SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ
DERİ VE ZÜHREVİ HASTALIKLAR KLİNİĞİ

BÜLLÖZ PEMFİGOİD VE PEMFİGUS VULGARİS HASTALARINDA DOKU VE SERUM İL-31 VE İL-31RA DÜZEYLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. Ecem Zeliha Ergün

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL / 2020

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ
DERİ VE ZÜHREVİ HASTALIKLAR KLİNİĞİ

BÜLLÖZ PEMFİGOİD VE PEMFİGUS VULGARİS HASTALARINDA DOKU VE SERUM İL-31 VE İL-31RA DÜZEYLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. Ecem Zeliha Ergün

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ayşe Esra Koku Aksu
Dr. Işın Sinem Bağcı

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL / 2020

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimin ilk gününden itibaren bana her konuda mentorluk yapan, dermatolojiyi sevdiren, olaylara yenilikçi ve bilimsel açıdan yaklaşmayı, analitik düşünme becerisini aşılayan, hoşgörülü, adaletli ve eğitici kişiliğiyle, mesleğine ve hastalarına duyduğu ilgi ve saygıyla her zaman örnek alacağım, asistanı olmaktan büyük onur duyduğum, çok değerli hocam Prof. Dr. Mehmet Salih Gürel'e;

Uzmanlık eğitimim süresince çok değerli bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yüksek insani vasıflarına, bitmek tükenmez çalışma ve eğitim azmine, şefkatli ve adaletli kişiliğine, sorunlara çözüm odaklı yaklaşımına her zaman hayran olduğum, tezimin fikir aşamasından itibaren gerçekleştirilmesinde büyük emekleri olan ve her konuda desteğini esirgemeyen tez danışmanım ve hocam Doç. Dr. Ayşe Esra Koku Aksu'ya;

Akademik ve eğitici kişiliğini, hastalarına olan yaklaşımını ve özenini, pozitif düşünce yapısını meslek hayatım boyunca örnek alacağım, engin bilgilerinden her zaman yararlanacağım hocam Doç. Dr. Vefa Aslı Erdemir'e;

Tezimin gerçekleştirilmesinde büyük emekleri olan, bana her konuda yardımcı olan ve kendisinden çok şey öğrendiğim Dr. Işın Sinem Bağcı'ya;

Mesleki tecrübesi ve sorunlara karşı geliştirdiği pratik çözümleriyle örnek bir hekim olan, bana her zaman anne şefkati ile yaklaşan Dr. Ümmühan Kiremitçi'ye;

Uzmanlık eğitimim boyunca farklı zamanlarda birlikte çalışma fırsatı bulduğum, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Uzm. Dr. Füsun Bilgin Karahallı, Uzm. Dr. Mustafa Yıldırım, Uzm. Dr. Ebru Sarıkaya, Uzm. Dr. Ayşe Nigar Durmuş Uçar, Uzm. Dr. Asude Kara Polat, Uzm. Dr. Vildan Manav ve Uzm. Dr. Duygu Erdil'e;

Birlikte çalışmaktan büyük zevk aldığım, çalışma ortamımı huzurlu kılan sevgili asistan arkadaşlarım Dr. Sevgi Mercan, Dr. Fatma Uzun, Dr. Sümeyre Seda Ertekin, Dr. Yasin Sarı, Dr. Müge Göre Karaali, Dr. Ozan Erdem, Dr. Elif Bal Avcı, Dr. Cemre Büşra Türk, Dr. Dilara İlhan ve Dr. Buğra Burç Dağtaş, Yusuf Mert Döş ve Tuğba İlter'e;

Hatice Cihangir, Esma Yiğit ve Kamuran Koncaoğlu başta olmak üzere tüm Dermatoloji Kliniği hemşire, çalışan ve personellerine;

Tezimi hazırladığım dönem boyunca beni evlerinde misafir eden, tüm sıcaklıklarıyla bana ikinci bir aile olan Gülten Tekin, Cengiz Tekin, Yücel Tekin ve Murat Tekin'e;

Bugünlere gelmemde büyük emeği olan, her verdiğim kararda arkamda durduklarını hissettiğim, haklarını asla ödeyemeyeceğim annem, babam ve kardeşime;

Her konudaki desteğiyle her zaman yanımda olan Ekrem Bayraktar'a;

Sonsuz şükran ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Ecem Zeliha Ergün

İstanbul, 2020

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR ..... **i**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **v**

TABLO LİSTESİ ..... **vi**

ŞEKİL LİSTESİ ..... **vii**

ÖZET ..... **viii**

ABSTRACT ..... **x**

1.GİRİŞ VE AMAÇ **1**

2.GENEL BİLGİLER **3**

2.1. BÜLLÖZ PEMFİGOİD 3

2.1.1 Epidemiyoloji 3

2.1.2 Etiyopatogenez 3

2.1.3 İlişkili hastalıklar 5

2.1.4 Klinik özellikler 6

2.1.4.1. Klasik BP 6

2.1.4.2.Nonbüllöz kutanöz pemfigoid 7

2.1.4.3. Diğer klinik varyantlar 7

2.1.5 Tanı 8

2.2. PEMFİGUS VULGARİS 9

2.2.1 Epidemiyoloji 10

2.2.2 Etiyopatogenez 10

2.2.3 Klinik özelllikler 12

2.2.4 Tanı 13

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER **18**

3.1. ETİK KURUL 18

3.2. ÇALIŞMA GRUBUNUN OLUŞTURULMASI 18

3.3. ÇALIŞMA YÖNTEMİ VE ÇALIŞMA VERİ TABANININ HAZIRLANMASI 19
3.3.1. Demografik ve klinik özellikler ile ilgili parametreler 19
3.3.2. İmmünohistokimyasal çalışma 19
3.3.2.1. İL-31 ve İL-31RA ile boyama 19
3.3.2.2. S100 ile boyama 20
3.3.2.3 Doku İL-31 ekspresyonunun değerlendirilmesi 21
3.3.2.4 Doku İL-31RA ekspresyonunun değerlendirilmesi 21
3.3.2.5. Periferal sinirlerde S100 ekspresyonunun değerlendirilmesi 22
3.3.3. Serum İL-31 düzeyinin ölçümü 22
3.4. ÇALIŞMADA KULLANILAN İSTATİSTİKSEL YÖNTEM 23
3.5. ÇIKAR ÇATIŞMASI 24
4. BULGULAR 25
4.1. DEMOGRAFİK VE KLİNİK ÖZELLİKLER 25
4.2. İMMÜNHİSTOKİMYASAL BULGULAR 25
4.2.1. İL-31 ekspresyonunun değerlendirilmesi 25
4.2.2. İL-31RA ekspresyonunun değerlendirilmesi 28
5. TARTIŞMA 35
6. SONUÇLAR 45
7. KAYNAKLAR 46
ÖZGEÇMİŞ 53
EKLER 57
EK1:TEZ KONUSU ONAM FORMU 57
EK2: ETİK KURUL KARARI 63
EK3: TEZİN ALINTILANMA YÜZDESİ 64

SİMGELER VE KISALTMALAR

AEB **:** Akkiz epidermolizis büllosa

AD **:** Atopik dermatit

BP **:** Büllöz pemfigoid

DİF : Direk immünofloresan

Dsg1 : Desmoglein-1

Dsg3 : Desmoglein-3

ELİSA **:** Enzyme linked immünoabsorbent assays

H&E **:** Hematoksilen eozin

İL **:** İnterlökin

İL-31 **:** İnterlökin 31

İL-31RA **:** İnterlökin 31 reseptör antikoru

İF : İmmünofloresan

İİF : İndirek immünofloresan

H&E **:** Hematoksilen eozin

İHK **:** İmmünhistokimya

MMP : Matriks metalloproteinaz

NK **:** Negatif kontrol

PF: **:** Pemfigus foliaseus

PV **:** Pemfigus vulgaris

Th1 **:** T helper 1

Th2 **:** T helper 2

TABLO LİSTESİ

Sayfa No:

Tablo 1: Hastaların demografik verileri ve biyopsi bölgeleri 25

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No:

Şekil 1: BP hastasında eritemli zeminde kurutlu, yer yer epitelize olan erozyonlar ve seröz ve hemorajik içerikli gergin büller (a,b) 16

Şekil 2: PV hastasında normal deri üzerinden gelişmiş gevşek büller ve büllerin açılmasıyla oluşmuş erode alanlar (a,b). Oral mukozada erode alanlar (c). 17

Şekil 3: BP, PV ve NK hastalarında dermis inflamatuar hücrelerinde İL-31 ekspresyonu arasındaki ilişki (*p<0,05, **p<0,01) 26

Şekil 4: BP (a), PV (b) ve NK (c) hastalarında dermiste İL-31 ekspresyonu (x400, İL-31 antikoru) 27

Şekil 5: BP, PV ve NK hastalarında epidermis İL-31RA ekspresyonu arasındaki ilişki. (* P <0,05, ** P <0,01) 28

Şekil 6: BP (a), PV (b) ve NK (c) hastalarında epidermis İL-31RA ekspresyonu (x400, İL-31RA antikoru) 29

Şekil 7: BP, PV ve NK hastalarında dermisteki inflamatuar hücrelerin İL-31RA ekspresyonu arasındaki ilişki (* P < 0,05, ** P <0,01) 30

Şekil 8: BP (a), PV (b) ve NK (c) hastalarında dermis İL-31RA ekspresyonu (x400, İL-31RA antikoru) 31

Şekil 9: BP ve PV hastalarında periferal sinirlerdeki İL-31RA ekspresyonu arasındaki ilişki. (* p<0,05) 32

Şekil 10: BP ve PV hastalarında periferal sinirlerde S100 (a,b,c,d) ve İL-31RA (e,f) ile boyanma (a ve b x200 S100 antikoru, c ve d x400 S100 antikoru, f ve g x400 İL31RA antikoru). Oklar periferal sinirleri göstermektedir (a,b). 33

Şekil 11: BP, PV ve NK hastalarında serum İL-31 düzeyi arasındaki ilişki..... 34

ÖZET

BÜLLÖZ PEMFİGOİD VE PEMFİGUS VULGARİS HASTALARINDA SERUM VE DOKU İL-31 VE İL-31RA DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Amaç: Büllöz pemfigoid (BP), genellikle ileri yaştaki bireylerde ürtikeryal plaklar, kaşıntı ve subepidermal büllerle karakterize kronik otoimmün büllü hastalıktır. Pemfigus vulgaris (PV) ise, deri ve müköz membranlarda intraepidermal büllerle seyreden otoimmün büllöz bir hastalıktır. Bu iki otoimmün büllöz dermatozun kliniği kaşıntı ve inflamatuar lezyonlar açısından farklılık göstermektedir. Çalışmanın amacı BP ve PV hastalarında pruritojen sitokin olan İL-31 ve İL-31RA düzeylerini karşılaştırmak ve bu hastalıkların etiyopatogenezine katkıda bulunmaktır.

Gereç ve yöntem: Çalışmamıza Ocak 2016-Aralık 2020 tarihleri arasında Münih Ludwig Maximilian Üniversitesi Dermatoloji Kliniği'ne başvuran hastalar dahil edildi. İmmünhistokimyasal çalışma için hastane arşivinden 10 BP, 10 PV hastasının deri örnekleri ve 7 negatif kontrol (NK); ELİSA yöntemi ile serum antikor seviyesi analizi için 13 BP ve 12 PV hastasının serum örnekleri ve 4 NK çalışmaya dahil edildi. Doku İL-31, İL-31RA ve S100 ekspresyonu immünhistokimya metodu ile değerlendirildi Dermis inflamatuar hücrelerinde İL-31 ve İL31-RA boyanma yüzdesi manuel olarak; epidermis ve periferal sinir İL-31RA boyanma yüzdesi ImageJ programı ile değerlendirildi. Periferal sinir S100 ekspresyonu kalitatif olarak değerlendirildi. Serum İL-31 seviyesi ELİSA yöntemi ile ölçüldü.

Bulgular: Çalışmamızda BP hastalarında PV ve negatif kontrollere göre dermis inflamatuar hücrelerinde İL-31 ekspresyonunun istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmış olduğu izlenirken ($p<0,05$ ve $p<0,01$) PV ve NK hastaları arasında bu açıdan anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). Epidermis, dermis inflamatuar hücreleri ve periferal sinirlerde İL-31RA ekspresyonunun BP hastalarında PV ve NK'ye göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu gösterildi. ($p<0,05$ ve $p<0,01$).

PV ve NK hastaları arasında ise İL-31RA ekspresyonu açısından istatistiksel olarak fark saptanmadı ($p>0,05$). Serum İL-31 seviyeleri karşılaştırıldığında, üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p>0,05$).

Sonuç: BP hastalarında PV'ye göre yüksek İL-31 ve İL-31RA ekspresyonu saptanırken PV ile kontrol grubu arasında fark izlenmemesi, BP'de artmış kaşıntının İL-31 düzeyi ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Çalışmamız, hastalıklar arasındaki bu klinik farklılığının altında yatan sebeplerin anlaşılmasına katkıda bulunmuştur. Bunun yanında İL-31 ve İL-31RA'nın BP patogenezindeki rolünü desteklemekte ve İL-31 yolağına karşı geliştirilmiş olan tedavilerin BP'de kullanılabileceğine dair veri oluşturmaktadır.

Anahtar kelimeler: büllöz pemfigoid, pemfigus vulgaris, kaşıntı, İL-31, İL-31RA, immünohistokimya, periferal sinir

ABSTRACT

EVALUATION OF SERUM LEVELS AND TISSUE EXPRESSION OF IL-31 AND IL-31RA IN BULLOUS PEMPHIGOID AND PEMPHIGUS VULGARIS

Aim: Bullous pemphigoid (BP) is a chronic autoimmune bullous dermatosis characterized by pruritus, urticarial plaques, and subepidermal bulla formation in elderly patients. Pemphigus vulgaris (PV) is another chronic autoimmune disease with intraepidermal bulla formation on the skin and mucous membranes. Unlike PV, BP is associated with intense pruritus and inflammatory lesions. The aim of this study was to compare serum levels and tissue expression of IL-31 and IL-31RA in BP and PV and contribute to the pathogenesis of these disorders.

Materials and Methods: Patients who visited the Department of Dermatology and Allergology, Ludwig Maximilian University between January 2016-December 2019, were included in this study. The skin samples of 10 BP and 10 PV patients from clinic archives and seven healthy controls were obtained for immunohistochemical study. For the examination of serum levels, serum samples of 13 BP, 12 PV patients and four healthy controls were selected. Expression levels of IL-31, IL-31RA, and S100 in the skin were measured using immunohistochemistry. The percentages of positive inflammatory cells with IL-31 and IL-31RA were counted manually in the dermis, whereas the staining of the epidermis and peripheral nerves with IL-31RA was evaluated using ImageJ software. S100 expression in peripheral nerves was assessed qualitatively. IL-31 serum levels were analyzed using a commercial ELISA kit.

Results: The expression of IL-31 in dermal inflammatory cells was significantly elevated in BP patients compared to PV and negative controls, whereas no significant difference was determined between PV and negative controls. Moreover, IL-31RA expression in epidermis, dermis, and peripheral nerves were significantly higher in BP compared to PV and control group ($p<0,05$ and

p<0,01)**.** The difference was insignificant between PV patients and negative controls for the expression of IL-31RA (p>0,05). There was no statistical difference between these three groups regarding the serum levels of IL-31 (p>0,05).

Conclusion: IL-31 and IL-31RA levels were increased in BP tissues compared to PV and healthy controls. On the contrary, no statistical difference was observed between PV and healthy controls. These data might explain the underlying mechanism of the pruritus and inflammatory lesions seen in BP patients while they are not present in PV. Furthermore, it supports the role of IL-31 and IL-31RA in the pathogenesis of BP. These findings suggest that the IL-31 pathway might be a new therapeutic option in BP patients.

Keywords: bullous pemphigoid, pemphigus vulgaris, pruritus, IL-31, IL-31RA, immunohistochemistry, peripheral nerves

1.GİRİŞ VE AMAÇ

İnterlökin-31 (İL-31), 2004 yılında keşfedilen yeni bir sitokin olup transgenik farelerde kaşıntı ve dermatiti indüklediği gösterilmiştir (1). Son yıllarda bilimsel ilgi odağı olan bu sitokinin kaşıntı dışında proinflamatuar ve immünmodülatör rollerinin de olduğu bildirilmiştir. Atopik dermatit (AD), allerjik kontakt dermatit ve dermatitis herpetiformis gibi T helper 2 (Th2) ağırlıklı inflamasyon ile seyreden kaşıntılı birçok hastalıkta serum ve doku İL-31 düzeylerinin yüksek olduğu gösterilmiştir (2-4).

Büllöz pemfigoid de Th2 ağırlıklı inflamasyon ile seyreden bir hastalık olup kliniğinde büller lezyonlarla birlikte kaşıntı ve egzematizasyon ön plandadır. Histopatolojide dermiste ve bül sıvısında eozinofil üstünlüğü bulunmaktadır. Daha önce büllöz pemfigoid serum, doku ve bül sıvısında İL-31 seviyelerini değerlendirilen sınırlı sayıda çalışma mevcuttur (4-6). İL-31'in büllöz hastalıklar patogenezindeki rolünü açığa kavuşturmak için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır

Pemfigus vulgaris, Th2 ağırlıklı inflamasyon paterni izlenen bir diğer otoimmün büllöz dermatozdur. Histopatolojisinde bül sıvısında ve dermiste seyrek eozinofilik inflamatuar infiltrat gözlenir. Bununla birlikte, kliniğinde kaşıntı ve egzematizasyon nadiren gözlenir.

Kliniği önemli derecede farklılık gösteren bu iki hastalığın sitokin paterni daha önce karşılaştırılmış; büllöz pemfigoid deri örneklerinde İL-4, İL-13 ve İL-5 birikimi, pemfigus vulgaris deri örneklerinde ise İL-2, İFN-gama, İL-4 birikimi saptanırken İL-5 ve İL-13 birikimi saptanmamıştır (7).

Literatürde BP ve PV ile İL-31 ilişkisi ile ilgili çalışmalar kısıtlıdır. Çalışmamız BP ve PV hastalarında İL-31 düzeyini doku ve serumda karşılaştıran ilk çalışma olacaktır. İL-31'in hastalık patogenezindeki rolüne ışık tutacaktır.

T helper 2 ağırlıklı inflamasyon ile seyreden AD'de deri biyopsi örneklerinde İL-31 mRNA ekspresyonun arttığı ve bunun İL-4 ve İL-13 düzeyleri ile korele olduğu gösterilerek İL-31'in kaşıntı patogenezinde rol oynadığı kanıtlanmıştır. İL-31 reseptörüne karşı geliştirilmiş bir antikor olan nemolizumabın subkutan olarak atopik

dermatit hastalarına uygulanması ile orta-şiddetli atopik dermatit hastalarında kaşıntının anlamlı olarak gerilediği gösterilmiştir. İlacın faz III çalışmaları devam etmekte olup, ilaç şiddetli atopik dermatit tedavisinde umut vadetmektedir (8).

Büllöz pemfigoid, çoğunlukla yaşlı ve nörolojik hastalıkları olan popülasyonda görülüp güncel yaklaşımda ilk tedavi seçeneği topikal ve oral steroidlerdir. BP, şiddetli kaşıntı nedeniyle hastaların yaşam kalitesini düşürmektedir. Yaşlı ve düşkün hastaların steroidlerin yan etkilerine normal popülasyona göre daha duyarlı oldukları düşünüldüğünde, büllöz pemfigoid için kortikosteroidden kurtarıcı tedavi ajanı ihtiyacı belirgin hale gelmektedir.

Büllöz pemfigoid hastalarının serum İL-31 seviyelerinin sağlıklı kontroller ile karşılaştırıldığı çalışmalarda İL-31 seviyelerinin arttığı gösterilmekle birlikte literatürde İL-31 seviyelerinin sağlıklı kontrollere göre azalmış olduğunu ve sağlıklı kontrollerle benzer olduğunu gösteren çelişkili sonuçlar da bulunmaktadır (9). BP hastalarında doku İL-31 ekspresyonun yüksek olduğu ve bunun kaşıntı ve bül oluşumunu tetiklediği gösterilmiştir (4). Yine BP hastalarının bül sıvılarında İL-31 seviyelerinin sağlıklı kontrollere göre yüksek olduğu gösterilmiştir (5). Bu sonuçlar İL-31 reseptörünü hedefleyen tedavilerin atopik dermatite benzer şekilde BP'de de yüz güldüren bir tedavi seçeneği olabileceğini düşündürmektedir.

Biz çalışmamızda pruritojen sitokin olarak bilinen ve Th2 ağırlıklı inflamasyonda görev alan İL-31 ve İL-31RA'nin BP hastalarında PV hastalarına göre daha fazla eksprese edildiği ve bu durumun iki hastanın kliniğindeki farklılığı açıklayabileceği hipotezini kurduk. Çalışmanın amacı BP ve PV hastalarının serum ve doku örneklerinde İL-31 ve İL-31RA düzeylerini karşılaştırmak ve bu hastalıkların patogenezine katkı sağlayarak yeni tedavi çalışmalarına yol gösterici olmaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. BÜLLÖZ PEMFİGOİD

Büllöz pemfigoid, deri ve müköz membranlardaki hemidesmozomal proteinlere karşı gelişen otoantikorlar ile karakterize otoimmün subepidermal büllöz hastalıktır (10). Hastalık ilk kez Lever tarafından 1953 yılında tanımlanmıştır (11). 1967 yılında ise Jordon, Beutner ve arkadaşları, BP hastalarında dolaşımda bulunan ve bazal membrana bağlanarak subepidermal ayrışmaya yol açan otoantikorları göstermişlerdir (12).

2.1.1 Epidemiyoloji

Büllöz pemfigoid, en sık görülen otoimmün büllü hastalıktır (13). Başlıca yaşlı popülasyonu etkilemekle birlikte nadiren çocuklarda da görülebilmektedir (14). 90 yaş üzerindeki hastalarda 60 yaş ve altı hastalara göre 300 kat daha fazla görülen hastalık, erkeklerde kadınlara oranla daha sık görülmektedir (15).

Toplumda ileri yaş popülasyonun artmasına paralel olarak BP insidansında da artış izlenmektedir. Bu durum, artmış komorbidite, çoklu ilaç kullanımı, otoantikor varlığını saptayan laboratuvar yöntemlerinin gelişmesine bağlanmaktadır (16). Yıllık insidansın Avrupa'da yapılan epidemiyolojik çalışmalarda 2,5-4,8 milyon, Asya'da yapılan çalışmalarda ise 2,6-7,5 milyon olduğu gösterilmiştir (17-21).

2.1.2 Etiyopatogenez

Büllöz pemfigoidde hedef antijenler hemidesmozamal protein ailesinden olan BP180 (BPAg2) ve BP230 (BPAg1) olup, bu moleküllere karşı hümoral ve hücresel immün cevap gelişmektedir (16). Hastalığın mekanizması tam olarak anlaşılamamış olmakla birlikte hedef proteinlere karşı gelişen otoantikorlar ve buna sekonder gelişen kompleman aktivasyonu ve inflamatuar hücre göçü hastalıktan temel olarak sorumlu tutulmaktadır (22).

BP180, 180 kDa'luk bir transmembran protein olup non-kollajen 16A (NC16A) domaini BP hastalarında gelişen antikorların ana hedefidir. Bu bölgedeki

majör epitoplar otoreaktif T ve B hücreleri tarafından tanınır, Th2 predominansı olan Th1/Th2 tipi mikst periferal T hücre cevabı gelişir (23). Anti-BP180 antikorlarının BP180 proteininin NC16A domainine bağlanması sonucu gelişen Fc-reseptör aracılı etki, bül oluşumundan temel olarak sorumlu tutulmaktadır (24). Hayvan modelleri kullanılarak yapılan çalışmalar, antikor bağlanmasına sekonder kompleman aktivasyonunun deride mast hücre degranülasyonu ve nötrofil infiltrasyonunu başlattığını ve bunun subepidermal bül oluşumu ile sonuçlandığını göstermiştir (28). Matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9) ve nötrofil elastaz gibi proteazların fragmente peptitlerinin nötrofiller için kemotaktik olduğu ve fare çalışmalarında BP180'in ayrışmasında rol oynadıkları gösterilmiştir (26). İnflamasyon ve ayrışma sürecinde nötrofiller önemli rol oynamakla birlikte lezyonların histopatolojik incelemesinde en sık izlenen hücreler eozinofillerdir. BP hastalarının periferal kanlarında da eozinofil sayısı artmıştır. Keratinositlerden salınan İL-8 in eozinofil migrasyonuna neden olduğu gösterilmiştir (27). Son çalışmalar, bül alanındaki eozinofillerden MMP-9 salındığını ve anti-BP180 IgE aracılı bül oluşumunda eozinofillerin rol aldığını ortaya koymuştur (28).

