (7/23)	1,000	45,5 (10/22)	43,5 (10/23)	1,000	27,3 (6/22)	26,1 (6/23)	1,000

PV: Pemfigus vulgaris

4.2. HLA-E Genotiplerinin Cinsiyete Göre Dağılımı

Çalışmamızda pemfigus vulgarisli hastalar ve kontrol grubunda HLA-E genotiplerinin cinsiyetler ile ilişkisini araştırdık (Tablo 3).

Homozigot HLA-E*0103X/*0103X genotip varlığı, hasta grubundaki erkeklerde yalnızca 1 kişide (%3,7), kontrol grubundaki erkeklerde ise toplam 11 kişide (%40,7) saptandı. Bu genotipin varlığı açısından erkek hasta grubu ve erkek kontrol grubu karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,003$), (Tablo 3).

Homozigot HLA-E*0101/*0101 genotip varlığı, hasta grubundaki erkeklerde 3 kişide (%11,1), kontrol grubundaki erkeklerde ise 3 kişide (%11,1) saptandı. Bu genotipin varlığı açısından erkek hasta grubu ve erkek kontrol grubu karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=1,000$), (Tablo 3).

Heterozigot HLA-E*0101/*0103X genotip varlığı, hasta grubundaki erkeklerde 22 kişide (%81,5), kontrol grubundaki erkeklerde ise 13 kişide (%48,1) saptandı. Bu genotipin varlığı açısından erkek hasta grubu ve erkek kontrol grubu karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,023$), (Tablo 3).

Homozigot HLA-E*0103X/*0103X genotip varlığı, hasta grubundaki kadınlarda 6 kişide (%27,3), kontrol grubundaki kadınlarda ise 6 kişide (%26,1) saptandı. Bu genotipin varlığı açısından kadın hasta grubu ve kadın kontrol grubu karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=1,000$), (Tablo 3).

Homozigot HLA-E*0101/*0101 genotip varlığı, hasta grubundaki kadınlarda 6 kişide (%27,3), kontrol grubundaki kadınlarda ise 7 kişide (%30,4) saptandı. Bu genotipin varlığı açısından kadın hasta grubu ve kadın kontrol grubu karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=1,000$), (Tablo 3).

Heterozigot HLA-E*0101/*0103X genotip varlığı hasta grubundaki kadınlarda 10 kişide (%45,5), kontrol grubundaki kadın ise 10 kişide (%43,5) saptandı. Bu genotipin varlığı açısından kadın hasta grubu ve kadın kontrol grubu karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=1,000$), (Tablo 3).

4.3. HLA-E*0101/0103X ve HLA-E*0103X/0103X genotip alt tiplerinin varlığının karşılaştırılması

Çalışmamızda pemfigus vulgarisli hastalar ve kontrol grubunda HLA-E*0101/0103X ve HLA-E*0103X/0103X genotiplerinin alt tipleri olan HLA-E*0101/010301, *0101/010302, *010301/010301, *010301/010302, *010302/010302 genotiplerinin varlığını araştırdık. İki grup bu genotip alt tiplerinin varlığı açısından karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo 4).

Tablo 4. Pemfigus vulgarisli hastalar ve kontrol grubunun HLA-E*0101/0103X ve HLA-E*0103X/0103X genotip alt tiplerinin varlığı açısından karşılaştırılması

HLA-E	Pemfigus	Kontrol	p
*0101/*010301	11 (%22,4)	6 (%12)	0,266
*0101/*010302	21 (%42,9)	17 (%34)	0,484
*010301/*010301	1 (%2)	2 (%4)	1,000
*010301/*010302	3 (%6,1)	8 (%16)	0,214
*010302/*010302	3 (%6,1)	7 (%14)	0,318

4.4. HLA-E*0101/0103X ve HLA-E*0103X/0103X Genotip Alt Tiplerinin Cinsiyet ile İlişkisi

Çalışmamızda pemfigus vulgarisli hastalar ve kontrol grubunda HLA-E*0101/0103X ve HLA-E*0103X/0103X genotiplerinin alt tipleri olan HLA-E*0101/010301, *0101/010302, *010301/010301, *010301/010302, *010302/010302 genotiplerinin cinsiyetler ile ilişkisini araştırdık (Tablo 5). Bu genotip alt tiplerinin varlığı açısından erkek hasta grubu, erkek kontrol grubu ile kadın hasta grubu ise kadın kontrol grubu ile karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo 5).

Tablo 5. HLA-E*0101/0103X ve HLA-E*0103X/0103X genotip alt tiplerinin varlığı açısından cinsiyete göre karşılaştırılması

HLA-E	Kadın			Erkek		
	Pemfigus	Kontrol	p	Pemfigus	Kontrol	p
*0101/*010301	4 (%18,2)	3 (%13)	0,699	7 (%25,9)	3 (%11,1)	0,293
*0101/*010302	6 (%27,3)	7 (%30,4)	1,000	15 (%55,6)	10 (%37)	0,275
*010301/*010301	1 (%4,5)	1 (%4,3)	1,000	-	1 (%3,7)	1,000
*010301/*010302	2 (%9,1)	2 (%8,7)	1,000	1 (%3,7)	6 (%22,2)	0,100
*010302/*010302	3 (%13,6)	3 (%13)	1,000	-	4 (%14,8)	0,111

4.5. HLA-E Allel Varlığının Karşılaştırılması

Çalışmamızda pemfigus vulgarisli hastalar ve kontrol grubunda HLA-E allel varlığını da karşılaştırdık (Tablo 6).

HLA-E*0101 allellerin 51'i (%52) hasta grubunda, 43'ü (%43) ise kontrol grubunda saptandı. Bu allelin varlığı açısından iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,203$) (Tablo 6).

HLA-E*0103 allellerin 46'sı (%46,9) hasta grubunda, 57'si (%57) ise kontrol grubunda saptandı. Bu allel varlığı açısından iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,157$), (Tablo 6).

HLA-E*0106 alleli ise hasta grubunda 1 kişide, kontrol grubunda ise saptanmadı.

Tablo 6. Pemfigus vulgarisli hastalar ve kontrol grubunun HLA-E allellerinin varlığı açısından karşılaştırılması

HLA-E	Pemfigus (n=98)	Kontrol (n=100)	p
*0101	51 (%52)	43 (%43)	0,203
*0103X	46 (%46,9)	57 (%57)	0,157

Çalışmamızda pemfigus vulgarisli hastalar ve kontrol grubunda HLA-E*0103X allel alt tiplerinin de varlığını karşılaştırdık (Tablo 7).

Hasta grubunda HLA-E*010302 allel 30 kişide (%65,2), kontrol grubunda ise 39 kişide (%68,4) saptandı. Bu allelin varlığı açısından iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,235$), (Tablo 7).

Hasta grubunda HLA-E*010301 allel 16 kişide (%34,8), kontrol grubunda 18 kişide (%31,6) saptandı. Bu allelin varlığı açısından iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,851$), (Tablo 7).

Tablo 7. Pemfigus vulgarisli hastalar ve kontrol grubunun HLA-E*0103X allel alt tiplerinin varlığı açısından karşılaştırılması

*0103X	Pemfigus	Kontrol	p
*010301	16 (%16,3)	18 (%18)	0,851
*010302	30 (%30,6)	39 (%39)	0,235

4.6. HLA-E Genotiplerinin Hasta Ve Kontrol Grubunda Cinsiyete Göre Karşılaştırılması

Çalışmamızda pemfigus vulgarisli hastalar ve kontrol grubunda HLA-E genotiplerinin varlığını cinsiyete göre karşılaştırdık (Tablo 8).

Homozigot HLA-E*0103X/*0103X genotip varlığı, hasta grubundaki erkeklerde yalnızca 1 kişide (%3,7), kadınlarda ise 6 kişide (%27,3) saptandı. Bu iki grup, HLA-E*0103X/*0103X genotipin varlığı açısından karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,036$), (Tablo 8).

Homozigot HLA-E*0101/*0101 genotipin varlığı hasta grubundaki erkeklerde 3 kişide (%11,1), kadınlarda ise 6 kişide (%27,3) saptandı. Bu iki grup, HLA-E*0101/*0101 genotipin varlığı açısından karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,266$), (Tablo 8).

Heterozigot HLA-E*0101/*0103X genotip varlığı hasta grubundaki erkeklerde 22 kişide (%81,5), kadınlarda ise 10 kişide (%45,5) saptandı. Bu iki grup, HLA-E*0101/*0103X genotipin varlığı açısından karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,020$), (Tablo 8).

Homozigot HLA-E*0103X/*0103X genotip varlığı, kontrol grubundaki erkeklerde 11 kişide (%40,7), kadınlarda ise 6 kişide (%26,1) saptandı. Bu iki grup, HLA-E*0103X/*0103X genotipin varlığı açısından karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,429$), (Tablo 8).

Homozigot HLA-E*0101/*0101 genotip varlığı, kontrol grubundaki erkeklerde 3 kişide (%11,1), kadınlarda ise 7 kişide (%30,4) saptandı. Bu iki grup, HLA-E*0101/*0101 genotipin varlığı açısından karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,155$), (Tablo 8).

Heterozigot HLA-E*0101/*0103X genotip varlığı, kontrol grubundaki erkeklerde 13 kişide (%48,1), kadınlarda ise 10 kişide (%43,5) saptandı. Bu iki grup, HLA-E*0101/*0103X genotip varlığı açısından karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,964$), (Tablo 8).

