



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**PEMFİGUS VULGARİS HASTALIĞINDA
FCGR2B ve *HLA-DRB1* GENİ
VARYANTLARININ HASTALIĞA ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Burak Kaan KASAP

DOKTORATEZİ

Dr. Öğr. Üyesi Bayram TORAMAN

TRABZON-2025

BEYAN

Bu tez çalışmasının Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun olarak hazırlanarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kullanılan kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Burak Kaan KASAP

İthaf

Doktora tezimi, baba diye seslenmesini beklediğim canım oğluma, umutlarıma ve hayallerime ithaf ediyorum.



TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini büyük bir içtenlikle benimle paylaşan, her sorununda kapısını tereddütsüz çalabildiğim, fikirleriyle ufkumu genişleten, yol göstericiliğiyle araştırma sürecime değer katan ve mesleki gelişimime önemli katkılar sunan kıymetli danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Bayram TORAMAN'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, desteğini her zaman hissettiğim Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı hocalarım Prof. Dr. Ersan KALAY, Prof. Dr. Figen CELEP EYÜBOĞLU, Doç. Dr. Tuba DİNÇER ve Dr. Öğr. Üyesi Gökhan YILDIZ'a teşekkür ederim. Ayrıca tez izleme komitemde yer alarak katkı sunan Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Deniz AKSU ARICA'ya da teşekkür ederim.

Bu zorlu süreçte, bana her daim inanan ve destek olan aileme, varlığıyla gücümü artıran, sabrıyla yanımda olan sevgili eşim Dr. Öğr. Üyesi Ayşegül KURT KASAP'a sonsuz teşekkür ederim.

Her zaman yardımını ve dostluğunu esirgemeyen Arş. Gör. Dr. İdris ER'e ve birlikte bu süreci paylaştığımız tüm değerli bölüm arkadaşlarıma da teşekkür ederim.

Ayrıca, bu doktora sürecinde bana maddi destek sağlayan Yükseköğretim Kurulu'nun 100/2000 Doktora Burs Programı'na ve tezimin yürütülmesinde katkı sunan TDI-2022-10157 numaralı Disiplinler Arası İş Birliği Projesi (BAP11) proje aracılığıyla destek veren Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne de teşekkür ederim.

Burak Kaan KASAP

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY	
BEYAN	
İthaf	
TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
RESİMLER DİZİNİ	x
KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ	xi
ÖZET	xiv
ABSTRACT	xv
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Pemfigus	3
2.2. Pemfigus Vulgaris	3
2.2.1. Klinik Özellikleri ve Tanı Kriterleri	3
2.3. PatogeneZ	5
2.3.1. Desmogleinlerin Rolü	5
2.3.2. Desmoglein Kompanzasyon Teorisi	9
2.3.3. Otoimmün Mekanizmalar	10
2.3.3.1 İmmün Sistem (Bağışıklık)	10
2.3.3.2 Otoimmünite ve Otoimmün Hastalıklar	12
2.3.4 Terapötik Yaklaşımlar	13
2.4. Genetik Yatkınlık	14
2.4.1. Human Leukocyte Antigen (HLA)	15
2.4.2. <i>HLA-DRB1</i> Geni, Yapısı ve İmmünolojik Rolü	16
2.4.3. <i>FCGR2B</i> Geninin Yapısı ve İşlevi	19
3. GEREÇ ve YÖNTEM	27
3.1. Gereç	27
3.1.1. Çalışma Grubu	27

3.1.2. Kimyasallar	28
3.1.3. Kitler ve Enzimler	28
3.1.4. Diğer Sarf Malzemeler	28
3.1.5. Cihazlar	29
3.1.6. Solüsyonlar	30
3.1.6.1. DNA İzolasyonu Solüsyonları	30
3.1.6.2. Agaroz Jel Elektroforezinde Kullanılan Solüsyonlar	32
3.2. Yöntem	33
3.2.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu	33
3.2.2. DNA Konsantrasyonlarının ve Çalışma Solüsyonlarının Ayarlanması	33
3.2.3. DNA Varyasyon Analizi	34
3.2.3.1. <i>FCGR2B</i> geni için Ekzon 5 PCR primerlerinin tasarımı	34
3.2.3.2. <i>FCGR2B</i> Geni Üzerinde Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	34
3.2.3.3. PCR Ürünlerinin Temizlenmesi	36
3.2.3.4. Döngüsel Dizileme Reaksiyonu (Cycle Sequencing)	36
3.2.4. <i>HLA-DRB1</i> Geninin PCR-SSOP-Luminex Yöntemiyle Belirlenmesi	37
3.2.5. Biyoistatistiksel Analiz	38
4. BULGULAR	39
4.1. <i>FCGR2B</i> Geni c.671T>C SNP Varyantının Moleküler Genotiplendirmesi	39
4.1.1 c.671T>C Varyantı için Yapılan Allel ve Genotip Test İstatistikleri	43
4.2. <i>HLA-DRB1</i> Genotip Dağılımı	44
4.2.1. <i>HLA-DRB1</i> Allel Frekansları ve Test İstatistikleri	46
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	50
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	56
7. KAYNAKLAR	57
EKLER	67
Ek 1. Gönüllü Olur Formu	68
Ek 2. Etik Kurul Onay Belgesi	70
Ek 3. Kontrol ve Hasta Genotipleri Tablosu	73
ÖZGEÇMİŞ	76

