



Pemfigus vulgaris hastalarında serum sitokin düzeylerinin analizi

Analysis of serum cytokine levels in patients with pemphigus vulgaris

Derya Uçmak, Zeynep Meltem Akkurt, Hatice Yüksel*, Mustafa Arıca

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dermatoloji , *Biyokimya Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

Özet

Amaç: Pemfigus vulgaris, otoimmün kökenli, deride bül oluşumuyla seyreden bir deri hastalığıdır. Bu çalışmada pemfigus vulgarisli hastalarda T helper 1 (Th1) ve T helper 2 (Th2) ve T helper 17 (Th17) tiplerindeki sitokinlerin düzeylerini araştırmayı ve sağlıklı kontrollerle karşılaştırmayı hedefledik.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya 37 pemfigus vulgaris hastası ile 35 sağlıklı birey dahil edildi. Hastalar deri ve mukoza tutulum derecesine göre hafif, orta ve şiddetli hastalık olarak üç alt grupta sınıflandırıldı. Serum interlökin (IL) -2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-17A ve interferon (IFN)- γ düzeyleri enzimle-linked immunosorbent assay yöntemiyle ölçüldü. Serum sitokin düzeyleri, hasta alt grupları arasında ve hastalar ile kontroller arasında SPSS 15.0 programı kullanılarak karşılaştırıldı.

Bulgular: Serum IL-2, IL-4, IL-6 düzeyleri pemfigus vulgarisli hastalarda kontrollere göre anlamlı derecede yüksekti (sırasıyla $p<0,001$, $p<0,001$, $p<0,001$). IL-6 düzeyleri hastalık şiddeti ile koreleydi ($r=0,490$, $p=0,003$). Serum sitokin düzeyleri hastalık alt grupları arasında anlamlı değildi.

Sonuç: Çalışmamızda pemfigus vulgariste Th2 sitokinlerdeki artışın ön planda olduğu saptanmıştır. Sonuçlar, Th2 tipindeki sitokin yanıtının pemfigus vulgarisin patogeneğinde önemli rol oynadığını desteklemektedir. (Türkderm 2015; 49: 25-30)

Anahtar Kelimeler: Pemfigus vulgaris, Otoimmün deri hastalığı, Th1 sitokinler, Th2 sitokinleri

Çıkar Çatışması: Yazarlar bu makale ile ilgili olarak herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

Summary

Background and Design: Pemphigus vulgaris (PV) is an autoimmune blistering skin disease. The aim of this study was to compare the levels of T helper 1 (Th1), T helper 2 (Th2) and T helper 17 (Th17) type cytokines in PV patients and healthy controls.

Materials and Methods: The study population included 37 patients with PV and 35 healthy individuals. The patients were grouped into mild, moderate and severe disease groups according to the severity of skin and mucosal involvement. Serum interleukin (IL)-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-17A and interferon (IFN)- γ levels were assessed using the enzyme-linked immunosorbent assay method. Serum cytokine levels were compared between patients and controls and between patient subgroups. Analysis of data was done using SPSS 15.0.

Results: Serum IL-2, IL-4, IL-6 levels were significantly higher in the patient group compared to the control group ($p<0.001$, $p<0.001$, respectively). IL-6 levels were found to be correlated with the severity of disease ($r=0.490$, $p=0.003$). There was no statistically significant difference in serum cytokine levels between the patient subgroups.

Conclusion: Th2 type cytokines were found to be increased in serum of patients with pemphigus vulgaris. These results support that the Th2 cytokine response plays a major role in the etiopathogenesis of pemphigus vulgaris. (Türkderm 2015; 49: 25-30)

Key Words: Pemphigus vulgaris, Autoimmune skin disease, Th1 cytokines, Th2 cytokines

Conflicts of Interest: The authors reported no conflict of interest related to this article.

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Derya Uçmak, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dermatoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye
Tel.: +90 412 248 80 01 E-posta: ucmakderya@gmail.com **Geliş Tarihi/Received:** 05.02.2014 **Kabul Tarihi/Accepted:** 30.04.2014

Giriş

Pemfigus, histolojik olarak epidermal hücrelerin ayrışmasıyla, immünojenik olarak ise epidermal keratinositlerin adezyon moleküllerine otoantikorların bağlanmasıyla karakterize otoimmün büllöz bir dermatozdur¹. Bu hastaların serumlarında ve lezyonel epidermislerinde öncelikli olarak desmoglein (Dsg) 3'e ve bazı olgularda Dsg1'e karşı antikorlar olduğu ispatlanmıştır².

Pemfigusta otoantikorların indüklediği büllerin oluşmasının antikorun kendisinin doğrudan sonucu mu yoksa immün aracılı yolların uyarılmasından mı kaynaklandığı kesinlik kazanmamıştır³. Pemfigus vulgaris (PV) gelişiminde patojenik antikorların üretimi anahtar rol oynamasına rağmen, otoantikor üretiminden önce birçok immünojenik basamak gereklidir⁴.