Tablo 8. Pemfigus vulgarisli hastalar ve kontrol grubunda HLA-E genotiplerinin varlığı açısından cinsiyete göre karşılaştırılması

HLA*E	Pemfigus			Kontrol		
	Erkek	Kadın	p	Erkek	Kadın	p
*0101/*0103X	22 (%81,5)	10 (%45,5)	0,020	13 %48,1)	10 %43,5)	0,964
*0103X/*0103X	1 (%3,7)	6 (%27,3)	0,036	11 %40,7)	6 (%26,1)	0,429
*0101/*0101	3 (%11,1)	6 (%27,3)	0,266	3 (%11,1)	7 (%30,4)	0,155
*0101/*0106	1 (3,7)	-	-	-	-	-

4.7. HLA-E*0101/0103X ve HLA-E*0103X/0103X Genotip Alt Tiplerinin Hasta ve Kontrol Grubunda Cinsiyete Göre Karşılaştırılması

Çalışmamızda pemfigus vulgarisli hastalar ve kontrol grubunda HLA-E*0101/0103X ve HLA-E*0103X/0103X genotiplerinin alt tipleri olan HLA-E*0101/010301, *0101/010302, *010301/010301, *010301/010302, *010302/010302 genotiplerinin varlığının cinsiyetlere göre dağılımını araştırdık (Tablo 9). Bu genotip alt tiplerinin varlığı açısından erkek hasta grubu, kadın hasta grubu ile erkek kontrol grubu ise kadın kontrol grubu ile karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo 9).

Tablo 9. Pemfigus vulgarisli hastalar ve kontrol grubunda HLA-E*0101/0103X ve HLA-E*0103X/0103X genotip alt tiplerinin varlığı açısından cinsiyete göre karşılaştırılması

HLA-E	Pemfigus			Kontrol		
	Erkek	Kadın	p	Erkek	Kadın	p
*0101/*010301	7 (%25,9)	4 (%18,2)	0,732	3 (%11,1)	3 (%13)	1,000
*0101/*010302	15 (%55,6)	6 (%27,3)	0,089	10 (%37)	7 (%30,4)	0,848
*010301/*010301	-	1 (%4,5)	0,449	1 (%3,7)	1 (%4,3)	1,000
*010301/*010302	1 (%3,7)	2 (%9,1)	0,581	6 (%22,2)	2 (%8,7)	0,261
*010302/*010302	-	3 (%13,6)	0,084	4 (%14,8)	3 (%13)	1,000

4.8. Hasta grubunda HLA-E Genotiplerinin Varlığının Pemfigus Vulgaris Klinik Tiplerine Göre Karşılaştırılması

Çalışmamızda hasta grubunda HLA-E genotiplerinin varlığını, pemfigus vulgarisin klinik tiplerine göre dağılımını karşılaştırdık (Tablo 10).

Homozigot HLA-E*0101/*0101 genotip varlığı, mukokutanöz pemfigus vulgarisli hastalarda 3 kişide (%7,9), mukozal pemfigus vulgarisli hastalarda ise 5 kişide (%50) saptandı. Bu genotipin varlığı açısından pemfigus vulgarisin bu iki klinik tipi karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,006$), (Tablo 10).

Heterozigot HLA-E*0101/*0103X genotip varlığı, mukokutanöz pemfigus vulgaris hastalarında 30 kişide (%78,9), mukozal pemfigus vulgaris hastalarında ise 2 kişide (%20) saptandı. Bu genotipin varlığı açısından pemfigus vulgarisin bu iki klinik tipi karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,001$), (Tablo 10).

Homozigot HLA-E*0103X/*0103X genotip varlığı, mukokutanöz pemfigus vulgarisli hastalarda 5 kişide (%13,2), mukozal pemfigus vulgarisli hastalarda ise 2 kişide (%20) saptandı. Bu genotipin varlığı açısından pemfigus vulgarisin bu iki klinik tipi karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,625$), (Tablo 10).

Tablo 10. Hasta grubunda HLA-E genotiplerinin varlığı açısından pemfigus vulgarisin klinik tiplerine göre karşılaştırılması

	Mukokutanöz PV (n=38)	Mukozal PV (n=10)	P
HLA-E*0101/*0101 (%)	3/38 (7,9)	5/10 (50)	0,006
HLA-E*0101/*0103X (%)	30/38 (78,9)	2/10 (20)	0,001
HLA-E*0103X/*0103X (%)	5/38 (13,2)	2/10 (20)	0,625
HLA-E*0101/*0106 (%)	-	1/10 (10)	0,208

PV: Pemfigus vulgaris

Çalışmamızda pemfigus vulgarisli hastalarda HLA-E*0101/0103X ve HLA-E*0103X/0103X genotiplerinin alt tipleri olan HLA-E*0101/010301, *0101/010302, *010301/010301, *010301/010302, *010302/010302 genotiplerinin varlığının pemfigus vulgarisin klinik tiplerine göre dağılımını da araştırdık (Tablo 11). Bu genotip alt tiplerinin varlığı açısından mukokutanöz pemfigus vulgaris ve mukozal pemfigus vulgaris karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo 11).

Tablo 11. Hasta grubunda HLA-E genotiplerin alt tiplerinin varlığı açısından pemfigus vulgarisin klinik tiplerine göre karşılaştırılması

	Mukokutanöz PV, n (%)	Mukozal PV, n (%)	p
HLA-E*0101/*010301	11 (28,9)	-	0,089
HLA-E*0101/*010302	19 (50)	2 (20)	0,152
HLA-E*010301/*010301	1(2,6)	-	1,000
HLA-E*010301/*010302	2 (5,3)	1 (10)	0,512
HLA-E*010302/*010302	2 (5,3)	1 (10)	0,512

PV: Pemfigus vulgaris

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda pemfigus vulgaris etyolojisinde HLA non-klas I antijenlerinden HLA-E gen polimorfizminin rolünü araştırdık ve literatürde ilk kez bildirilen önemli sonuçlar elde ettik. Bunlardan en önde geleni, homozigot HLA-E*0103X/*0103X genotip varlığının pemfigus vulgarisli hastalarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük saptanmasıdır ($p=0,040$). Bu genotip, pemfiguslu hasta grubumuzun %14,3'ünde, kontrol grubunun ise %34'ünde pozitif olarak saptandı. Elde ettiğimiz bu sonuç, homozigot HLA-E*0103X/*0103X genotipinin pemfigus vulgaris açısından koruyucu bir özellik gösterdiği şeklinde değerlendirilebilir. Oysa pemfigus vulgaris ile HLA-E ilişkisi üzerine literatürdeki ek çalışmada, bizim saptadığımızın tam aksine, Dhaval ve arkadaşları, bu genotipi hasta gruplarının %28,9'unda, kontrol grubunun ise %9,8'inde pozitif saptayarak ($p=0,014$), homozigot HLA-E*0103X/*0103X genotipinin hastalığa yatkınlık nedeni oluşturduğunu ileri sürmüşlerdir (4). Sonuçlarımız bu görüşü desteklememekte, tam tersini işaret etmektedir. Bu farklılığın HLA-E gen polimorfizminde etnik kökenin ne derece etkili olduğuna işaret ettiğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda diğer homozigot HLA-E genotipi olan HLA-E*0101/*0101 genotip varlığı açısından pemfigus vulgaris ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark saptamadık ($p=1,000$). Dhaval ve arkadaşlarının çalışmasında da bu genotip açısından fark söz konusu değildi ($p=0,611$), (4).

Çalışmamızda heterozigot HLA-E*0101/*0103X genotip varlığı açısından pemfigus vulgarisli hasta grubumuz (%65,3) ve kontrol (%46) grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamakla birlikte belirgin farklılık dikkat çekicidir ($p=0,084$). Dhaval ve arkadaşların yaptığı çalışmada da bu genotip açısından fark söz konusu değildi (4).

Çalışmamızda heterozigot HLA-E*0101/*0106 genotip varlığı yalnızca bir hastada saptandı. Kontrol grubunda ise bu genotip temsil edilmiyordu. Dhaval ve arkadaşlarının çalışmasında bu genotip, hem hasta grubunda, hem de kontrol grubunda bildirilmemiştir.

Zaten sınırlı sayıda genotipi bulunan HLA-E için çalışmamızda saptanan bu genotip, hasta grubumuzun çeşitliliği açısından anlamlıdır.

HLA-E*0101 ve HLA-E*0103X (HLA-E*010301, HLA-E*010302) allellerinin varlığı açısından hasta grubumuz ve kontrol grubu karşılaştırıldığında anlamlı farklılıklar elde edilmemekle birlikte, HLA-E*0101 alleli hasta grubumuzda, HLA-E*0103X alleli ise kontrol grubunda daha yüksek oranda pozitif saptanmıştır ($p=0,203$), ($p=0,157$). Dhaval ve arkadaşlarının çalışmasında da iki grup arasında anlamlı farklılık bildirilmemektedir (4).

Pemfigus vulgaris hastalarında cinsiyet yatkınlığı ile ilgili temel görüş, hastalığın her iki cinsiyeti eşit sıklıkta tuttuğu yönündedir. Bazı araştırmalar ise kadınlar veya erkeklerin daha sık etkilendiğine dair görüşler de ileriye sürmüştür (20, 57, 115, 116). Çalışmamızda pemfigus vulgarisli hastalarımız arasında kadınların oranı ($n=22$, %44,9) iken erkeklerin oranı ($n=27$, %55,1) olarak saptandı. Kadınların erkeklere oranı 1:1.2 idi. Bu sonucumuz, erkeklerde hafif yükseklik saptamakla birlikte, pemfigus vulgariste her iki cinsiyetin benzer sıklıkta tutulduğu görüşünü desteklemektedir.

Çalışmamızda HLA-E genotiplerinin her iki cinsiyete sahip hasta ve kontrol gruplarındaki dağılımlarını karşılaştırdık. Heterozigot HLA-E*0101/0103X genotip varlığını, pemfigus vulgarisli erkek hasta grubumuzda (%81,5) kontrol grubundaki erkeklere göre (%48,1) istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek saptadık ($p=0,023$). Bu sonuç, heterozigot HLA-E*0101/0103X genotipin pemfigus vulgarisli erkek hastalar için bir risk faktörü olabileceğini düşündürmüştür. Dhaval ve arkadaşların yaptığı çalışmada da bu genotip açısından fark söz konusu değildi (4).