Major mekanizma antikor bağlanmasına sekonder gelişen inflamasyon süreci olmakla birlikte, antikorların görev aldığı çeşitli patojenik mekanizmalar bildirilmiştir. BP hastalarındaki serum IgG, makropinositozla BP180 molekülünün hücre içine alınmasını tetikleyerek hemidesmozomlardaki BP180 içeriğini ve buna sekonder bazal membranda hücre adezyonunu azaltır (29). Fare modellerinde BP otoantikorlarının pasif transferinin kompleman birikimi yapmadan bül oluşumunu indüklediği gösterilmiştir (30). Yine başka bir çalışmada kompleman aktivasyonunda inefektif olan anti-BP180 IgG4 antikorlarının bül formasyonunu tetiklediği gözlenmiştir (31). Bu nedenle, hemidesmozomların otoantikorlarla direk inhibisyonunun da bül oluşumunda rol oynadığı düşünülmektedir (27).

Büllöz pemfiogid hastalarının %70'inde serum IgE seviyesi artmıştır (27). Buna rağmen IgE'nin patogenezdeki yeri belirsizdir. BP hastalarında bazal membran boyunca IgE birikimi ve serum IgE düzeyleri ile ürtikeryal plaklar ya da hastalık şiddeti arasında korelasyonu gösteren çalışmalar olmakla birlikte yapılan diğer

çalışmalarda serum anti-BP180, IgE ve inflamatuar lezyonlar arasında ilişki saptanmamıştır (32,33).

Büllöz pemfigoid hastalarında BP180 ile birlikte BP230 da bir diğer otoimmün hedeftir. BP230, plakin ailesine ait intraselüler bir molekül olup keratin filamentlerini hemidesmozomlara bağlamakta görev alır. Anti-BP230'un patogenezdeki yeri tartışmalıdır. Birçok hastanın serumunda BP230'a karşı gelişen IgG ve IgE antikorları saptanmasına rağmen anti-BP230 titreleri ile hastalık aktivitesi arasında ilişki gösterilmemiştir (10). Bununla birlikte fare modeli üzerinde yakın zamanda yapılan bir çalışma, monoklonal anti-BP230 antikorlarının bül oluşumunu tetiklediğini ortaya koymuştur (34). Yine bazı BP vakalarında yalnızca anti-BP230 antikoru tespit edilmesi molekülün patogenezdeki rolünü desteklemektedir (35).

Büllöz pemfigoid patogenezinde birçok sitokin ve kemokinin rolü bulunmaktadır. BP hastalarının serum ya da bül sıvılarında İL-1ß, TNF-alfa, İL-5, İL-6, İL-8, İL-10 ve İL-15'in artmış olduğu gösterilmiştir. Benzer şekilde VEGF (vaskular endothelial growth factor) ve E-selektin düzeylerinin de yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca, hastaların bül sıvılarında İL-5 ve eotaksin miktarının arttığı ve İL-5 seviyesinin hastalık aktivitesi ile korele olduğu raporlanmıştır. Bunun yanında, tedavi yanıtı ile serum İL-18, İL-21, CCL17 ve CCL22 seviyelerinin azaldığı gösterilmiştir (**Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı.**).

Son dönemde yapılan çalışmalar BP hastalarında İL-31 seviyelerinin yüksek seyrettiğini, bunun hem kaşıntı hem de bül oluşumuna katkı sağladığını saptamıştır (4). Serum ve bül sıvısında İL-31 seviyesinin artmış olduğu ve bu artışın eozinofil sayısı ve anti-BP180 IgE seviyesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (5).

2.1.3 İlişkili hastalıklar

Büllöz pemfigoid, nöropsikiyatrik hastalıklarla ilişkili olup, hastaların 1/3'ünden fazlasında en az bir nöropsikiyatrik hastalık rapor edilmiştir (37). Serebrovasküler olay, demans ve Parkinson hastalığı BP ile en sık ilişkili olan nörolojik hastalıklardır (38-42).

Büllöz pemfigoid ile malignite ilişkisi ise çelişkilidir. Paraneoplastik BP literatürde bildirilmiş olmakla birlikte, malignite, yaşa bağlı artmış risk ile sınırlıdır (41). Bu nedenle hastanın öyküsünde malignite düşündürecek bir bulgu yoksa yaşa bağlı malignite taraması dışında tarama önerilmemektedir.

2.1.4 Klinik özellikler

Günümüzde BP için standart bir sınıflandırma bulunmamaktadır. Bununla birlikte klinik prezentasyon ve tetikleyici faktörler göz önüne alınarak değişik varyantlar tanımlanmıştır. BP, birçok farklı hastalığı taklit edebilmekte ya da diğer hastalıklarla birlikte bulunabilmektedir. Bu nedenle tanı mutlaka immünopatolojik bulgularla desteklenmelidir.

2.1.4.1. Klasik BP

Klasik BP, hastalığın en sık görülen tipi olup çoğunlukla 70 yaş üstü bireylerin gövde ve ekstremitelerinde eritemli plaklar ya da normal deri üzerinde gelişen, 1-3 cm çapında, gergin, seröz ya da hemorajik büllerle karakterizedir (10). Hastalık non-büllöz pruritik prodromal evre olarak adlandırılan, genellikle günler ya da aylar süren ürtikeryal ve ekskoriye ekzematöz plaklar ya da prurigo benzeri lezyonlarla başlar. Kaşıntı, hastaların hemen hepsinde bulunur. Lezyonlar genellikle simetrik dağılım gösterir; özellikle aksiller, alt abdomen, inguinal bölgeler ve uyluk iç yüzde yoğunlaşır. Büller zamanla erode olur ve kurutlanır, sonrasında skar bırakmadan iyileşir. Milia, hiper ya da hipopigmentasyon gibi post-inflamatuar değişiklikler izlenebilir (42). Mukoza tutulumu %10-25 oranında görülür (10). Oral mukoza en sık etkilenir. Konjonktiva, burun, farinks, özofagus ve anogenital bölge tutulumu da nadiren görülebilmektedir (43). Hastalık genellikle kronik olup spontan alevlenme ve remisyonlarla seyreder. Deri ve mukoza lezyonları genellikle hayatı tehdit edici olmamakla birlikte BP hastalarında mortalite yaşla uyumlu sağlıklı popülasyona göre 6 kat artmıştır (44).

2.1.4.2.Nonbüllöz kutanöz pemfigoid

Bu gruptaki hastalarda karakteristik bül gelişimi görülmez, hastalık başlangıç evresindeki nonspesifik lezyonlarla seyreder. Bu alt tip, hastaların yaklaşık %20'sinde bildirilmiştir (43). Yakın zamanda yayınlanan bir derlemede bu gruptaki hastaların yalnızca %9,8'inde takip sırasında bül oluşumu bildirilmiştir. En sık klinik bulgu; kaşıntı (%100), eritemli, ürtikeryal plaklar (%52,3), ekskoriyasyon (%22,7), papül ve nodüler (%20,5) lezyonlardır (45).

2.1.4.3. Diğer klinik varyantlar

Büllöz pemfigoidin birçok atipik klinik varyantı tanımlanmıştır. Hastaların önemli bir bölümünde bu klinik tiplere uyan tutulumlar saptanmaktadır (43).

a) Dishidroziform pemfigoid: Palmoplantar vezikül ve büller görülür.

b) Pemfigoid vejetans: İntertrijinöz vejetan plaklar izlenir.

c) Pemfigoid nodülaris: Prurigo nodülaris benzeri ekskoriye papül ve nodüller izlenir.

d) Veziküler pemfigoid: Dermatitis herpetiformis benzeri küçük grube veziküller şeklinde presente olur.

e) TEN (Toksik epidermal nekrolizis) benzeri pemfigoid: Kaşıntı, bül ya da ürtikeryal inflamatuar lezyonlar olmaksızın geniş erode alanlarla karakterizedir.

f) Eritrodermik pemfigoid: Eritrodermiye büllöz lezyonlar eşlik edebilir ya da büllöz lezyon hiç görülmeden eritrodermi ile prezente olabilir. Tanı, histopatoloji ve immünolojik inceleme ile konur.

g) Liken planus pemfigoides: Liken planus ve BP'nin özelliklerini birlikte gösterir. Genellikle 5. dekadda ortaya çıkar ve distal ekstremitelerde görülür. Büllöz liken ile ayrımı ELİSA ve DİF bulguları ile yapılır.

h) Brunsting-Perry pemfigoid: Baş-boyun bölgesine sınırlı büllöz lezyonlar izlenir. Skatrisyel alopesiye yol açabilir.

i) Lokalize varyantlar: Pretibial, vulvar, peristomal, umblikal, radyoterapi ilişkili, paralize ekstremiteye sınırlı, ampute ekstemiteye sınırlı prezentasyonlar bildirilmiştir.

j) İlaç ilişkili BP: Dipeptidil peptidaz IV (DPP- IV) inhibitörleri, diüretikler, antipsikotikler ve son yıllarda metastatik malignitelerde kullanılan PD-1/PD-L1 inhibitörlerinin BP'yi tetiklediği gösterilmiştir (46).

k) Çocukluk çağı BP: İleri yaşta görülen BP ile büyük oranda benzer seyretmekle birlikte mukoza ve palmoplantar bölge tutulumu daha sık görülür.

2.1.5 Tanı

Büllöz pemfigoid tanısı, klinik özellikler, histopatolojik, immünofloresan ve serolojik tetkiklerin birlikte değerlendirilmesi ile konmaktadır. İleri yaşta jeneralize kaşıntı ile başvuran hastaların ayırıcı tanısında, dermatolojik muayenesinde bül veya inflamatuar lezyonlar olup olmamasına bakılmaksızın BP mutlaka akla gelmelidir. Baş-boyun bölgesinin ve mukozaların korunduğu skar bırakmayan lezyonlar BP için oldukça karakteristiktir. Hastanın hikayesinde lezyonların süresi, değişim süreci, eşlik eden kaşıntı varlığı, eşlik eden nörolojik ve psikiyatrik hastalıklar, malignite varlığı, son 1-6 ay içindeki ilaç kullanımı mutlaka sorgulanmalıdır (10).

a) Histopatoloji: Bül ile sağlam deri sınırından alınan biyopside, nötrofil, eozinofil ve lenfositlerden oluşan yüzeyel dermal infiltrasyonun eşlik ettiği subepidermal bül oluşumu görülür. Eozinofilik spongioz ve bazal membranda yoğunlaşmış eozinofilik infiltrasyon tipik olarak izlenir. Bununla birlikte tüm bu histopatolojik bulgular nonspesifiktir (47).

b) Direk immünfloresan inceleme (DİF): Perilezyonel bölgeden alınan DİF, otoimmün büllöz hastalıkların tanısında altın standarttır (10). DİF, BP tanısındaki en sensitif tanı yöntemidir (48). BP de bazal membran boyunca lineer IgG ve/veya C3 birikimi görülür. Daha az sıklıkta lineer IgA ve IgE birikimi de izlenebilir. Substrat

tuzla ayrıştırılmış (salt split) DİF; BP'nin akkiz epidermolizis büllosa (AEB), müköz membran pemfigoidi gibi diğer subepidermal büllöz hastalıklardan ayırt edilmesine yardımcı olur. Ayrışmanın tavanında immün depozit birikimi izlenmesi BP lehinedir. DİF'teki lineer birikimin şekli BP'nin AEB'den ayrımında önemlidir. BP'de 'n' şeklinde immün reaktan birikimi görülürken AEB'de 'u' şeklinde depolanma izlenir (49).

c) İndirek immünfloresan inceleme (İİF): İİF, serumda dolaşan bazal membrana karşı gelişmiş IgG tipi antikorları gösteren bir tanı yöntemidir. İİF yöneminde BP için en spesifik substrat tuzla ayrıştırılmış (salt-split) deridir. Bu substrat, sağlıklı insan derisinin 1 mol/L NaCl solüsyonu yardımıyla subepidermal ayrıştırılmasıyla elde edilmektedir. DİF'e benzer şekilde bülün epidermal tarafında immün depozit birikimi tespit edilir. Ayrışmamış normal insan derisi, tavşan ya da maymun özofagusu üzerinde yapılan İİF'nin de sensitivitesinin benzer olduğu gösterilmiştir. Salt-split deri üzerinde yapılan İİF'nin spesifitesinin ise %100 olduğu gösterilmiştir (48). Bu nedenle klinik olarak BP şüphesi olan tüm hastalarda salt-split insan derisi üzerinde İİF inceleme yapılması önerilmektedir.

d) Serolojik tetkikler: Serumda dolaşan BP180 NC16A ve BP230 proteinlerini hedef alan antikorları tespit etmek için ELİSA (enzyme-linked immunoassay) yöntemi kullanılmaktadır (10). Otoantikor titreleri hastalık aktivitesi ile ilişkilidir (50). BP180 antikorunun yüksek seviyeleri relaps ile ilişkilidir (51). BP180 antikoru hastalık takibinde ve tedavi kararında kullanılmaktadır.

e) Diğer tetkikler: Hastaların büyük çoğunluğunda periferal eozinofili ve serum total IgE düzeyinde artış saptanır. Hastaların %41'inde bazal membran boyunda lineer IgE birikimi saptanmıştır (52).

2.2. PEMFİGUS VULGARİS

Pemfigus vulgaris, interselüler keratinosit adezyon proteinleri olan desmoglein-1 (Dsg1) ve desmoglein-3 (Dsg3)'e karşı gelişen otoantikorlar sonucu müköz membranlar ve deride akantoliz ve intraepidermal bül oluşumu ile karakterize, hayatı tehdit eden kronik bir otoimmün büllöz dermatozdur (53).

Pemfigus hastalarında akantoliz, ilk kez 1943 yılında Civatte tarafından tanımlanmıştır (54). Beutner ve Jordon ise 1964 yılında PV hastalarının serumlarında keratinosit hücre yüzeyine karşı gelişmiş IgG tipi otoantikorları keşfetmiştir (55).

2.2.1 Epidemiyoloji

Pemfigus vulgarisin ortalama başlangıç yaşı 40-65 arasıdır. Hastalığın kadın ve erkek prevalansı neredeyse eşittir. Hastalık çocuk ve adölesanlarda oldukça nadir görülmekte olup, bu grup pemfigus hastalarının ancak %1-4'ünü oluşturmaktadır (53).

Pemfigus vulgaris, coğrafik ve etnik olarak değişken dağılım göstermektedir. Yıllık insidansı Finlandiya'da milyonda 1 iken, İsrail'de milyonda 16 olarak bildirilmiştir. Hastalık özellikle Aşkenazi Yahudilerinde ve Akdeniz kökenli bireylerde sık görülmektedir. Bu gözlem, özellikle HLA sınıf II gen ailesine ait olan HLA-DRB1*04 ve HLA-A*10 genlerinin Aşkenazi Yahudilerinde sık bulunmasıyla ilişkilidir (56). Hastalık ülkemizde de görece sık görülmekte olup yıllık insidansı milyonda 5'tir (57).

Tedavisiz kaldığında ölümcül seyredebilen hastalığın mortalitesi steroid kullanımı ile birlikte %10' a kadar azalmıştır. Bununla birlikte, kronik immünsüpresif tedaviye sekonder komplikasyonlar nedeniyle, hastalık günümüzde dahi yüksek morbidite ile seyretmektedir (58).

2.2.2 Etiyopatogenez

Pemfigus vulgariste hedef antijenler olan Dsg1 ve Dsg3, kaderin gen ailesine ait olup $Ca2^{+}$ bağımlı transmembran adezyon molekülü olarak işlev görür. Dsg1 ve Dsg3 desmozomların hem iç hem de dış kısmında yerleşir. Desmozomlar, keratinositleri birbirine bağlayarak hücreleri mekanik kuvvetlere karşı dayanıklı hale getirir. Dsg proteinleri, beş adet ekstraselüler (EC1-5), bir adet transmembran ve bir adet sitoplazmik parçadan meydana gelir (53). Dsg molekülleri birbiriyle N-terminal EC1 ve EC2 domainleri vasıtasıyla etkileşime geçer. Bu domainler aynı zamanda pemfigus otoantikorlarının hedefidir (59).

Dsg1 ve Dsg3, epidermisin farklı tabakalarında değişen düzeylerde eksprese edilir. Dsg1, epidermisin üst tabakalarında daha yoğun yerleşirken, Dsg3 alt tabakalarda daha fazla bulunur. Mukozada ise Dsg1 ve Dsg3 dağılımı benzer olmakla birlikte Dsg3 yoğunluğu daha fazladır. Pemfigus hastalarındaki farklı klinik tablolar desmoglein kompenzasyon teorisi ile açıklanmaktadır: Dsg1 ve Dsg3'ün eşit olarak dağıldıkları dokularda moleküller birbirinin fonksiyon kaybını kompanse eder. Mukozal tip pemfigus vulgariste Dsg3'e karşı antikorlar bulunur. Deride Dsg1 varlığı Dsg3 yokluğunu kompanse ettiği için kutanöz büller görülmez. Mukozada ise Dsg1 oranı düşük olduğu için Dsg3 kaybını kompanse edemez ve mukozal büller izlenir. Mukokutanöz PV'de ise Dsg1 ve Dsg3'e karşı antikor gelişimi olduğundan hem kutanöz hem de mukozal büller izlenir (60).

Pemfigus vulgaris patogenezinde temel mekanizma, genetik olarak yatkın bireylerde otoreaktif T ve B hücrelerinin neden olduğu otoimmün yanıttır. Antijen sunucu hücreler HLA sınıf II molekülleriyle spesifik Dsg peptitlerini T hücrelerine sunar ve otoreaktif T hücreleri olgunlaşır. Olgunlaşan otoreaktif T hücreleri İL-10 üreterek Dsg-spesifik B hücrelerinin üretilmesini sağlar (58). Yapılan bir çalışmada, HLA-DRB1*04:02 ve insan CD4 reseptörü ekprese eden transgenik farelere insan Dsg3'ü verildiğinde farelerin insan anti-Dsg3 IgG antikoru ürettiği ve bu antikorların akantolize yol açtığı gösterilmiştir (61).

Yenidoğan bebeklerde anneden transplasental olarak geçen antikorların geçici bül oluşumunu tetiklemesi (62), serum anti-Dsg antikorları ile hastalık aktivitesinin paralel olması (63), deri kültürlerinin PV hastalarından elde edilen IgG ile muamelesinin desmosom degredasyonuna neden olması (64); pemfigus hastalarında anti-Dsg1 ve Dsg3 antikorlarının patojenik rolünü kanıtlamaktadır. Bununla birlikte bütün anti-Dsg antikorları patojenik değildir. Anti-Dsg3 serum seviyesinin hastalık aktivitesi ile korele olmaması ve klinik remisyona rağmen yüksek seyredebilmesi bu durumla açıklanabilir (65).

Pemfigus vulgariste otoantikorların desmogleinlere bağlanması keratinositlerdeki hücre-hücre adezyonunun kaybını direk olarak tetikler. BP'nin aksine PV'deki bül oluşumu kompleman aktivasyonuna ihtiyaç duymaz. Anti-Dsg

antikorlarının Fc kısmı olmayan monovalan parçaları, tek başlarına bile akantolize neden olabilir (53). Anti-Dsg IgG antikorlarının neden olduğu akantoliz; desmozom etkileşiminin doğrudan engellenmesi ve keratinositler arası etkileşiminin bozulmasına neden olan hücresel sinyal yolaklarına bağlı oluşur (27).

Otoantikorların desmogleinlere bağlanması, desmogleinlerin adezif fonksiyonlarını moleküler düzeyde etkileyerek desmogleinlerin hücreler arasındaki etkileşimini uzamsal olarak baskılamaktadır. Pemfigus hastalarından elde edilen patojenik monoklonal otoantikorların Dsg3'ün desmozom etkileşiminde rol oynayan N-terminal ucuna bağlanması, doğrudan engelleme teorisini desteklemektedir (27). İkinci olarak otoantikor bağlanması sonucu aktive olan hücresel sinyal yolakları da keratinosit ayrışmasına katkıda bulunmaktadır. Elektron ve immünofloresan mikroskopi incelemeleri, otoantikor bağlanmasının hücre yüzeyindeki Dsg'lerin kümelenmesine ya da internalizasyonuna neden olduğunu göstermiştir (53). Yine antikor bağlanması ile birlikte, keratinosit bağlantılarının kaybına neden olan p38 mitojen aktive protein kinaz, mitojen-aktive protein kinaz-aktive protein (MAPKAP) kinaz 2 ve epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) yolağı gibi birçok sinyal yolağının aktive olduğu gösterilmiştir (27). Yapılan in vitro çalışmalarda p38 mitojen aktive protein kinaz yolağının inhibisyonunun Dsg3 kümelenmesi ve internalizasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu yolun inhibisyonunun yeni bir tedavi hedefi olabileceği öne sürülmüştür (66).

Pemfigus vulgaris hastalarının serumlarında İL-6, İL-4 ve İL-10 gibi Th2 yolağı sitokinlerinin artmış, İL-2 ve IFN-gama gibi Th1 yolağına ait sitokinlerin ise azalmış olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, hastaların serumunda Th17'den kaynaklanan İL-17α ve foliküler T helper ile ilişkili İL-21 ve İL-27'nin artışı da izlenmiştir. PV hastalarının bül sıvılarında ise artmış İL-4 ve İL-10 seviyeleri saptanmıştır (58).

2.2.3 Klinik özelllikler

Pemfigus vulgaris, hastaların büyük çoğunluğunda oral kavitede enantem ve ağrılı erozyonlarla başlar. Hastalarının tamamına yakınında hastalığın bir evresinde oral kavite tutulumu görülür. Oral mukozadaki büller kolayca erode olduğu için genellikle sadece erozyonlarla karşılaşılır (58). Erozyonlar özellikle bukkal mukoza,

damak, dil ve iç dudakta daha sık izlenir. Erozyonların neden olduğu ağrı nedeni ile oral beslenmede güçlük ve kilo kaybı sıktır. Oral mukoza haricinde hastalık, nazal mukoza, farinks, larinks, özofagus, üretra, glans penis, vulva ve perianal bölge gibi bütün mukozaları tutabilir. Yalnızca mukoza tutulumu olan hastaların tanısı gecikebilir (53).

Kutanöz lezyonlar deride normal ya da eritemli zeminde gelişen gevşek, seröz içerikli büller şeklinde presente olur. Kaşıntı, sık rastlanan bir bulgu değildir. Hastalık vücudun her alanını tutabilmekle birlikte skalp, boyun, üst gövde ve aksillada daha sık yerleşir. Büller kısa sürede patlayıp kurutlu, erode alanlara dönüşür. Erozyonlar geniş çaplara ulaşıp jeneralize hale gelebilir (53). Şiddetli hastalıkta tırnak tutulumu da görülebilir. Lezyonlar çoğunlukla skar bırakmadan postlezyoner hiperpigmentasyon ile iyileşir. Steroid tedavisinin keşfi öncesinde pemfigus 5 yıl içinde ölümcül seyretmekteydi. Epidermal bariyer kaybına bağlı enfeksiyon ve malnütrisyon gibi sekonder komplikasyonlar nedeniyle 2 yıl içindeki mortalite %50'lere ulaşmaktaydı (53).

Hastalığın mukoza ve deri tutulumuna göre mukozal ve mukokutanöz varyantları tanımlanmıştır (54). Pemfiguslu hastalarda epidermisteki hücreler arası bağlantının kaybolması nedeni ile aktif pemfiguslu hastalarda deriye bastırıldığında derinin üst tabakası laterale doğru kolayca sıyrılır. Nikolski belirtisi denen bu bulgu, hastalık aktivitesi ile koreledir (54).