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>		<u>Sayfa</u>
Tablo 1.	PCR ve Sanger dizileme için kullanılan primerler	34
Tablo 2.	PV hasta grubunda c.671T>C varyantı için yapılan genotiplendirme sonuçları	41
Tablo 3.	Kontrol grubunda c.671T>C varyantı için yapılan genotiplendirme sonuçları	42
Tablo 4.	PV hastası ve kontrollerdeki c.671T>C değişiminin allel frekansları ve Pearson's Ki-kare test istatistikleri	43
Tablo 5.	PV hastası ve kontrollerdeki c.671T>C değişiminin genotip frekansları ve Fisher'in kesin test istatistikleri	43
Tablo 6.	PV hastalarında <i>HLA-DRB1</i> allel tiplendirme sonuçları	44
Tablo 7.	Kontrollerde <i>HLA-DRB1</i> allel tiplendirme sonuçları	45
Tablo 8.	PV hastası ve kontrollerdeki en sık gözlenen ilk 10 <i>HLA-DRB1</i> allelleri	46
Tablo 9.	<i>HLA-DRB1</i> allelleri ve Pearson'ın Ki-kare bağımsızlık test istatistikleri	47
Tablo 10.	Çalışmada PV hastalarında ve kontrollerde en sık gözlemlenen genotipler ve test istatistikleri	49

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 1.	Desmozomun moleküler modeli	6
Şekil 2.	Desmoglein 3 proteininin AlphaFold modeli ile tahmin edilen üç boyutlu yapısı	8
Şekil 3.	Desmoglein kompanzasyon teorisi	10
Şekil 4.	İnsan kromozom 6'sındaki <i>HLA</i> genlerinin konumu ve yapısı ile insan özellikleriyle olan ilişkileri	16
Şekil 5.	Sınıf II MHC proteini <i>HLA-DRB1*01:01</i> 'in endojen bir peptit ile kompleks halinde bulunan kristal yapısı	17
Şekil 6.	Antikor sinyalleşmesinin birleşmeli ve allosterik modellerinin karşılaştırması	20
Şekil 7.	Fcγ reseptörlerinin temel işlevleri	21
Şekil 8.	FcγR ailesine genel bakış ve insan efektör lökositler arasında ekspresyon örüntüleri	22
Şekil 9.	İmmün komplekslerin düzenleyici işlevleri	24
Şekil 10.	İnsan <i>FCGR2B</i> geni polimorfizmleri	26
Şekil 11.	LABType SSO yöntemiyle <i>HLA</i> tiplemesinin temel prensibi ve uygulama adımları	38
Şekil 12.	<i>FCGR2B</i> geni rs1050501 SNP varyantı için yapılan PCR ürünlerinin agaroz jel görüntüleri	39
Şekil 13.	c.671T>C varyantının Sanger dizi kromotogram örnekleri	40
Şekil 14.	<i>HLA-DRB1</i> allel grupları arasında istatistiksel olarak en anlamlı farklılık gösteren 10 allel	48

RESİMLER DİZİNİ

Resim No

Sayfa

Resim 1. Pemfigus vulgaris

4



KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ADCC	Antikor bağımlı hücresel sitotoksiste
BCR	B hücre reseptörü
DNA	Deoksiribo nükleik asit
dk	Dakika
EC	Ekstrasellüler kadherin
EF	Etiyolojik fraksiyon
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
f	Frekans
Fab	Fragman antijen bağlama
FCGR2B	Fc Gamma Receptor IIB
FCGR2C	Fc Gamma Receptor IIC
FcR	Fc reseptörleri
FcRn	Neonatal Fc reseptörü
FcγR	Fc gamma reseptörleri
FDA	Food and drug administration
FDR	False discovery rate
gDNA	Genomik DNA
GWAS	Genome wide association study
IAD	IgA dermatozis
IgG	İmmünoglobulin G
ITAM	İmmunoreceptor tyrosine based activation motif
ITIM	İmmunoreceptor tyrosine based inhibitory motif
IVIG	İntravenöz immünoglobulin
Kb	Kilobaz
KTÜ	Karadeniz Teknik Üniversitesi
LYN	Lck/Yes related novel
MAF	Minör allel frekansı
MHC	Major histocompatibility complex
NK	Doğal öldürücü
NLB	Nuclei lizis tamponu

PAMP	Patojenle ilişkili moleküler patern
PCR	Polymerase chain reaction
PDB	Protein data bank
PGA	Power for genetic association analyses
PNP	Paraneoplastik pemfigus
PRR	Patojen tanıma reseptörleri
RA	Romatoid artrit
s	Saniye
SAPE	Streptavidin–R-Phycoerythrin Conjugate
SDS	Sodyum dodesil sülfat
SLE	Systemic lupus erythematosus
SH2	Src homology 2
SHIP	Src homology 2 domain-containing inositol-5-phosphatase
SHP-1	Src homology region 2 domain containing phosphatase-1
SHP-2	Src homology region 2 domain containing phosphatase-2
SSP	Sequence specific primer
SNP	Single nucleotide polymorphism
TAE	Tris Asetat EDTA
TCR	T hücre reseptörü
TLR	Toll benzeri reseptör
UCSC	University of california, santa cruz genome browser

Simgeler

g	Gram
L	Litre
M	Molar
Ng	Nanogram
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
mL	Mililitre
°C	Santigrad derece
∞	Sonsuz

Formüller

CaCl₂	Kalsiyum Klorür
C₂H₄O₂	Glasiyel asetik asit
C₂H₅OH	Etil Alkol
C₄H₁₁NO₃	Tris baz
C₄H₁₂ClNO₃	Tris HCl
C₆H₁₂O₆	Glukoz
C₁₂H₂₀N₃Br	Etidyum bromür
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
HCl	Hidroklorik asit
H₂O	Su
KHCO₃	Potasyum Bikarbonat
NaCl	Sodyum klorür
NaOH	Sodyum hidroksit
Na₂CO₃	Sodyum karbonat
Na₂EDTA·2H₂O	EDTA disodyum dihidrat
Na₂HPO₄·2H₂O	Di-sodyum hidrojen fosfat