Homozigot HLA-E*0103X/0103X genotip varlığını ise pemfigus vulgarisli erkek hasta grubumuzda (%3,7), kontrol grubundaki erkeklere göre (%40,7) istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük saptadık ($p=0,003$). Bu sonuca göre, homozigot HLA-E*0103X/0103X genotipin pemfigus vulgarisli erkek hastalar için koruyucu bir faktör olabileceği düşünülmüştür. Diğer genotip olan homozigot HLA-E*0101/0101 genotip varlığı açısından ise erkek hasta ve erkek kontrol grupları arasında anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla %11,1, %11,1 ve $p=1.000$). Bu iki genotip, Dhaval ve arkadaşlarının çalışmasında, erkek hasta ve erkek kontrol gruplarında benzer sıklıklarda temsil edilmiştir (4).

Kadın cinsiyetindeki karşılaştırmalarımıza gelince, homozigot HLA-E*0103X/0103X genotip varlığı açısından pemfigus vulgarisli kadın hasta grubu ile kontrol grubundaki kadınlar karşılaştırıldığında, bu genotipin her iki grupta da benzer

oranda görüldüğü saptandı (sırasıyla %27,3, %26,1, $p=1.000$). Dhaval ve arkadaşlarının çalışmasında ise bu genotipin sıklığı, kadın hasta grubunda %32, kontrol grubundaki kadınlarda ise %8,8 olarak saptanmış, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.017$) (4). Bizim sonuçlarımız, homozigot HLA-E*0103X/0103X genotipinin pemfigus vulgarisli kadın hastalar için bir risk faktörü olduğunu desteklememektedir.

Pemfigus vulgarisli kadın hasta grubu ile kontrol grubundaki kadınlar Homozigot HLA-E*0101/0101 (hasta: %23,7; kontrol: %30,4) ve heterozigot HLA-E*0101/0103X (hasta: %45,5; kontrol: %43,5) genotiplerinin varlığı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla $p=1.000$, $p=1.000$). Bu iki genotip, Dhaval ve arkadaşlarının çalışmasında da, kadın hasta ve kadın kontrol gruplarında benzer sıklıklarda temsil edilmiştir (4).

Çalışmamızda HLA-E genotiplerinin hastalar arasında cinsiyete göre nasıl dağıldığını inceledik. Bu dağılımın kontrol grubunda nasıl gerçekleştiğini de gösterdik.

Pemfigus vulgarisli kadın hastalarda homozigot HLA-E*0103X/*0103X genotip varlığı %27,3 oranında iken, erkek hastalarda bu oran yalnızca %3,7 idi. Bu belirgin fark, istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,036$). Bu sonuca göre, homozigot HLA-E*0103X/*0103X genotipi pemfigus vulgarisli kadınlar için bir risk faktörü olabileceği düşünülmüştür. Literatürde pemfigus vulgarisli hastalarda, cinsiyete göre HLA-E genotip dağılımı araştıran çalışmaya rastlamadık. Svecova ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, pemfigus vulgaris hastalarında bir başka HLA allelini, HLA-DQB1*03:02 alleli, kadınlarda erkeklere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptamıştır ($p=0,016$) (117). Bu karşılaştırmada ayrıca, heterozigot HLA-E*0101/*0103X genotip varlığı pemfigus vulgarisli erkeklerde %81,5 oranında pozitif iken, kadın hasta grubunda bu oran %45,5 olarak saptandı. Bu belirgin fark da istatistiksel olarak anlamlı idi. ($p=0,020$). Bu sonuç bize, heterozigot HLA-E*0101/*0103X genotipin pemfigus vulgarisli erkekler için bir risk faktörü olabileceğini düşündürmüştür. Hasta grubunda bahsettiğimiz genotipler için saptadığımız anlamlı cinsiyetler arası farklılıkları kontrol grubunda saptamadık. Bu genotipler için kontrol grubundaki her iki cinsiyette de dağılımla benzerdi.

Pemfigus vulgaris klinikte mukoza ve/veya deri tutulumu ile seyretmektedir (57, 116, 118, 119). Çalışmamızda, pemfigus vulgarisli hastaların % 98'inde mukoza tutulumu, %79,6'sında deri tutulumu mevcuttu. Hastalarımızın %77,6'sında lezyonlar hem deride, hem de mukozalarda yerleşmişti. Benzer sonuçlar Makedonya'da yapılan bir çalışmada (%76) saptanırken, Bulgaristan'dan daha düşük (%64,8), ülkemizden başka bir çalışmada

ise daha yüksek (%82,5) oranlar bildirilmiştir (118, 120, 121). Çalışmamızda PV'li hastaların %20,4'ünde, lezyonların sadece mukozalarda yerleştiği saptandı. Benzer sonuçlar Makedonya'da yapılan bir çalışmada (%24) saptanırken, Bulgaristan'dan bir çalışmada (%10,8) daha düşük, İspanya'dan bir çalışmada (%71) ise daha yüksek oranlar bildirilmiştir (118, 120, 122). PV'li hastalarımızın %2'sinde lezyonların sadece deride yerleştiği saptandı, bu oran literatürde yapılan çalışmalara göre düşüktü. Bulgaristan'da yapılan bir çalışmada PV'li hastaların %24,3'ünde lezyonların sadece deriye yerleştiği saptanırken, bu oran İran'dan bir çalışmada %6,4 ve ülkemizden bir çalışmada ise %6,5 oranında bildirilmiştir (120, 121, 123).

Çalışmamızda HLA-E genotiplerinin Pemfigus vulgaris klinik tipleri ile ilişkisini de ortaya koymak istedik. Bu amaçla, HLA-E genotipleri varlığının hastalığın klinik tipleri arasında nasıl dağıldığını araştırdık.

Homozigot HLA-E*0101/*0101 genotip varlığını mukozal pemfigus vulgaris hastalarında %50, mukokutanöz pemfigus vulgaris hastalarında ise %7,9 olarak saptadık. Bu fark, istatistiksel olarak belirgin ölçüde anlamlı idi ($p=0,006$). Heterozigot HLA-E*0101/*0103X genotip varlığı ise mukokutanöz pemfigus vulgaris hastalarında %78,9 oranında pozitif iken, mukozal pemfigus vulgaris hastalarında bu oran %20 idi. İki grup arasındaki bu fark, istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,001$). Bu sonuçlara göre, homozigot HLA-E*0101/*0101 genotipin mukozal pemfigus vulgaris için, heterozigot HLA-E*0101/*0103X genotipin ise mukokutanöz pemfigus vulgaris için bir risk faktörü olabileceği düşünüldü. Literatürde HLA-E genotip ve pemfigus vulgaris klinik tipleri arasındaki ilişkiyi değerlendiren herhangi bir çalışmaya rastlamadık. HLA sınıf II antijenleri ve pemfigus vulgaris klinik tipleri arasındaki ilişkiyi ortaya koyan tek çalışma mevcuttur. Bu çalışmada Svecova ve arkadaşları, HLA-DRB1*04:02 allelin mukokutanöz PV'ye yatkınlık oluşturduğunu saptamıştır (117).

Pemfigus vulgaris hastaları ile çeşitli toplumlarda gerçekleştirilen genetik çalışmalarda, hastalık ile HLA-E dışındaki diğer HLA tipleri ile, özellikle klasik HLA grupları arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. Literatürde pemfiguslu hastalarda HLA sınıf I (HLA-A, -B, -C, -E, -F, -G) ve HLA sınıf II (HLA-DR, -DQ, -DP) antijenlerini değerlendiren çeşitli çalışmalar mevcuttur. Bu alandaki ilk çalışmalar HLA sınıf I üzerinde yapılmakta iken, ilerleyen dönemlerde HLA sınıf II üzerinde de yoğunlaşmıştır.

Japon ve Yahudi pemfigus vulgarisli hastalarda HLA-A10 insidansının arttığı tespit edilmesiyle pemfigusun etyopatogenezinde genetik yatkınlık ilk kez gündeme

gelmiştir (106, 107). Krain ve arkadaşları sınıf I antijenlerinden HLA-A10'u Yahudi pemfiguslu hastaların % 60,7'sinde pozitif bulmuşlar, Park ve arkadaşları da benzer ilişkiyi aynı popülasyondaki kadın hastalarla HLA-A26 (HLA-A10'nun alt grubu) arasında saptamışlardır. Hashimoto ve arkadaşları, Japon hastalarla yapılan 43 hastalık bir çalışmada, hastaların % 41,9'unda sınıf I antijenlerinden HLA-A10'u pozitif bulmuştur (106-8). Mortazavi ve arkadaşları ise İranlı 50 pemfigus hastasında sınıf I antijenlerinden HLA-B*44:02, C*04:01 ve C*15:02 allelleri ile, HLA-A*03:01,-B51:01 ve C*16:02 haplotiplerini yatkınlık faktörü olarak tanımlamışlar; HLA-C*06:02 ve -C*18:01 allelleri ile HLA-A*26:01, -B*38 ve -C*12:03 haplotiplerinin ise koruyucu olabileceğini bildirmişlerdir (11). Yari ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise, RT-PCR yöntemi kullanılarak PV hastalarının epidermal hücreleri sağlıklı bireyler ile karşılaştırıldı. Pemfigus vulgaris hastalarında kontrol grubuna göre non-klasik sınıf I antijeni olan HLA-G1 transkripsiyonunda artış, HLA-G2 transkripsiyonun da ise azalma saptandı. Bu sonuç, pemfigus vulgaris ve sağlıklı bireylerin epidermal hücrelerinde HLA-G transkripsiyonun farklı olduğunu göstermektedir (98).

Ülkemizden pemfigus ve HLA sınıf I antijenleri ilişkisini araştıran iki çalışma mevcuttur. Koç ve arkadaşları, 60 hastadan oluşan çalışmalarında, pemfiguslu hastalarda HLA sınıf I antijenlerinden HLA A*11 ve CW*01'i kontrol grubuna göre yüksek, HLA-B*18 ve -B*50 allelleri ise düşük olarak saptamışlardır (9). Birol ve arkadaşları ise 33 pemfigus hastasından oluşan çalışmalarında, pemfigus grubunda HLA-B35, -B44 ve -CW4 antijenlerini kontrol grubuna göre yüksek saptamıştır (7).