Pemfigus vejetans, pemfigus vulgarisin nadir görülen vejetatif bir varyantıdır. Pemfigus vulgariste görülen otoimmün antikor gelişimine karşı derinin reaktif bir yanıtı olarak geliştiği düşünülmektedir. Özellikle intertrijinöz bölgelerde, yüzde ve saçlı deride gevşek büllerin patlaması sonucu gelişen erozyonlar ve ardından fungoid vejetasyonlar ve papillomatöz proliferasyonlarla karakterizedir. Hafif seyreden Hallopeau tipi ve şiddetli seyreden Neuman tipi bulunmaktadır (68).

2.2.4 Tanı

Pemfigus vulgaris tanısı klinik, histopatolojik, immünfloresan ve serolojik bulguların birlikte değerlendirilmesi ile konur (54).

a) Histopatoloji: PV hastalarında karakteristik bulgu, akantoliz ve intraepidermal bül oluşumudur. Bül kavitesi içinde akantolitik hücreler izlenebilir. Bazal keratinositler komşu hücrelerle bağlantılarını kaybetmekle birlikte hemidesmozomlar aracılığıyla bazal membranla olan bağlantılarını sürdürürler. Bu da histopatolojik incelemede 'mezar taşı' görünümüne yol açar. Bül kavitesinde ve yüzeyel dermiste eozinofil ağırlıklı inflamasyon izlenir. Hastalığın erken evresinde yalnızca eozinofilik spongioz izlenebilir (58).

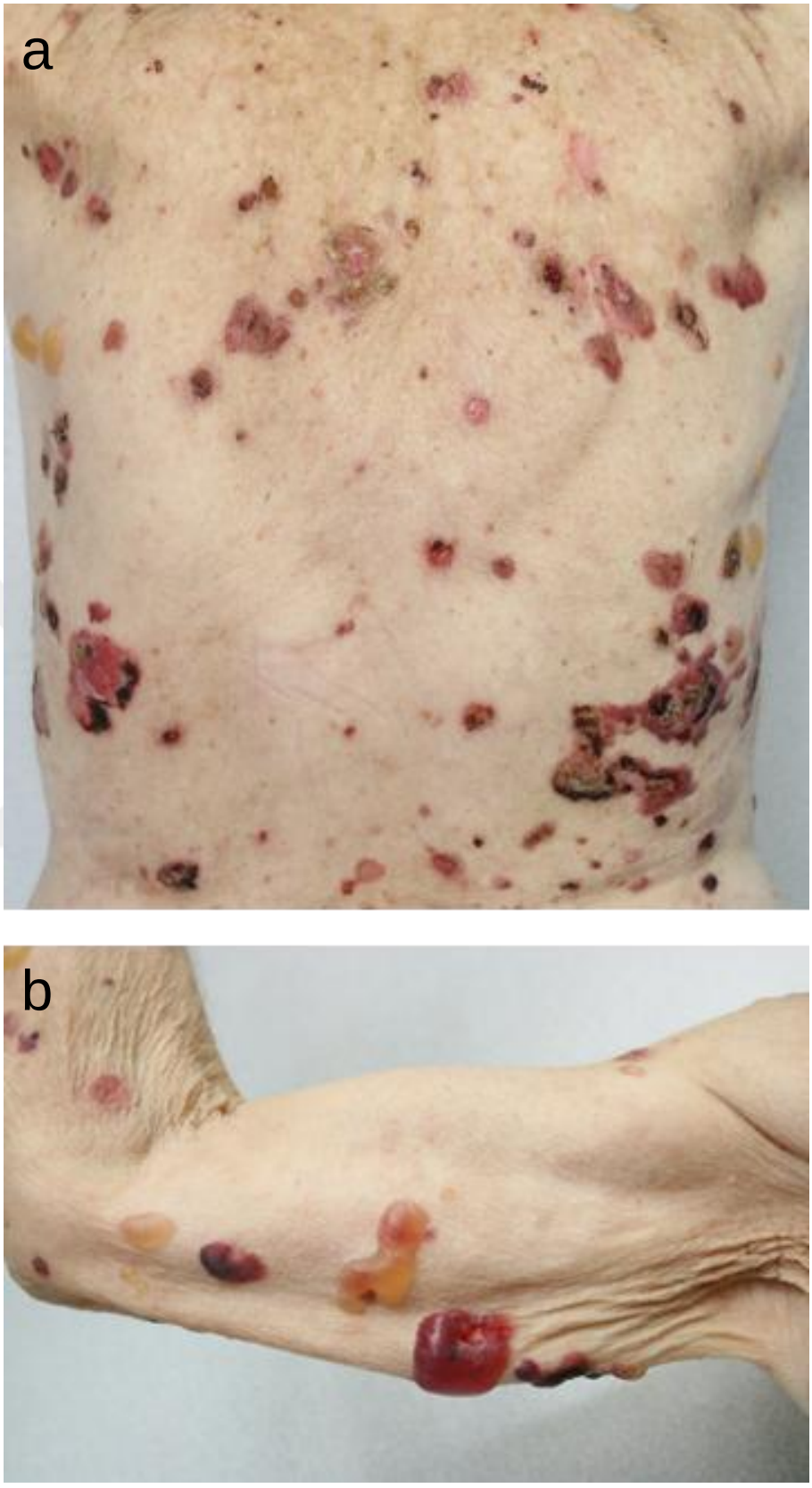
b) Direk immünfloresan inceleme (DİF): DİF, pemfigus vulgaris tanısında altın standarttır. Tüm pemfigus tipleri için en sensitif ve güvenilir tanı testidir. PV'de perilezyoner deriden alınan biyopside interselüler alanda bal peteği paterninde IgG ve/veya C3 birikimi izlenir (58). DİF negatifliği saptandığında pemfigus tanısı gözden geçirilmelidir. Bunun yanında spongiotik dermatit, yanık, TEN, sistemik lupus eritematozus gibi hastalıklarda nonspesifik epidermal immünofloresans bulguları izlenebilir.

c) İndirek immünfloresan inceleme (İİF): İİF, hasta serumunda bulunan IgG otoantikorlarını saptamak için kullanılan bir yöntemdir. İİF'nin desmozomal antikorları saptamada sensitivitesi %80-90'dır (58). PV tanısında İİF'de serum otoantikorlarını saptamada kullanılan en sensitif substrat maymun özofagusudur (50).

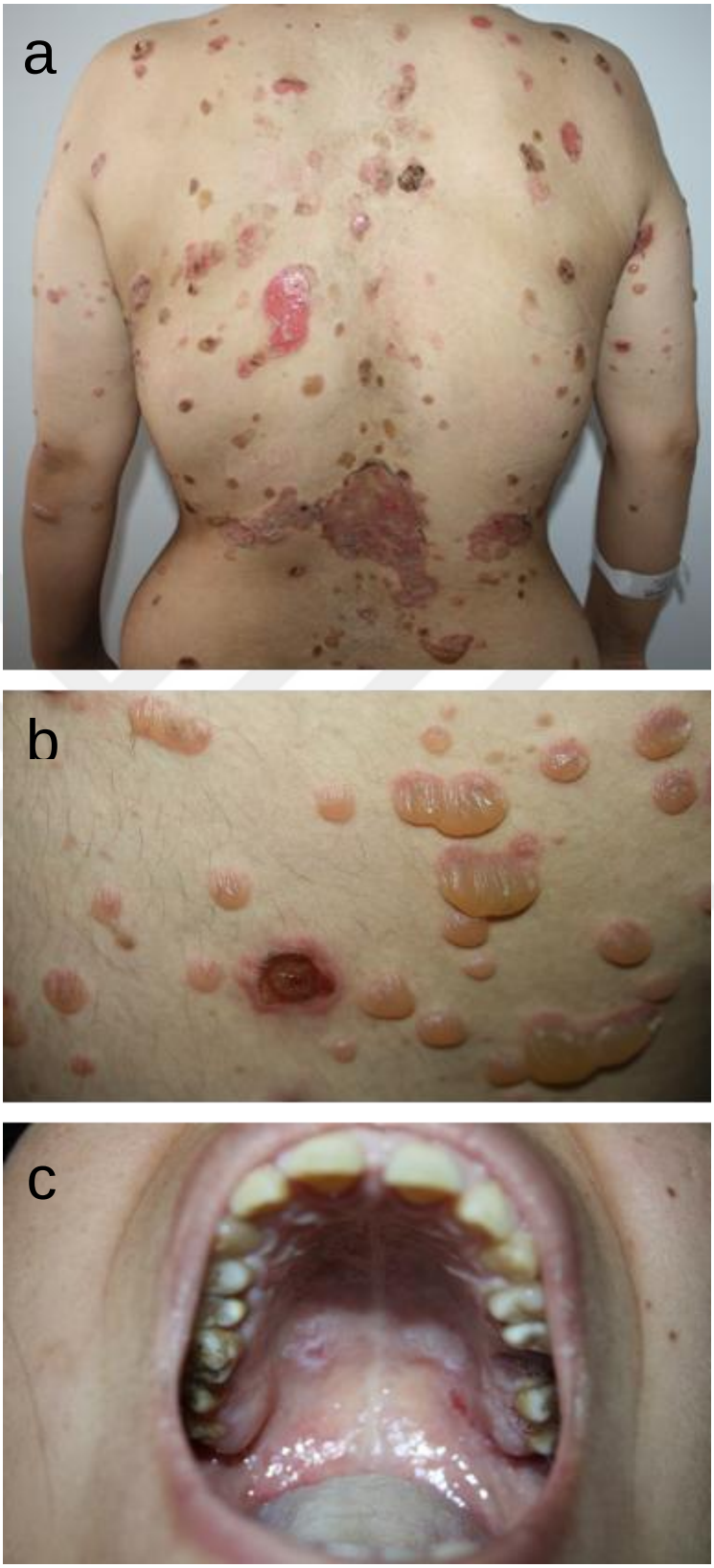
d) Serolojik tetkikler: ELİSA yöntemi ile dolaşımdaki anti-Dsg1 ve anti-Dsg3 antikorları saptanır. 82 PV ve 25 PF ile yapılan bir çalışmada ELİSA ve İİF yöntemleri karşılaştırılmış, ELİSA'nın sensitivitesi anti-Dsg3 için %95, anti-Dsg1 için %92 iken İİF'nin sensitivitesi sırasıyla %79 ve %84 olarak saptanmıştır (67). Otoantikor titreleri hastalık aktivitesi ile korele olarak seyreder. Bu nedenle ELİSA hem tanı hem de tedavi takibinde kullanılmaktadır. Lezyonsuz dönemde steroid dozunun azaltılması kararında güvenilir bir parametredir. Bunun yanında, ELİSA yöntemi, PV ile pemfigus foliaseus (PF)'un ayırıcı tanısının yapılmasına olanak sağlar. Müköz membranlara sınırlı PV'de sadece anti-Dsg3 antikorları, mukokutanöz varyantta anti-Dsg1 ve anti-Dsg3 antikorları birlikte bulunurken PF'de yalnızca anti-Dsg1 antikorları saptanır (58).

Pemfigus vulgariste anti-Dsg antikorlarının yanı sıra desmokollin ve plakinler gibi diğer desmozomal proteinlere ve asetil kolin reseptörü ve pemfaksine karşı otoantikorlar tespit edilmiştir. Bu antikorların patojenik önemi ise henüz aydınlatılamamıştır (58).

e) Diğer tetkikler: Sitolojik inceleme (Tzanck smear), bül kavitesi içindeki akantolitik hücreleri saptamakta kullanılan hızlı bir tanı yöntemi olup ön tanı aracı olarak kullanılabilir. İmmünopresipitasyon ve immünoblotting, PV'de elektroforez yardımı ile hedef antijenlerin saptanmasına olarak veren diğer yöntemlerdir (58).



Şekil 1: BP hastasında eritemli zeminde kurutlu, yer yer epitelize olan erozyonlar ve seröz ve hemorajik içerikli gergin büller (a,b)



Şekil 2: PV hastasında normal deri üzerinden gelişmiş gevşek büller ve büllerin açılmasıyla oluşmuş erode alanlar (a,b). Oral mukozada erode alanlar (c).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. ETİK KURUL

Tez konusu Sağlık Bilimleri Üniversitesi (SBÜ) Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı Akademik Kurulu tarafından onaylanmıştır **(EK-1).**

Çalışma, Münih Ludwig Maximilian Üniversitesi Etik Komisyonu'ndan 18-659 karar numarası ile onay almıştır **(EK-2).**

3.2. ÇALIŞMA GRUBUNUN OLUŞTURULMASI

Çalışmamıza Ocak 2016-Aralık 2020 tarihleri arasında Münih Ludwig Maximilian Üniversitesi Dermatoloji Kliniği'ne başvuran 18-100 yaş arasında BP ve PV tanısı konan hastalar dahil edildi.

18-100 yaş arasında, klinik, histopatolojik, immünofloresan ve serolojik bulguları birlikte değerlendirilerek BP ve PV tanısı alan, aktif hastalık döneminde biyopsi alınan, biyopsi öncesi son 3 haftaya kadar oral steroid, son 1 haftaya kadar topikal steroid tedavisi almamış olan hastalar çalışmaya dahil edildi.

Klinik, histopatolojik, immünofloresan ve serolojik bulguları ile tanısı şüpheli olan, İL-31 ile ilişkili olduğu gösterilmiş olan kronik ürtiker, prurigo nodularis, atopik dermatit, alerjik astım, alerjik rinit, alerjik kontakt dermatit, inflamatuar bağırsak hastalığı ve osteoporoz gibi hastalıkları olan, herhangi bir kronik hastalık nedeniyle immünsüpresif tedavi alan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

İmmünohistokimyasal çalışma için 10 BP ve 10 PV hastası değerlendirildi. Negatif kontrol (NK) olarak, benzer yaş ve lokalizasyonda, inflamatuar hastalığı bulunmayan, lezyonsuz deri alanı içeren 7 hastaya ait eksizyonel cerrahi materyali patoloji arşivinden çıkarılarak çalışmaya dahil edildi.

ELİSA yöntemi ile serum antikor seviyesi analizi için hastane arşivinden 13 BP ve 12 PV hastasının serum örnekleri çalışmaya dahil edildi. Hasta seçiminde

yukarıdaki kriterler kullanıldı. Negatif kontrol olarak ise yaş uyumlu ve inflamatuar hastalığı bulunmayan 4 hasta çalışmaya dahil edildi.

Çalışmaya dahil edilen hastaların demografik ve klinik verileri bilgisayar programı üzerinden hasta dosyaları retrospektif olarak incelenerek elde edildi.

3.3. ÇALIŞMA YÖNTEMİ VE ÇALIŞMA VERİ TABANININ HAZIRLANMASI

Retrospektif, Gözlemsel, Kesitsel Çalışma olarak planlandı.

3.3.1. Demografik ve klinik özellikler ile ilgili parametreler

Hastaların yaş (yıl), cinsiyet (kadın/erkek) ve biyopsi alınan vücut bölgesi (baş-boyun/gövde/alt ekstremite/üst ekstremite/mukoza) değerlendirildi.

3.3.2. İmmünohistokimyasal çalışma

3.3.2.1. İL-31 ve İL-31RA ile boyama

Çalışmaya dahil edilen hastaların ve negatif kontrol grubunun formalinle fikse edilmiş, parafine gömülü blokları patoloji arşivinden çıkarıldı. Bu bloklardan her hasta için üç farklı lam üzerine 5 μm kalınlığında yeni doku kesitleri alındı. Kesitler bir gece etüvde bekletilerek kurutuldu. İmmünhistokimyasal çalışma manuel boyama yöntemi ile yapıldı. Parafinize kesitleri antikor bağlanmasına hazırlamak için öncelikle deparafinizasyon işlemi yapıldı. Bunun için kesitler sırasıyla 2x5 dakika ksilol, 2 dakika %96 etanol, 2 dakika %80 etanol, 2 dakika %70 etanol ile muamele edilip ardından çeşme suyu ile yıkandı. Kesitler TRS-6 solüsyonu içeren ısıya dayanıklı kutulara konarak 15 dakika basınçta (Perfect Pressure Cooker) 100 derece sıcaklıkta deparafinizasyon işlemi tamamlandı. Kutular işlem sonrası15 dakika oda sıcaklığında tutularak soğutuldu. Solüsyon içinden çıkarılan kesitler, nonspesifik antikor bağlanmasını önlemek için 10 dakika Tris&Milch solüsyonu içinde tutularak bloklandı. İşlem sonrası kesitler nem tutucu kapaklı kutular içine alındı.

Kullanılacak antikorlar kullanıma hazır dilüsyon sıvısı (Zytomed Antibody Diluent, ZUC025-500) ile dilüye edildi. Hazırlanan bloklar 1/100 dilüsyon oranında hazırlanmış İL-31 tavşan poliklonal antikoru (abcam, catalog no: ab102750), 1/600 dilüsyon oranında hazırlanmış İL-31RA tavşan poliklonal antikoru (abcam, catalog no: ab113498) ve negatif kontrol olarak kullanılan 1/50 dilüsyon oranında hazırlanmış IgG tavşan monoklonal antikoru (ThermoFisher Scientific, catalog no: 31235) ile oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi.

Antikor muamalesi sonrası kesitler Tris&Tween (T&T) solüsyonu (Medicago, catalog no: 09-7510-100) ile üç kez yıkandı. Kesitlerin kurumamasına özen gösterildi. Ardından kesitler primer antikora bağlanan Link (biodin) sekonder antikoru ile oda sıcaklığında 5 dakika tutuldu. T&T solüsyonu ile tekrar yıkanan kesitler, sekonder antikor ile konjuge olan Pink (strepdovidin+alkalen fosfataz) solüsyonu ile 5 dakika muamele edildi. Sonrasında tekrar T&T solüsyonu ile üç kez yıkanan kesitler, karşı boya için kromogen solüsyonu (Substrat+levamizol+chromogenin I+chromogenin II+chromogenin III) ile 10 dakika ve Hamalan ile 1 dakika bekletildi. Son olarak çeşme suyu ile yıkanarak 10 dakika su içinde bekletildi. Kesitler periferi kurutulduktan sonra üzerine gliseril (Dako Glycergel Mounting Medium) eklenerek lamel ile kapatıldı ve mikroskobik incelemeye hazır hale getirildi.

3.3.2.2. S100 ile boyama

Kesitlerinde İL-31RA boyaması ile periferal sinir izlenen hastaların ek kesitleri, periferal sinirleri konfirme etmek amacıyla S100 antikoru ile boyandı. Yukarıda anlatılan deparafinizasyon işlemi sonrası kesitler proteaz ile 10 dakika muamele edildi. Proteaz solüsyonu, 5 mg proteaz tuzu ile 10 ml Tris&Milch solüsyonunun karıştırılmasıyla elde edildi. Proteaz muamelesi sonrası kesitlere Tris&Milch solüsyonu ile 10 dakika bloklama işlemi uygulandı.

Hazırlanan bloklar 1:3000 oranında dilüye edilmiş S100 tavşan monoklonal antikoru (ThermoFisher Scientific, catalog no: #RB-044-R7) ile oda sıcaklığında 25 dakika boyunca boyandı. Antikor muamelesi sonrası kesitler yukarıda anlatılan basamaklar uygulanarak incelemeye hazır hale getirildi.

3.3.2.3 Doku İL-31 ekspresyonunun değerlendirilmesi

İL-31 antikoru ile boyanma, dermisteki inflamatuar hücreler açısından değerlendirildi. Işık mikroskobunda 400 kat büyütme ile incelenen kesitlerde inflamatuar hücrelerin en yoğun olduğu üç alanın fotoğrafı (Olympus DP21) çekildi. Her örnek için bu üç alandaki boyanma yüzdesinin ortalaması alındı. İnflamatuar hücreler manuel olarak fotoğraflar üzerinden sayıldı. İL-31 pozitif inflamatuar hücrelerin tüm inflamatuar hücrelere oranı yüzde olarak ifade edildi.

3.3.2.4 Doku İL-31RA ekspresyonunun değerlendirilmesi

İL-31RA antikoru ile boyanma; epidermis, dermis inflamatuar hücreleri ve periferal sinir hücreleri olarak üç ayrı bölümde değerlendirildi.

Işık mikroskobunda 400 kat büyütmede görüntülenen İL-31RA antikoru ile muamele edilmiş kesitlerde, epidermisin rastgele üç alanının fotoğrafı çekildi. Epidermisteki keratinositlerin İL-31RA ile boyanma yüzdesi bu fotoğrafların Image J programı ile dijital olarak değerlendirilmesi ile elde edildi. İL-31RA ile boyanma için pozitif olarak kabul edilecek eşik değerleri iki araştırmacı tarafından belirlendi. Değerlendirme sırasında her kesit için aynı eşik değerleri kullanılarak objektif sonuç elde edildi. Epidermis ve periferal sinir büyük oranda tek tip hücreden oluştuğundan pozitif sonuç için eşik değeri belirlenerek boyanan alan yüzdesi Image J programı ile belirlendi. Fakat dermis inflamatuar hücreleri sayımı sırasında kesitin arka planı ve hücrelerin üst üste yer alması bilgisayar programı ile sağlıklı sonuç alınmasına engel oldu. Bu nedenle dermisteki hücreler manuel olarak sayıldı. Boyanan epidermis alanının tüm epidermis alanına oranı hesaplandı. Her hasta için nihai sonuç üç farklı alanın boyanma yüzdesinin ortalaması alınarak elde edildi. Sonuçlar kantitatif olarak karşılaştırıldı.

Periferal sinirler BP kesitlerinin 6'sında, PV kesitlerinin ise 4'ünde izlendi. Işık mikroskobunda 400 kat büyütmede görüntülenen kesitlerde periferal sinirlerin üç alanının fotoğrafı alındı. Yine Image J programı kullanılarak İL-31RA antikoru ile boyanan alanın tüm sinire oranı yüzde olarak tespit edildi. Her hasta için üç kesitin boyanma oranının ortalaması alınarak sonuca ulaşıldı.

Dermiste inflamatuar hücrelerin İL-31RA ile boyanma oranı değerlendirildi. Dermiste inflamatuar hücrelerin en yoğun bulunduğu üç alanın ışık mikroskobunda 400 kat büyütmede fotoğrafı çekildi. İnflamatuar hücreler manuel olarak bu fotoğraflar üzerinden sayıldı. Pozitif boyanan inflamatuar hücre sayısı tüm inflamauar hücre sayısına oranlanarak İL-31RA antikoru ile boyanma yüzdesi belirlendi. Hasta sonuçları yüzde olarak karşılaştırıldı.

3.3.2.5. Periferal sinirlerde S100 ekspresyonunun değerlendirilmesi

S100 boyaması ile periferal sinirlerin konfirmasyonu yapıldı. Işık mikroskopu ile boyanma varlığı kalitatif olarak pozitif ve negatif şeklinde değerlendirildi. Periferal sinirler yanında epidermiste melanosit ve Langerhans hücrelerinin boyandığı kaydedildi.

3.3.3. Serum İL-31 düzeyinin ölçümü

Serum İL-31 düzeyi insan İL-31 ELİSA kiti (Abcam, ab119546) kullanılarak ELİSA yöntemi ile ölçüldü.

Çalışmaya dahil edilen BP ve PV hastalarının -20°C de saklanan serum örnekleri çıkarılarak oda sıcaklığında çalışmaya hazır hale getirildi. Negatif kontrollerden alınan kan örneği 3000 devirde santrifüj edildikten sonra elde edilen süpernatant eppendorf tüpüne alındı.

Öncelikle metot sırasında kullanılacak olan yıkama tamponu, assay tamponu ve 1xStreptavidin-HRP (horseradish peroksidaz) konjugatı üreticinin önerdiği dilüsyonlarda hazırlandı. Biotin ile konjuge edilmiş İL-31 antikoru, konjugat diluyenti ile 1:100 oranında dilüye edilerek kullanıma uygun hale getirildi. Kullanımın hemen öncesinde seri diluye edilmiş standartlar hazırlandı.