ÖZET

Pemfigus Vulgaris Hastalığında *FCGR2B* ve *HLA-DRB1* Geni Varyantlarının Hastalığa Etkisinin Araştırılması

Pemfigus vulgaris (PV), intraepidermal desmozomal proteinlerden desmoglein 3 (DSG3) ve/veya desmoglein 1 (DSG1)'e karşı gelişen otoantikorların neden olduğu, oldukça nadir görülen otoimmün büllöz bir hastalıktır. PV, etiyopatogenezinde genetik ve çevresel faktörlerin birlikte etkili olduğu kompleks bir hastalıktır. Genetik faktörlerden en iyi çalışılmış ve açık ilişki gösterilmiş olan genler, HLA sınıf II bölgesindeki immün genlerdir ve özellikle de *HLA-DRB1* geni varyantlarının en önemli genetik risk faktörlerinden biri olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Fc gama reseptör IIb, *FCGR2B* geninden kodlanan, B hücre aktivasyonunu negatif yönde düzenleyen immün reseptörler sınıfındaki bir membran proteinidir. *FCGR2B* genindeki polimorfizmlerin sistemik lupus eritematozus (SLE) gibi çeşitli otoimmün hastalıklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu tez çalışmasında, *HLA-DRB1* allelleri ve *FCGR2B* geninde yer alan fonksiyonel c.671T>C polimorfizminin PV genetik etiyolojisinde bir etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır. Çalışmada 86 PV ve 200 sağlıklı kontrolün genetik verileri, *HLA-DRB1* allel tiplendirmesi PCR-SSOP-Luminex yöntemiyle, *FCGR2B* varyantı verileri de long-PCR ve Sanger dizileme yöntemiyle analiz edilerek çalışılmıştır. Çalışma grupları arasında toplam 33 farklı *HLA-DRB1* alleli tanımlanmış, *HLA-DRB1**04:02 (adj_p = 6.71×10^{-23} ; OR = 12.95; %95 CI: 7.40-24.57) ve *HLA-DRB1**14:01 (adj_p = 1.23×10^{-5} ; OR = 4.55; %95 CI: 2.35-8.74) allellerinin PV için oldukça yüksek düzeyde risk faktörleri olduğu görülmüştür. Ayrıca, *HLA-DRB1**11:01 (adj_p = 0.001; OR = 0.03; %95 CI: 0-0.31) ve *HLA-DRB1**16:01 (adj_p = 0.037; OR = 0.33; %95 CI: 0.10-0.75) allellerinin de PV için koruyucu alleller olduğu anlaşılmıştır. Genotip düzeyinde, *HLA-DRB1**04:02/14:01 genotipinin (Mevcut literatürde ilk kez bu çalışmada değerlendirildi) oldukça yüksek bir risk oranıyla PV'nin genetik yatkınlığında önemli bir rol oynadığı görülmüştür (adj_p = 2.20×10^{-9} ; OR = 114.97; %95 CI: 6.86-1925.82). *FCGR2B* genine ait c.671T>C varyantı ile yapılan analizlerde gruplar arasında anlamlı bir fark saptanamamıştır. PV riskini artıran *HLA-DRB1**04:02/14:01 allellerini taşıyan sınıf II reseptörlerinin daha ileri düzeyde çalışılması, altta yatan asıl mekanizmanın anlaşılmasına katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Aday gen ilişkilendirme çalışması, Fc gamma rII, Hla-drb1, Pemfigus vulgaris

ABSTRACT

Investigation of the Effects of *FCGR2B* and *HLA-DRB1* Gene Variants on Pemphigus Vulgaris

Pemphigus vulgaris (PV) is a rare autoimmune blistering disorder caused by autoantibodies targeting intraepidermal desmosomal proteins desmoglein 3 (DSG3) and/or desmoglein 1 (DSG1). Its etiopathogenesis is complex, involving both genetic and environmental factors. Among genetic factors, immune-related genes within the HLA class II region particularly *HLA-DRB1* variants have been identified as major genetic risk contributors in several studies. Additionally, *FCGR2B*, which encodes the inhibitory Fc gamma receptor IIb, plays a key role in downregulating B-cell activity, and its polymorphisms have been associated with autoimmune diseases such as systemic lupus erythematosus (SLE). This study aimed to investigate the potential influence of *HLA-DRB1* alleles and the functional c.671T>C polymorphism in the *FCGR2B* gene on PV susceptibility. Genotyping was performed in 86 PV patients and 200 healthy controls using PCR-SSOP-Luminex for *HLA-DRB1* typing and long-PCR-based Sanger sequencing for *FCGR2B* analysis. A total of 33 distinct *HLA-DRB1* alleles were identified. *HLA-DRB1**04:02 (adj_p = 6.71×10^{-23} ; OR = 12.95; 95% CI: 7.40-24.57) and *HLA-DRB1**14:01 (adj_p = 1.23×10^{-5} ; OR = 4.55; 95% CI: 2.35-8.74) were strongly associated with increased PV risk. Conversely, *HLA-DRB1**11:01 (adj_p = 0.001; OR = 0.03; 95% CI: 0.00-0.31) and *HLA-DRB1**16:01 (adj_p = 0.037; OR = 0.33; 95% CI: 0.10-0.75) showed a protective association. Notably, the combined presence of *HLA-DRB1**04:02/14:01 (evaluated here for the first time) conferred a markedly elevated genetic risk (adj_p = 2.20×10^{-9} ; OR = 114.97; 95% CI: 6.86-1925.82). No significant difference was observed between groups regarding the *FCGR2B* c.671T>C variant. We believe that further study of class II receptors carrying *HLA-DRB1**04:02/14:01 alleles, which increase PV risk, will contribute to understanding the underlying mechanism.