Shams ve arkadaşlarının İranlı 52 pemfigus hastası ile gerçekleştirdikleri çalışmada, hasta grubunda HLA sınıf II antijenlerinden HLA-DRB1*04, -DRB1*1401, -DRB4, -DQA1*0104, -DQA1*03011, -DQB1*0302 ve -DQB1*0502 allelleri yüksek saptanmıştır. Bu çalışmada HLA-DRB1*15, -DRB1*0301, -DRB1*07, -DRB1*11, -DRB5, -DQA1*0101, -DQA1*0103, -DQA1*201, -DQA1*05, -DQB1*0201, -DQB1*0301, -DQB1*06011 ve -DQB1*0602 allelleri ise hasta grubunda anlamlı derecede düşük olarak belirlenmiştir (124).

Yan ve arkadaşları 2012 yılında yayınlanan bir metaanalizle, farklı toplumlarda çeşitli çalışmalarda bildirilen sınıf II antijen HLA-DRB1 polimorfizminin pemfigusla ilişkisini değerlendirmiştir. Bu metaanalize göre, HLA-DRB1*04, DRB1*08 ve DRB1*14 pemfigus vulgaris için yatkınlık faktörü olarak tanımlanırken, HLA-DRB1*03, DRB1*07 ve DRB1*15 allelleri ise pemfigus hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede

düşük olarak saptanmıştır (10). Yamamoto ve arkadaşları da diğer etnik gruplarda olduğu gibi HLA-DRB1*04 ve DRB1*14 allellerini pemfigus hastaları ile anlamlı ilişkili bulmuşlardır (6).

Ülkemizden ise pemfigus ile HLA sınıf II antijenleri ilişkisini değerlendiren üç çalışma mevcuttur. Birol ve arkadaşları, 33 pemfigus hastasından oluşan çalışmalarında, pemfigus grubunda HLA-DR4, DR14, DQ8 ve DQ4 antijenlerini kontrol grubuna göre yüksek saptamıştır. Aynı çalışmada HLA-DR11, DQ7 ve DQ2 antijenleri ise Türk toplumu için koruyucu faktör olarak tanımlanmıştır (7). Tunca ve arkadaşları ise 25 pemfigus hastası ile gerçekleştirdikleri çalışmada, hastaların % 68'inde HLA DRB1*04'ü ve % 32'sinde HLA DRB1*14'ü pozitif bulmuşlardır. HLA-DRB1*04/DQB1*03 ve HLA-DRB1*14/DQB1*05 haplotiplerini de Türk popülasyonunda pemfigusa yatkınlık belirteci olarak bildirmişlerdir (8). Koç ve arkadaşlarının çalışmasında ise 60 pemfigus hastasında, HLA sınıf II antijenlerinden hasta grubunda HLA DRB1*04, DRB1*14, DQB1*05 ve DPB1*0401 yüksek saptanırken, HLA-DRB1*11/DQB1*05, DRB1*14/DQB1*02, B*50/DQB1*02 ve B*50/DPB1*03*1 allelleri ise düşük olarak belirlenmiştir (9).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, HLA-E gen polimorfiziminin otoimmün hastalıklara yatkınlık sebebi olabileceği ortaya konmuştur. HLA-E gen polimorfizminin Behçet hastalığı, tip 1 diyabet, deneysel otoimmün ensefalomyelit, multipl skleroz ve çölyak hastalığı gibi çeşitli otoimmün hastalıklara yatkınlıkta önemli bir role sahip olduğu gösterilmiştir (12, 108-111). Hodgkinson ve arkadaşların yaptığı çalışmada heterozigot HLA-E*0101/*0103X genotipi erken başlangıçlı tip I diyabetes mellitus ile homozigot HLA-E*0103/*0103* genotipi ise Behçet hastalığı ile ilişkili olduğu saptanmıştır (12). Park ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada homozigot HLA-E*0101/0101 genotipin Behçet hastalığında koruyucu bir faktör olduğu ileri sürülmüştür (108).

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar, pemfigus vulgarisli hastalarda HLA-E gen polimorfizmi ile ilgili sınırlı veriye önemli katkılar sağlamıştır. Bu ilişkiyi inceleyen tek çalışma olan Dhaval ve arkadaşlarının çalışmasından çarpıcı olarak farklı bulduğumuz sonuç, bu çalışmanın pemfigus için risk faktörü olarak tanımladığı homozigot HLA-E*0103X/*0103X genotipinin bizim çalışmamızda koruyucu bir faktör olarak saptanmasıdır. Bu farklılık, etnik köken farklılıklarında pemfigus vulgaris için yatkınlığa neden olan veya koruyucu olan unsurlarını çok değişken olabileceğini göstermesi açısından önemlidir. Bahsi geçen bu genotip, elde ettiğimiz sonuçlara göre Türk Pemfigus vulgaris hastalarında koruyucu bir faktör olarak değerlendirilmiştir. Bu çarpıcı sonuca ek olarak

cinsiyetlere ve hastalığın klinik tiplerine göre varlığını ortaya koyduğumuz ve risk faktörü ya da koruyucu olarak tanımladığımız genotipik bileşenler ile çalışmamız, bu alanda daha önce bildirilmemiş değerli sonuçlar ortaya koymuştur. HLA-E gen polimorfizminin pemfigus vulgaris etyolojisindeki yerinin daha iyi ortaya konabilmesi amacıyla farklı toplumlardan yeni çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

6. SONUÇLAR

1. Pemfigus vulgaris hastalarında homozigot HLA-E*0103X/*0103X genotip pozitifliği kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olarak saptandı ($p=0,040$). Homozigot HLA-E*0103X/*0103X genotipinin pemfigus vulgarisli hastalar için koruyucu bir faktör olabileceği düşünüldü.
2. Pemfigus vulgarisli erkek hastalarda heterozigot HLA-E*0101/*0103X genotip pozitifliği kontrol grubundaki erkeklere göre anlamlı derecede yüksek olarak saptandı ($p=0,023$). Heterozigot HLA-E*0101/*0103X genotipinin pemfigus vulgarisli erkek hastalar için risk faktörü olabileceği düşünüldü.
3. Pemfigus vulgarisli erkek hastalarda homozigot HLA-E*0103X/*0103X genotip pozitifliği kontrol grubundaki erkeklere göre anlamlı derecede düşük olarak saptandı ($p=0,003$). Homozigot HLA-E*0103X/*0103X genotipinin pemfigus vulgarisli erkek hastalar için koruyucu bir faktör olabileceği düşünüldü.
4. Pemfigus vulgarisli erkek hastalarda heterozigot HLA-E*0101/*0103X genotip pozitifliği kadın hastalara göre anlamlı derecede yüksek olarak saptandı ($p=0,020$). Kontrol grubunda ise bu genotipin pozitifliği açısından erkek ve kadınlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$). Heterozigot HLA-E*0101/*0103X genotipinin erkek hastalar için risk faktörü olabileceği düşünüldü.
5. Pemfigus vulgarisli kadın hastalarda homozigot HLA-E*0103X/0103X genotip pozitifliği erkek hastalara göre anlamlı derecede yüksek olarak saptandı ($p=0,036$). Kontrol grubunda ise bu genotipin pozitifliği açısından erkek ve kadınlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$). Homozigot HLA-E*0103X/0103X genotipinin kadın hastalar için risk faktörü olabileceği düşünüldü.

6. Klinik tiplere göre mukozal pemfigus vulgarisli hastalarda homozigot HLA-E*0101/0101 genotip pozitifliği mukokutanöz pemfigus vulgaris hastalarına göre anlamlı derecede yüksek olarak saptandı ($p=0,006$). Homozigot HLA-E*0101/0101 genotipinin mukozal pemfigus vulgaris için risk faktörü olabileceği düşünöldü.
7. Klinik tiplere göre mukokutanöz pemfigus vulgarisli hastalarda heterozigot HLA-E*0101/*0103X genotip pozitifliği mukozal pemfigusvulgaris hastalarına göre anlamlı derecede yüksek saptandı ($p=0,001$). Heterozigot HLA-E*0101/*0103X genotipinin mukokutanöz pemfigus vulgaris için risk faktörü olabileceği düşünöldü.

7. ÖZET

Pemfigus Vulgaris hastalarında HLA-E gen polimorfizminin araştırılması

Pemfigus vulgaris ile HLA antijenleri ilişkisi çeşitli çalışmalarda araştırılmıştır. HLA-E gen polimorfizminin Behçet hastalığı, diyabet, multipl skleroz ve çölyak hastalığı gibi çeşitli otoimmün hastalıklara yatkınlıkta rolü olabileceğine işaret eden çalışmalar mevcuttur. Pemfigus vulgaris ile HLA-E geni arasındaki ilişkiyi sınırlı bir biçimde inceleyen tek çalışma mevcuttur. Çalışmamızda pemfigus vulgaris etyolojisinde HLA-E gen polimorfizminin rolünü araştırmayı amaçladık.

Çalışmaya, Mayıs 2013-Mayıs 2014 tarihleri arasında Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı rutin polikliniklerine ve/veya Büllü Hastalıklar spesifik polikliniğine başvurarak pemfigus vulgaris tanısı almış olan 49 pemfigus vulgaris hastası ile sağlıklı bireylerden kontrol grubu olarak oluşturulan 50 birey dahil edildi. Çalışma gruplarından uygun şekilde alınan kan örneklerinden elde ettiğimiz DNA örneklerinde HLA-E gen polimorfizmi varlığını inceledik.

Pemfigus vulgaris hastalarında HLA-E genotiplerinden homozigot HLA-E*0103X/*0103X genotipi varlığı, kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olarak saptandı ($p=0,040$). Homozigot HLA-E*0101/*0101 ve heterozigot HLA-E*0101/*0103X genotiplerinin varlığı açısından ise pemfigus vulgaris hasta grubu ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

Pemfigus vulgarisli erkek hastalarda heterozigot HLA-E*0101/*0103X genotipi varlığı, kontrol grubundaki erkeklere göre anlamlı derecede yüksek olarak saptandı ($p=0,023$).