Mikroplaklar, antijenle kaplı her kuyucuk için 400 µl yıkama tamponu kullanılarak iki kez yıkandı. Aspirasyon sırasında mikroplak yüzeylerinin tahriş edilmemesine özen gösterildi. Yıkama sonrası havlu kağıt yardımıyla fazla sıvı uzaklaştırıldı. Bu sırada kuyucukların kurumamasına dikkat edildi. Her kuyucuk

içine 50 µl örnek diluyenti eklendi. Arkasından uygun kuyucuklara 50 µl standart dilüsyon ve 50 µl hasta serumları eklendi. Mikroplaklar, üzeri adeziv film ile kapatılarak 400 rpm hızındaki karıştırıcı üzerinde 2 saat oda sıcaklığında inkübe edildi. Bir sonraki aşamada adeziv film kaldırılarak kuyucuklar boşaltıldı. Mikroplaklar altı kez yıkama tamponu ile yıkandı. Yıkama sonrası her kuyucuğa 100 µl 1xBiotin ile konjuge edilmiş anti-insan İL-31 antikoru eklendi. Mikroplaklar adeziv film ile kapatılarak bir önceki aşamadaki aynı yöntem ile 1 saat oda sıcaklığında inkübe edildi. İşlem sonrası kuyucuklar altı kez yıkandı. Tüm kuyucuklara 100 µl 1xStreptavidin-HRP konjugatı eklendi ve mikroplaklar benzer prosedür ile 1 saat bekletildi. Tekrar altı kez yıkama sonrası tüm kuyucuklara 100 µl TMB (tetrametilbenzidin) substrat solüsyonu eklendi. Mikroplaklar, ışıktan korunarak 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Kuyucuklardaki renk değişimi takip edildi. En yüksek standart koyu mavi hale geldiğinde her kuyucuğa 100 µl durdurma solüsyonu eklenerek enzimatik reaksiyon durduruldu. İşlem tamamlandıktan sonra her mikroplağın absorbansı spektrofotometre yardımıyla 450 nm de değerlendirildi. Standartların ve hasta örneklerinin absorbansı hesaplanarak değerler pg/ml cinsinden ifade edildi.

3.4. ÇALIŞMADA KULLANILAN İSTATİSTİKSEL YÖNTEM

İstatistiksel analizler için Microsoft Excel for Mac Version 16.36 ve GraphPad Prism Version 8.4.2 programı kullanıldı. Verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde kategorik değişkenlerde bireylerin dağılımını göstermek için sayı (n) ve yüzde (%) verildi. Değişkenlerin tanımlayıcı istatistikleri median±çeyrekler arası aralık (interquartile range) şeklinde gösterildi. Verilerin dağılım analizi için Shapiro-Wilk testi kullanıldı. Bağımsız iki grupta sayısal değişkenlerin karşılaştırılmalarında Mann-Whitney U testi, bağımsız sayısal değişkenlerin ikiden çok grup karşılaştırılmalarında ise Kruskal-Wallis H testi ve Dunn’s çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. İstatistiksel olarak anlamlılık düzeyi $p<0,05$ kabul edildi. Sonuçlar %95 güven aralığında yorumlandı.

3.5. ÇIKAR ÇATIŞMASI

Tezi yazan kişi, tez danışmanı ve tez yazım sürecinde katkı sağlayan ve ileride bilimsel makale olarak yazılırken isminin yer alacağı kişiler arasında, karar vermelerini uygunsuz bir biçimde etkileyebilecek tarzda bir ilişki (maddi-manevi) yoktur.

Tezin alıntılanma yüzdesi %2'dir **(EK-3).**

4. BULGULAR

Çalışmaya Ocak 2016-Aralık 2020 tarihleri arasında Münih Ludwig Maximilian Üniversitesi Dermatoloji Kliniği'nde tanı ve tedavi almış, çalışmaya dahil edilme kriterlerini karşılayan 13 BP ve 12 PV hastası ve negatif kontrol olarak yaş ve cinsiyeti uyumlu 7 hasta olmak üzere toplam 32 hasta dahil edildi.

4.1. DEMOGRAFİK VE KLİNİK ÖZELLİKLER

Çalışmaya dahil edilen BP, PV ve NK hastalarının demografik verileri ve biyopsi bölgeleri **Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı.**'de gösterilmiştir.

Tablo 1: Hastaların demografik verileri ve biyopsi bölgeleri

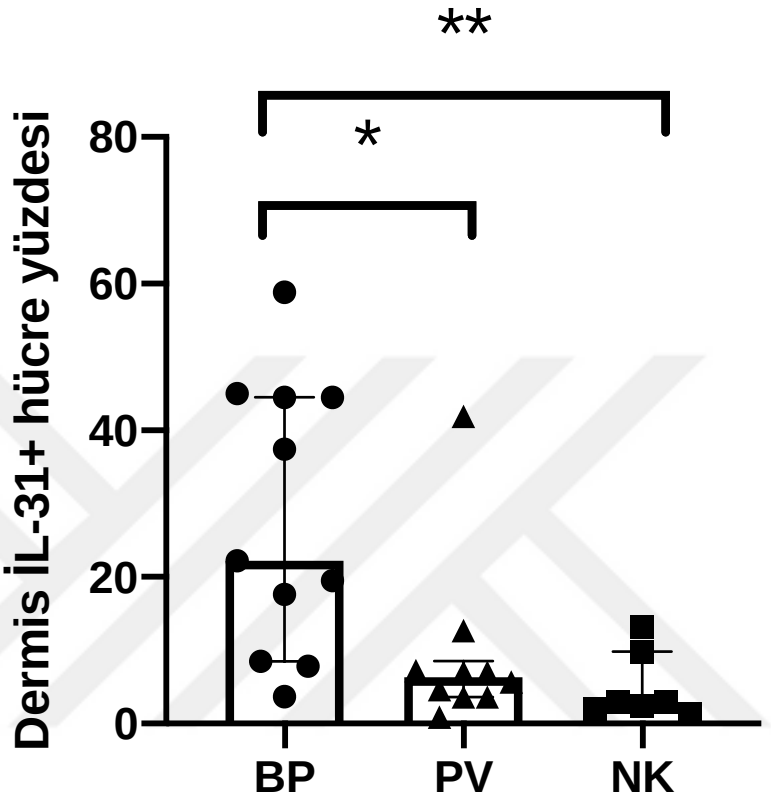
	BP (n=10)	**PV (n=10)**	**NK (n=7)**
Yaş, ortalama±SD	76,1±10,2	57,4±19,5	45,6±13,5
Cinsiyet (K:E)	7:3	5:5	4:3
Biyopsi bölgesi	1 baş-boyun 1 gövde 1 üst ekstremite 7 alt ekstremite	1 oral mukoza 1 gövde 1 üst ekstremite 7 alt ekstremite	2 baş-boyun 5 gövde

4.2. İMMÜNHİSTOKİMYASAL BULGULAR

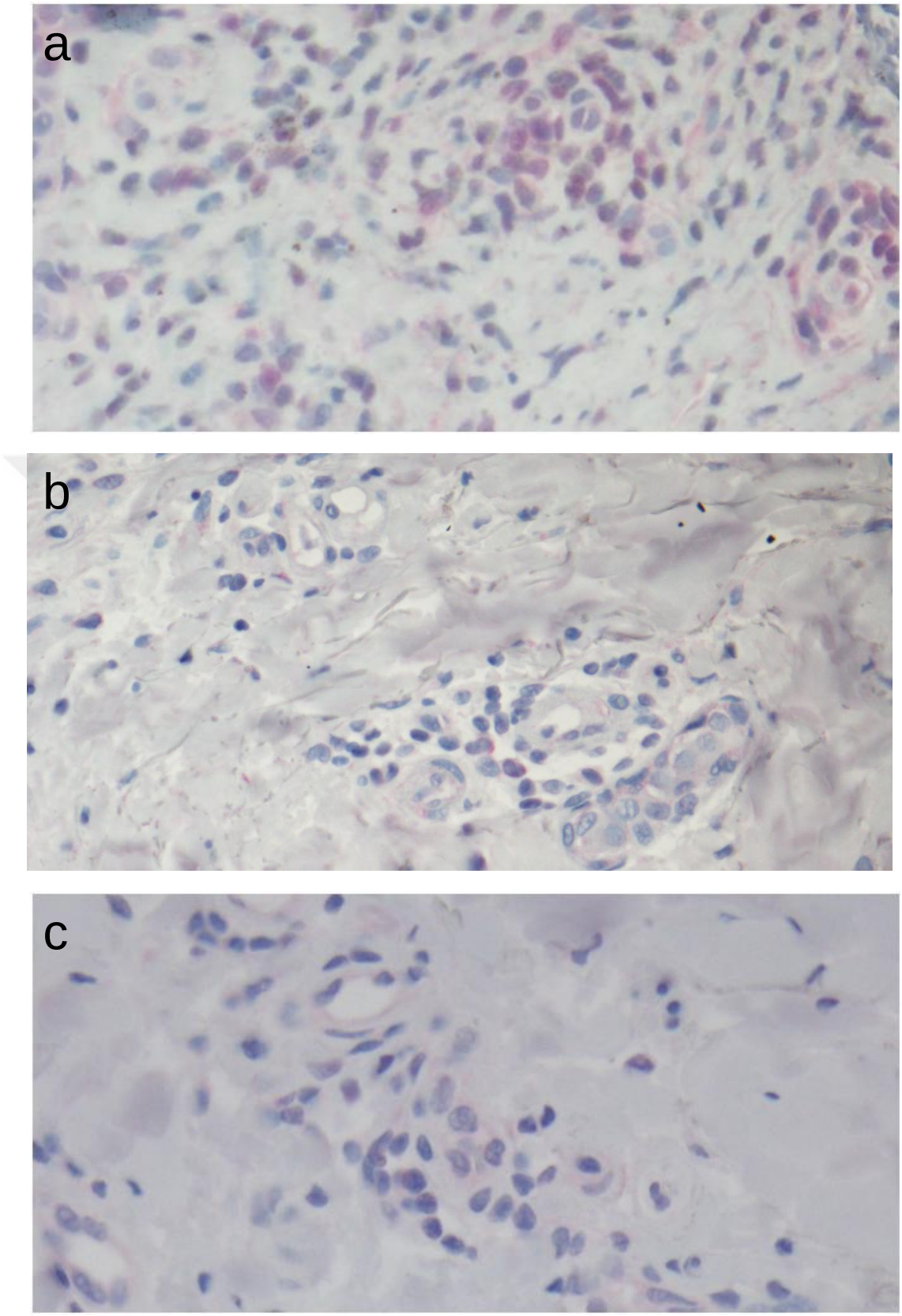
4.2.1. İL-31 ekspresyonunun değerlendirilmesi

Hastalarda dermisteki inflamatuar hücrelerin İL-31 ekspresyonu değerlendirildi. BP (n=10) hastalarında dermisteki İL-31 pozitif inflamatuar hücrelerin tüm inflamatuar hücrelere oranı yüzdesi ortalama 28,1±18,6 idi. PV (n=10) hastalarında İL-31 pozitif inflamatuar hücre oranı yüzdesi ortalama 9,4±11,8 iken, NK (n=7) hastalarındaki bu oran yüzdesi ortalama 5,6±3,9 idi. Dermis inflamatuar hücrelerindeki İL-31 ekspresyonu açısından BP ve PV hastaları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı saptandı ($p<0,05$). BP ve NK hastaları arasında dermis İL-31 ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p<0,01$). PV hastaları ile NK hastaları arasında ise dermis İL-31 ekspresyonu

açısındanistatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi (p>0,05). Hastaların dermis inflamatuar hücrelerinin İL-31 ekspresyonu yüzdesi Şekil 3'de ifade edilmektedir. Hastalık gruplarının İL-31 antikoru ile boyanması Şekil 4'te gösterilmektedir.



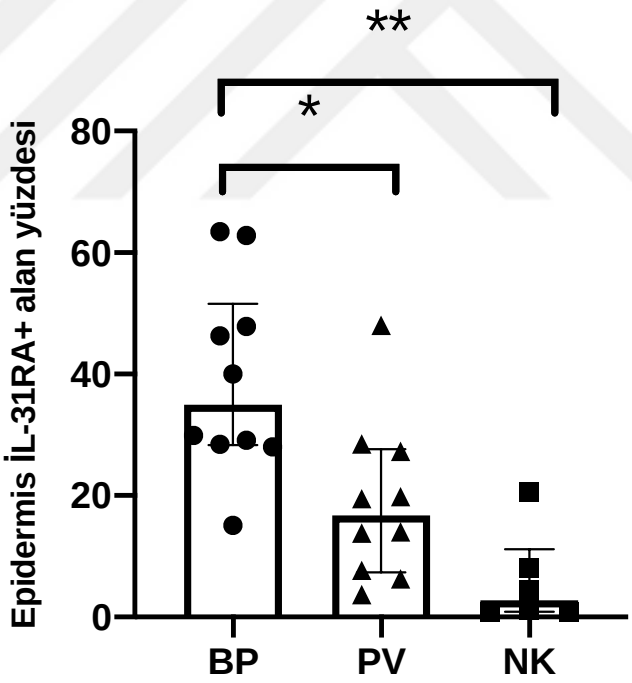
Şekil 3: BP, PV ve NK hastalarında dermis inflamatuar hücrelerinde İL-31 ekspresyonu arasındaki ilişki (*p<0,05, **p<0,01)



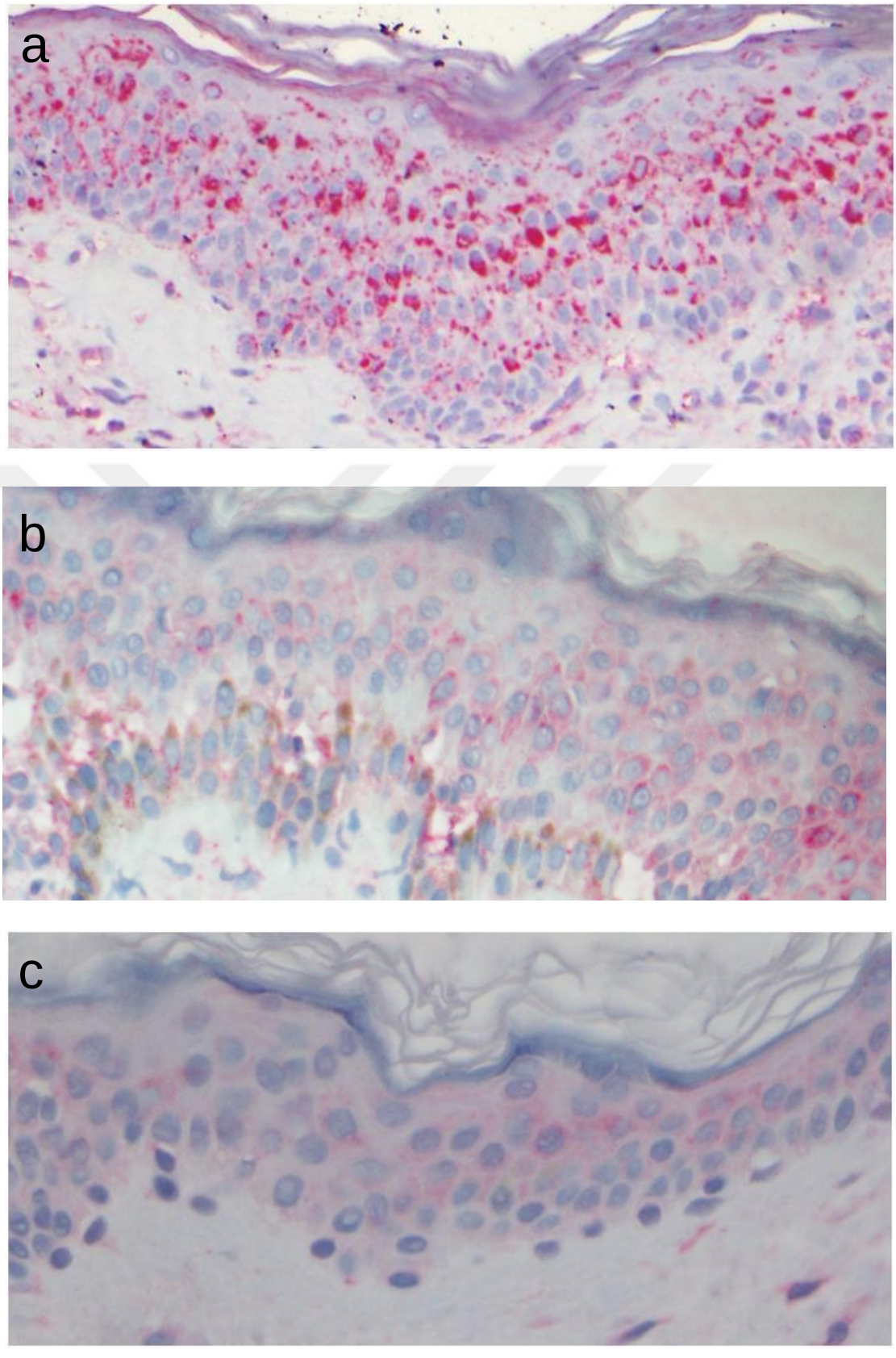
Şekil 4: BP (a), PV (b) ve NK (c) hastalarında dermiste İL-31 ekspresyonu (x400, İL-31 antikoru)

4.2.2. İL-31RA ekspresyonunun değerlendirilmesi

Hastaların epidermis keratinositlerinde İL-31RA ekspresyonu, İL-31RA pozitif alanın tüm epidermise yüzdesi hesaplanarak değerlendirildi. BP (n=10) hastalarında keratinositlerin İL-31RA antikoru ile boyanma yüzdesi ortalama 39,1±15,9 iken, PV (n=10) hastalarında boyanma yüzdesi ortalama 17,7±14,6 idi. NK (n=7) hastalarında ise İL-31RA antikoru ile epidermisin boyanma yüzdesi ortalama 8,3±8,4 idi. İL-31RA antikoru ile epidermiste boyanma yaygınlıkları açısından BP ve PV hastaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p<0,05$) (Şekil 5). NK hastaları ile hastalık grupları karşılaştırıldığında, BP ile NK hastaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanırken ($p<0,01$) PV hastaları ile anlamlı fark izlenmedi ($p>0,05$) (Şekil 5). Hastalık gruplarında keratinositlerin İL-31RA ile boyanma paterni Şekil 6'da gösterilmiştir.

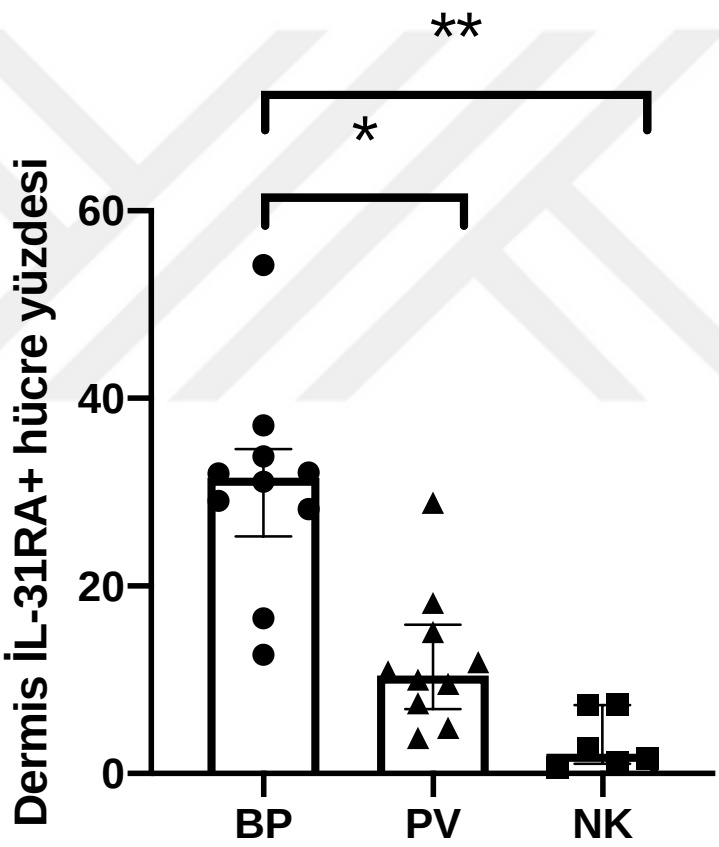


Şekil 5: BP, PV ve NK hastalarında epidermis İL-31RA ekspresyonu arasındaki ilişki. (* P <0,05, ** P <0,01)

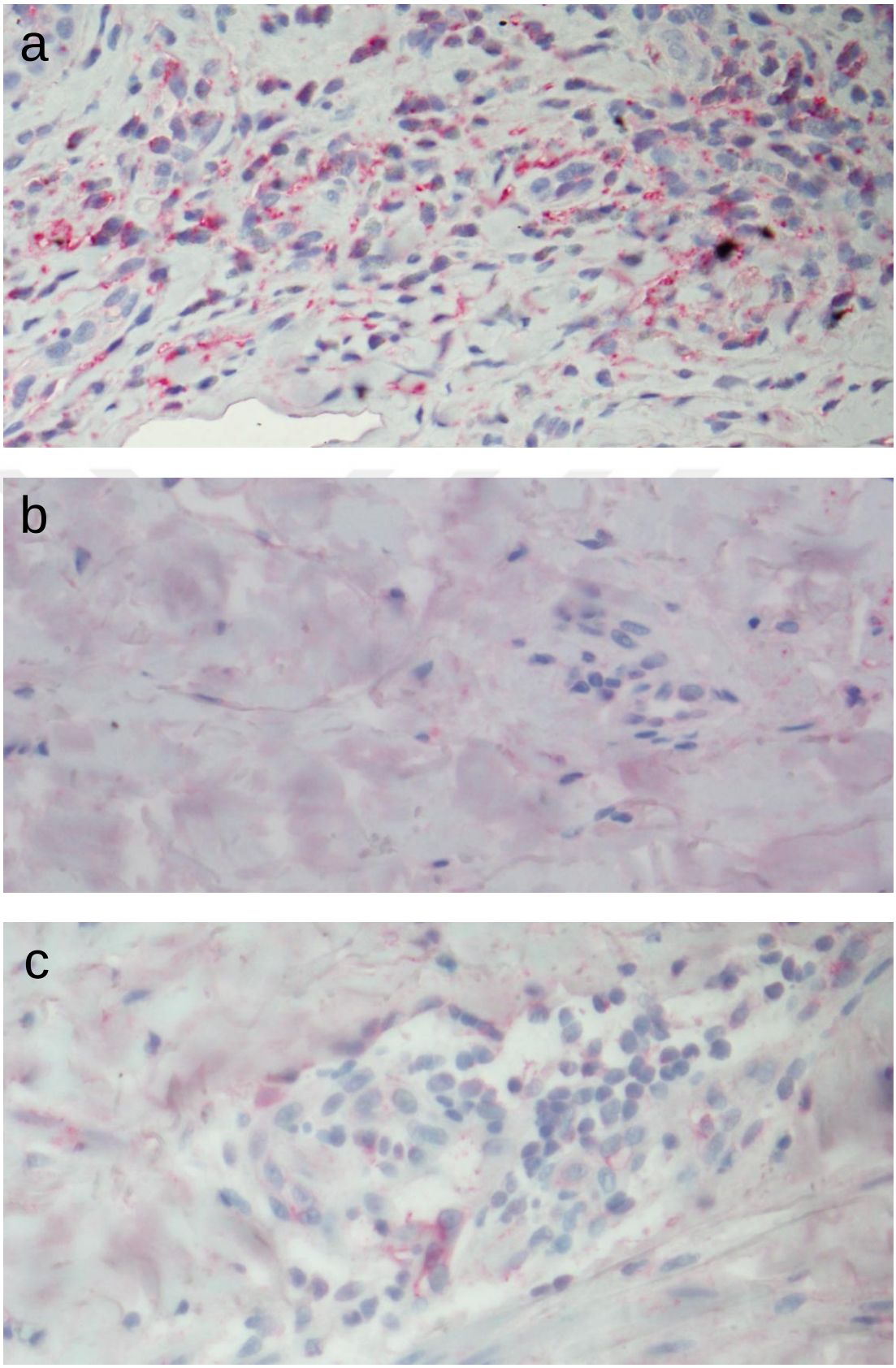


Şekil 6: BP (a), PV (b) ve NK (c) hastalarında epidermis İL-31RA ekspresyonu (x400, İL-31RA antikoru)

İL-31RA antikoru ile dermisteki inflamatuar hücrelerin boyanma yüzdesi BP (n=10) hastalarında ortalama 30,7±11,2, PV (n=10) hastalarında 12,1±7,3, NK (n=7)'larda ise 5,6±4,3 idi. BP ve PV hastalarında dermisteki inflamatuar hücrelerin İL-31RA antikoru ile boyanma yüzdeleri karşılaştırıldığında iki hastalık arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlendi ($p<0,05$) (Şekil 7). BP hastaları ile NK grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenirken ($p<0,01$) PV hastaları ile istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi ($p>0,05$) (Şekil 7). Hastalık gruplarında dermis inflamatuar hücrelerinin İL-31RA ile boyanma paterni Şekil 8'de gösterilmiştir.