Kortikosteroidlerin kullanımından önce 1950'lerde PV ölümcül bir hastalıktı. Mortalitesi ilk 2 yılda %50, 5 yılda ise neredeyse %100 civarında idi. Günümüzde ise mortalite oranı %5'in altındadır, ancak uzun dönem immünsupresif kullanımıyla ilişkili olarak morbidite oranı artmıştır⁵. Ayrıca bir kısım hasta da konvansiyonel tedavilere direnç göstermektedir⁶.

PV'nin tedavisinde ilk seçenek olarak bilinen kortikosteroidler hastalığı kontrol altına alma ve idamede oldukça etkili olmalarına rağmen, uzamış ve yüksek dozlarda kullanımları birçok ciddi yan etkileri de beraberinde getirir^{7,8}. Pemfigusta rol oynayan immünojenik hücre ve sitokin ayrıntılı bir şekilde aydınlatılması, hastalığa özgü ve yan etkileri daha az olan farmakolojik ajanların kullanıma girmesini sağlayacaktır⁶. Bu nedenle PV'de daha spesifik tedavi arayışı sürmektedir. Bu da ancak hastalığın etiopatogenezinde rol alan kilit immünojenik basamakların tam olarak aydınlatılmasıyla mümkün olacaktır. Çalışmamızda PV'de hastalığa özgü tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde yol gösterici olması amacıyla T hücrelerinin baskın olduğu bilgisinden yola çıkarak hastalıkta hangi T hücre yolağının baskın olduğunu saptamak istedik. Bu sonuca varmak için serum sitokin düzeylerinin ölçümünün hastalığın seyri hakkında değerli bilgiler verebileceğini düşündük ve sitokin düzeylerini analize etmeyi hedefledik.

Gereç ve Yöntem

Hastalar

Nisan 2012-Ekim 2013 tarihleri arasında bölümümüze başvuran ve klinik, histolojik ve immünojenik olarak PV tanısı konulan hastalar çalışmaya alındı. Histopatolojik kriterler, hematoksilen eozin boyamada akantolizis ve intraepidermal vezikül oluşumu ve direkt immünofloresan boyamada epidermiste keratinosit hücre yüzey antijenine karşı balık ağı tarzındaki IgG birikimi gözlenmesiydi. Çalışmaya 37 PV hastası ile yaş ve cinsiyet yönünden eşleşmiş 35 sağlıklı kontrol alındı. Kontrol grubu için sağlıklı, ailesinde otoimmün ve büllöz hastalığı olmayan ve herhangi bir medikal tedavi almayan kişiler seçildi. Pemfigusun diğer alt tipleri ve gebe hastalar çalışmaya dahil edilmedi. Çalışmaya etik kurul onayı alındıktan sonra başlandı. Tüm katılımcıların bilgilendirilmiş onamları alındı.

Hastalık şiddeti ve serum sitokin düzeyi arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için hastalar tutulum şiddeti ve derecesine göre üç sınıfa ayrıldı. Hafif hastalık sayılan grupta tek başına sınırlı mukozal tutulum ve/veya 10 cm²'den az sayıda deri lezyonunun varlığı, orta şiddetli hastalıkta yaygın mukozal tutulum ve/veya 10-30 cm² arası deri lezyonunun varlığı, şiddetli

hastalık grubunda ise 30 cm²'nin üzerindeki deri lezyonunun varlığı ve/veya şiddetli mukozal tutulum varlığı mevcuttu.

Laboratuvar yöntemleri

Tüm hastalar yeni tanı konmuş PV hastaları olup, kan örnekleri herhangi bir tedavi başlanmadan önce alınmıştır. Tüm katılımcılardan 10 ml venöz kan örneği alındı ve 30 dakika içerisinde 2000 devirde 15 dakika süreyle santrifüj edilerek serum örnekleri ayrıldı. Toplanan serum örnekleri laboratuvar inceleme tarihine kadar -80 °C'de saklandı. Serum IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-12, IFN- γ (Invitrogen, Camarillo, CA), IL-10 (Invitrogen, Frederick, MD, CA) ve IL-17A (Biosource Europe S. A. Belgium) düzeyleri üretici firma protokolleri önerilerine göre enzymlenmiş immunosorbent assay (ELİZA) yöntemi kullanılarak ölçüldü.

İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizler SPSS 15.0 programı kullanılarak yapıldı. Student's t test normal dağılımlı verilerin analizi için kullanılırken, Mann Whitney U test non-normal dağılımlı olan verilerin hesaplanmasında kullanıldı. Korelasyon analizleri Spearman testi ile yapıldı. P<0,05 olan değerler anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Çalışmaya 22 kadın, 15 erkek hastadan oluşmak üzere toplam 37 PV hastası dahil edildi. Hasta grubunun yaş ortalaması 44,81±16,48 (11-80) olarak saptandı. Kontrol grubu ise 19'u kadın 16'sı erkek olmak üzere toplam 35 sağlıklı bireyden oluşmuştu. Kontrol grubunun yaş ortalaması 47,20±20,00 (30-78) olarak tespit edildi. Kadın ve erkek hastalar arasında hastalık şiddeti açısından fark saptanmadı. Hastalık şiddeti ve uygulanan kortikosteroid dozu koreleydi (r=0,450, p=0,005). Hastaların demografik ve klinik özellikleri Tablo 1'de özetlenmiştir. Hastaların ve kontrol grubunun serum sitokin düzeyleri ve p değerleri Tablo 2'de özetlenmiştir. Serum IL-2, IL-4, IL-6 düzeyleri sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede yüksekti (sırasıyla p<0,001, p<0,001, p<0,001) (Şekil 1), (Şekil 2). Hastalık şiddetine göre yapılan sınıflandırmaya göre şiddetli hastalığa sahip olan bireylerde IL-6 düzeyi yüksek saptandı (r=0,351, p=0,033). Düzeyleri yüksek çıkan sitokinlerin hiç biri hastalık şiddetine göre yapılan sınıflandırmaya göre gruplar arasında istatistiksel açıdan farklı değildi.