Pemfigus vulgarisli erkek hastalarda heterozigot HLA-E*0101/*0103X genotipi varlığı, pemfigus vulgarisli kadın hastalara göre anlamlı derecede yüksek olarak saptandı ($p=0,020$). Kontrol grubunda ise bu genotipin pozitifliği açısından erkek ve kadınlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

Pemfigus vulgarisli erkek hastalarda homozigot HLA-E*0103X/*0103X genotipi varlığı, kontrol grubundaki erkeklere göre anlamlı derecede düşük olarak saptandı ($p=0,003$).

Pemfigus vulgarisli kadın hastalarda homozigot HLA-E*0103X/*0103X genotipi varlığı, pemfigus vulgarisli erkek hastalara göre anlamlı derecede yüksek olarak saptandı ($p=0,036$). Kontrol grubunda ise bu genotipin pozitifliği açısından erkek ve kadınlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

Mukozal tip pemfigus vulgaris hastalarında homozigot HLA-E*0101/*0101 genotipini, mukokutanöz tip pemfigus vulgaris hastalarında ise heterozigot HLA-E*0101/*0103X genotipi varlığını anlamlı derecede yüksek saptadık ($p=0,006$) ($p=0,001$).

Bu sonuçlar ışığında homozigot HLA-E*0103X/*0103X genotipi varlığının pemfigus vulgarise karşı koruyucu bir etki gösterdiği düşünüldü. Heterozigot HLA-E*0101/*0103X genotipi varlığının erkekler, homozigot HLA-E*0103X/*0103X genotipi varlığının ise kadınlar için pemfigus vulgarise yatkınlık nedeni olabileceği kanısına vardık.

Mukozal tip pemfigusvulgaris için homozigot HLA-E*0101/*0101 genotipin, mukokutanöz pemfigus vulgaris için ise heterozigot HLA-E*0101/*0103X genotipin bir risk faktörü olabileceği düşünüldü.

SUMMARY

The evaluation of HLA-E gene polymorphism in patients with pemphigus vulgaris

The relationship between HLA antigens and pemphigus vulgaris has been studied in several reports. Many studies have pointed out that HLA-E gene polymorphism might play a role in susceptibility to autoimmune diseases such as Behcet's disease, diabetes, multiple sclerosis and celiac disease. The relationship between pemphigus vulgaris and HLA-E gene has been studied in only a recent report. In our study, we aimed to evaluate the role of HLA-E gene polymorphism in the etiology of pemphigus vulgaris.

Forty-nine pemphigus vulgaris patients, with a diagnosis of pemphigus vulgaris in outpatients clinics and/or bullous diseases clinics of department of Dermatology in Karadeniz Technical University, Faculty of Medicine, and 50 individuals generated as a control group of healthy subjects were included between May 2013 and May 2014. We analyzed the presence of HLA-E gene polymorphism in DNA samples of blood samples which were appropriately obtained from the working groups.

The frequency of HLA-E *0103X /*0103X homozygous genotype was significantly lower in patients with pemphigus vulgaris than control group ($p = 0.040$). The frequencies of HLA-E*0101/ *0101 homozygous and HLA-E *0101/*0103X heterozygous genotypes did not show a statistically significant difference between patients with pemphigus vulgaris and the control group ($p > 0.05$).

The frequency of HLA-E *0101/*0103X heterozygous genotype in male patients with pemphigus vulgaris was found to be significantly higher than men in the control group ($p = 0.023$). This genotype was also found to be significantly higher in male patients with pemphigus vulgaris according to female patients with pemphigus vulgaris ($p = 0.020$). In the control group, frequency of this genotype did not show a statistically significant difference between males and females ($p > 0.05$). The frequency of HLA-E *0103X/*0103X homozygous genotype in male patients with pemphigus vulgaris was found to be significantly lower than men in the control group ($p = 0.003$). The frequency of this genotype was found to be significantly higher in female patients with pemphigus vulgaris

according to male patients ($p=0.036$). The frequency of this genotype did not show a statistically significant difference between males and females in control group ($p>0.05$).

We also detected that the frequency of HLA-E *0101/*0101 homozygous genotype in patients with mucosal type pemphigus vulgaris and the frequency of HLA-E *0101/*0103X heterozygous genotype in patients with mucocutaneous type pemphigus vulgaris was significantly higher ($p = 0.006$) ($p = 0.001$).

In conclusion, we suggested that the presence of HLA-E *0103X/*0103X homozygous genotype might be considered to exhibit a protective effect against pemphigus vulgaris. We also concluded that the presence of HLA-E *0101/*0103X heterozygous genotype in male patients, and the presence of HLA-E *0103X/*0103X homozygous genotype in female patients might cause a susceptibility to pemphigus vulgaris. In addition, the HLA-E *0101/*0101 homozygous genotype is thought to be a risk for mucosal type of pemphigus vulgaris, and the heterozygous HLA-E *0101/*0103X genotype is thought to be a risk factor for mucocutaneous type of pemphigus vulgaris.

9. KAYNAKLAR

1. Mihai S, Sitaru C. Immunopathology and molecular diagnosis of autoimmune bullous diseases. *J Cell Mol Med.* 2007; 11(3): 462-81.
2. Sitaru C, Zillikens D. Mechanisms of blister induction by autoantibodies. *Exp Dermatol.* 2005; 14(12): 861-75.
3. Hertl M, Eming R, Veldman C. T cell control in autoimmune bullous skin disorders. *J Clin Invest.* 2006; 116(5): 1159-66.
4. Bhanusali DG, Sachdev A, Rahmanian A, et al. HLA-E*0103X is associated with susceptibility to Pemphigus vulgaris. *Exp Dermatol.* 2013; 22(2): 108-12.
5. Gazit E, Slomov Y, Goldberg I, et al. HLA-G is associated with pemphigus vulgaris in Jewish patients. *Hum Immunol.* 2004; 65(1): 39-46.
6. Yamamoto T, Ikeda K, Sasaoka S, et al. Human leukocyte antigen genotypes and antibody profiles associated with familial pemphigus in Japanese. *J Dermatol.* 2011; 38(7): 711-6.
7. Birol A, Anadolu RY, Tutkak H, et al. HLA-class 1 and class 2 antigens in Turkish patients with pemphigus. *Int J Dermatol.* 2002; 41(2): 79-83.
8. Tunca M, Musabak U, Sagkan RI, et al. Association of human leukocyte antigen class II alleles with pemphigus vulgaris in a Turkish population. *J Dermatol.* 2010; 37(3): 246-50.
9. Koc CK, Sallakci N, Akman-Karakaş A, et al. Human leukocyte antigens class I and class II in patients with pemphigus in southern Turkey. *Int J Dermatol.* 2013; 52(1): 53-8.
10. Yan L, Wang JM, Zeng K. Association between HLA-DRB1 polymorphisms and pemphigus vulgaris: a meta-analysis. *Br J Dermatol.* 2012; 167(4): 768-77.
11. Mortazavi H, Amirzargar AA, Esmaili N, et al. Association of human leukocyte antigen class I antigens in Iranian patients with pemphigus vulgaris. *J Dermatol.* 2013; 40(4): 244-8.

12. Hodgkinson AD, Millward BA, Demaine AG. The HLA-E locus is associated with age at onset and susceptibility to type 1 diabetes mellitus. *Hum Immunol.* 2000; 61(3): 290-5.
13. Baum S, Sakka N, Artsi O, Trau H, et al. Diagnosis and classification of autoimmune blistering diseases. *Autoimmun Rev.* 2014; 13(4-5): 482-9.
14. Ioannides D, Lazaridou E, Rigopoulos D. Pemphigus, *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2008; 22(12): 1478-96.
15. Robinson N.D, Hashimoto T, Amagai M, et al. The new pemphigus variants, *J Am Acad Dermatol.* 1999; 40(5): 649-70.
16. Braun-Falco O, Plewig G, Wolff HH, Burgdorf WHC. *Dermatology* 2. baskı. Münih, Springer. 2000; 650-695.
17. Beutner EH, Jordon RE. Demonstration of skin antibodies in sera of pemphigus vulgaris patients by indirect immunofluorescent staining. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1964; 117: 505-10.
18. Stanley JR, Yaar M, Hawley-Nelson P, et al. Pemphigus antibodies identify a cell surface glycoprotein synthesized by human and mouse keratinocytes. *J Clin Invest.* 1982; 70(2): 281-8.
19. Stanley JR, Koulu L, Thivolet C. Distinction between epidermal antigens binding pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus autoantibodies. *J Clin Invest.* 1984; 74(2): 313-20.
20. Kershenovich R, Hodak E, Mimouni D. Diagnosis and classification of pemphigus and bullous pemphigoid. *Autoimmun Rev.* 2014; 13(4-5): 477-81.
21. Rocha-Alvarez R, Ortega-Loayza AG, Friedman H, et al. Cooperative Group on Fogo Selvagem Research. Endemic pemphigus vulgaris. *Arch Dermatol.* 2007; 143(7): 895-9.
22. Hietanen J, Salo OP. Pemphigus: an epidemiological study of patients treated in Finnish hospitals between 1969 and 1978. *Acta Derm Venereol.* 1982; 62(6): 491-6.
23. Joly P, Litrowski N. Pemphigus group (vulgaris, vegetans, foliaceus, herpetiformis, brasiliensis). *Clin Dermatol.* 2011; 29(4): 432-6.
24. Waschke J, Spindler V. Desmosomes and Extradесmosomal Adhesive Signaling Contacts in Pemphigus. *Med Res Rev.* 2014.
25. Merlob P, Metzker A, Hazaz B, et al. Neonatal pemphigus vulgaris. *Pediatrics.* 1986; 78: 1102-5.
26. Amagai M, Klaus-Kovtun V, Stanley JR. Autoantibodies against a novel epithelial cadherin in pemphigus vulgaris, a disease of cell adhesion. *Cell.* 1991; 67(5): 869-77.