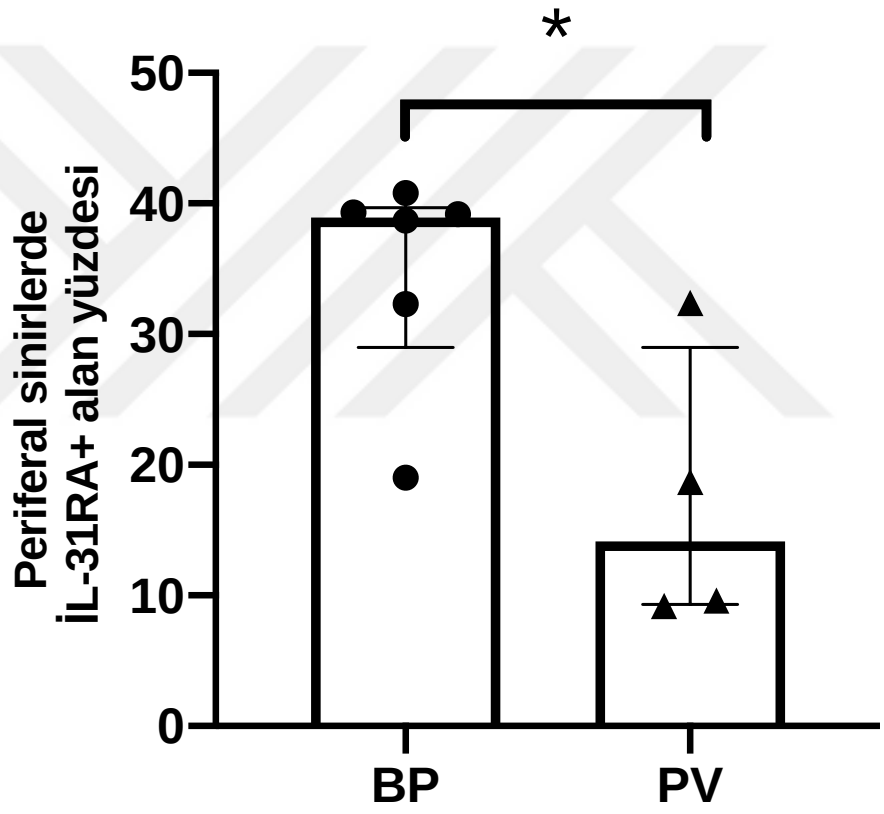


Şekil 7: BP, PV ve NK hastalarında dermisteki inflamatuar hücrelerin İL-31RA ekspresyonu arasındaki ilişki (* $P < 0,05$, ** $P < 0,01$)

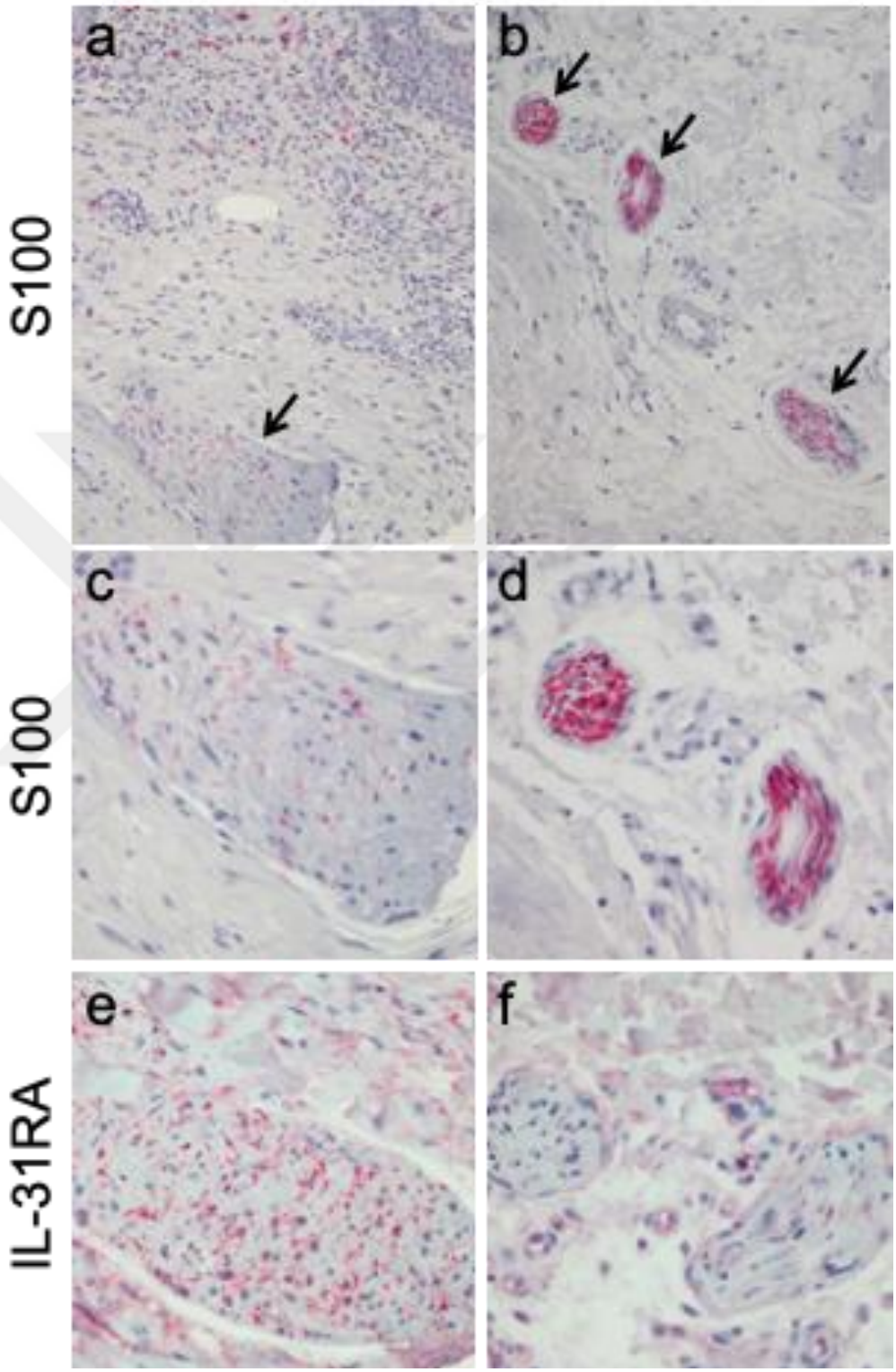


Şekil 8: BP (a), PV (b) ve NK (c) hastalarında dermis İL-31RA ekspresyonu (x400, İL-31RA antikoru)

Kesitlerinde periferal sinir izlenen BP ve PV hastalarının seri kesitleri S100 ile boyandı, pozitif boyanma saptanarak periferal sinir olduğu teyit edildi. BP (n=6) ve PV (n=4) hastalarının periferal sinirlerindeki İL-31RA antikoru ile boyanma yüzdesi değerlendirildi. BP hastalarının periferal sinirlerindeki İL-31RA antikoru ile boyanma yüzdesi ortalama 34,9±8,3 olup PV hastalarındaki periferal sinirlerde bu oran yüzdesi ortalama 17,5±10,9 idi. Hastalık grupları arasında periferal sinirlerdeki İL-31RA ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0,05$) (Şekil 9). BP ve PV hastalarında periferal sinirlerin S100 ve İL-31RA ile boyanması Şekil 10'da gösterilmiştir.



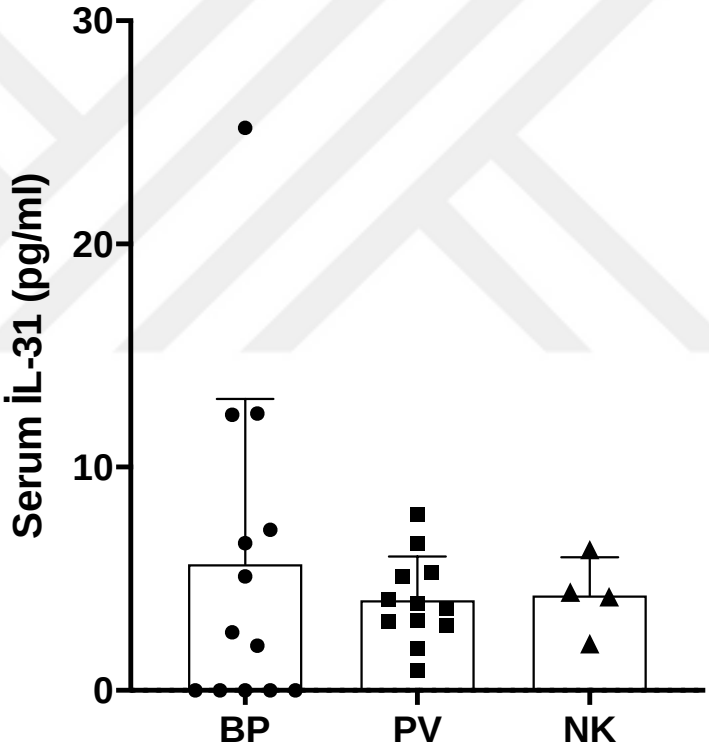
Şekil 9: BP ve PV hastalarında periferal sinirlerdeki İL-31RA ekspresyonu arasındaki ilişki. (* $p<0,05$)



Şekil 10: BP ve PV hastalarında periferal sinirlerde S100 (a,b,c,d) ve İL-31RA (e,f) ile boyanma (a ve b x200 S100 antikoru, c ve d x400 S100 antikoru, f ve g x400 İL31RA antikoru). Oklar periferal sinirleri göstermektedir (a,b).

4.3. SEROLOJİK BULGULAR

BP (n=13), PV (n=12) ve NK (n=4) hastalarının serum İL-31 düzeyi ELİSA yöntemi ile pg/ml cinsinden değerlendirildi. BP hastalarının serum İL-31 seviyesi ortalaması 5,6±7,4, PV hastalarının ortalaması 4,0±2,0 ve NK'ların ortalaması 4,3±1,7 pg/ml idi. BP hastalarında serum İL-31 düzeyleri PV hastalarına göre daha yüksek olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05). Benzer şekilde, NK'larla BP ve PV hastaları arasında da serum İL-31 düzeyleri açısından anlamlı fark saptanmadı (p>0,05). İL-31 düzeylerinin gruplardaki dağılımı Şekil 11' de gösterilmiştir.



Şekil 11: BP, PV ve NK hastalarında serum İL-31 düzeyi arasındaki ilişki.

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda BP hastalarında PV ve negatif kontrollere göre dermis inflamatuar hücrelerinde İL-31 ekspresyonunun istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmış olduğu izlenirken PV ve negatif kontrol hastaları arasında bu açıdan anlamlı fark bulunmadı. Epidermis, dermis inflamatuar hücreleri ve periferal sinirlerde İL-31RA ekspresyonunun BP hastalarında PV ve normal kontrollere göre anlamlı olarak yüksek olduğu gösterildi. PV ve normal kontrol hastaları arasında ise İL-31RA ekspresyonu açısından fark saptanmadı. BP, PV ve negatif kontrol hastalarının serum İL-31 seviyeleri karşılaştırıldığında, üç grup arasında anlamlı fark tespit edilmedi.

Büllöz pemfigoid, genellikle 70 yaş üzeri bireylerde ürtikeryal plaklar ve subepidermal büllerle karakterize kronik bir otoimmün büllü hastalıktır. Hastalık, çoğunlukla kaşıntının eşlik ettiği ürtikeryal plaklarla seyreden prebüllöz evre ile başlar. Kaşıntı çok şiddetli olup, hastaların hemen hepsinde değişmez bir bulgudur. Cilt lezyonu olmaksızın sadece kaşıntı ile seyreden BP hastaları bildirilmiştir (70). BP patogenezinde BP180 ve BP230 antijenine karşı otoantikorlar ve Th2 ağırlıklı inflamasyon rol almaktadır. BP hastalarının deri lezyonlarında, serum ve bül sıvılarında artmış İL-1b, İL-4, İL-5, İL-6, İL-8, İL-10, İL-13, İL-17, İL-22, İL-23, TGF-ß, TNF-alfa ve IFN-gama seviyeleri saptanmıştır (10). Güncel tedavi yaklaşımında kortikosteroidler ve immünsüpresif tedaviler yer almakta olup spesifik antipruritik tedavilere yer verilmemektedir (71). BP hastalarındaki kaşıntının atopik dermatit gibi inflamatuar hastalıklarla karşılaştırılabilir düzeyde şiddetli olduğu düşünüldüğünde hastalığın iyileşmesi yanında semptomatik tedavi de ciddi bir önem taşımaktadır (9). Bununla birlikte kaşıntı için tedavi seçenekleri sınırlıdır.

Pemfigus vulgaris, deri ve müköz membranlarda intraepidermal büllerle karakterize, yüksek morbidite ile seyreden ve tedavi edilmediği takdirde ölümcül olabilen otoimmün büllöz hastalıktır. BP'de izlenen inflamatuar lezyonlar ve kaşıntı PV'de gözlenmez. Büller çoğunlukla noninflame deri üzerinden gelişir. PV'de bül oluşumunun temel mekanizması anti Dsg1 ve anti Dsg3 antikorlarının desmozomlara bağlanmasıyla ortaya çıkan akantolizdir. Otoantikorlar, kompleman aktivasyonu ile

başlayan inflamatuar sürece ihtiyaç duymadan direk olarak akantolizi tetikler. Bunun yanında, yapılan çalışmalarda PV hastalarının serumlarında İL-6, İL-4 ve İL-10 gibi Th2 yolağı sitokinlerinin artmış, İL-2 ve IFN-gama gibi Th1 yolağına ait sitokinlerin ise azalmış olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, Th17'den kaynaklanan İL-17α artışı da izlenmiştir. PV hastalarının bül sıvılarında ise kompleman aktivasyonu, sitotoksik proteazlar ve artmış İL-4 ve İL-10 seviyeleri saptanmıştır. Bütün bu antikor-bağımsız faktörler hastalık patogenezine katkı sağlıyor olabilmekle birlikte bu moleküllerin patogenezdeki rolü belirsizdir (58,72).

Büllöz pemfigoid ve PV, patogenezleri tam olarak anlaşılamamış iki otoimmün büllöz dermatozdur. Hem BP hem de PV; Th2 ağırlıklı inflamasyon yolağını kullanmakla birlikte inflamatuar lezyonlar ve kaşıntı, bu iki hastalığın kliniğinde önemli bir fark olarak karşımıza çıkmaktadır. Biz çalışmamızda pruritojen sitokin olarak bilinen ve Th2 ağırlıklı inflamasyonda görev alan İL-31 ve İL-31RA'nin BP hastalarında PV hastalarına göre daha fazla eksprese edildiği ve bu durumun iki hastanın kliniğindeki farklılığı açıklayabileceği hipotezini kurduk. Literatürde bildiğimiz kadarıyla bu iki hastalığı İL-31 ve İL-31RA ekspresyonu açısından karşılaştıran çalışma bulunmamaktadır.

Kaşıntı, otoimmün ve inflamatuar dermatozlarda sıklıkla izlenmektedir. Kaşıntı mediatörleri, kaşıntıya duyarlı miyelinsiz C tipi sinir lifleri üzerindeki reseptörleri uyararak etki göstermektedir. Bu reseptörler çoğunlukla G protein-kenetli olup TRPV1 (Transient receptor potential 1), TRPA1 (Transient receptor potential ankyrin 1) ve voltaj kapılı sodyum kanalları üzerinden aksiyon potansiyeli oluşturmaktadır (73). Altı haftadan uzun süren kaşıntı kronik kaşıntı olarak tanımlanmaktadır. Kronik kaşıntı, uyku, iyilik hali ve sosyal ilişkiler üzerinde olumsuz etkiye neden olup yaşam kalitesini ciddi ölçüde düşürmektedir (74). Akut kaşıntı, temel olarak histamin etkisi ile histaminerjik duyu sinirleri üzerinden gelişmektedir. Kronik kaşıntı patogenezinden ise keratinositler, immün sistem ve nonhistaminerjik duyu sinirlerinin kompleks etkileşimi sorumludur (75). Proteazlar, safra asitleri, klorokin, endotelin-1, substance P, opioidler, TSLP (Thymic stromal lymphopoietin), İL-4, İL-13 ve İL-31 gibi endojen ve ekzojen pruritojenler nonhistaminerjik sinir lifleri üzerinden kronik kaşıntıyı indüklemektedir (75). Kaşıntı

ile seyreden dermatozlarda kaşıntı yolağının ayırt edilmesi, tedavi yaklaşımı açısından önem taşımaktadır.

Büllöz pemfigoid-ilişkili kaşıntının patogenezi hakkında bilgilerimiz sınırlıdır. Hashimoto ve ark.larının yaptığı çalışmada BP hastalarında kaşıntı oluşumunda rol oynadığı düşünülen hücreler ve mediatörler değerlendirilmiş, kaşıntı şiddetinin eozinofil, SP (substance P), NK1R (nörokinin1R), İL-31RA, OSMRß, İL-13, periostin ve bazofil düzeyleri ile korele olduğu gösterilmiştir. Bizim çalışmamıza benzer şekilde dermis İL-31 ve İL31RA ve epidermis İL31RA ekspresyonu, sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak yüksek izlenmiştir. Kaşıntı şiddeti ile İL-31 arasında da ilişki olduğu görülmüştür. Yine İL-31 ve NK1R eksprese eden hücrelerin çoğunlukla eozinofiller olduğu gözlenmiştir. Kaşıntı mediatörü olarak bilinen mast hücreleri, İL-4, TSLP (Thymic stromal lymphopoietin),TRPV1 (Transient receptor potential 1), TRPA1 (Transient receptor potential ankyrin 1), ve PAR2 (Protease activated receptor 2) ile kaşıntı şiddeti arasında ise korelasyon görülmemiştir (77). BP-ilişkili kaşıntı patogenezinde rol oynayan mediatörlerin aydınlatılması, hedefe yönelik tedavi seçeneklerinin ortaya çıkması için önem taşımaktadır.

İL-31, transgenik fare modelinde şiddetli kaşıntı ve dermatiti tetiklemiş ve bu nedenle ‘pruritojenik sitokin’ olarak tanımlanmıştır (1). İL-31, Th2 ağırlıklı ağırlıklı inflamasyonda görev alan glikoprotein 130 (gp130) /İL-6 ailesine ait bir sitokindir. Başlıca Th2, Th1, CD8 T hücreleri, monosit/makrofajlar, dentritik hücreler, keratinositler, eozinofiller, bazofiller, mast hücreleri ve fibroblastlar tarafından üretilmektedir (78). Deri dışında testis, kemik iliği, iskelet kası, böbrek, bağırsak, timus, ince bağırsak, trakea ve dorsal kök ganglionlarında da İL-31 mRNA’sı saptanmıştır. İL-33 ve İL-4, sinerjistik etki göstererek hücre kaynaklarından İL-31 üretimini uyarır. UVB ışınları, H2O2, stafilokokal enterotoksin B ve antimikrobial peptitler İL-31 ekspresyonunu arttırır (78). İL-31, İL31RA ve onkostatin M reseptörü (OSMRß)’den oluşan reseptör kompleksine bağlanarak hücre içi sinyal yolağını uyarır. Bu reseptör kompleksi keratinositler, mast hücreleri, makrofajlar, bazofiller, eozinofiller, periferal sinirler ve dorsal kök ganglionlarında eksprese edilmektedir (78). İL-31, kaşıntıyı indüklemesinin yanında keratinosit farklılaşması ve

proinflamatuar sitokin sekresyonunu uyararak kronik inflamatuar hastalıkların patogenezine katkı sağlamaktadır (78).

İL-31'in periferal sinirlerdeki İL-31RA üzerinden Th2 hücreleri ile duyu sinirleri arasında nöroimmün bağlantıyı sağladığı ve T hücre ilişkili kaşıntıda görev aldığı düşünülmektedir. İL-31, periferal sinirlerde bulunan İL-31RA üzerinden kaşıntıyı direk olarak tetiklemektedir (75). Arai ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada farelere tekrarlayan dozlarda İL-31 uygulanması, dorsal kök ganglionlarında İL-31RA ekspresyonunu arttırmış ve şiddetli kaşıntı davranışına yol açmıştır (81). Feld ve arkadaşları transgenik farelerde İL-31'in aşırı ekspresyonunun periferal sinir liflerinde uzama ve dallanmaya yol açtığını göstermiştir (82). Nocchi ve arkadaşları ise pruritojenik epidermal nöronların İL-31-aracılı fotoablasyonunun farelerde kaşıntıyı azalttığını raporlamışlardır (83).

İL-31RA ve OSMRß keratinositlerde de ekprese edilmekte, bu da keratinositleri İL-31 için bir diğer önemli hedef yapmaktadır (84,85). Keratinositler, ağrı ve kaşıntı ile ilişkili mediatörler salgılamaktadır. Keratinositlerde İL-31 ile uyarılma sonrası artmış CCL2 sekresyonu gözlenmiştir (86). İL-31, keratinositler üzerinden indirek olarak kaşıntıyı uyarır. Hawro ve arkadaşlarının AD ve sağlıklı kontrollerde İL-31 ile yaptığı delme (prick) testi geç kaşıntı cevabına yol açmıştır (87). Bu bulgu, İL-31'in keratinositler üzerinden indirek olarak kaşıntıyı indüklemesi ile açıklanabilir.

İL-31 ile ilgili araştırmalar kaşıntılı hastalık modeli olarak kabul edilen AD ile başlamış, AD hastalarında yüksek İL-31 seviyeleri ve bu seviyelerin kaşıntı şiddeti ile korelasyonu gösterilmiştir (1-3,88). Prurigo nodülaris, kutanöz T hücreli lenfoma (KTHL), mastositoz ve alerjik kontakt dermatit gibi şiddetli kaşıntı ile seyreden diğer inflamatuar dermatozlarda da yüksek İL-31 seviyeleri saptanmıştır (2,3,84,85,89). Raap ve arkadaşları kronik spontan ürtiker hastalarında serum İL-31 seviyelerinin arttığını göstermişlerdir (90) Narbutt ve arkadaşları, psöriazis vulgaris hastalarında serum İL-31 seviyesinin arttığını ve UVB tedavisi ile bunun azaldığını tespit etmişlerdir (91). Liken planus hastalarının doku İL-31 ekspresyonunun değerlendirildiği bir diğer çalışmada artmış İL-31 ekspresyonu izlenmekle birlikte

İL-31 seviyesi ile kaşıntı arasında korelasyon bulunmamıştır (92). Dermatomyozit hastalarında lezyonel deride artmış İL-31 ve İL31RA ekspresyonu gösterilmiş ve bu bulgunun kaşıntı ile korele olduğu saptanmıştır (93). Benzer şekilde üremik pruritus hastalarında da serum İL-31 seviyelerinin yüksek olduğu saptanmıştır (94).

Dermatolojik hastalıklar dışında alerjik astım ve rinit gibi alerjik hastalıklarda, Crohn hastalığı ve ülseratif kolit gibi inflamatuar bağırsak hastalıklarında, hematolojik ve solid tümörlerde, postmenapozal osteoporotik hastalarda İL-31 seviyelerinin artmış olduğu saptanmıştır (95-100).