Tartışma

PV, otoimmün büllöz deri hastalıkları arasında sınıflandırılır. PV etiopatogenezinde Dsg3 ve Dsg1'i hedef alan antikorların varlığına ek olarak aktive CD4+ T hücreleri ve B hücrelerinin varlığı rol oynamaktadır⁶. PV immünoopatogenezinde insan lökosit antijenleriyle ilişkili genetik predispozisyon, desmogleinlerle ilişkili epitop yayılma mekanizması, santral ve periferik T hücre toleransı, patojenik T hücre yanıtları, pro ve antiinflamatuvar sitokinlerin indüksiyonu ve B hücre fonksiyonunun düzenlenmesi gibi kilit noktalar dikkatimizi çekmektedir⁴.

Dsg1/Dsg3'e spesifik antikorların B hücreleri tarafından üretilmesinde spesifik otoreaktif CD4+ T hücrelerin baş rol oynadığı düşünülmektedir⁴. Bu süreçte sitokinler ve kemokinler gibi inflamatuvar mediatörler hücre ve hücre yanıtlarının koordinasyonunda muhtemelen etkili oyuncular⁶. Sitokinler, birçok biyolojik aracılıkta kullanılan düşük molekül ağırlıklı proteinlerdir³. Serum sitokinlerin düzeylerinin ölçümü, PV'de hastalığın seyri hakkında değerli bilgiler verebilir⁹.

Yardımcı T hücrelerin farklılaşmasına göre T helper1 (Th1), T helper2 (Th2) ve son yıllarda keşfedilen T helper17'yi (Th17) de içeren çeşitli

T hücre tipleri ve kendilerine özgü salgıladıkları sitokin profilleri vardır.

Th1 sitokinler IL-2, IL-12, IL-15 ve interferon (IFN)- γ gibi sitokinler yer alır. Bunlar intraselüler virüsler ve tümör hücrelerini yok etmek için hücre aracılı immünitede fonksiyon gösterirler⁶. Th2 hücreler temelde IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 ve IL-13 gibi sitokinleri üretir⁶. Th2 sitokinler immün cevabın hümmoral kolunun uyarılmasında rol alır. Bu yolaktaki B hücrelerinin uyarılması hücre dışı patojenler ve alerjik yanıtla ilişkilidir⁶. Th1 sitokinleri salgılayan T hücreleri, IgG1 üreten B hücreleri uyarma kapasitesine sahipken, Th2 sitokinler, patojenik olan IgG4 salgılayıcı B hücreleri indüklerler¹⁰.

Çalışmamızda IL-2, IL-4 ve IL-6'nın serum seviyeleri hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek saptanmıştır. Ölçülen diğer sitokinlerin düzeylerinin ise hastalarda kontrollere göre anlamlı olarak farklı olmadığı bulunmuştur.

Tablo 1. Hasta ve kontrol grubunun demografik ve klinik özellikleri

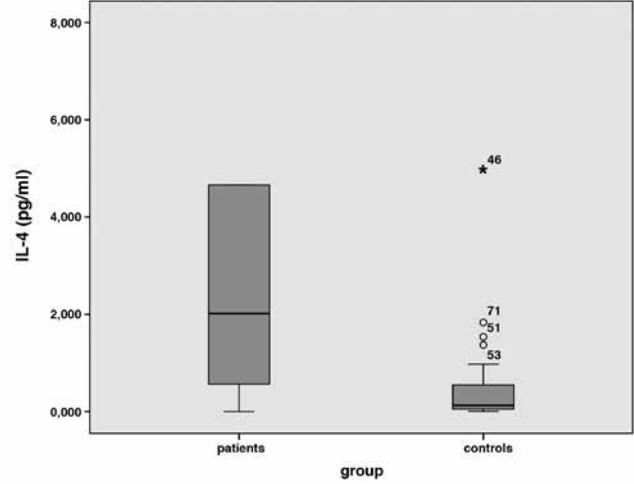
Değişkenler	Hasta grubu
Sayı	37
Yaş	44,81±16,48
Cinsiyet	
Kadın	22/37
Erkek	15/37
Semptom süresi (ay)	23,67±33,8
Hastalık tipi	
Mukozal	9/37
Mukokutanöz	28/37
Hastalık şiddet skorlaması	
Hafif	13/37
Orta	16/37
Şiddetli	8/37
Steroid dozu	
1 mg/kg	29/37
1-2 mg/kg	8/37
Adjuvan tedavi	
Azatiopürin	37/37
IVIg	4/37