27. Becker BA, Gaspari AA. Pemphigus vulgaris and vegetans. *Dermatol Clin.* 1993; 11: 429-52.
28. Chowdhury MMU, Natarajan S: Neonatal pemphigus vulgaris associated with mild oral pemphigus vulgaris in the mother during pregnancy. *Br J Dermatol.* 1998; 139(3): 500-3.
29. Hertl M, Zillikens D. Clinical and molecular characterization of autoimmune bullous diseases. *J Invest Dermatol.* 2008; 128(E3): E19-21.
30. Schepens I, Jaunin F, Begre N, et al. The protease inhibitor alpha-2-macroglobulin-like-1 is the p170 antigen recognized by paraneoplastic pemphigus autoantibodies in human. *PLoS One.* 2010; 5(8): e12250.
31. Mahoney MG, Wang ZH, Stanley JR: Pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus antibodies are pathogenic in plasminogen activator knockout mice. *J Invest Dermatol.* 1999; 113: 22-5.
32. van der Wier G, Pas HH, Kramer D, et al. Smaller Desmosomes Are Seen in the Skin of Pemphigus Patients with Anti-Desmoglein 1 Antibodies but Not in Patients with Anti-Desmoglein 3 Antibodies. *J Invest Dermatol.* 2014; 134(8): 2287-90.
33. Nishikawa T, Hashimoto T, Shimizu H, et al. Pemphigus: from immunofluorescence to molecular biology. *J Dermatol Sci.* 1996; 12(1): 1-9.
34. Anhalt GJ, Labib RS, Voorhees JJ, et al. Induction of pemphigus in neonatal mice by passive transfer of IgG from patients with the disease. *N Engl J Med.* 1982; 306(20): 1189-96.
35. Mahoney MG, Wang Z, Rothenberger K, et al. Explanations for the clinical and microscopic localization of lesions in pemphigus foliaceus and vulgaris. *J Clin Invest.* 1999; 103(4): 461-8.
36. Sardana K, Garg VK, Agarwal P. Is there an emergent need to modify the desmoglein compensation theory in pemphigus on the basis of Dsg ELISA data and alternative pathogenic mechanisms? *Br J Dermatol.* 2013; 168(3): 669-74.
37. Pan M, Liu X, Zheng J. The pathogenic role of autoantibodies in pemphigus vulgaris. *Clin Exp Dermatol.* 2011; 36(7): 703-7.
38. Amber KT, Staropoli P, Shiman MI, et al. Autoreactive T cells in the immune pathogenesis of pemphigus vulgaris. *Exp Dermatol.* 2013; 22(11): 699-704.
39. Hertl M, Karr RW, Amagai M, et al. Heterogeneous MHC II restriction pattern of autoreactive desmoglein 3 specific T cell responses in pemphigus vulgaris patients and normals. *J Invest Dermatol.* 1998; 110(4): 388-92.

40. Hertl M. Autoimmune Diseases of the skin. Second, Revised and Enlarged edition. Pathogenesis, Diagnosis, Management. Springer-Verlag Wien. Printed in Austria. 2005; 45-71.
41. Sinha AA, Brautbar C, Szafer F, et al. A newly characterized HLA DQ beta allele associated with pemphigus vulgaris. *Science*. 1988; 239(4843): 1026-9.
42. Veldman C, Höhne A, Dieckmann D, et al. Type I regulatory T cells specific for desmoglein 3 are more frequently detected in healthy individuals than in patients with pemphigus vulgaris. *J Immunol*. 2004 May; 172(10): 6468-75.
43. Brenner S, Tur E, Shapiro J, et al. Pemphigus vulgaris: environmental factors. Occupational, behavioral, medical, and qualitative food frequency questionnaire. *Int J Dermatol*. 2001; 40(9): 562-9.
44. Yoshimura K, Ishii N, Hamada T, et al. Clinical and immunological profiles in 17 Japanese patients with drug-induced pemphigus studied at Kurume University. *Br J Dermatol*. 2014; 171(3): 544-53
45. Marsden RA, Vanhegan RI, Walshe M, et al. Pemphigus foliaceus induced by penicillamine. *Br Med J*. 1976; 2(6049): 1423-4.
46. Brenner S, Goldberg I. Drug-induced pemphigus. *Clin Dermatol*. 2011; 29(4): 455-7.
47. Feng S, Zhou W, Zhang J, et al. Analysis of 6 cases of drug-induced pemphigus. *Eur J Dermatol*. 2011; 21(5): 696-9.
48. Anhalt GJ, Kim SC, Stanley JR, et al. Paraneoplastic pemphigus. An autoimmune mucocutaneous disease associated with neoplasia. *N Engl J Med*. 1990; 323(25): 1729-35.
49. Ruach M, Ohel G, Rahov D, et al. Pemphigus vulgaris and pregnancy. *Obst Gynecol Surv*. 1995; 50: 755-760.
50. Esmaili N, Mortazavi H, Noormohammadpour P, et al. Pemphigus vulgaris and infections: a retrospective study on 155 patients. *Autoimmune Dis*. 2013; 2013: 834295.
51. Igawa K, Matsunaga T, Nishioka K. Involvement of UV-irradiation in pemphigus foliaceus. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2004; 18(2): 216-7.
52. Muramatsu T, Iida T, Ko T, et al. Pemphigus vulgaris exacerbated by exposure to sunlight. *J Dermatol*. 1996; 23(8): 559-63.
53. Venugopal SS, Murrell DF. Diagnosis and clinical features of pemphigus vulgaris. *Dermatol Clin*. 2011; 29(3): 373-80.
54. Yoshida K, Takae Y, Saito H, et al. Cutaneous type pemphigus vulgaris: a rare clinical phenotype of pemphigus. *J Am Acad Dermatol*. 2005; 52(5): 839-45.

55. Shinkuma S, Nishie W, Shibaki A, et al. Cutaneous pemphigus vulgaris with skin features similar to the classic mucocutaneous type: a case report and review of the literature. *Clin Exp Dermatol*. 2008; 33(6): 724-8.
56. Ohshima Y, Tamada Y, Matsumoto Y, et al. A case of cutaneous type pemphigus vulgaris. *Int J Dermatol*. 2012; 51(11): 1398-400.
57. Uzun S, Durdu M, Akman A, et al. Pemphigus in the Mediterranean region of Turkey: a study of 148 cases. *Int J Dermatol*. 2006; 45(5): 523-8.
58. Payne AS, Stanley JR. Pemphigus. In: Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine, 8th ed, Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrest BA, et al. (Eds), McGraw Hill, 2012: p.586.
59. James KA, Culton DA, Diaz LA. Diagnosis and clinical features of pemphigus foliaceus. *Dermatol Clin*. 2011; 29(3): 405-12.
60. Diaz LA, Sampaio SA, Rivitti EA, et al. Endemic pemphigus foliaceus Fogo Selvagem): II. Current and historic epidemiologic studies. *J Invest Dermatol*. 1989; 92(1): 4-12.
61. James WD, Berger TG, Elston DM. Andrew's Diseases of the Skin. 11th ed, Elsevier Saunders, 2011: 448-67.
62. Nguyen VT, Ndoye A, Bassler KD, et al. Classification, clinical manifestations, and immunopathological mechanisms of the epithelial variant of paraneoplastic autoimmune multiorgan syndrome: a reappraisal of paraneoplastic pemphigus. *Arch Dermatol*. 2001; 137(2): 193-206.
63. Nousari HC, Deterding R, Wojtczack H, et al. The mechanism of respiratory failure in paraneoplastic pemphigus. *N Engl J Med*. 1999; 340(18): 1406-10.
64. Menenakos C, Braumann C, Hartmann J, et al. Retroperitoneal Castleman's tumor and paraneoplastic pemphigus: report of a case and review of the literature. *World J Surg Oncol*. 2007; 5: 45.
65. Tsuruta D, Ishii N, Hamada T, et al. IgA pemphigus. *Clin Dermatol*. 2011; 29(4): 437-42.
66. Hashimoto T, Yasumoto S, Nagata Y, et al. Clinical, histopathological and immunological distinction in two cases of IgA pemphigus. *Clin Exp Dermatol*. 2002; 27(8): 636-40.
67. Weedon D. The vesicobullous reaction pattern. In: Weedon's Skin Pathology, 3rd ed, Elsevier Limited, 2010: p.123.

68. Wu H, Schapiro B, Harrist T.J. Noninfectious vesiculobullous and vesiculopustular diseases. In: Elenitsas R., Johnson B.L., Murphy G.F., Elder D.E.(eds): Lever's histopathology of the skin, 9 th edition, Lippincott Williams & Wilkins Publishing Philadelphia, 2005; 252-262.
69. Uzun S. Otoimmün büllöz hastalıklarda laboratuvar tanı. *Dermatose*, 2002; 2: 42-46.
70. Mutasim DF, Adams BB. Immunofluorescence in dermatology. *J Am Acad Dermatol*, 2001; 45: 803-822.
71. Ishii K, Amagai M, Hall RP, et al. Characterization of autoantibodies in pemphigus using antigen-specific enzyme-linked immunosorbent assays with baculovirus-expressed recombinant desmogleins. *J Immunol*. 1997; 159(4): 2010-7.
72. Abasq C, Mouquet H, Gilbert D, et al. ELISA testing of anti-desmoglein 1 and 3 antibodies in the management of pemphigus. *Arch Dermatol*. 2009; 145(5): 529-35.
73. Zone JJ. The value of desmoglein 1 and 3 antibody ELISA testing in patients with pemphigus. *Arch Dermatol*. 2009; 145(5): 585-7.
74. Harman KE, Albert S, Black MM; British Association of Dermatologists. Guidelines for the management of pemphigus vulgaris. *Br J Dermatol*. 2003; 149: 926-937.
75. Mimouni D, Anhalt GJ. Pemphigus. *Dermatologic therapy* 2002; 15: 362-368.
76. Mutasim DF. Management of autoimmune bullous diseases. *Pharmacology and therapeutics*. *J AM Acad Dermatol*. 2004; 51: 859-877.
77. DeHoratius DM, Sperber BR, Werth VP. Glucocorticoids in the treatment of bullous disease. *Dermatologic therapy*. 2002; 15: 298-310.
78. Almugairen N, Hospital V, Bedane C, et al. Assessment of the rate of long-term complete remission off therapy in patients with pemphigus treated with different regimens including medium- and high-dose corticosteroids. *J Am Acad Dermatol*. 2013; 69(4): 583-8.
79. Sharma VK, Khandpur S. Evaluation of cyclophosphamide pulse therapy as an adjuvant to oral corticosteroid in the management of pemphigus vulgaris. *Clin Exp Dermatol*. 2013; 38(6): 659-64.
80. Mentink LF, Mackenzie MW, Tóth GG, et al. Randomized controlled trial of adjuvant oral dexamethasone pulse therapy in pemphigus vulgaris: PEMPULS trial. *Arch Dermatol*. 2006; 142(5): 570-6.
81. Uzun S. Pemfigusun Güncel Tedavisi ve Yönetimi. *Türk J Dermatol* 2012; 6: 91-101.