Keywords: Candidate gene association study, Fc gamma rII, Hla-drb1, Pemphigus vulgaris

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Pemfigus vulgaris (PV), başlıca desmoglein 3 (DSG3) ve/veya desmoglein 1 (DSG1) adlı hücre-hücre adezyonundan sorumlu desmozomal proteinlere karşı gelişen immünoglobulin G (IgG) sınıfı otoantikorlar nedeniyle ortaya çıkan, mukozal ve mukokütanöz bölgelerde büllerle seyreden, potansiyel olarak yaşamı tehdit eden bir otoimmün büllöz hastalıktır. Bu otoantikorlar, keratinositler arasındaki desmozomal bağlantıları hedef alarak adezyon kaybına yol açar ve bu durum histopatolojik olarak akantolizis (hücreler arası ayrışma) ile karakterizedir. PV'nin etiyopatogenezinde çevresel, immünolojik ve genetik faktörlerin etkili olduğu düşünülmektedir. Ancak güncel araştırmalar, özellikle genetik faktörlerin, hastalığın oluşum sürecinde ve bağışıklık sisteminin otoantijenlere karşı duyarsızlığını kaybetmesinde temel belirleyicilerden olduğunu göstermektedir.

Genetik yatkınlık açısından en güçlü kanıtlar, HLA sınıf II molekülleri, özellikle de *HLA-DRB1* lokusu üzerine yoğunlaşmıştır. HLA-DR molekülleri, antijen sunan hücrelerin işlediği peptitleri MHC (Major Histocompatibility Complex) sınıf II yoluyla CD4⁺ T hücrelerine sunar ve bu süreç, adaptif bağışıklık yanıtının başlatılmasında kritik bir rol oynar. *HLA-DRB1* allellerinin peptit bağlayıcı oluğundaki polimorfizmler, hangi otoantijenik epitopların sunulacağını belirler ve böylece otoimmüniteye eğilimi etkileyebilir. PV hastalarında *HLA-DRB1*04:02* ve *HLA-DRB1*14:01* gibi belirli allellerin artmış frekansta saptanması, bu allellerin peptit bağlayıcı oluklarında yer alan özgül amino asit dizilimlerinin, DSG3 türevli peptitlere karşı yüksek bağlanma afinitesi sağlamasıyla açıklanmaktadır. Bu durum, ilgili HLA moleküllerinin otoimmün yanıtın başlatılmasında etkili olabileceğini düşündürmektedir.

PV'nin immünopatogenezinde, genetik faktörlerin yanı sıra immünolojik faktörler de belirleyici rol oynamaktadır. Özellikle B hücresi aracılı otoimmün mekanizmaların ön planda olduğu PV'de, yalnızca antijen sunumu değil, aynı zamanda B hücresi aktivasyonu, otoantikor üretiminin regülasyonu hastalığın gelişiminde kritik öneme sahiptir. Bu noktada, Fc gamma reseptörleri (FcγR) ve özellikle FcγRIIb molekülü dikkat çekmektedir. FcγRIIb, B hücrelerinde eksprese edilen tek inhibitör Fcγ reseptörüdür ve B hücre reseptörü (BCR) ile birlikte ko-lokalize olduğunda, ITIM (immunoreceptor tyrosine based inhibitory motif) motifleri aracılığıyla hücre içi negatif sinyaller ileterek B hücre aktivasyonunu baskılar. Bu reseptör, immün toleransın sürdürülmesi ve otoimmün yanıtların sınırlandırılması açısından

kritik bir rol oynamaktadır. *FCGR2B* (Fc Gamma Receptor IIB) geninde yer alan bazı polimorfizmler, reseptörün membran lokalizasyonunu veya sinyal iletim etkinliğini değiştirerek, otoimmüniteye yatkınlık yaratabilmektedir.

Bu çalışmada *HLA-DRB1* allelleri ve *FCGR2B* genindeki belirli bir tek nükleotid varyasyonunun (c.671T>C) PV hastalığının genetik etiyolojisinde bir etkisinin olup olmadığı; kompleks hastalıklarda genetik etiyolojinin etkilerini aydınlatmada en temel yöntemlerden biri olan, aday genler ve bu genler üzerinde yer alan fonksiyonel tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) hastalıkla ilişkisi üzerine kurgulanan, genetik ilişki çalışması yöntemi kullanılarak belirlenmesi amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pemfigus

Pemfigus, mukoz membranlarda ve deride sıvı dolu lezyonlar ve erozyonlarla karakterize, keratinositler arasındaki adezyonu sağlayan desmozomal proteinlere karşı gelişen otoantikorlar nedeniyle epidermin yapısal bütünlüğünün bozulduğu ve akantolizisin gözlemlendiği, hayatı tehdit edebilen bir otoimmün büllöz hastalıktır (1). Yunanca “kabarcık” anlamına gelen *pemphix* kelimesinden türetilmiş olan *pemfigus*, tarihte ilk kez 1788 yılında dilinde su toplamaları bulunan bir hastayı gözlemleyen Stephen Dickson tarafından tanımlanmıştır (2). Pemfigus hastalıkları, genel olarak klasik ve klasik olmayan pemfigus grupları olarak ikiye ayrılır. Klasik pemfigus grubunda pemfigus vulgaris, pemfigus foliaceus (3), pemfigus vegetans ve pemfigus erythematosus olmak üzere dört başlıca tip bulunurken, klasik olmayan pemfigus grubunda ise pemfigus herpetiformis, ilaç kaynaklı pemfigus, paraneoplastik pemfigus (PNP), atipik PNP, anti-plakin dermatozis, anti-desmocollin dermatozis, interselüler IgG/IgA dermatozu, interselüler IgA dermatozu ve IgM pemfigusu gibi nispeten nadir görülen çeşitli formlar yer alır (4).