Tablo 2. Çalışma gruplarının sitokin düzeylerinin ortalama değerleri (Ortalama ± SD, pg/mL)

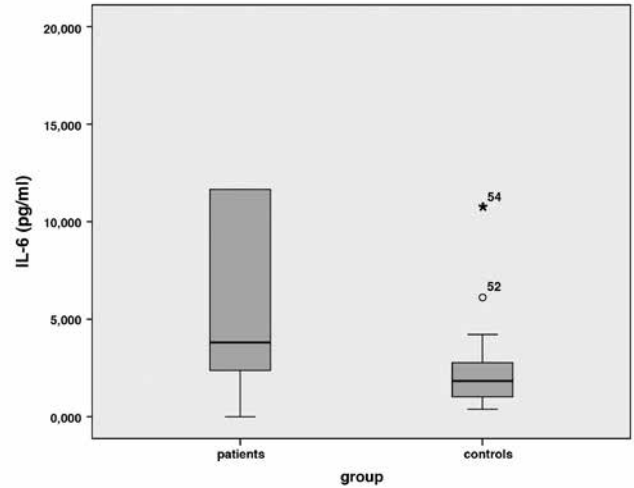
Sitokin	PV ortalama ± standart Sapma	Kontrol ortalama ± standart sapma	p
IL-2	11,53±3,52	10,60±10,95	p<0,001
IL-4	18,27±36,28	2,18 ±8,21	p<0,001
IL-6	23,70±38,91	2,23±1,94	p<0,001
IL-8	132,22±355,22	56,69±75,72	p= 0,106
IL-10	4,11±20,25	0,86±0,25	p=0,157
IL-12	44,04±38,56	61,31±49,53	p=0,067
IL-17A	46,37±40,88	46,37±40,88	p=0,358
IFN- γ	5,26±2,14	5,26±2,14	p=0,370

PV: Pemfigus vulgaris, IFN: interferon, p<0,05 anlamlı

Th2 sitokinler kendi üretimlerini uyarırlar ve daha sonra B hücrelerini aktive eder ve Dsg3'e özgü otoreaktif plazma hücrelerine farklılaşma süreci başlar. Plazma hücreleri anti-Dsg3/1 antikorlarını üretir. Bu aşamadan sonra epidermis ve mukozal membranlarda desmozomlara



Şekil 1. Hasta ve kontrol grubunun serum IL-4 düzeylerinin karşılaştırılması



Şekil 2. Hasta ve kontrol grubunun serum IL-6 düzeylerinin karşılaştırılması

bağlanma süreci başlar ve sonra da bül oluşumuyla sonuçlanan akantolizis meydana gelir⁶.

PV patogenezinde temel bir sitokin olan IL-4'ün varlığında naive T hücreler Th2 alt tipine farklılaşmaya başlarlar⁶. Dsg3'e özgü otoreaktif T hücreler IL-4 sekresyonuyla B hücreleri aktive ederler. Yapılan çalışmalarda pemfiguslu hastalarda patojenik T hücre serisi tarafından üretilen IL-4'ün yüksekliği gösterilmiştir¹¹. Çalışmamızda da PV patogenezinde Th2 alt tipine farklılaşma basamağında etkili ana sitokin olan IL-4 düzeyini yüksekliğini elde ettik.

Yaptığımız literatür taramasında PV üzerinde en çok çalışma ve yorum yapılan sitokinin IL-6 olduğunu fark ettik. IL-6, değişik temel biyolojik aktivitelere sahip pleiotropik proinflamatuvar bir sitokindir. PV ve sitokin düzeyi ile yapılan ilk çalışma Aurira ve ark. tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada IL-6 düzeyinin belirgin yüksekliği saptanmıştır. Saptanan bu yüksekliğin de hastalığın şiddetiyle korele olduğu anlaşılmıştır¹². Benzer şekilde bül sıvısı içeriğinin de IL-6 düzeylerinin yüksek olduğu gösteren çalışma vardır¹³. Sonradan yapılan çalışmalarda da PV'li hastalarda kontrollere göre yüksek IL-6 yüksekliği tespit edilmiştir^{9,14-16}. Th1 yolağının güçlü indükleyicisi olan IL-6'nın hastalarımızda yüksek çıkmasını bekliyorduk ayrıca düzeyi yüksek saptanan IL-6'nın hastalık şiddeti ile korele olduğunu gözlemledik.

IL-8, nötrofil aktive eden faktör olarak bilinen majör bir sitokindir. IL-8'in pemfigustaki düzeyi ile yapılmış değişik çalışma sonuçları vardır. Çalışmaların bazılarında IL-8 serum düzeylerinde yükseklik saptanmıştır^{15,16}. Buna zıt olarak bazı çalışmalarda da kontrollere göre hiçbir farklılık saptanmamıştır^{9,12}. Bizim çalışmamızda da IL-8 düzeyinde hasta ve kontrol grubunda herhangi bir farklılık tespit etmeyerek sonucu IL8'i Th2 yolağında anılan bir sitokin olmamasına bağladık.