82. Jackson AP, Hall AG, McLelland J. Thiopurine methyltransferase levels should be measured before commencing patients on azathioprine. *Br J Dermatol.* 1997; 136(1): 133-4.
83. Beissert S, Werfel T, Frieling U, et al. A comparison of oral methylprednisolone plus azathioprine or mycophenolate mofetil for the treatment of pemphigus. *Arch Dermatol.* 2006; 142: 1447-54.
84. Kasperkiewicz M, Schmidt E, Zillikens D. Current therapy of the pemphigus group. *Clin Dermatol.* 2012; 30(1): 84-94.
85. Pasricha JS, Khaitan BK, Raman RS, et al. Dexamethasone-cyclophosphamide pulse therapy for pemphigus. *Int J Dermatol.* 1995; 34(12): 875-82.
86. Nousari CH, Brodsky R, Anhalt GJ. Evaluating the role of immunoablative high-dose cyclophosphamide therapy in pemphigus vulgaris. *J Am Acad Dermatol.* 2003; 49(1): 148-50.
87. Baum S, Greenberger S, Samuelov L, et al. Methotrexate is an effective and safe adjuvant therapy for pemphigus vulgaris. *Eur J Dermatol.* 2012; 22(1): 83-7.
88. Werth VP, Fivenson D, Pandya AG, et al. Multicenter randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial of dapsone as a glucocorticoid-sparing agent in maintenance-phase pemphigus vulgaris. *Arch Dermatol.* 2008; 144(1): 25-32.
89. Amagai M, Ikeda S, Shimizu H, et al. Pemphigus Study Group. A randomized double-blind trial of intravenous immunoglobulin for pemphigus. *J Am Acad Dermatol.* 2009; 60(4): 595-603.
90. Borradori L, Lombardi T, Samson J, et al. Rituximab for refractory erosive stomatitis secondary to CD20(+) follicular lymphoma-associated paraneoplastic pemphigus. *Arch Dermatol.* 2001; 137: 269-272.
91. Daniel BS, Murrell DF, Joly P. Rituximab and its use in autoimmune bullous disorders. *Dermatol Clin.* 2011; 29(4): 571-5.
92. Shiina T, Inoko H, Kulski JK. An update of the HLA genomic region, locus information and disease associations: 2004. *Tissue Antigens.* 2004; 64(6): 631-49.
93. Uçar F, Ovalı E, Değer O, ve ark. MHC gen kompleksi ve HLA doku tiplemesi testlerinin önemi. *İbn-i Sina Tıp Dergisi* 6. 2001; 117-124s.
94. Robert L. Nussbaum, Roderick R. McInnes, Huntington F. Willard, Thompson-Thompson *Tıbbi Genetik* ,6.baskı, Güneş Tıpkitabevi, 2005; 277-88s.
95. Abbas AK, Lichtman AH. Tercüme: Camcıoğlu Y., Deniz G., *Temel İmmünoloji; İmmün sistem işlev ve bozuklukları.* İstanbul Medikal Yayıncılık. İstanbul Tıp Kitapevi. 2007; 41-61s.

96. Pirim İ. I. Ulusal Transplantasyon İmmünolojisi ve Genetiği Kurs Kitabı. 2008; 10-12s.
97. Çevirgen T. Multipl Myelomlu Hastalarda HLA sınıf I ve sınıf II Allel Sıklığının Araştırılması. Hacettepe Üniversitesi. 2005; 8-20s.
98. Yari F, Zavarani Hosseini A, Nemat Gorgani M, et al. Expression of HLA-G in the skin of patients with pemphigus vulgaris. *Iran J Allergy Asthma Immunol.* 2008; 7(1): 7-12.
99. Klein J, Sato A. The HLA system. First of two parts. *N Engl J Med.* 2000; 343(10): 702-9.
100. Loke YW and King A. Recent developments in the human maternal-fetal immune interaction. *Curr Opin Immunol.* 1991; 3: 762-766.
101. Braud VM, Altan DSJ, O'Callaghan CA et al. HLA – E binds to natural killer cell receptors, *Nature*, 1998; 391: 795 – 797.
102. www.ncbi.nlm.nih.gov/gv/mhc
103. Grimsley C, Ober C. Population genetic studies of HLA-E: evidence for selection. *Hum Immunol.* 1997; 52(1): 33-40.
104. Gomez-Casado E, Martinez-Laso J, Vargas-Alarcón G, et al. Description of a new HLA-E (E*01031) allele and its frequency in the Spanish population. *Hum Immunol.* 1997; 54(1): 69-73.
105. Bender K. Immunogenetics. *Experientia.* 1986; 42(10): 1138-47.
106. Krain LS, Terasaki PI, Newcomer VD, et al. Increased frequency of HLA-A10 in pemphigus vulgaris. *Arch Dermatol.* 1973; 108: 803-805.
107. Hashimoto K, Miki Y, Nakata S, et al. HLA-A10 in pemphigus among Japanese. *Arch Dermatol.* 1977; 113: 1518-1519.
108. Park KS, Park JS, Nam JH, et al. HLA-E*0101 and HLA-G*010101 reduce the risk of Behcet's disease. *Tissue Antigens.* 2007; 69(2): 139-44.
109. Hu D, Ikizawa K, Lu L, et al. Analysis of regulatory CD8 T cells in Qa-1-deficient mice. *Nat Immunol.* 2004; 5(5): 516-23.
110. Jabri B, de Serre NP, Cellier C, et al. Selective expansion of intraepithelial lymphocytes expressing the HLA-E-specific natural killer receptor CD94 in celiac disease. *Gastroenterology.* 2000; 118(5): 867-79.
111. Tennakoon DK, Mehta RS, Ortega SB, et al. Therapeutic induction of regulatory, cytotoxic CD8+ T cells in multiple sclerosis. *J Immunol.* 2006; 176(11): 7119-29.

112. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 1988; 16(3): 1215.
113. http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3_www.cgi
114. <http://hla.alleles.org>
115. Tallab T, Joharji H, Bahamdan K, et al. The incidence of pemphigus in the southern region of Saudi Arabia, *Int J Dermatol.* 2001; 40(9): 570-2.
116. Ishii N, Maeyama Y, Karashima T, et al. A clinical study of patients with pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus: an 11-year retrospective study (1996-2006), *Clin Exp Dermatol.* 2008; 33(5): 641-3.
117. Svecova D, Parnicka Z, Pastyrikova L, et al. HLA DRB1* and DQB1* alleles are associated with disease severity in patients with pemphigus vulgaris. *Int J Dermatol.* 2014; 12418.
118. V'lickova-Laskoska M.T, Laskoski D.S, Kamberova S, et al. Epidemiology of pemphigus in Macedonia: a 15-year retrospective study (1990-2004), *Int J Dermatol.* 2007; 46(3): 253-8.
119. Chams-Davatchi C, Valikhani M, Daneshpazhooh M, et al. Pemphigus:analysis of 1209 cases, *Int J Dermatol.* 2005; 44(6): 470-6.
120. Tsankov N, Vassileva S, Kamarashev J, et al. Epidemiology of pemphigus in Sofia, Bulgaria. A 16-year retrospective study (1980-1995), *Int J Dermatol.* 2000; 39(2): 104-8.
121. Turgutalp S.Ç, Harman M. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Polikliniğine başvuran pemfiguslu hastaların klinik özellikleri, *Dicle Tıp Dergisi,* 2007; 34(2): 116-9.
122. Camacho-Alonso F, López-Jornet P, Bermejo-Fenoll A. Pemphigus vulgaris. A presentation of 14 cases and review of the literature, *Med Oral Patol Oral Cir Bucal,* 2005; 10(4): 282-8.
123. Esmaili N, Chams-Davatchi C, Valikhani M, et al. Pemphigus vulgaris in Iran: a clinical study of 140 cases, *Int J Dermatol.* 2007; 46(11): 1166-70.
124. Shams S, Amirzargar AA, Yousefi M, et al. HLA class II (DRB, DQA1 and DQB1) allele and haplotype frequencies in the patients with pemphigus vulgaris. *J Clin Immunol.* 2009; 29(2): 175-9.