2.2. Pemfigus Vulgaris

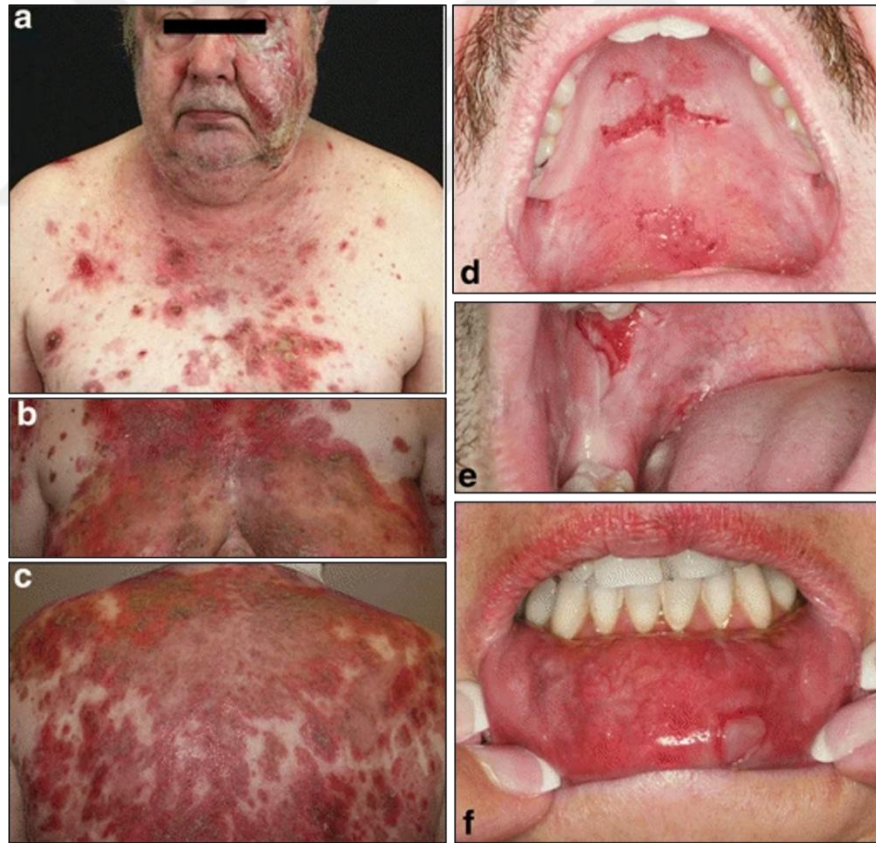
Pemfigus vulgaris, pemfigus hastalıkları grubunun en sık rastlanan türü olup adını Latince vulgus (“yaygın”) kelimesinden alır. Pemfigus grubunda en iyi karakterize edilen ve en sık görüleni PV’dir (4). PV hastalığında belirli bir yaş sınırı bulunmamakla birlikte, en sık 45-65 yaş arasındaki bireylerde, cinsiyet farkı gözetmeksizin gözlemlenmektedir. PV, tüm dünya popülasyonlarında gözlemlense de sıklığı coğrafi bölgelere ve etnik gruplara göre heterojen bir dağılım göstermektedir. PV insidansı Avrupa’da milyonda 0.5-8 arası, Asya’da milyonda 1.6-16.1 arası ve Amerika kıtasında milyonda 4.2 olarak bildirilmiştir (5). PV, ülkemizde en sık görülen otoimmün büllöz hastalıktır. 2017 yılında yayınlanan çok merkezli bir çalışmada, Türkiye’deki PV hastalarının 1 yıllık insidansı milyonda 4.7 olarak bildirilmiştir (6).

2.2.1. Klinik Özellikleri ve Tanı Kriterleri

PV, klinik olarak mukozal-dominant ve mukokütanöz olmak üzere iki alt tipe ayrılır. Mukozal-dominant tipte, mukozal lezyonlar belirgindir ancak deri tutulumu minimal düzeydedir. Mukokütanöz tipte ise mukozal lezyonlara ek olarak yaygın deri bülleri ve

erozyonları da görülür. Bu alt tipler, hastalığın klinik seyri, tanı süreci ve tedaviye yanıt açısından önemli farklılıklar göstermektedir (Resim 1) (7-9).

PV tanısı; klinik bulgular, histopatolojik inceleme, lezyon çevresindeki deri veya mukoza biyopsisinin direkt immünofloresan incelemesi ve epitel hücre yüzeyine karşı otoantikorların (DSG1- DSG3), indirekt immünofloresan ve/veya ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) ile serolojik tespiti olmak üzere dört kritere dayanır (10). Tanı amacıyla, öncelikle lezyondan alınan biyopsi örneğinin histopatolojik incelemesi yapılarak epidermal ayrışma ve akantoliz gibi karakteristik bulgular değerlendirilir. İlaveten, lezyonun hemen çevresinden (perilezyonel alan) alınan biyopsi ile gerçekleştirilen doğrudan immünofloresan inceleme, epidermis boyunca interselüler alanda IgG birikiminin gösterilmesine olanak sağlar. Bunlara ek olarak, serolojik testler ile dolaşımdaki otoantikorların varlığı ve düzeyi belirlenerek tanıya katkı sağlanmaktadır.