IL-10, B hücre büyüme ve farklılaşmasının değişik evrelerinde görev alan bir sitokindir. Daha önce yapılmış bir çalışmada da bizim sonuçlarımıza benzer şekilde IL-10 düzeyi hasta ve kontrollerde farklı çıkmamıştı¹². IL-10'un PV'li hastalarda yüksek çıktığına dair çalışmalar mevcuttur^{10,17-19}. IL-10, düzeyinin PV'li hastalarımızda kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmasa da yüksek olduğunu saptadık.

IFN- γ ile ilgili yapılmış çok fazla literatür çalışması olmamakla beraber PV'li hastalarla kontrol grubu arasında fark olmadığı saptandı^{12,16,19}. Bizim hastalarımızda da fark yoktu. IL-12'nin de önceki yayınlarda hasta ve kontroller arasında düzeyinin farklı olmadığı saptanmıştır^{12,15}. Çalışmamızda da düzeyinin aynı kaldığını saptadık. Her iki sitokinde Th1 yolağına ait bir sitokin olduğu için pemfigus hastalarında yüksek olması beklenmemektedir.

Th1 sitokinlerden olan IL-2, T lenfositlerin ana aktivatörlerinden biridir. Bu artış bül sıvısında çok belirgin olup, PV'li hastaların deri lezyonlarındaki aktive T lenfositlerin varlığını destekler²⁰. Fakat yapılan bazı çalışmalarda IL-2 düzeyinin bizim çalışmamızın sonuçlarına benzer şekilde PV'li olgularda yüksek olduğu saptanmıştır. Bu yüksekliğin nedenini de IL-2'nin T hücre alt gruplarına nonspesifik bir büyüme faktörü olarak fonksiyon görmesiyle açıklanmıştır^{21,22}. Biz de bu sitokinin tüm yollarda artabilecek olan büyüme faktörü özelliğine sahip olabileceğini yorumladık.

Th1 ve Th2'den farklı olarak Th17 hücrelerinin önemi son yıllarda ortaya çıkmıştır. PV ile ilgili bu immün mekanizma ile ilgili bilgilerimiz sınırlıdır ve yapılmış çok az sayıda çalışma mevcuttur. Th17'nin Th1 ya da Th2 alt grupları ile beraber çalışıp çalışmadığı tam olarak bilinmemektedir⁶. Th17'den salınan IL-17A; multipl proinflamatuvar mediatörleri etkileyerek etkisini gösteren bir sitokindir¹⁰. Th17 hücre aracılı inflamasyonla ilişkili olarak otoimmün büllöz hastalıklar arasında büllöz pemfigoid ile

ilişkisinin daha güçlü olduğuna dair kanıtlar mevcuttur^{23,24}. Yaptığımız literatür taramalarında Th17 hücrelerden salınan IL-17A'nın PV ile ilişkisini araştıran çok fazla çalışmaya rastlamadık. Bununla birlikte PV ile ilgili ilk çalışmayı Arakawa ve ark. 2009 yılında yapmışlardır. PV ve pemfigus foliaceuslu hastaların lezyon derilerinde Th17 hücrelerinin varlığını göstermişlerdir²⁵. Bizim çalışmamızda hastaların serum IL-17A düzeylerinde kontrollere göre anlamlı fark olmadığını saptayarak PV patogenezinde Th17 yolağının aktivitesini gösteremedik.

Sonuç olarak, PV'nin Th2 tipteki sitokinlerdeki artış pek çok çalışmada gözlenmiştir. Bu sonuçlar PV'nin Th2 aracılı bir hastalık olduğunu düşündürmüştür. Bizim hastalarımızda da Th2 aracılı sitokinlerin yüksek bulunduğu saptanmıştır. Farklı olarak genel sitokin olan IL-2'nin Th2 yolağına ait olmasa da yükselmiş olduğunu gözlemledik. Th17 yolağında düzeyi artan sitokin olan IL-17A'nın düşündüğümüzün aksine PV patogeneziyle ilişkili olmadığını saptadık.

PV tedavisinde kritik nokta otoantikor sentezini baskılamaktır. Ancak günümüzde sadece desmoglein otoantikorlarını baskılayacak herhangi bir tedavi yaklaşımı yoktur. Bu yüzden hastalığın tedavisi nonspesifik immüno-supresyon üzerine kurulmuştur⁵. Steroid tedavisi birçok yan etkileri de beraberinde getirir. PV'de kullanılan steroidlere bağlı yan etkiyi azaltmak amacıyla hastalara adjuvan tedavi önerilmektedir. Pemfigusta çok sayıda adjuvan tedavi seçeneği vardır²⁶. En sık kullanılan immüno-supresif ajanlar T ve B lenfositlerin proliferasyonunu inhibe ederek etki ederler. Bunlardan metotreksat dihidrofolat redüktaz enzimine etki ederken azatiyoprin ve mikofenolat mofetil pürin sentezini inhibe eder, siklofosamid ise alkilleyici bir immüno-supresiftir²⁶⁻²⁹.

Pemfigusun tedavisinde kullanılan IVIG, serum IL-1 düzeylerini azaltarak etki gösterir. IVIG tedavisiyle serum IL-1 β , IL-6, IL-8, IFN- γ ve TNF- α düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir¹⁵. Dsg3'e karşı oluşan dolaşan IgG otoantikor düzeyinin kaldırılması mantığına dayanan IVIG ve plazmafereze ek olarak son yıllarda kullanılan immünoadsorbsiyon yöntemi PV klinik aktivitesini hızlı bir şekilde düzeltmiştir^{30,31}.