Büllöz pemfigoid hastalarında doku İL-31 ekspresyonunu değerlendiren az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bonciani ve arkadaşlarının BP ve DH hastalarında serum ve doku İL-31 seviyelerini araştıran çalışmalarında serum İL-31 seviyesi sağlıklı kontrollere göre her iki hastalıkta da yüksek bulunmuştur. Lezyonel derideki İL-31 pozitif hücre sayıları perilezyonel deri ve sağlıklı kontrollere göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Ayrıca, İL-31 pozitif hücrelerin özellikle üst dermiste yerleştiği görülmüştür. Artmış İL-31 üretiminin sadece kaşıntıya değil, bül oluşumuna da katkı sağladığı gösterilmiştir (4). Hashimoto ve arkadaşlarının çalışmasında ise immünfloresan (İF) yöntemi kullanılarak doku İL-31 ve İL-31RA ekspresyonu yüksek bulunmuştur (77). Bu veriler, çalışmamızda saptanan artmış doku İL-31 ekspresyonu ile paralellik göstermektedir. BP hastalarında İL-31'in ana kaynağının eozinofiller olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (6). Literatürde bir monoklonal IgE antikoru olan omalizumab ile başarılı şekilde tedavi edilmiş BP olguları bulunmakta olup, omalizumabın kronik ürtiker hastalarında İL-31 düzeyini düşürdüğü gösterilmiştir (102-104). Bu bulgu, IgE ve İL-31 arasındaki patofizyolojik bağlantıyı desteklemekte, BP'de omalizumab tedavisinin eozinofil aktivitesini azaltıp buna sekonder İL-31 üretimini inhibe ederek etki ediyor olabileceğini düşündürmektedir. Benzer şekilde İL-4 ve İL-13 antagonisti olan dupilumabın da BP hastalarında kaşıntı ve bül oluşumunu başarılı şekilde tedavi ettiği raporlanmıştır. Dupilumabın İL-4 inhibisyonu üzerinden eozinofillerden İL-31 üretimini inhibe ederek BP-ilişkili kaşıntıda etkili olduğu düşünülmektedir (105). Çalışmamızda gösterilen artmış dermis İL-31 ekspresyonu, bu verilerle benzer doğrultuda olup İL-31'in BP patogenezindeki rolünü desteklemektedir.

Literatürde BP hastalarında epidermis ve dermis İL-31RA ekspresyonunu değerlendiren yalnızca bir çalışma bulunmaktadır. Bu çalışma, immünofloresan yöntemi kullanarak epidermal ve dermal İL-31RA ekspresyonunun bizim çalışmamıza benzer şekilde artmış olduğunu ve bu artışın kaşıntı şiddetli ile korele olduğunu saptamıştır (77). Farklı olarak, çalışmamızda doku ekspresyonu İHK yöntemi ile değerlendirilmiştir. İHK yönteminde doku morfolojisinin rahatça seçilmesi yorumlamayı kolaylaştırmaktadır. Ayrıca İF yönteminde kollajen, elastin, kan damarı, nötrofil ve eritrosit gibi yapıların sıklıkla otofloresans vermesi değerlendirmeyi zorlaştırmaktadır. Bu nedenle, protein ekspresyonu değerlendirmesinde İHK yöntemi ile İF'ye göre daha güvenilir sonuçlar elde edilmektedir. Daha önce AD ve KTHL hastalarında yapılan çalışmalarda da epidermal İL-31RA ekspresyonun arttığı bildirilmiştir (84,85). BP hastalarında epidermis İL-31RA ekspresyonun artmış olması, İL-31 tarafından uyarılan keratinositlerden salgılanan mediatörlerin ve peripheral sinirlerin birbiriyle etkileşim halinde BP-ilişkili kaşıntıyı ve bül oluşumunu tetikleyebileceğini akla getirmektedir.

BP hastalarında dermiste eozinofil ağırlıklı infiltrasyon izlenmektedir. İL-31'in kaşıntı ile ilişkili hedef hücrelerinden biri eozinofillerdir. AD hastalarında keratinosit ve eozinofillerin birlikte kültüre edildikten sonra İL-31 ile uyarılması, eozinofillerde kemotaksisi, kalsiyum mobizilasyonunu, CCL26 ve reaktif oksijen türlerinin salınımını arttırmıştır. Fibroblastlarla yapılan kültürde ise benzer cevap izlenmemiştir (106,107). Çalışmamızda epidermis ve dermis inflamatuar hücrelerinde İL-31RA ekspresyonunun her ikisinin de artmış olması, BP hastalarında da AD hastalarına benzer şekilde keratinosit ve eozinofillerin interaksiyonun BP patogenezinde birlikte rol oynadığını düşündürmektedir.

Çalışmamız, BP ve PV hastalarında periferal sinirlerdeki İL-31RA ekspresyonunu değerlendiren ilk çalışmadır. İL-31RA'nın periferal sinirler ve dorsal kök ganglionlarında ekprese edildiği ve İL-31'in bu reseptörler üzerinden kaşıntıyı indüklediği bilinmektedir (75,81,82). BP hastalarının periferal sinirlerinde İL-31RA ekspresyonu açısından PV hastalarına göre anlamlı farklılık tespit edilmiştir. Bu bulgu, İL-31 ve İL-31RA'nın BP'de periferal sinirler üzerinden kaşıntı patogenezinde rol oynadığını düşündürmektedir. BP-ilişkili kaşıntının antihistaminik

tedavilere cevap vermemesi kaşıntının nonhistaminerjik duyu sinirleri üzerinden gelişmekte olduğunu düşündürmektedir. Non-histaminerjik duyu sinirlerinde İL-31RA ekspresyonu AD gibi hastalıklarda gösterilmiş olmakla birlikte, çalışmamızda ilk defa BP hastalarındaki periferal sinir İL-31RA ekspresyonunu gösterilmiştir (81). Epidermis ve periferal sinirlerdeki artmış İL-31RA ekspresyonu, BP-ilişkili kaşıntının direk ve indirek yolun birlikte kullanılmasıyla indüklendiğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda BP hastalarında serum İL-31 seviyeleri PV ve kontrol grubuna göre yüksek izlenmekle birlikte gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. BP hastalarında serum İL-31 seviyelerini araştıran önceki çalışmalarda çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. Rüdrich ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada BP hastalarındaki serum İL-31 seviyeleri bizim çalışmamıza benzer şekilde kontrol hastalarına göre hafif yüksek olmakla birlikte, fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Pozitif kontrol olarak çalışmaya dahil edilen mastositoz hastalarının serum İL-31 seviyelerine göre ise anlamlı oranda düşük saptanmıştır. Bül sıvısındaki İL-31 seviyeleri, periferal kan İL-31 seviyelerine göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır ve mastositoz hastalarının serum İL-31 seviyeleri ile karşılaştırılabilir düzeyde olduğu bulunmuştur. BP hastalarında İL-31'in ana kaynağının eozinofiller olduğu gösterilmiştir (6). Biz de çalışmamızda BP hastalarının bül içindeki inflamatuar hücrelerinde belirgin İL-31 ve İL31RA ekspresyonu gözledik. Kulcyzcka-Siennicka ve arkadaşları, BP serumunda İL-31 seviyesinin kontrol grubuna göre düşük olduğunu bildirmiştir (9). Salz ve arkadaşları ise serum ve bül İL-31 seviyesinin sağlıklı kontrollere yüksek olduğunu, serum İL-31 seviyesinin serum eozinofil, doku eozinofil ve serum anti-BP180-IgE seviyeleri korele olduğu raporlamışlardır (5). Bonciani ve arkadaşlarının çalışmasında ise BP hastalarında serum İL-31 seviyelerinin arttığı raporlanmıştır. (4). Bunun yanında PV hastalarında serum İL-31 seviyelerini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır ve çalışmamız ilk defa PV hastalarında serum İL-31 seviyelerini değerlendirmiş; PV ile kontrol grubu arasında fark saptamamıştır.

Monoklonal İL-31 antikoru, ilk kez NC/Nga fare modeli üzerinde kullanılmış ve farelerde eşelenme davranışını azaltmıştır. Bu sonuç İL-31 sinyal yolağı

inhibisyonunun AD ve kaşıntı ile seyreden diğer inflamatuar dermatozlarda potansiyel tedavi hedefi olabileceğini göstermiştir (108). İL-31 sinyal yolağı inhibisyonunu araştıran ilk insan çalışması, AD hastaları ve sağlıklı kontroller üzerinde nemolizumab (CIM331) ile yapılmıştır (109). Nemolizumab, humanize anti-human İL-31RA monoklonal antikorudur. İL-31'in reseptörüne bağlanmasını ve sonrasında aktive olan sinyal yolağını inhibe eder. AD hastalarında tek doz subkutan nemolizumab uygulaması kaşıntı VAS (visual analogue scale) skorunu ve topikal steroid ihtiyacını önemli oranda azaltmış, buna bağlı olarak uyku kalitesini arttırmıştır (109). Oniki haftalık, randomize çift kör plasebo kontrollü Faz 2 çalışmasında AD hastalarına 4 hafta ara ile uygulanan subkutan nemolizumab (0.1, 0.5 ve 2 mg/kg) tedavisinin 12. hafta sonunda kaşıntı VAS skorunu, Egzema Alan Şiddet İndeksi (Eczema Area Severity Index) skorunu, SCORAD skorunu ve hastalığın deri tutulumunu azalttığı gösterilmiştir. Nemolizumab kullanan hastalarda uyku kalitesi ve Dermatoloji Hayat Kalite Ölçeği (Dermatology Quality of Life Index) skorları plasebo gruba göre anlamlı oranda yüksek bulunmuştur. Tedavi/risk profiline göre en uygun doz, 4 hafta ara ile 0.5 mg/kg nemolizumab uygulaması olmuştur (8). İlacın uzun dönem etkilerini ve güvenlik profilini inceleyen Faz 2 çalışmasının 52 hafta uzatıldığı çalışmada, VAS skoru ve Egzema Alan Şiddet İndeksi skorunun %80'in üzerinde azaldığı görülmüş, AD şiddetinde belirgin düzelme kaydedilmiştir (110). Nemolizumab tedavisinin orta-şiddetli AD hastalarında topikal steroid ile birlikte kullanıldığı Faz-IIb çalışmasında ise, tedavinin hastalarda Egzema Alan Şiddet İndeksi (Eczema Area and Severity Index), PP-NRS (peak-pruritus numeric rating score) ve IGA (Investigator's Global Assessment)'yı düzelttiği görülmüştür (111). AD hastalarında nemolizumab tedavisinin Faz 3 çalışmaları devam etmektedir. Nemolizumab tedavisi, orta-şiddetli seyreden prurigo nodülaris hastalarının tedavisinde de kullanılmış ve yapılan Faz-II çalışmasında hastalarda kaşıntıyı ve deri lezyonlarının şiddetini plasebo kontrollere göre anlamlı olarak azalttığı gösterilmiştir (112). Bizim çalışmamızda BP hastalarında İL-31 ve İL-31RA'nın BP-ilişkili kaşıntı patogenezindeki rolü desteklenmiş olup, bu bulgu nemolizumab tedavisinin BP hastalarında da potansiyel bir tedavi seçeneği olabileceğini düşündürmektedir. BP hastalarının büyük çoğunluğu ileri yaşta olduğu ve eşlik eden komorbiditeleri olduğu için kortikosteroid

yan etkileri ile başa çıkmak zorlayıcı olabilmektedir. Nemolizumab, BP'de steroid kurtarıcı ajan olarak potansiyel bir tedavi seçeneği olabilir. Bu bulguyu destekleyecek ve tedavi ile İL-31 ve İL-31RA seviyelerindeki değişimi inceleyecek ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Pemfigus ve İL-31 ilişkisi ile ilgili literatürde yalnızca bir çalışma bulunmaktadır. Pemfigus hastaları ile İL-31ve İL31RA arasındaki ilişkiyi araştıran bu çalışmada pemfigus herpetiformis hastalarında yüksek İL-31 ve İL-31RA ekspresyonu izlenirken, PV ve PF ile sağlıklı kontroller arasında bu açıdan anlamlı fark izlenmemiştir (113). Bu bulgular, bizim çalışmamız ile paralellik göstermektedir. Bahsedilen çalışmada protein ekspresyonu bizim çalışmamızda olduğu gibi İHK yöntemiyle değerlendirilmiştir. Bununla birlikte, ekspresyon seviyesi ortalama renk dansitesi ve pozitif alan oranı ile hesaplanmıştır. Bizim çalışmamızda ise manuel hücre sayımı ile kantitatif değerlendirme yapılmıştır. Hücre sayımı yöntemi daha objektif ve güvenilir olup çalışmamızı güçlü kılmaktadır. Çalışmamızda PV hastalarında dermis İL-31, epidermis ve dermis İL-31RA ekspresyonu açısından negatif kontrollerle farklılık izlenmemesi hastalığın Th2 ağırlıklı inflamasyon yolağını kullanmasına karşın kaşıntıyla seyretmemesini açıklayabilir. Bu verinin ileri çalışmalarla desteklenmesine ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda İL-31 ve İL31RA'nın doku ekspresyonu İHK yöntemi ile protein seviyesinde değerlendirilmiştir. Doku ekspresyonunun İHK yöntemi ile değerlendirilmesi ve ölçümün kantitatif olarak yapılması çalışmamızın güçlü taraflarıdır. İHK, protein ekspresyonunu değerlendirmede daha önceki BP çalışmalarında kullanılan immünfloresan yöntemine göre üstünlük göstermektedir (77). Ayrıca periferal sinir ekspresyonunun da değerlendirmeye alınması, kaşıntı patogenezinin anlaşılmasına katkı sağlamaktadır.

Çalışmamızın retrospektif olarak dizayn edilmiş olması en önemli kısıtlılığıdır. Çalışmanın retrospektif dizaynı nedeniyle hastaların kaşıntı seviyeleri değerlendirilememiştir. BP ve PV hastalarındaki İL-31 ve İL-31RA ekspresyonunun kaşıntı şiddeti ile ilişkisinin değerlendirildiği ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Çalışmadaki hasta sayısının görece az olması bir diğer kısıtlılıktır. Doku inflamatuar

hücre ekspresyonu seviyesinin manuel olarak kantitatif değerlendirilmesi en güvenilir yöntem olmakla birlikte bu durum az sayıda hasta ile çalışılmasına neden olmuştur. Serum ve doku İL-31 ve İL-31RA düzeylerini değerlendirilmek için daha fazla sayıda hastanın değerlendirildiği çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Sonuç olarak BP hastalarında PV'ye göre yüksek İL-31 ve İL-31RA ekspresyonu saptanırken PV ile kontrol grubu arasından fark izlenmemiştir. BP'de kaşıntının değişmez bir bulgu olmasını, PV' de ise kaşıntının belirgin olmamasını il-31 düzeyleri ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Çalışmamız, hastalıklardaki bu klinik farklılığının altında yatan sebeplerin anlaşılmasına katkıda bulunmuştur. Çalışmamız, İL-31 ve İL3RA'nın BP patogenezindeki rolünü desteklemekte ve İL-31 yolağına yönelik tedavi ajanlarının BP'de kullanılmasına dair veri sağlamaktadır.

6. SONUÇLAR

- BP hastalarında PV ve negatif kontrollere göre dermis inflamatuar hücrelerinde İL-31 ekspresyonunun artmış olduğu izlenirken PV ve negatif kontrol hastaları arasında bu açıdan anlamlı fark bulunmadı. Çalışmamız İL-31'in BP patogenezindeki yerini desteklemektedir.
- BP hastalarında hem epidermis hem de dermis inflamatuar hücrelerinde İL-31RA ekspresyonunun PV ve NK'lara göre artmış olması, keratinosit ve eozinofillerin interaksiyonun BP patogenezinde birlikte rol oynuyor olabileceğini düşündürmektedir.
- Çalışmamız, BP ve PV hastalarında periferal sinirlerdeki İL-31RA ekspresyonunu değerlendiren ilk çalışmadır. BP hastalarında periferal sinirlerinde İL-31RA ekspresyonu PV hastalarına göre anlamlı olarak yüksektir. BP hastalarında epidermis ve periferal sinirlerdeki artmış İL31RA ekspresyonu, kaşıntının periferal sinirler üzerinden direk ve epidermis üzerinden indirek yolla uyarıldığını düşündürmektedir.
- Çalışmamızda BP hastalarında serum İL-31 seviyeleri PV ve kontrol grubuna göre yüksek izlenmekle birlikte gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.
- PV hastalarında dermis İL-31, epidermis ve dermis İL-31RA ekspresyonu açısından negatif kontrollerle anlamlı farklılık izlenmemesi hastalığın kaşıntıyla seyretmemesini açıklayabilir.
- BP hastalarında İL-31 ve İL-31RA'nın BP-ilişkili kaşıntı patogenezindeki rolü desteklenmiş olup, bu bulgu nemolizumab tedavisinin BP hastalarında kaşıntıyı azaltıcı ajan kullanılabileceğini düşündürmektedir. Bu bulguyu destekleyecek, tedavi edici özellikleri inceleyecek ve tedavi ile İL-31 ve İL-31RA seviyelerindeki değişimi inceleyecek ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.
- İL-31 ve İL31RA'nın doku ekspresyonunun protein düzeyinde immünhistokimyasal yöntemle değerlendirilmesi ve ölçümün kantitatif olarak yapılması çalışmamızın güçlü taraflarıdır.
- Çalışmanın retrospektif dizaynı nedeniyle BP ve PV hastalarındaki İL-31 ve İL-31RA ekspresyonunun kaşıntı şiddeti ile ilişkisi değerlendirilememiştir.

7. KAYNAKLAR

1. Dillon SR, Sprecher C, Hammond A, et al. Interleukin 31, a cytokine produced by activated T cells, induces dermatitis in mice. Nat Immunol. 2004;5(7):752- 60.

2. Sonkoly E, Muller A, Lauerma AI, et al. IL-31: a new link between T cells and pruritus in atopic skin inflammation. J Allergy Clin Immunol. 2006;117(2):411- 17.

3. Neis MM, Peters B, Dreuw A, et al. Enhanced expression levels of IL-31 correlate with IL-4 and IL-13 in atopic and allergic contact dermatitis. J Allergy Clin Immunol. 2006;118(4):930- 37.

4. Bonciani D, Quintarelli L, Del Bianco E, Bianchi B, Caproni M. Serum levels and tissue expression of interleukin-31 in dermatitis herpetiformis and bullous pemphigoid. J Dermatol Sci. 2017;87(2):210- 12.

5. Salz M, Haeberle S, Hoffmann J, Enk AH, Hadaschik EN. Elevated IL-31 serum levels in bullous pemphigoid patients correlate with eosinophil numbers and are associated with BP180-IgE. J Dermatol Sci. 2017;87(3):309- 11.

6. Rüdrich U, Gehring M, Papakonstantinou E, et al. Eosinophils are a Major Source of Interleukin-31 in Bullous Pemphigoid. Acta Derm Venereol. 2018;98(8):766- 71.

7. Rico MJ, Benning C, Weingart ES, Streilein RD, Hall RP 3rd. Characterization of skin cytokines in bullous pemphigoid and pemphigus vulgaris. Br J Dermatol. 1999;140(6):1079- 86.

8. Ruzicka T, Hanifin JM, Furue M, et al. Anti-Interleukin-31 Receptor A Antibody for Atopic Dermatitis. N Engl J Med. 2017;376(9):826- 35.

9. Kulczycka-Siennicka L, Cynkier A, Waszczykowska E, Woźniacka A, Żebrowska A. The Role of Intereukin-31 in Pathogenesis of Itch and Its Intensity in a Course of Bullous Pemphigoid and Dermatitis Herpetiformis. Biomed Res Int. 2017;2017:5965492.

10. Bağcı IS, Horváth ON, Ruzicka T, Sárdy M. Bullous pemphigoid. Autoimmun Rev. 2017;16(5):445- 55.

11. Lever WF. Pemphigus. Medicine (Baltimore). 1953;32(1):1- 123.

12. Jordon RE, Beutner EH, Witebsky E, Blumental G, Hale WL, Lever WF. Basement zone antibodies in bullous pemphigoid. JAMA. 1967;200(9):751- 56.

13. Ujiie H, Nishie W, Shimizu H. Pathogenesis of bullous pemphigoid. Dermatol Clin. 2011;29(3):439- ix.

14. Waisbourd-Zinman O, Ben-Amitai D, Cohen AD, et al. Bullous pemphigoid in infancy: Clinical and epidemiologic characteristics. J Am Acad Dermatol. 2008;58(1):41- 48.

15. Jung M, Kippes W, Messer G, Zillikens D, Rzany B. Increased risk of bullous pemphigoid in male and very old patients: A population-based study on incidence. J Am Acad Dermatol. 1999;41(2 Pt 1):266- 68.

16. Schmidt E, Zillikens D. Pemphigoid diseases. Lancet. 2013;381(9863):320- 32.

17. Alpsoy E, Akman-Karakas A, Uzun S. Geographic variations in epidemiology of two autoimmune bullous diseases: pemphigus and bullous pemphigoid. Arch Dermatol Res. 2015;307(4):291- 98.

18. Baican A, Baican C, Chiriac G, et al. Pemphigus vulgaris is the most common autoimmune bullous disease in Northwestern Romania. Int J Dermatol. 2010;49(7):768- 74.

19. Langan SM, Smeeth L, Hubbard R, Fleming KM, Smith CJ, West J. Bullous pemphigoid and pemphigus vulgaris--incidence and mortality in the UK: population based cohort study. BMJ. 2008;337:a180.

20. Nanda A, Dvorak R, Al-Saeed K, Al-Sabah H, Alsaleh QA.. Spectrum of autoimmune bullous diseases in Kuwait. Int J Dermatol. 2004;43:876-81.

21. Wong SN, Chua SH. Spectrum of subepidermal immunobullous disorders seen at the National Skin Centre, Singapore: a 2-year review. Br J Dermatol. 2002;147(3):476- 80.

22. Kasperkiewicz M, Zillikens D. The pathophysiology of bullous pemphigoid. Clin Rev Allergy Immunol. 2007;33(1-2):67-77.

23. Hertl M, Eming R, Veldman C. T cell control in autoimmune bullous skin disorders. J Clin Invest. 2006;116(5):1159-66.

24. Gammon WR, Merritt CC, Lewis DM, Sams WM Jr, Carlo JR, Wheeler CE Jr. An in vitro model of immune complex-mediated basement membrane zone separation caused by pemphigoid antibodies, leukocytes, and complement. J Invest Dermatol. 1982;78(4):285-90.

25. Liu Z, Shipley JM, Vu TH, et al. Gelatinase B-deficient mice are resistant to experimental bullous pemphigoid. J Exp Med. 1998;188(3):475-82.

26. Amber KT, Valdebran M, Kridin K, Grando SA. The Role of Eosinophils in Bullous Pemphigoid: A Developing Model of Eosinophil Pathogenicity in Mucocutaneous Disease. Front Med (Lausanne). 2018;5:201. Published 2018 Jul 10.

27. Egami S, Yamagami J, Amagai M. Autoimmune bullous skin diseases, pemphigus and pemphigoid. J Allergy Clin Immunol. 2020;145(4):1031-47.

28. Nelson KC, Zhao M, Schroeder PR, et al. Role of different pathways of the complement cascade in experimental bullous pemphigoid. J Clin Invest. 2006;116(11):2892-900.

29. Iwata H, Kamio N, Aoyama Y, et al. IgG from patients with bullous pemphigoid depletes cultured keratinocytes of the 180-kDa bullous pemphigoid antigen (type XVII collagen) and weakens cell attachment. J Invest Dermatol. 2009;129(4):919-26.

30. Ujiie H, Sasaoka T, Izumi K, et al. Bullous pemphigoid autoantibodies directly induce blister formation without complement activation. J Immunol. 2014;193(9):4415-428.

31. Dainichi T, Nishie W, Yamagami Y, et al. Bullous pemphigoid suggestive of complement-independent blister formation with anti-BP180 IgG4 autoantibodies. Br J Dermatol. 2016;175(1):187-90.