Resim 1. Pemfigus vulgaris. Yüz ve üst göğüs bölgesinin seboreik alanlarında (a), gövdede (b) ve omuzlarda (c) geniş, kısmen birleşmiş erozyonlar. Damakta (d) ve üst çenede (e) keskin sınırlı erozyonlar ile alt dudağın mukozal yüzeyinde gevşek bir bül (f) izlenmektedir (Pollmann'dan 121).

2.3. Patogenez

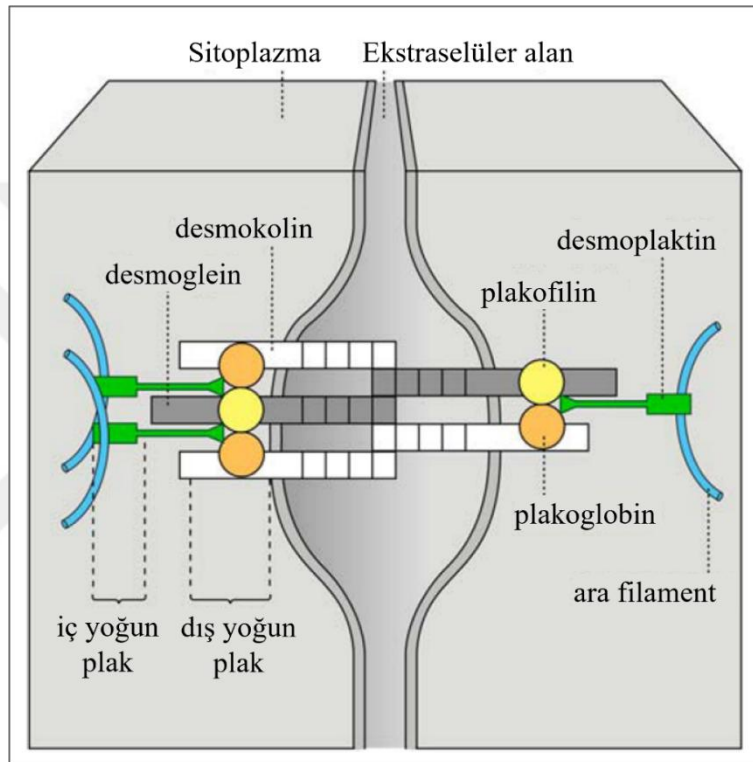
PV'nin, patogenezi tam olarak aydınlatılamamış ve gelişiminde otoimmün mekanizmalar, genetik yatkınlık ve çevresel faktörlerin birlikte rol oynadığı kompleks bir hastalık olarak değerlendirilmektedir. Otoimmün mekanizmalarda merkezi rol oynayan unsur, keratinositlerin hücre yüzeyinde bulunan proteinlere karşı gelişen IgG sınıfı otoantikordur. Özellikle, en az yaygın olan IgG4 alt sınıfı, fragman antijen bağlama (Fab)-kol değişimi sürecinden geçme konusundaki benzersizliği nedeniyle IgG alt sınıflar arasında öne çıkmaktadır (11). 1964 yılında Beutner ve Jordon tarafından gerçekleştirilen çalışmalar, PV patogenezinin aydınlatılmasına yönelik ilk bilimsel katkı olarak kabul edilmektedir. Söz konusu çalışmada, PV hastalarının Malpighian epitelinde yer alan hücreler arası antijenlere karşı otoantikordur ürettiği tespit edilmiştir (12). 1970'lerin sonu ile 1980'lerin başında, insan derisi üzerinde gerçekleştirilen in vitro çalışmalar ve PV hastalarından izole edilen IgG fraksiyonlarının fare modellerine pasif transferi, otoreaktif IgG antikorlarının akantoliz ve bül oluşumunu indüklediğini ortaya koymuştur (13-15). Takip eden 10 yılda, pemfigusun hedef antijenlerinin desmogleinler olduğu ve immünokimyasal yöntemlerle karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir (16-18). Bu otoantikorların, epidermal keratinositlerdeki desmozomal adezyon proteinleri olan desmoglein 3 (DSG3) ve/veya desmoglein 1 (DSG1)'e karşı olduğu gösterilmiştir (19).

2.3.1 Desmogleinlerin Rolü

Kadherinler, hücre-hücre adezyonunu sağlayarak doku bütünlüğünün korunmasında görev alan, kalsiyum bağımlı yüzey proteinleridir. Kadherin terimi, "kalsiyum bağımlı yapışma proteini" ifadesinden türetilmiştir. Bu protein ailesi, özellikle homofilik hücre etkileşimleri olmak üzere, embriyonik gelişim, doku onarımı ve kanser metastazı gibi çeşitli biyolojik süreçlerde temel roller üstlenir. Kadherinler, yapısal ve işlevsel özelliklerine göre iki ana gruba ayrılır: klasik kadherinler ve desmozomal kadherinler. Klasik kadherinler (örneğin E-, N- ve P- kadherin), aktin mikrofilamentlerine bağlanarak hücrelerarası yapışma bölgelerinde, yani adherens junction (adherens bağlantısı) adı verilen yapılarda fonksiyon yaparlar. Desmozomal kadherinler ise desmoglein ve desmokollin proteinlerinden oluşur, desmozom adı verilen özelleşmiş yapılarda yer alır ve ara filamentlere bağlanarak hücreler arasında mekanik stabilitenin sağlanmasına katkıda bulunurlar (20, 21).