Günümüzde pemfigusun tedavisinde sitokin kaynaklı tedaviler popüler hale gelmiştir. TNF- α pemfigus vulgariste yüksekliği bilinen ve hastalığın şiddetiyle korele olan bir sitokindir¹². Bu sitokinin serum düzeylerinin glukokortikoid dirençli hastalarda yükseldiği bilinmektedir³². PV tedavisinde TNF- α blokajı (etanercept, infliximab) yapan ajanların tam veya parsiyel remisyon üzerinde etkisi birçok çalışmada gösterilmiştir^{33,34}. Fakat son yayınlarda dirençli PV tedavisinde etkinliği olmadığı gösterilmiştir³⁵. Ritüksimab tedavisinin etkinliğinin gösterilmesinden sonra çok kullanılmayan bir ajan haline gelmiştir.

Ritüksimab, patojenik otoantikor yanıtının düzenlenmesinde kritik bir rol oynar. Anti-CD20 monoklonal antikor olan ritüksimab hem otoreaktif B hücre sayısını azaltır hem de pemfigus patogenezinde önemli olan Dsg3 spesifik CD4+Th hücrelerin sayısını azaltır³⁶. Pemfigusun tedavisi için ritüksimab alan hastaların değerlendirildiği bir çalışmada hastaların T hücre fonksiyonunda belirgin bir azalma gözlenmesinin de otoreaktif T hücreleri ve B hücrelerinin uygun bir etkileşim içinde olduğunu göstermektedir³⁶.

PV'de yeni sitokin patenlerinin tanımlanmasının potansiyel terapötik seçimlere ışık tutacağı düşünülmektedir⁶. Yapılan çalışmalara bakıldığında Th2 lenfosit alt grubunun hakim olduğu IL-4 yüksekliğiyle seyreden astım gibi alerjik kökenli hastalıklarda monoklonal anti IL-4 antikor tedavisi ve IL-4 reseptör tedavisi ile başarılı sonuçlar elde edildiği gözlenmiştir^{37,38}.

IL-4 reseptör antagonisti olan soluble IL-4R α adenoviral ekspresyonunun, IgG antikor üretimini baskıladığı gösterilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları anti-IL-4 biyolojiklerinin PV tedavisinde geçerli terapötik hedef olabileceğini göstermektedir¹¹. Biz de çalışmamızda IL-4 yüksekliğini saptadık ve PV için potansiyel belirteç olduğunu düşünerek IL-4 reseptör blokajına yönelik tedavi verilmesini düşünmekteyiz.

IL-6'yı hedefleyen moleküler tedavilerin terapötik olarak etkili olduğu romatoid artrit, Castleman hastalığı, juvenil idiyopatik artrit ve Crohn hastalığı gibi birçok inflamatuvar hastalıkta gösterilmiştir³⁹. IL-6 yüksekliği ile giden bu hastalıklarda tedavide anti IL-6 R çalışmaları yapılmaktadır. IL-6 reseptör antikorları olan tocilizumab, klinik kullanım için onay almıştır³. IL-6 yüksekliği gözlenen romatoid artritte kullanılmasıyla belirgin düzelleme sağlanmıştır^{3,40}. Pemfiguslu hastalarda uygulan tedavilerle serum IL-6 düzeylerinde de belirgin azalma bildirilmiştir⁹. Biz de PV'li hastalarda IL-6'yı hedef alan ajanların yararlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Anti CD-25 antikorları olan Daclizumab'ın diğer tedavilere dirençli PV'li hastalarda başarılı bir şekilde kullanıldığı bildirilmiştir⁴¹. Daclizumab; IL-2 bağlanma düzeyinde siklosporin, takrolimus ve sirolimus gibi kalsinörin inhibitörlerine benzer şekilde T hücre fonksiyonu üzerinden etki gösterir⁴².

Makrofaj migratuvar inhibitör (MIF) faktör glukokortikoid bağımlı antiinflamatuvar etkilerin inhibitörü olmasının yanısıra proinflamatuvar bir kemokindir. PV'li hastalarda düzeyinin yüksek bulunduğu bildirilmiştir⁴³. MIF inhibitörlerinin de steroid sparing ajan olarak kullanılabilirliği öne sürülmüştür⁴.

Pemfigus tedavisinde sistemik kortikosteroidler ve diğer immünsupresifler etkili olmakla birlikte bu tedavilerle hem yan etkilerin arttığı gözlenmiştir hem de bir kısım hastada konvansiyonel tedavilere direnç gözlenmiştir^{6,27}. Bu nedenle hastalıkta kilit rol oynayan inflamatuvar mediatörleri hedefleyen daha özgül tedaviler geliştirilmelidir. Bu yaklaşım hem tedavi başarısını arttıracaktır hem de takip süresinde karşılaşacağımız yan etki oranını düşürecektir. Bu açıdan bakıldığında çalışmaya aldığımız hastalarımızda IL-4 ve IL-6'yı hastalık aktivitesinin potansiyel belirteçleri olarak yorumladık. Bu sitokinlerin baskılanmasına yönelik planlanacak olan tedavilerle hızlı ve etkili yanıtlar alınabileceğini düşünmekteyiz. Bize göre PV patogenezinde rol alan T hücre alt tipleri ve bu hücrelerin ürettiği sitokin yolları daha da ayrıntılandırıldıkça hastalığın tedavisinde önemli adımlar atılmış olacaktır.