32. Kamata A, Kurihara Y, Funakoshi T, et al. Basement membrane zone IgE deposition is associated with bullous pemphigoid disease severity and treatment results. Br J Dermatol. 2020;182(5):1221-27.

33. Van Beek N, Lüttmann N, Huebner F, et al. Correlation of Serum Levels of IgE Autoantibodies Against BP180 With Bullous Pemphigoid Disease Activity [published correction appears in JAMA Dermatol. 2017 Jul 1;153(7):729]. JAMA Dermatol. 2017;153(1):30-38.

34. Haeberle S, Wei X, Bieber K, et al. Regulatory T-cell deficiency leads to pathogenic bullous pemphigoid antigen 230 autoantibody and autoimmune bullous disease. J Allergy Clin Immunol. 2018;142(6):1831-42.e7.

35. Sasai S, Nishikawa R, Ohzono A, et al. Characterization of two cases of bullous pemphigoid reactive only with BP230 on Japanese enzyme-linked immunosorbent assays. Acta Derm Venereol. 2014;94(6):734-36.

36. Liu Y, Wang Y, Chen X, Jin H, Li L. Factors associated with the activity and severity of bullous pemphigoid: a review. Ann Med. 2020;52(3-4):55-62.

37. Cordel N, Chosidow O, Hellot MF, et al. Neurological disorders in patients with bullous pemphigoid. Dermatology. 2007;215(3):187- 91.

38. Brick KE, Weaver CH, Savica R, et al. A population-based study of the association between bullous pemphigoid and neurologic disorders. J Am Acad Dermatol. 2014;71(6):1191-97.

39. Bastuji-Garin S, Joly P, Lemordant P, et al. Risk factors for bullous pemphigoid in the elderly: a prospective case-control study. J Invest Dermatol. 2011;131(3):637-43.

40. Jedlickova H, Hlubinka M, Pavlik T, Semradova V, Budinska E, Vlasin Z. Bullous pemphigoid and internal diseases - A case-control study. Eur J Dermatol. 2010;20(1):96-101.

41. Ruocco E, Wolf R, Caccavale S, Brancaccio G, Ruocco V, Lo Schiavo A. Bullous pemphigoid: associations and management guidelines: facts and controversies [retracted in: Clin Dermatol. 2018 Mar - Apr;36(2):278]. Clin Dermatol. 2013;31(4):400-12.

42. Miyamoto D, Santi CG, Aoki V, Maruta CW. Bullous pemphigoid. An Bras Dermatol. 2019;94(2):133-46.

43. Di Zenzo G, Della Torre R, Zambruno G, Borradori L. Bullous pemphigoid: from the clinic to the bench. Clin Dermatol. 2012;30(1):3-16.

44. Langan SM, Smeeth L, Hubbard R, Fleming KM, Smith CJ, West J. Bullous pemphigoid and pemphigus vulgaris--incidence and mortality in the UK: population based cohort study. BMJ. 2008;337(7662):a180.

45. Lamberts A, Meijer JM, Jonkman MF. Nonbullous pemphigoid: A systematic review. J Am Acad Dermatol. 2018;78(5):989-95.e2.

46. Miyamoto D, Santi CG, Aoki V, Maruta CW. Bullous pemphigoid. An Bras Dermatol. 2019;94(2):133-46.

47. Machado-Pinto J, McCalmont TH, Golitz LE. Eosinophilic and neutrophilic spongiosis: clues to the diagnosis of immunobullous diseases and other inflammatory disorders. Semin Cutan Med Surg. 1996;15(4):308-16.

48. Sárdy M, Kostaki D, Varga R, Peris K, Ruzicka T. Comparative study of direct and indirect immunofluorescence and of bullous pemphigoid 180 and 230 enzyme-linked immunosorbent assays for diagnosis of bullous pemphigoid. J Am Acad Dermatol. 2013;69(5):748-53.

49. Vodegel RM, Jonkman MF, Pas HH, de Jong MC. U-serrated immunodeposition pattern differentiates type VII collagen targeting bullous diseases from other subepidermal bullous autoimmune diseases. Br J Dermatol. 2004;151(1):112-18.

50. Schmidt E, Obe K, Bröcker EB, Zillikens D. Serum levels of autoantibodies to BP180 correlate with disease activity in patients with bullous pemphigoid. Arch Dermatol. 2000;136(2):174-78.

51. Bernard P, Reguiai Z, Tancrède-Bohin E, et al. Risk factors for relapse in patients with bullous pemphigoid in clinical remission: a multicenter, prospective, cohort study. Arch Dermatol. 2009;145(5):537-42.

52. Yayli S, Pelivani N, Beltraminelli H, et al. Detection of linear IgE deposits in bullous pemphigoid and mucous membrane pemphigoid: a useful clue for diagnosis. Br J Dermatol. 2011;165(5):1133-37.

53. Schmidt E, Kasperkiewicz M, Joly P. Pemphigus. Lancet. 2019;394(10201):882-94.

54. Kershenovich R, Hodak E, Mimouni D. Diagnosis and classification of pemphigus and bullous pemphigoid. Autoimmun Rev. 2014;13(4-5):477-81.

55. 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.

56. Kridin K. Pemphigus group: overview, epidemiology, mortality, and comorbidities. Immunol Res. 2018;66(2):255-70.

57. Yayli S, Harman M, Baskan EB, et al. Epidemiology of Pemphigus in Turkey: One-year Prospective Study of 220 Cases. Acta Dermatovenerol Croat. 2017;25(3):181-88.

58. Pollmann R, Schmidt T, Eming R, Hertl M. Pemphigus: a Comprehensive Review on Pathogenesis, Clinical Presentation and Novel Therapeutic Approaches. Clin Rev Allergy Immunol. 2018;54(1):1-25.

59. Tsunoda K, Ota T, Aoki M, et al. Induction of pemphigus phenotype by a mouse monoclonal antibody against the amino-terminal adhesive interface of desmoglein 3. J Immunol. 2003;170(4):2170-78.

60. Mahoney MG, Wang Z, Rothenberger K, Koch PJ, Amagai M, Stanley JR. Explanations for the clinical and microscopic localization of lesions in pemphigus foliaceus and vulgaris. J Clin Invest. 1999;103(4):461-68.

61. Eming R, Hennerici T, Bäcklund J, et al. Pathogenic IgG antibodies against desmoglein 3 in pemphigus vulgaris are regulated by HLA-DRB1*04:02-restricted T cells. J Immunol. 2014;193(9):4391-99.

62. Wu H, Wang ZH, Yan A, et al. Protection against pemphigus foliaceus by desmoglein 3 in neonates. N Engl J Med. 2000;343(1):31-35.

63. Schmidt E, Dähnrich C, Rosemann A, et al. Novel ELISA systems for antibodies to desmoglein 1 and 3: correlation of disease activity with serum autoantibody levels in individual pemphigus patients. Exp Dermatol. 2010;19(5):458-63.

64. Farb RM, Dykes R, Lazarus GS. Anti-epidermal-cell-surface pemphigus antibody detaches viable epidermal cells from culture plates by activation of proteinase. Proc Natl Acad Sci U S A. 1978;75(1):459-63.

65. Ahmed AR, Carrozzo M, Caux F, et al. Monopathogenic vs multipathogenic explanations of pemphigus pathophysiology. Exp Dermatol. 2016;25(11):839-46.

66. Saito M, Stahley SN, Caughman CY, et al. Signaling dependent and independent mechanisms in pemphigus vulgaris blister formation. PLoS One. 2012;7(12):e50696.

67. Harman KE, Gratian MJ, Seed PT, Bhogal BS, Challacombe SJ, Black MM. Diagnosis of pemphigus by ELISA: a critical evaluation of two ELISAs for the detection of antibodies to the major pemphigus antigens, desmoglein 1 and 3. Clin Exp Dermatol. 2000;25(3):236-40.

68. 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. Vol 1, p.586.

69. Kowalski EH, Kneibner D, Kridin K, Amber KT. Serum and blister fluid levels of cytokines and chemokines in pemphigus and bullous pemphigoid. Autoimmun Rev. 2019;18(5):526- 34.

70. Bakker CV, Terra JB, Pas HH, Jonkman MF. Bullous pemphigoid as pruritus in the elderly: a common presentation. JAMA Dermatol. 2013;149(8):950- 53.

71. Feliciani C, Joly P, Jonkman MF, et al. Management of bullous pemphigoid: the European Dermatology Forum consensus in collaboration with the European Academy of Dermatology and Venereology. Br J Dermatol. 2015;172(4):867- 77.

72. Caproni M, Giomi B, Cardinali C, et al. Further support for a role for Th2-like cytokines in blister formation of pemphigus. Clin Immunol. 2001;98(2):264-71.

73. Kittaka H, Tominaga M. The molecular and cellular mechanisms of itch and the involvement of TRP channels in the peripheral sensory nervous system and skin. Allergol Int. 2017;66(1):22-30.

74. Zeidler C, Pereira MP, Huet F, Misery L, Steinbrink K, Ständer S. Pruritus in Autoimmune and Inflammatory Dermatoses. Front Immunol. 2019;10:1303.

75. Yosipovitch G, Rosen JD, Hashimoto T. Itch: From mechanism to (novel) therapeutic approaches. J Allergy Clin Immunol. 2018;142(5):1375-90.

76. Amber KT, Valdebran M, Kridin K, Grando SA. The Role of Eosinophils in Bullous Pemphigoid: A Developing Model of Eosinophil Pathogenicity in Mucocutaneous Disease. Front Med (Lausanne). 2018;5:201.

77. Hashimoto T, Kursewicz CD, Fayne RA, et al. Pathophysiologic mechanisms of itch in bullous pemphigoid [published online ahead of print, 2019 Jul 25]. J Am Acad Dermatol. 2019;S0190-9622(19)32450-8

78. Bağci IS, Ruzicka T. IL-31: A new key player in dermatology and beyond. J Allergy Clin Immunol. 2018;141(3):858-66.

79. Gangemi S, Quartuccio S, Casciaro M, Trapani G, Minciullo PL, Imbalzano E. Interleukin 31 and skin diseases: A systematic review. Allergy Asthma Proc. 2017;38(6):401-08.

80. Zeidler C, Pereira MP, Huet F, Misery L, Steinbrink K, Ständer S. Pruritus in Autoimmune and Inflammatory Dermatoses. Front Immunol. 2019;10:1303.

81. Arai I, Tsuji M, Miyagawa K, Takeda H, Akiyama N, Saito S. Repeated administration of IL-31 upregulates IL-31 receptor A (IL-31RA) in dorsal root ganglia and causes severe itch-associated scratching behaviour in mice. Exp Dermatol. 2015;24(1):75-78.

82. Feld M, Garcia R, Buddenkotte J, et al. The pruritus- and TH2-associated cytokine IL-31 promotes growth of sensory nerves. J Allergy Clin Immunol. 2016;138(2):500- 508.e24.

83. Nocchi L, Roy N, D'Attilia M, et al. Interleukin-31-mediated photoablation of pruritogenic epidermal neurons reduces itch-associated behaviours in mice. Nat Biomed Eng. 2019;3(2):114- 25.

84. Nobbe S, Dziunycz P, Mühleisen B, et al. IL-31 expression by inflammatory cells is preferentially elevated in atopic dermatitis. Acta Derm Venereol. 2012;92(1):24-28.

85. Nattkemper LA, Martinez-Escala ME, Gelman AB, et al. Cutaneous T-cell Lymphoma and Pruritus: The Expression of IL-31 and its Receptors in the Skin. Acta Derm Venereol. 2016;96(7):894-98.

86. Kasraie S, Niebuhr M, Baumert K, Werfel T. Functional effects of interleukin 31 in human primary keratinocytes. Allergy. 2011;66(7):845-52.

87. Hawro T, Saluja R, Weller K, Altrichter S, Metz M, Maurer M. Interleukin-31 does not induce immediate itch in atopic dermatitis patients and healthy controls after skin challenge. Allergy. 2014;69(1):113-117.

88. Raap U, Wichmann K, Bruder M, et al. Correlation of IL-31 serum levels with severity of atopic dermatitis. J Allergy Clin Immunol. 2008;122(2):421- 23.

89. Hartmann K, Wagner N, Rabenhorst A, et al. Serum IL-31 levels are increased in a subset of patients with mastocytosis and correlate with disease severity in adult patients. J Allergy Clin Immunol. 2013;132(1):232-35.

90. Raap U, Wieczorek D, Gehring M, et al. Increased levels of serum IL-31 in chronic spontaneous urticaria. Exp Dermatol. 2010;19(5):464- 66.

91. Narbutt J, Olejniczak I, Sobolewska-Sztychny D, et al. Narrow band ultraviolet B irradiations cause alteration in interleukin-31 serum level in psoriatic patients. Arch Dermatol Res. 2013;305(3):191- 95.

92. Welz-Kubiak K, Kobuszewska A, Reich A. IL-31 is overexpressed in lichen planus but its level does not correlate with pruritus severity. J Immunol Res. 2015;2015:854747.

93. Kim HJ, Zeidi M, Bonciani D, et al. Itch in dermatomyositis: the role of increased skin interleukin-31. Br J Dermatol. 2018;179(3):669- 78.

94. Ko MJ, Peng YS, Chen HY, et al. Interleukin-31 is associated with uremic pruritus in patients receiving hemodialysis. J Am Acad Dermatol. 2014;71(6):1151-59.e1.

95. Liu W, Luo R, Chen Y, et al. Interleukin-31 promotes helper T cell type-2 inflammation in children with allergic rhinitis. Pediatr Res. 2015;77(1-1):20-28.

96. Yu JI, Han WC, Yun KJ, Moon HB, Oh GJ, Chae SC. Identifying Polymorphisms in IL-31 and Their Association with Susceptibility to Asthma. Korean J Pathol. 2012;46(2):162-68.

97. Dambacher J, Beigel F, Seiderer J, et al. Interleukin 31 mediates MAP kinase and STAT1/3 activation in intestinal epithelial cells and its expression is upregulated in inflammatory bowel disease. Gut. 2007;56(9):1257-65.

98. Ferretti E, Tripodo C, Pagnan G, et al. The interleukin (IL)-31/IL-31R axis contributes to tumor growth in human follicular lymphoma. Leukemia. 2015;29(4):958-67.

99. Naumnik W, Naumnik B, Niewiarowska K, Ossolinska M, Chyczewska E. Novel cytokines: IL-27, IL-29, IL-31 and IL-33. Can they be useful in clinical practice at the time diagnosis of lung cancer?. Exp Oncol. 2012;34(4):348-53.

100. Ginaldi L, De Martinis M, Ciccarelli F, et al. Increased levels of interleukin 31 (IL-31) in osteoporosis. BMC Immunol. 2015;16:60.

101. Nocchi L, Roy N, D'Attilia M, et al. Interleukin-31-mediated photoablation of pruritogenic epidermal neurons reduces itch-associated behaviours in mice. Nat Biomed Eng. 2019;3(2):114- 25.

102. Balakirski G, Alkhateeb A, Merk HF, Leverkus M, Megahed M. Successful treatment of bullous pemphigoid with omalizumab as corticosteroid-sparing agent: report of two cases and review of literature. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2016;30(10):1778- 82.

103. Altrichter S, Hawro T, Hänel K, et al. Successful omalizumab treatment in chronic spontaneous urticaria is associated with lowering of serum IL-31 levels. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2016;30(3):454- 55.

104. Rauber MM, Pickert J, Holiangu L, Möbs C, Pfützner W. Omalizumab response correlates with reduced IFN-γ-, IL-10- and IL-31-secreting cells in chronic spontaneous urticaria. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2020;10.1111/jdv.16216.

105. Abdat R, Waldman RA, de Bedout V, et al. Dupilumab as a novel therapy for bullous pemphigoid: A multicenter case series. J Am Acad Dermatol. 2020;83(1):46-52.

106. Cheung PF, Wong CK, Ho AW, Hu S, Chen DP, Lam CW. Activation of human eosinophils and epidermal keratinocytes by Th2 cytokine IL-31: implication for the immunopathogenesis of atopic dermatitis. Int Immunol. 2010;22(6):453-67.

107. Kunsleben N, Rüdrich U, Gehring M, Novak N, Kapp A, Raap U. IL-31 Induces Chemotaxis, Calcium Mobilization, Release of Reactive Oxygen Species, and CCL26 in Eosinophils, Which Are Capable to Release IL-31. J Invest Dermatol. 2015;135(7):1908-11

108. Grimstad O, Sawanobori Y, Vestergaard C, et al. Anti-interleukin-31-antibodies ameliorate scratching behaviour in NC/Nga mice: a model of atopic dermatitis. Exp Dermatol. 2009;18(1):35- 43.

109. Nemoto O, Furue M, Nakagawa H, et al. The first trial of CIM331, a humanized antihuman interleukin-31 receptor A antibody, in healthy volunteers and patients with atopic dermatitis to evaluate safety, tolerability and pharmacokinetics of a single dose in a randomized, double-blind, placebo-controlled study. Br J Dermatol. 2016;174(2):296- 304.

110. Kabashima K, Furue M, Hanifin JM, et al. Nemolizumab in patients with moderate-to-severe atopic dermatitis: Randomized, phase II, long-term extension study. J Allergy Clin Immunol. 2018;142(4):1121- 30.e7.

111. Silverberg JI, Pinter A, Pulka G, et al. Phase 2B randomized study of nemolizumab in adults with moderate-to-severe atopic dermatitis and severe pruritus. J Allergy Clin Immunol. 2020;145(1):173- 82.

112. Ständer S, Yosipovitch G, Legat FJ, et al. Trial of Nemolizumab in Moderate-to-Severe Prurigo Nodularis. N Engl J Med. 2020;382(8):706- 16.

113. Morais KL, Miyamoto D, Orfali RL, et al. Increased expression of in situ IL-31RA and circulating CXCL8 and CCL2 in pemphigus herpetiformis suggests participation of the IL-31 family in the pathogenesis of the disease. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2020;10.1111/jdv.16730.

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı: Ecem Zeliha Ergün

Doğum yeri ve tarihi: 23.06.1989, Salihli

Uyruğu: Türkiye Cumhuriyeti

Medeni durumu: Bekar

İletişim adresi: dr.ecemergun@gmail.com

Telefon: +90 505 499 66 92

Yabancı dili: İngilizce (ileri düzey), Almanca (başlangıç düzeyi)

II- Eğitimi

2007-2013: Hacettepe Üniversitesi Tıp fakültesi (İngilizce)

- Yüksek onur belgesi
-

2003-2007: İzmir Yamanlar Fen Lisesi

- Yüksek onur belgesi
-

1995-2003: Salihli Özel Zuhal İlköğretim Okulu

III- Mesleki Deneyimi

SBÜ Istanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Dermatoloji Asistanı, İstanbul, 12.10.2016'dan itibaren.

Ludwig-Maximilian Üniversitesi Dermatoloji ve Alergoloji Kliniği, Misafir Araştırmacı, Münih/Almanya, 01.09.2019-29.02.2020

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İç Hastalıkları Araştırma Görevlisi, Ankara, 06.2015-10.2016

Bingöl Devlet Hastanesi, Pratisyen Hekim, Bingöl, 2015

IV-Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Türk Dermatoloji Derneği
Deri ve Zührevi Hastalıklar Derneği
European Academy of Dermatology and Venereology (EADV)

V- Bilimsel ilgi alanları:

a) Kongre-kurs katılımı:

17. Uluslararası Biyoloji Olimpiyatları Yaz Okulu, Ekim 2005, Kocaeli Türkiye

17. Uluslararası Biyoloji Olimpiyatları Kış Okulu, Şubat 2006, Muğla Türkiye

18. Uluslararası Biyoloji Olimpiyatları Yaz Okulu, Ekim 2006, Denizli Türkiye

18. Uluslararası Biyoloji Olimpiyatları Kış Okulu, Şubat 2007, Antalya Türkiye

Ulm Üniversitesi Nöroloji Kliniği, 2-29 Ağustos 2010, Ulm Almanya, gözlemci doktor

3. İlaç ve Tedavi Kongresi, Mayıs 2016, Antalya Türkiye

9. Dermatoloji ve Dermatopatoloji Sempozyumu, Şubat 2017, Ankara Türkiye

Dermal dolgu kursu, 26 Şubat 2017, Ankara Türkiye

Botulinum toksin kursu, 25 Şubat 2017, Ankara Türkiye

Dermatoonkoloji Günleri, Deri Kanserleri Okulu, Mart 2018, İstanbul Türkiye

Lazer ve Lazer Dışı Cihaz Uygulamaları, 25 Mart 2018, İstanbul Türkiye

27. Ulusal Dermatoloji Kongresi, 16-20 Ekim 2018, Antalya Türkiye

2018 Cosmetic Surgery Forum, 28 Kasım-1 Aralık 2018, Las Vegas ABD

EADV Kursu: Body Modifications, Ocak 2019, Brüksel Belçika

4. Dermatoloji Beceri Okulu, 23-24 mart 2019, İstanbul Türkiye

10. Dermatoloji Bahar Sempozyumu, 10-12 Nisan 2019, İstanbul Türkiye

Dermal Dolgu ve Botulinum Toksin kursu, 13 Nisan 2019, İstanbul Türkiye

IDEA Kongresi 2019, 24-28 Nisan 2019, İstanbul Türkiye

Dermatopatololoji kursu, 1 Mayıs 2019, Bodrum Türkiye

14. Ege Dermatoloji Günleri, 1-5 Mayıs 2019, Bodrum Türkiye

Dermatoloji ve Kozmetolojide Gelişmeler Kongresi, 22-26 Mayıs 2019, Çeşme Türkiye

24th World Congress of Dermatology, 10-15 June 2019, Milan Italy

28th EADV Congress, 9-13 October 2019, Madrid Spain

30-Year Dermatoscopy, 22-23 Nov 2019, Ludwig-Maximilian University, Munich Germany

Reflectance Confocal Microscopy-Advanced Course, 17-18 Jan 2020, Ludwig-Maximilian University, Munich Germany

b) Ulusal/Uluslararası Makale:

Turhan O., Kibar E., Ekren E., Engin O., Ercan D., I. Erdal, **Ergun E.**, Ertop P., Esen B., Geylan D., Uner S., Bilir N. ‘’Yaşlı Hastalarda İlaç Uyumu: Bir Üniversite Hastanesi Tabanlı Tanımlayıcı Çalışma’’. Nobel Med 2014; 10(2): 31-38, Turkish.