10. EKLER

PEMFİGUS VULGARİSLİ HASTALARDA HLA-E GEN POLİMORFİZMİ

Hastanın adı/soyadı:

Dosya no:

Cinsiyet:

Memleketi:

Yaş:

Telefon no:

Kilo:

Tarih:

Hastanın başvuru şikayeti:

Ağızda yara

Ses kısıklığı

Yutma güçlüğü /ağrı

Deride yara/su toplama

Burun kanaması

Gözde kızarma

Diğer:

Lezyonların ilk çıkış zamanı:

....hafta önce

.....ay önce

....yıl önce

Pemfigusa neden olabilecek ilaç kullanımı:

Yok

Var

İlaç adı: ACEI

ARB

B-Bloker

Sefalosporinler

Diğer

Lezyonların başlangıç yeri:

Orofaringeal

Deri

Deri +Orofaringeal

Konjunktiva

Nazal mukoza

Anal

Genital

Lezyon gelişiminin kronolojik sırası:

Önce orofaringeal sonra deri (aradaki süre)

Önce deri sonra orofaringeal (aradaki süre)

Orofaringeal + deri birlikteliği

Önce orofaringeal sonra diğer müköz membranlar (konjunktiva, anogenital, nazal)

Orofaringeal + diğer müköz membranlar birlikteliği

Halen orofaringeal bölgeye sınırlı

Halen deriye sınırlı

Halen orofarengal dışı bir müköz membrana sınırlı

Lezyon sayısı:

<3

3-5

6-10

>10

Aktivite Skoru:

PAI:

ABSIS:

Tanı araçları:

Histopatoloji

İmmünofloresan

ELISA

ELISA'da pozitif antikor:

Dsg1

Dsg3

Dsg1+Dsg3

Daha önce kullandığı topikal tedaviler / süresi:

Daha önce kullandığı sistemik tedaviler / süresi:

Kullanmakta olduğu tedavi:

Laboratuvar:

HLA-E polimorfizmi:

ABSIS SCORING SHEET

Date:

Patient's weight (kg):

<i>Legend for weighting factor (most dominant appearance of skin lesions):</i>	
<i>1.5</i>	<i>Erosive, exudative lesions</i>
<i>1</i>	<i>Erosive, dry lesions</i>
<i>0.5</i>	<i>Reepithelialized lesions</i>

Skin Involvement (Max BSA)	Patient's BSA	Weighting factor
Head & neck (9%):		
L Arm including hand (9%):		
R Arm including hand (9%):		
Trunk (front & back) (36%):		
L Leg (18%):		
R Leg (18%):		
Genitals (1%):		

(Skin involvement total score: % BSA x weighting factor = 0-150 points)

Oral Involvement:

I. Extent (enter 1 for presence of lesions, 0 absence of any lesion):

Upper gingival mucosa		Tongue	
Lower gingival mucosa		Floor of the mouth	
Upper lip mucosa		Hard palate	
Lower lip mucosa		Soft palate	
Left buccal mucosa		Pharynx	
Right buccal mucosa			

(Total score ranges from 0-11)

Severity (discomfort during eating/drinking)

Food	Level	Factor of Discomfort	Severity score
Water	1		
Soup	2		
Yogurt	3		
Custard	4		
Mashed potatoes/ scrambled egg	5		
Baked fish	6		
White bread	7		
Apple/ raw carrot	8		
Fried steak/ whole-grain bread	9		

(Severity score= Level multiplied by the factor of discomfort= 0-45 points)

<i>Legend for factor of discomfort</i>	
<i>1</i>	<i>Pain/bleeding occurred always</i>
<i>0.5</i>	<i>Pain/bleeding occurred sometimes</i>
<i>0</i>	<i>Never experienced problems</i>

Pemphigus Disease Area Index (PDAI)

Skin	Activity	Damage
Anatomical Location	Erosion/Blisters or new erythema	Post-inflammatory hyperpigmentation or erythema from resolving lesion
	0 absent 1 1-3 lesions, up to one >2 cm diameter, none > 6 cm 2 2-3 lesions, at least two > 2 cm diameter, none > 6cm 3 >3 lesions, none > 6 cm diameter 5 >3 lesions, and/or at least one >6 cm diameter 10 >3 lesions, and/or at least one lesion >16 cm diameter or entire area	0 absent 1 present
Ears		
Nose		
Rest of the face		
Neck		
Chest		
Abdomen		
Back, buttocks		
Arms		
Hands		
Legs		
Feet		
Genitals		
Total skin	/120	/12

Scalp

Scalp	Erosion/Blisters or new erythema	Post-inflammatory hyperpigmentation or erythema from resolving lesion
	0 absent 1 in one quadrant 2 two quadrants 3 three quadrants 4 affects whole skull 10 at least one lesion > 6 cm	0 absent 1 present
Total Scalp (0-10)	/10	/1

Mucous membrane

Anatomical Location	Erosion/Blisters
	0 absent 1 1 lesion 2 2-3 lesions 5 >3 lesions or 2 lesions >2 cm 10 entire area
Eyes	
Nose	
Buccal mucosa	
Hard palate	
Soft palate	
Upper gingiva	
Lower gingiva	
Tongue	
Floor of mouth	
Labial bucosa	
Posterior pharynx	
Anogenital	
Total Mucosa	/120

Total Activity Score:

Total Damage Score

Ek.2**BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU**

Sayın

Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı ve Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı arasında “**Pemfigus vulgaris hastalarında HLA-E gen polimorfizmi**” isimli bir araştırma yürütülmektedir. Pemfigus hastalığı deri ve mukozalarda (ağız, burun, kulak içi, boğaz, yemek borusu ve genital bölge) içi su dolu yaralar ile seyrederek ve genellikle 40 ve 60 yaşlar arasında görülür. Bu hastalık nadiren ölümcül olabilen otoimmün bir hastalıktır. Bu otoimmün sürecin etyolojisi ve patogenezi (hastalığın oluşumun ve gelişimin nedeni) bilinmemektedir, ancak yapılan pemfigus vulgaris hasta gruplarında HLA (İnsan Lökosit Antijeni) faktörleri ile anlamlı ilişki saptanmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalar pemfigus vulgarisli hastalarda ırklara özgü olarak bazı doku gruplarının etyopatogenezi etkileyecek şekilde pozitif olduğu göstermektedir ve otoimmün hastalıklara yatkınlıkta HLA-E polimorfizminin (İnsan Lökosit Antijeninin E gen çeşitliliğinde) olası bir rolü olduğu gösterilmiştir.

Bu araştırmanın amacı; pemfigus vulgaris hastalığın ve HLA-E gen polimorfizmi arasında potansiyel ilişkiyi değerlendirmektir. Çalışma sonucunda pemfigus vulgaris hastalarında genetik risk oluşturan HLA-E allelinin saptanması amaçlandı. Bu tip bir çalışma için az miktarda kan örneği yeterli olmaktadır. Eğer kabul ederseniz sizi bu araştırmaya dahil etmek istiyoruz.

Bu araştırmanın sonuçları yalnızca bilimsel amaçlarla kullanılacak ve kimliğiniz her zaman gizli tutulacaktır. Bu araştırmaya katılmanızdan dolayı sizden herhangi bir para talep edilmeyecektir. Aynı şekilde size de herhangi bir ödeme yapılmayacaktır. Toplanan kanlar öncelikle yurt içi bir laboratuarda tetkik edilecektir.

Araştırmaya katılmak isterseniz size uygulanacak işlemler şu şekilde olacaktır. Öncelikle Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalında görevli bir Doktor tarafından muayene edileceksiniz. Çalışma için kolunuzdan 1 tüp (10 ml) kan alınacaktır.

Araştırmaya katılmak zorunda olmadığınız gibi araştırmaya katılmayı kabul ettiğinizde, istediğiniz anda ayrılma hakkına da sahipsiniz. Ancak bu kararınızı bize önceden bildirirseniz araştırmanın bozulmasına meydan vermemiş olursunuz. Katılmak istemediğinizde şu anda sürdürülen tedavi işlemleri bundan etkilenmeyecektir.

Araştırmadan elde edilen sonuçları talep etmeniz durumunda herhangi bir ücret talep etmeden size bildireceğiz. Bilgi edinmek istemiyorsanız lütfen yazılı formun altına belirtiniz.

Hastanın Beyanı

Dr. tarafından “**Pemfigus vulgaris hastalarında HLA-E gen polimorfizmi**” adlı araştırma hakkında bana bilgi verildi. Araştırmanın amacı, uygulama biçimi ile riskleri ve tıbbi bilgilerimle ilgili gizliliğin sağlanacağı konusunda yeterli açıklama yapıldı. Araştırma sırasında klinik sorularım için Doç.Dr.Savaş YAYLI (0462 377 5388) ve genetik araştırma ile ilgili sorularım için Doç. Dr. Ersan KALAY (0462 377 7940) ile temas edebileceğim bana bildirildi. İstedğim zaman araştırmadan çekilebileceğimi biliyorum. Araştırmaya katılmamın tamamen gönüllü olduğu, katılmam ya da katılıp daha sonra araştırmadan çekildiğim durumda tedavi ve tetkiklerimin bundan etkilenmeyeceği belirtildi. Bu araştırmaya kendi gönüllü onayım ile kendimin katılmasına olurum vardır.

_____	_____	_____	_____	_____
Hasta	Adı Soyadı	Doğum Tarihi	Adres/Tel	İmza

_____	_____	_____	_____	_____
Veli/Vasi	Adı Soyadı	Doğum Tarihi	Adres/Tel	İmza

_____	_____	_____	_____	_____
Tanık	Adı Soyadı	Doğum Tarihi	Adres/Tel	İmza

Hekim:

Adı Soyadı :

Adres/Tel :

İmza :

Görüşme tarih ve saati :

Bu çalışmada elde edilecek kendimle ilgili bilgileri,

Öğrenmek istiyorum ()

Öğrenmek istemiyorum ()

Tarafımdan alınan kodlanmış* örneğin yalnızca önerilen çalışma için kullanımını onaylıyorum; ileride yapılması olası diğer çalışmalar için onay vermiyorum.

Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin, araştırma konusuyla bağlantılı diğer çalışmalarda kullanımını onaylıyorum, ancak farklı çalışmalar için tekrar bilgilendirilmek ve yeni onay vermek istiyorum.

Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin gelecekte her türlü genetik çalışmada (kimliğim ile bağlantısız) olarak kullanılmasını onaylıyorum.

***Kodlanmış örnek:** Sizden alınan örneğe bir kod numarası verilir. Kod numarasını yalnızca araştırmacı bilir ve sizin kimlik bilgilerinize yalnızca araştırmacı ulaşabilir. Böylece kimlik bilgileriniz gizli tutulmuş olur.