Desmozomlar, bir hücrenin keratin iskeletini, komşu hücrenin keratin iskeletiyle bağlayarak dokuların mekanik bütünlüğünü koruyan hücrelerarası bağlantı yapılarıdır.

Desmozomların yapısı, transmembran proteinler olan desmogleinler, bu proteinlere bağlanan plakin proteinleri (örn. plakoglobin ve desmoplakin) ve bu kompleksin bağlı olduğu keratin filamentlerinden oluşur. Desmogleinler, hücreler arası adezyonu sağlarken, desmokollinler, desmozomun diğer temel bileşenini oluşturur (Şekil 1). Bu yapılar birlikte çalışarak hücrelerin birbirine sıkıca tutunmasını ve doku stabilitesinin sürdürülmesini sağlar (22, 23).

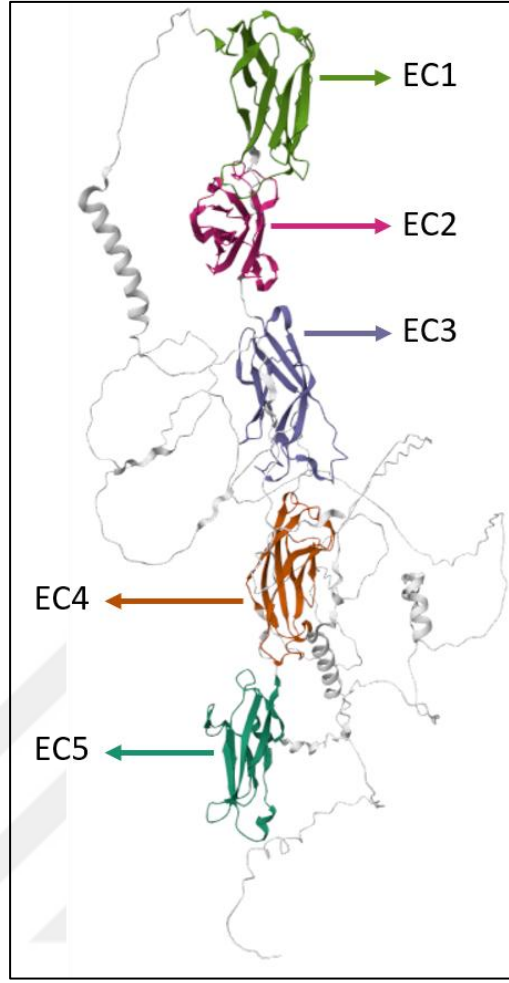


Şekil 1. Desmozomun moleküler modeli. Desmozomal kadherinler olan desmoglein ve desmocollin, amino-terminal ekstraselüler (EC) 1 domain aracılığıyla homofilik ve heterofilik bağlanmalar gerçekleştirir. Bu bağlanmalar, aynı hücre zarındaki partner moleküllerle (cis) ve komşu hücredeki moleküllerle (trans) gerçekleşir. Sitoplazmik domainler büyük oranda dış yoğun plak içine gömülüdür ve burada plakoglobin ve plakofilin ile ilişkilidir. İç yoğun plak bölgesinde ise, desmoplakin bu adaptör proteinleri ara filament iskeletine bağlar (Waschke'den 20).

İnsanlarda desmoglein ailesine ait dört gen/protein ve bunlara ait çokça izoform tanımlanmıştır. Bu genler, ekspresyon paternleri ve işlevsel özellikleri bakımından değişkenlik gösterir. Bu genler arasında yer alan *DSG1* geni öncelikli olarak epidermisin yüzeyel tabakalarında eksprese edilir ve epidermal farklılaşma ile bariyer fonksiyonunun korunmasında kritik rol oynar. *DSG2* (desmoglein 2) geni, miyokard dahil olmak üzere tüm

desmozom içeren dokularda eksprese edilen tek desmogleindir ve geniş doku dağılımı ile dikkat çeker. *DSG3* geni, alt epidermal katmanlar ile mukozal epitelyumda yoğun olarak bulunur ve bu bölgelerdeki hücrelerarası adezyonunun sağlanmasında işlev görür. *DSG4* (desmoglein 4) geni ise esas olarak saç foliküllerinde eksprese edilir ve saç gelişimi ile ilişkili hücresel bütünlüğün sağlanmasında önemli bir rol üstlenir (24, 25).

Desmogleinlerin disfonksiyonu veya otoimmün hedef alınması, çeşitli dermatolojik hastalıklarla ilişkilidir. PV ve pemfigus foliaceus (26) hastalıklarında, sırasıyla *DSG3* ve *DSG1*'e karşı gelişen otoantikorlar epidermal akantolize ve bül oluşumuna neden olmaktadır (27). *DSG1*, yaklaşık 160 kDa moleküler ağırlığa sahipken (28), *DSG3*'ün moleküler ağırlığı yaklaşık 130 kDa'dır (19). Her iki izoform da klasik kadherin ailesine ait transmembran glikoproteinler olup, hücre dışı (ekstrasellüler) bölgelerinde birden fazla kalsiyum bağlayıcı domain içerir. Bu domainler, ekstrasellüler kadherin (extracellular cadherin-EC) domainleri olarak adlandırılır ve kalsiyum iyonlarının varlığında kadherin moleküllerinin stabilizasyonunu sağlayarak hücreler arası adezyonun sürekliliğini temin eder (Şekil 2) (29).