Kara Polat A, Akin Belli A, **Ergun EZ**, et al. Knowledge levels and concerns about oral isotretinoin treatment in the parents of adolescent acne patients. Dermatol Ther. 2020;10.1111/dth.13669.

c) Sözlü Bildirileri:

Ergun E., Aksu E., Yazgan Z., Aygun G., Gurel MS, Leblebici C. ‘’Mycetoma: A Rare and Imported Disease’’. 2018 Cosmetic Surgery Forum, Las Vegas ABD, 27 Kasım-1 Aralık 2018

Erdem O., Gurel MS, Aksu E., Ergun E., Leblebici C. ‘’A Necrobiotic Xanthogranuloma Case Arising in Incision Scars Associated with Monoclonal Gammopathy’’. 2018 Cosmetic Surgery Forum, Las Vegas, United States, ABD, 27 Kasım-1 Aralık 2018

d) Poster Bildirileri:

Ergun E. Aksu E. Karaali M. Polat A. Leblebici C. “Granüloma fasiale: Bir olgu sunumu”, 9. Dermatoloji Bahar Sempozyumu, Antalya Türkiye 12-15.04.2017

Ergun E., Erdemir A., Karaali M., Erdem O., Leblebici C. “Vasculitis Associated with Chronical Lymphoproliferative Disorder: A Case Presentation”. 26th EADV Congress, Geneva Switzerland, 13-17 Sep 2017

Ergun E., Manav V., Ertekin S., Gurel M. S., Leblebici C. ‘’Non Langerhans Hücreli Histiositozların Nadir Bir Alt Tipi: Benign Sefalik Histiositoz’’. 27. Ulusal Dermatoloji Kongresi, Antalya Türkiye, 16-20.10.2018

Sarı Y., Ergun E., Aksu E., Gurel MS, Leblebici, C. ‘’Antifosfolipid Antikor Sednromlu Bir Olgu’’ 27. Ulusal Dermatoloji Kongresi, Antalya Türkiye, 16-20.10.2018

Ergun E., Aksu E., Leblebici C., Gurel MS. ‘’Merkel Cell Carcinoma Mimicking Panniculitis’’. 24th World Congress of Dermatology, 10-15 June 2019, Milan Italy

Ergun E., Aksu E., Leblebici C., Gurel MS. ‘’Sorafenib Induced Linear IgA Bullous Dermatosis’’. 24th World Congress of Dermatology, 10-15 June 2019, Milan Italy

Ergun E., Aksu E., Leblebici C., Gurel MS. ‘’Xanthoma Disseminatum: Histopathology, Dermoscopy and Reflectance Confocal Microscopy Correlation’’ 24th World Congress of Dermatology, 10-15 June 2019, Milan Italy

Bağcı IS, Aoki R., Vladimirova G., Ergün EZ., Sárdy M., Ruzicka T., French L., Hartmann D. ‘’Simultaneous immunofluorescence and histology in pemphigus vulgaris using ex vivo confocal laser scanning microscopy: two diagnostic approaches in a single examination and one tissue sample’’ 49th Annual ESDR Meeting, 18-21 Sep 2019, Bordeaux France

Ergün EZ., Türk CB., Kara Polat A., Aksu E., Gurel MS., Leblebici C. ‘’Radyoterapiye sekonder anjiyosarkom: Bir Olgu sunumu’’ 28. Ulusal Dermatoloji Kongresi, 24-28 Ekim 2019, Antalya Türkiye

Erdem O, Ergün EZ, Erdil D, Koku Aksu AE, Gurel MS, Leblebici C. ‘’Skalp yerleşimli bir verrüköz karsinom olgusu’’A case with verrucose carcinoma on scalp’’ 28. Ulusal Dermatoloji Kongresi, Antalya, 2019

Bağcı IS, Ergün EZ, Aoki R, Krammer S, Vladimirova G, Sárdy, Ruzicka T, French L, Hartmann D. ‘’Ex vivo confocal laser scanning microscopy for bullous pemphigoid diagnostics II: indirect immunofluorescence in two different substrates’’ 47th ADF Meeting 2020, 11-14 March 2020, Berlin Germany

VI- Bilimsel etkinlikleri:

a) Aldığı burslar:

Tıp Fakültesi eğitimi boyunca TÜBİTAK Eğitim Bursu, 2007-2013

Fostering Training Course- Body Modifications, EADV, 5-7 Mayıs 2016

2018 Cosmetic Surgery Forum Katılım ve Seyahat Bursu, 28 Kasım-1 Aralık 2019, Las Vegas ABD

24. Dünya Dermatoloji Kongresi Katılım Bursu 10-15 Haziran 2019, Milano İtalya

Türk Dermatoloji Derneği Uzmanlık Öğrencileri Yurtdışı Eğitim Bursu, Eylül 2019-Şubat 2020, Münih, Almanya

b) Ödüller:

11. TÜBİTAK Ulusal Biyoloji Olimpiyatları, Bronz madalya, Ankara Türkiye, 2005

12. TÜBİTAK Ulusal Biyoloji Olimpiyatları, Altın Madalya, Ankara Türkiye, 2006

17. Uluslararası Biyoloji Olimpiyatları, Gümüş Madalya, Rio Cuarto Arjantin, 2006

18. Uluslararası Biyoloji Olimpiyatları, Gümüş Madalya, Saskatoon Kanada, 2007

EKLER

EK1:TEZ KONUSU ONAM FORMU

Uzmanlık Öğrencisinin Adı Soyadı: **Telefon:** **E-Posta:**	**Ecem Zeliha Ergün** **05054996692** **dr.ecemergun@gmail.com**
Uzmanlık Dalı:	**Dermatoloji**
Eğitim Kurumu:	**SBÜ İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi**
Uzmanlık Eğitimine Başlama Tarihi:	**12.10.2016**
Uzmanlık Eğitimini Bitirme Tarihi:	**12.08.2020**
Program Yöneticisinin Adı Soyadı:	**Doç. Dr Ayşe Esra Koku Aksu**
Tez Danışmanının Adı Soyadı: **Telefon:** **E-Posta:**	**Doç. Dr. Ayşe Esra Koku Aksu / Dr. Işın Sinem Bağcı** **05059126069 / +4915756856250** **esraaksu@gmail.com /** **bagci.isin_sinem@med.uni.muenchen.de**

*Araştırma/Tez Konusu (Study Title) Büllöz Pemfigoid ve Pemfigus Vulgaris Hastalarında İnterlökin-31 ve İnterlökin-31RA Serum Düzeyleri ve Doku Ekspresyonunun Değerlendirilmesi
1-Araştırma Sorusu (Research problem) Büllöz hastalıklar grubunda yer alan iki farklı hastalık olan büllöz pemfigoid ve pemfigus vulgaris hastalığında IL-31 ve IL-31RA düzeyleri açısından anlamlı farklılık var mıdır?
2-Arka Plan ve Gerekçe (Background/rationale) İnterlökin-31, 2004 yılında keşfedilen yeni bir sitokin olup transgenik farelerde kaşıntı ve dermatiti indüklediği gösterilmiştir. (1) Son yıllarda bilimsel ilgi odağı olan bu sitokinin kaşıntı dışında proinflamatuar ve immunmodülatör rollerinin de olduğu bildirilmiştir. Atopik dermatit, allerjik kontakt dermatit ve dermatitis herpetiformis gibi T helper 2 ağırlıklı inflamasyon ile seyreden birçok hastalıkta serum ve doku IL-31 düzeylerinin yüksek olduğu gösterilmiştir. (2,3,4) Büllöz pemfigoid de T helper 2 ağırlıklı inflamasyon ile seyreden bir hastalık olup kliniğinde büller yanında kaşıntı ve egzematizasyon ön plandadır. Histopatolojide dermiste ve bül sıvısında eozinofil üstünlüğü bulunmaktadır. Daha önce büllöz pemfigoid serum, doku ve bül sıvısında IL-31 seviyelerinin arttığı az sayıda

çalışmada gösterilmiş olup IL-31 in büllöz hastalıklar patogenezindeki rolünü açığa kavuşturmak için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. (4, 5, 6)
Pemfigus vulgaris ise mikst T helper 1/T helper 2 inflamasyon paterni göstermektedir. Kliniğinde kaşıntı ve egzematizasyon beklenen bir bulgu değildir. Bunun yanında histopatolojide bül sıvısında ve dermiste seyrek eozinofilik inflamatuar infiltrat gözlenir.
Kliniği önemli derecede farklılık gösteren bu iki hastalığın sitokin paterni daha önce karşılaştırılmış; büllöz pemfigoid deri örneklerinde IL-4, IL-13 ve IL-5 birikimi, pemfigus vulgaris deri örneklerinde ise IL-2, IFN-gama, IL-4 birikimi, IL-5 ve IL-13 yokluğu gösterilmiştir. (7) Bu durum büllöz pemfigoid hastalarında IL-5 in tetiklediği eozinofillerin bül formasyonu patogenezinde rol oynadığını düşündürmüştür.
Daha önce literatürde pemfigus vulgaris hastalarının IL-31 seviyesini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır, çalışmamız pemfigus vulgaris hastalarında T helper 2 ağırlıklı inflamasyonun hastalık patogenezindeki rolüne ışık tutacaktır. Ayrıca IL-31 açısından bu iki hastalığın karşılaştırılması da yapılmamıştır. Çalışmamız bu anlamda da bir ilk olacaktır. Böylece hastalık patogenezlerine katkı sağlanacaktır.

T helper 2 ağırlıklı inflamasyon ile seyreden atopik dermatit hastalığında deri biyopsi örneklerinde IL-31 mRNA ekspresyonun arttığı ve bunun IL-4 ve IL-13 düzeyleri ile korele olduğu gösterilerek IL-31'in kaşıntı patogenezinde rol oynadığı kanıtlanmıştır. IL-31'e karşı geliştirilmiş bir antikor olan nemolizumab ın subkutan olarak atopik dermatit hastalarına uygulanması ile orta-şiddetli atopik dermatit hastalarında kaşıntının anlamlı olarak gerilediği gösterilmiştir. İlacın faz II çalışmaları devam etmekte olup, ilaç şiddetli atopik dermatit tedavisinde umut vadetmektedir. (8)
Büllöz pemfigoid, çoğunlukla yaşlı ve nörolojik hastalıkları olan popülasyonda görülüp güncel yaklaşımda ilk tedavi seçeneği topikal ve oral steroidlerdir. Hastalık şiddetli kaşıntı nedeniyle yaşam kalitesini düşürmektedir. Yaşlı ve düşkün hastaların steroidlerin yan etkilerine normal popülasyona göre daha duyarlı oldukları düşünüldüğünde, büllöz pemfigoid için steroidden kurtarıcı tedavi ajanı ihtiyacı belirgin hale gelmektedir.
Büllöz pemfigoid hastalarının serum IL-31 seviyelerinin sağlıklı kontroller ile karşılaştırıldığı çalışmalarda IL-31 seviyelerinin arttığı gösterilmekle birlikte literatürde çelişkili sonuçlar da bulunmaktadır.(9) Yine büllöz pemfigoid hastalarının bül sıvılarında IL-31 seviyelerinin sağlıklı kontrollere göre arttığı gösterilmiştir.(5) Bu sonuçlar IL-31 i hedefleyen tedavilerin atopik dermatite benzer şekilde büllöz pemfigoidde de yüz güldüren bir tedavi seçeneği olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamız büllöz pemfigoidde yeni tedavi seçenekleri açısından literatüre önemli bir katkı sağlayacaktır.

3-Araştırma amacı (Objectives)

Büllöz pemfigoid ve pemfigus vulgaris hastalıklarının serum ve doku örneklerinde Th-2 ağırlıklı inflamasyonda rol oynayan interlökinler olan IL-31 ve IL-31RA düzeylerini hastalıklar arasında ve sağlıklı gönüllüler ile karşılaştırmak, hastalıkların etiyopatogenezine katkıda bulunmak

4-Hipotez (Hypothesis)

Büllöz pemfigoid genelde yaşlı popülasyonda görülen, derideki BP180 ve BP230

antijenlerine karşı gelişen antikorlar sonrası deri ve mukozalarda egzematize kaşıntılı plaklar ve gergin büllerle karakterize, histopatolojisinde subepidermal bül oluşumu izlenen kronik bir otoimmün büllöz deri hastalığıdır. Pemfigus vulgaris derideki desmoglein 1ve desmoglein 3 antijenlerine karşı gelişen antikorlar nedeniyle deri ve mukozalarda bül ve erozyon oluşumuyla seyreden, histopatolojisinde akantoliz ve intraepidermal büller izlenen kronik bir otoimmün büllöz deri hastalığıdır.
Her iki hastalık da otoimmün büllöz hastalıklar sınıfında yer almakla birlikte klinik ve histopatolojik olarak farklılık göstermektedirler. Büllöz pemfigoid hastalığında bül oluşumundan önce kaşıntılı, egzematize plaklarla seyreden bir dönem bulunurken, pemfigus vulgaris hastalarında kaşıntı beklenen bir bulgu değildir. Büllöz pemfigoidde spongioz ve bül sıvısında yüksek miktarda eozinofil bulunduğu ve hastalığın T-helper 2 ağırlıklı inflamasyon ile geliştiği gösterilmiştir. IL-31 ve IL-31RA T-helper 2 yolağında rol alan interlökinler olup Th2 yolağı ile gelişen diğer hastalıklarda serum ve doku seviyeleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Büllöz pemfigoid hastalarında IL-31 ve IL-31RA seviyelerinin pemfigus vulgaris hastaları ve sağlıklı gönüllülere göre yüksek saptanacağı hipotezi kuruldu.

5-Araştırma türü/tasarım (Study Design)

Retrospektif gözlemsel kesitsel karşılaştırmalı çalışma olarak tasarlandı.

6- Araştırma yeri (Study Setting/ Location)

Toplum tabanlı tek merkezli laboratuvar çalışması olarak tasarlandı.

7- Araştırmaya katılanlar/denekler (Study Population)

Çalışmaya Ludwig-Maximilian Üniversitesi Dermatoloji kliniğine başvuran; klinik, histopatolojik ve immünhistokimyasal olarak büllöz pemfigoid tanısı konan 0-100 yaş arası 10 hasta ve klinik, histopatolojik ve immünhistokimyasal olarak pemfigus vulgaris tanısı konan 0-100 yaş arası 10 hasta; kontrol grubu olarak yaş ve cinsiyeti uyumlu 7 kişilik kontrol grubu alınması planlandı.

Dahil etme kriterleri:

1) Çalışmaya katılmayı kabul etmesi
2) Onam formunu okuması ve yazılı olarak çalışmaya katılacağını bildirmesi
3) Hastanın aktif hastalık döneminde olması
4) Klinik, histopatolojik ve immünhistokimyasal olarak büllöz pemfigoid ve pemfigus vulgaris tanısı almış hastalar
5) Biyopsi öncesi son 3 haftaya kadar oral steroid, son 1 haftaya kadar topikal steroid tedavisi almamış olması

Hariç tutma kriterleri:

1) Son 3 hafta içinde oral steroid, son 1 hafta içinde topikal steroid tedavisi almış olan hastalar
2) Herhangi bir kronik hastalık nedeniyle immünsupresif tedavi alan hastalar
3) IL-31 ile ilişkili olduğu gösterilmiş olan kronik ürtiker, prurigo nodularis, atopik dermatit, alerjik astım, alerjik rinit, alerjik kontakt dermatit, inflamatuar bağırsak hastalığı ve osteoporoz hastalıkları olmayan hastalar

8- Araştırmanın birincil ve ikincil sonuç değişkenleri (Primary and Secondary Outcome)

Araştırmanın birincil sonuç değişkenleri serum IL-31 düzeyi, doku IL-31 ve IL-

31RA ekspresyon düzeyleri, bu düzeyler açısından hastalıklar arasında anlamlı fark olup olmadığı, kontrol grubu ile anlamlı fark olup olmadığıdır.

9- Araştırma Süreçleri (Study procedures)

Araştırma retrospektif gözlemsel kesitsel karşılaştırmalı ve tek merkezli olarak planlanmıştır. Ludwig-Maximilian Üniversitesi Dermatoloji Kliniği'ne başvuran 10 büllöz pemfigoid ve 10 pemfigus vulgaris hastası ve yine Ludwig-Maximilian Üniversitesi Dermatoloji Kliniği'ne başvuran yaş-cinsiyet uyumlu non-inflamatuar bir dermatolojik hastalığı olan (seboreik keratoz, dermal nevüs, benign deri eki tümörleri vb.) 7 kişilik kontrol grubu çalışmaya dahil edilecektir. Klinik, histopatolojik ve immünhistokimyasal olarak büllöz pemfigoid ve pemfigus vulgaris tanısı almış hastalar çalışmaya dahil edilecektir. Sağlıklı gönüllülerin eksizyonel biyopsi materyallerinin non-lezyonel kısımları çalışma için kullanılacaktır.

Laboratuvar ölçümleri Ludwig-Maximilian Üniversitesi Dermatoloji Kliniği'nde yapılacaktır. Serum IL-31 konsantrasyonu ELISA yöntemi ile ölçülecek ve mg/dL şeklinde belirtilecektir. IL-31 seviyesi hastalık-kontrol grubu ve iki hastalık arasında karşılaştırılacaktır.

Doku IL-31 ve IL-31RA düzeylerini saptamak için immünhistokimya yöntemi kullanılacaktır. Hastaların patoloji arşivinde parafine gömülü olarak muhafaza edilen dokuları immünhistokimya için kullanılacaktır.

Doku IL-31 ve IL-31RA ekspresyon düzeyleri hastalık-kontrol grubu ve iki hastalık arasında karşılaştırılacaktır.

10-Örnek büyüklüğü ve istatistiksel güç (Sample size and statistical power)

Daha önce bu konuda başka dermatolojik hastalıklarda yapılmış çalışmaların (*) vaka grubundaki hastaların serum IL-31 düzeylerinin ortalama+ standart sapma değeri ile kontrol grubundaki hastaların serum IL-31 düzeylerinin ortalama+ standart sapma değeri referans kabul edilerek, minimum %80 güç ve maksimim %5 tip 1 hata için çalışmaya alınması gereken minimum örneklem sayısı her bir grup için 10 olarak belirlenmiştir.

* Sonkoly E, Muller A, Lauerma AI, Pivarcsi A, Soto H, Kemeny L, Alenius H, Dieu-Nosjean MC, Meller S, Rieker J, Steinhoff M, Hoffmann TK, Ruzicka T, Zlotnik A, Homey B. IL-31: a new link between T cells and pruritus in atopic skin inflammation. J Allergy Clin Immunol. 2006 Feb;117(2):411-7.
* Kulczycka-Siennicka L[1], Cynkier A[1], Waszczykowska E[1], Woźniacka A[1], Żebrowska A[1]. The Role of Intereukin-31 in Pathogenesis of Itch and Its Intensity in a Course of Bullous Pemphigoid and Dermatitis Herpetiformis. Biomed Res Int. 2017;2017:5965492. doi: 10.1155/2017/5965492.

11- İstatistiksel yöntemler (Statistical methods)

Verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama, standart sapma, medyan en düşük, en yüksek, frekans ve oran değerleri kullanılacaktır. Değişkenlerin dağılımı kolmogorov simirnov test ile ölçülecektir. Nicel bağımsız verilerin analizinde bağımsız örneklem T test kullanılacaktır. Analizlerde Excel for Mac programı kullanılacaktır.

12-Etik Öngörü (Ethical Considerations)

Araştırma Helsinki deklarasyonu, İyi Klinik Uygulama (Good Clinical Practice) ilkelerine

uygunluğu ve denek araştırma etik kuralları ile çelişmemektedir.
13- Anahtar kelimeler (Key words) Pemfigoid, pemfigus, interlökin-31, interlökin-31RA

Tez danışmanı
Kontrol edilmiştir ve uygundur.
İmza

Tez konusu onay formu açıklamalar:

*Araştırma/Tez Konusu (Study Title): Araştırmayı yeterince tanımlayıcı olmalı. Yapılacak çalışmanın tanımlayıcı özellikleri yer almalıdır.

1-Araştırma sorusu (Research problem): Araştırmanın yapılmasına neden olacak soru cümlesi yazılmalıdır. Sorular "neden ve nasıl" içermelidir, hedefe odaklanmış ve özgün olmalıdır. Soru basit bir evet/hayır ile açıklanamamalıdır.

2-Arka Plan ve Gerekçe (Background/rationale): Araştırma sorusuna yönelik özet literatür bilgisi ve bu araştırmanın yapılmasını haklı kılacak gerekçe yazılmalıdır.

3-Araştırma amacı (Objectives): Spesifik amaçlar ve ve hedefler belirlenmelidir. Bunlar tanımlama, karşılaştırma, uyum/benzerlik kontrolü yapmak, ilişkileri açıklamak veya benzeri amaçlar olabilir. Amaçlar bu gibi kelimelerle bitirilmelidir.

4-Hipotez (Hypothesis): Araştırma sorusuna varsayım önermesidir. Araştırmada doğruluğu test edilecektir. Bir varsayım içermeli, probleme çözüm önermeli, deney ve gözlemlere sınanmaya açık olmalı, eldeki verilerle uyumlu ve bunları açıklayıcı olmalıdır. Yeni gerçeklerin ön görüsüne olanak sağlamalıdır.

5-Araştırma türü/tasarım (Study Design): Gözlemsel/deneysel, tanımlayıcı/analitik, vaka serisi/kohort/olgu-kontrol/kesitsel, kontrollü/kontrolsüz, randomize/randomize olmayan, prospektif/retrospektif vb. araştırma türü tanımlanmalıdır.

6- Çalışmanın yeri (Study Setting/ Location): Araştırmanın yapıldığı yer yazılmalıdır. Hastane tabanlı/toplum tabanlı, tek merkez/çok merkez, laboratuvar çalışması gibi.

7-Çalışmaya katılanlar/denekler (Study Population): Üzerinde araştırma yapılacak deney ve kontrol gruplarının özellikleri, nereden bulunacakları, nasıl seçilecekleri belirtilmelidir. Gruplar yapılacaksa grupların eşleştirilme ve seçim kriterlerini belirtiniz. Keza dahil edilme ve hariç tutulma kriterleri yazılmalıdır.

8-Araştırmanın birincil ve ikincil sonuç değişkenleri (Primary and Secendary Outcome): Birincil sonuç değişkeni araştırma sorusuna cevap aranılacak, sonuç göstergesidir/ölçüttür. Bu aynı zamanda örnek/popülasyon büyüklüğü, güç hesabı ve hipotezi test etmede kullanılacaktır. Bir adet veya en fazla iki adet önceden belirlenmiş olmalıdır. Birincil sonuç değişkeni çeşitli şekillerde ölçülebilir. Örnek: iki seçenekli değişken (caesarean/no caesarean, blood loss ≥500mL/blood loss <500mL); sürekli değişken (e.g. weight - kg, blood loss - mL); skor (pain - mild, moderate, severe); olayın ortaya çıkışı (survival), and sayılar (number of infections, number of events occurring). Daha sonra ikincil sonuç değişkenleri yazılmalıdır. İkincil sonuç değişkeni, birincil sonuç değişkenleri içinde gruplanmış unsurlardan biri olabilir ya da tamamlayıcı bilgi sağlayabilecek bir başka değişken olabilir.

9-Araştırma Süreçleri (Study procedures): Araştırmanın nasıl olacağı, aşama aşama belirtilmelidir. Katılımcıların çalışmaya alınma yöntemi, grupların oluşturulması, randomizasyon yapılıp yapılmayacağı, randomizasyon yapılacak ise detaylı açıklaması yazılmalıdır. Katılımcılara/deneklere hangi müdahalelerin, incelemelerin ve testlerin yapılacağı, tam anlaşılır detayda belirtilmelidir. Araştırmanın birincil ve ikincil sonuç değişkenlerini ölçmek için hangi araçların (anket formları, tıbbi cihazlar, göstergeler, skalalar, vb.) kullanılacağı açık bir şekilde belirtilmeli ve bu araçların geçerliliği (validity) hakkında bilgi verilmelidir.

10-Örnek büyüklüğü ve istatistiksel güç (Sample size and statistical power): Araştırmada örnek büyüklüğü hesaplanmalıdır. Örnek büyüklüğü, kabul edilen bir istatistiksel güçte, hipotezin test edilmesi için gerekli asgari sayıdır.

11- İstatistiksel yöntemler (Statistical methods): Araştırma sorusu cevaplandırılmalı, hipotez test edilmeli ve değerlendirmeler için kullanılacak istatistiksel yöntemler belirtilmelidir.

12-Etik Öngörü (Ethical Considerations): Araştırmanın Helsinki deklarasyonu, İyi Klinik Uygulama (Good Clinical Practice) ilkelerine uygunluğu ve denek araştırma etik kuralları ile çelişmeyeceği belirtilmelidir.

13- Anahtar kelimeler (Key words): MesH (Medical Subject Heading) uyumlu olmalıdır. En az 3, en fazla 5 kelimeden oluşmalıdır.

EK2: ETİK KURUL KARARI

EK3: TEZİN ALINTILANMA YÜZDESİ



ÖZET ecem.docx

ORIGINALITY REPORT

2%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

1	jultika.oulu.fi Internet	18 words — < 1%
2	acikerisim.baskent.edu.tr Internet	11 words — < 1%
3	www.journalagent.com Internet	9 words — < 1%
4	acikerisim.selcuk.edu.tr:8080 Internet	9 words — < 1%
5	M. Munera-Campos, J.M. Carrascosa. "Innovación en dermatitis atópica: de la patogenia a la terapéutica", Actas Dermo-Sifiliográficas, 2020 Crossref	8 words — < 1%
6	pdfs.semanticscholar.org Internet	8 words — < 1%
7	trdocs.org Internet	8 words — < 1%
8	www.aott.org.tr Internet	8 words — < 1%
9	"Poster Özetleri / Poster Abstracts", Turkish Journal of Biochemistry, 2015 Crossref	6 words — < 1%