Sonuç olarak çalışmamız; PV'li hastaların serum Th1, Th2 ve Th17 yollarına ait sitokinlerini araştıran yurtdışından bildirilen ilk çalışmadır. Çalışmamızda IL-2, IL-4 ve IL-6'nın serum seviyeleri hasta grubunda daha yüksek saptanarak Th2 sitokinlerindeki artışın ön planda olduğu tespit edilmiştir. Fakat çalışmamızın bir kısıtlılığı, hastalarımızda remisyondan sonra serum sitokin düzeylerinin çalışılmamış olmasıydı. PV'deki serum sitokin dağılımlarının anlaşılması için çok sayıda hastanın dahil edildiği ve takip ölçümleri yapılacak olan daha kapsamlı çalışmalar gereklidir. PV'de serum sitokin profilinin aydınlatılması, hem tanı anında kötü prognoz veya dirençin ön görülmesine, hem de sitokinleri hedefleyen spesifik tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine katkıda bulunacaktır.

Teşekkür

Bu proje üniversitemiz bilimsel araştırmalar proje fonu tarafından desteklenmiştir.

Kaynaklar

1. Uzun S, Durdu M, Akman A, et al: Pemphigus in the Mediterranean region of Turkey: a study of 148 cases. *Int J Dermatol* 2006;45:523-8.
2. Kitajima Y, Aoyama Y: A perspective of pemphigus from bedside and laboratory-bench. *Clin Rev Allergy Immunol* 2007;33:57-66.
3. Ludwig RJ, Schmidt E: Cytokines in autoimmune bullous skin disease. Epiphenomena or contribution to pathogenesis? *G Ital Dermatol Venerol* 2009;44:339-49.
4. Amber KT, Staropoli P, Shiman MI, Elgart GW, Hertl M: Autoreactive T cells in the immune pathogenesis of pemphigus vulgaris. *Exp Dermatol* 2013;22:699-704.
5. Mimouni D, Anhalt GJ: Pemphigus. *Dermatologic Therapy* 2002;15:362-68.
6. Giordano CN, Sinha AA: Cytokine networks in Pemphigus vulgaris: An integrated viewpoint. *Autoimmunity* 2012;45:427-39.
7. Uçmak D, Harman M, Uçmak F, Akpolat V: The frequency of osteoporosis in patients with pemphigus vulgaris on treatment. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2013;79:211-5.
8. Uzun S: Pemfigus: Klinik deneyimlerimiz ve dirençli olgularda tedavi seçenekleri. *Türkderm* 2008;42:10-2.
9. Mortazavi H, Babaeijandaghi F, Akbarzadeh M, et al: The influence of systemic therapy on the serum levels of IL-6 and IL-8 in pemphigus vulgaris. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2013;27:387-90.
10. Satyam A, Khandpur S, Sharma VK, Sharma A: Involvement of T(H)1/T(H)2 cytokines in the pathogenesis of autoimmune skin disease-Pemphigus vulgaris. *Immunol Invest* 2009;38:498-509.
11. Chiricozzi A, Zhang S, Dattola A, et al: New insights into the pathogenesis of cutaneous autoimmune disorders. *J Biol Regul Homeost Agents* 2012;26:165-70.
12. D'Auria L, Bonifati C, Mussi A, et al: Cytokines in the sera of patients with pemphigus vulgaris: interleukin-6 and tumour necrosis factor-alpha levels are significantly increased as compared to healthy subjects and correlate with disease activity. *Eur Cytokine Netw* 1997;8:383-7.
13. Alecu M, Alecu S, Coman G, Galatescu E, Ursaciuc C: ICAM-1, ELAM-1, TNF-alpha and IL-6 in serum and blister liquid of pemphigus vulgaris patients. *Roum Arch Microbiol Immunol* 1999;58:121-30.
14. Narbutt J, Lukamowicz J, Bogaczewicz J, et al: Serum concentration of interleukin-6 is increased both in active and remission stages of pemphigus vulgaris. *Mediators Inflamm* 2008;2008:875394.
15. Keskin D, Stern J, Fridkis-Hareli M, Razzaque Ahmed A: Cytokine profiles in pemphigus vulgaris patients treated with intravenous immunoglobulins as compared to conventional immunosuppressive therapy. *Cytokine* 2008;41:315-21.
16. Stern J, Keskin D, Barteneva N, et al: Possible role of natural killer cells in pemphigus vulgaris-preliminary observations. *Clin Exp Immunol* 2008;152:472-81.
17. Rizzo C, Fotino M, Zhang Y, et al: Direct characterization of human T cells in pemphigus vulgaris reveals elevated autoantigen-specific Th2 activity in association with active disease. *Clin Exp Dermatol* 2005;30:535-40.
18. Bhol KC, Rojas AI, Khan IU, Ahmed AR: Presence of interleukin 10 in the serum and blister fluid of patients with pemphigus vulgaris and pemphigoid. *Cytokine* 2000;12:1076-83.
19. Takahashi H, Amagai M, Nishikawa T, et al: Novel system evaluating in vivo pathogenicity of desmoglein 3-reactive T cell clones using murine pemphigus vulgaris. *J Immunol* 2008;181:1526-35.
20. Walter H, Schepens S, van Wauwe J, de Boer M: Ligation of CD28 on resting T cells by its ligand B7 results in the induction of both Th1- and Th2-type cytokines. *Eur Cytokine Network* 1994;5:13-21.
21. Rico MJ, Benning C, Weingart ES, Streilein RD, Hall RP: Characterization of skin cytokines in bullous pemphigoid and pemphigus vulgaris. *Br J Dermatol* 1999;140:1079-86.
22. Williams TM, Fox KR, Kant JA: Interleukin-2: basic biology and therapeutic use. *Hematol Pathol* 1991;5:45-55.
23. Arakawa M, Dainichi T, Ishii N, et al: Lesional Th17 cells and regulatory T cells in bullous pemphigoid. *Exp Dermatol* 2011;20:1022-4.
24. Zebrowska A, Wagrowska-Danilewicz M, Danilewicz M, et al: IL-17 expression in dermatitis herpetiformis and bullous pemphigoid. *Mediators Inflamm*. 2013;2013:967987.
25. Arakawa M, Dainichi T, Yasumoto S, Hashimoto T: Lesional Th17 cells in pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus. *J Dermatol Sci* 2009;53:228-31.
26. Toth GG, Jonkman MF: Therapy of pemphigus. *Clin Dermatol* 2001;19:761-7.

27. Harman KE, Albert S, Black MM: British Association of Dermatologists. Guidelines for the management of pemphigus vulgaris. *Br J Dermatol* 2003;149:926-37.
28. Mimouni D, Nousari HC: Inhibitors of purine and pyrimidine synthesis: mycophenolate, azathioprine and leflunomide. *Dermatologic Therapy* 2002;15:311-6.
29. Uzun S: Pemfigusun Güncel Tedavisi ve Yönetimi. *Turk J Dermatol* 2012;6:91-101.
30. Amagai M, Ikeda S, Shimizu H, et al: A randomized double-blind trial of intravenous immunoglobulin for pemphigus. *J Am Acad Dermatol* 2009;60:595-603.
31. Behzad M, Möbs C, Kneisel A, et al: Combined treatment with immunoadsorption and rituximab leads to fast and prolonged clinical remission in difficult-to-treat pemphigus vulgaris. *Br J Dermatol* 2012;166:844-52.
32. Chriguier RS, Roselino AM, de Castro M: Glucocorticoid sensitivity and proinflammatory cytokines pattern in pemphigus. *J Clin Immunol* 2012;32:786-93.
33. Fiorentino D F, Garcia M S, Rehmus W, et al. A pilot study of etanercept treatment for pemphigus vulgaris *Arch Dermatol* 2011;147:117-8.
34. Pardo J, Mercader P, Mahiques L, et al: Infliximab in the management of severe pemphigus vulgaris. *Br J Dermatol* 2005;153:222-3.
35. García-Rabasco A, Alsina-Gibert M, Pau-Charles I, Iranzo P: Infliximab therapy failure in two patients with pemphigus vulgaris. *J Am Acad Dermatol* 2012;67:196-7.
36. Eming R, Nagel A, Wolff-Franke S, et al: Rituximab exerts a dual effect in pemphigus vulgaris. *J Invest Dermatol* 2008;128:2850-8.
37. Hart TK, Blackburn MN, Brigham-Burke M, et al: Preclinical efficacy and safety of pascolizumab (SB 240683): a humanized anti-interleukin-4 antibody with therapeutic potential in asthma. *Clin Exp Immunol* 2002;130:93-100.
38. Borish LC, Nelson HS, Lanz MJ, et al: Interleukin-4 receptor in moderate atopic asthma. A phase I/II randomized, placebocontrolled trial. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:1816-23.
39. Nishimoto N, Kishimoto T: Inhibition of IL-6 for the treatment of inflammatory diseases. *Curr Opin Pharmacol* 2004;4:386-91.
40. Choy EH, Isenberg DA, Garrood T, et al: Therapeutic benefit of blocking interleukin-6 activity with an anti-interleukin-6 receptor monoclonal antibody in rheumatoid arthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation trial. *Arthritis Rheum* 2002;46:3143-50.
41. Renkl A, Mockenhaupt M, Technau K, et al: A novel therapeutic option in pemphigus vulgaris: humanized monoclonal anti-CD25 antibody. *Br J Dermatol* 2004;150:1220-2.
42. Prussick R, Plott R T, Stanley J R: Recurrence of pemphigus vulgaris associated with interleukin 2 therapy. *Arch Dermatol* 1994;130:890-3.
43. Namazi MR, Fallahzadeh MK, Shaghelani H, Kamali-Sarvestani E: Marked elevation of serum macrophage migration inhibitory factor levels in patients with pemphigus vulgaris. *Int J Dermatol* 2010;49:146-8.