Şekil 2. Desmoglein 3 proteininin AlphaFold modeli ile tahmin edilen üç boyutlu yapısı. Şekil, AlphaFold veritabanı kullanılarak oluşturulan AF-P32926-F1 modeli temel alınarak hazırlandı. EC1 (yeşil), EC2 (mor), EC3 (lacivert), EC4 (turuncu), EC5 (turkuaz) (30).

Desmogleinlerin hücre dışı bölgesi tipik olarak beş adet ardışık EC domaininden (EC1-EC5) oluşur. Bunlardan EC1 domaini, kadherin molekülleri arasında homofilik etkileşimlerin başlatılmasından sorumlu en dıştaki bölgedir. PV hastalarının serumlarında bulunan otoantikorların, EC1 bölgesine bağlandığı gösterilmiştir (31). EC2-EC5 domainleri ise bu yapısal bütünlüğü destekler ve adezyonun mekanik dayanıklılığına katkıda bulunur (Şekil 2). EC domainlerinin arasında yer alan kalsiyum bağlama bölgeleri, desmoglein molekülünün rijiditesini artırarak, yapının bozulmadan işlevini sürdürebilmesini sağlar (32).

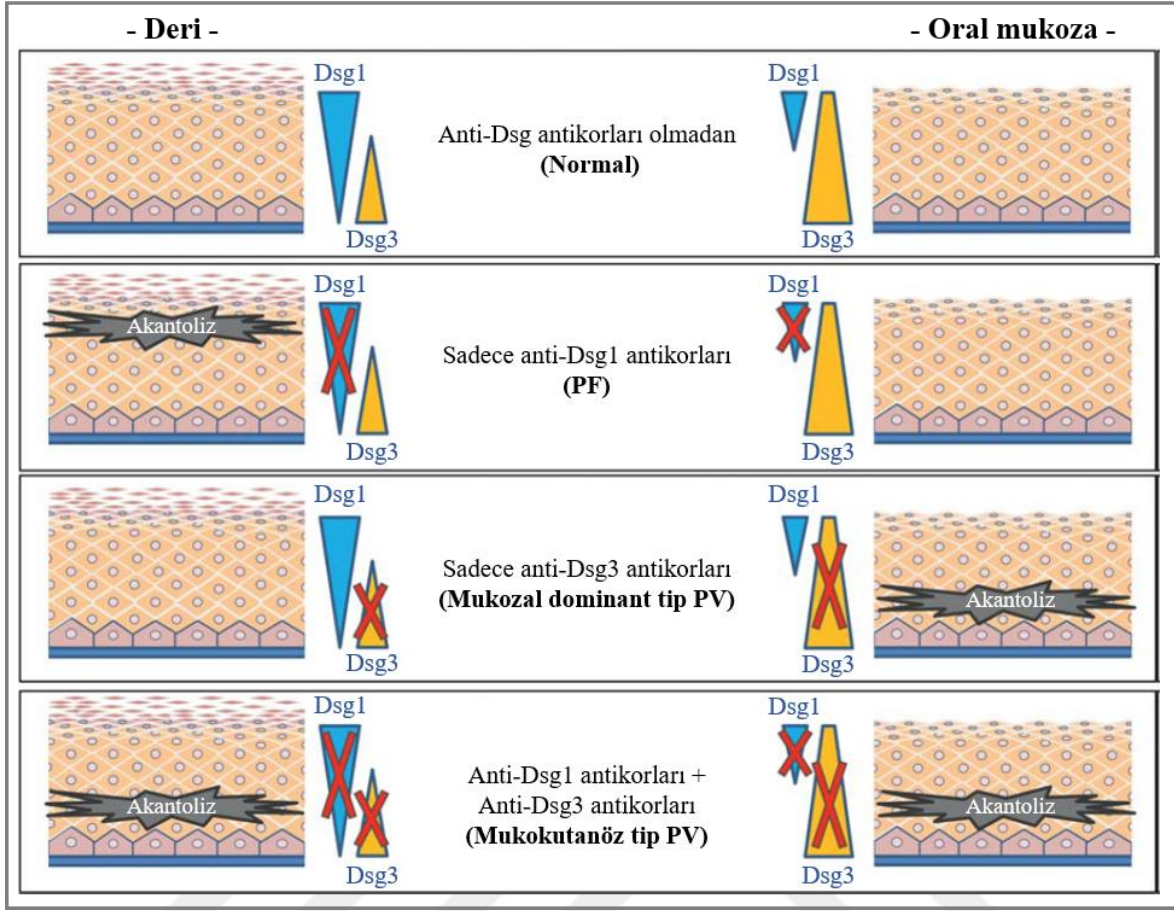
Otoantikorların hedeflediği desmoglein tipi, PV lezyonlarının lokasyonunu belirlediğinden klinik açıdan büyük önem taşır (33). DSG1, deri epidermisinin yüzeysel

katmanlarında yoğun şekilde bulunurken, DSG3 mukozal yüzeyler gibi keratinize olmayan epitelyumlarda daha baskındır (34)

2.3.2 Desmoglein Kompanzasyon Teorisi

Bül oluşumunun lokasyonu ve mukozal yüzeylerin tutulumu, pemfigusun alt tipine bağlı olarak değişir ve bu durum “desmoglein kompanzasyon teorisi” ile açıklanabilir. Bu teori, kutanöz yüzeylerde DSG1’in epidermisin tüm tabakalarında ağırlıklı olarak eksprese edildiğini, DSG3’ün ise esas olarak daha derin katmanlarda eksprese edildiğini belirtir. Mukoza zarlarında DSG3 baskın olarak eksprese edilirken, DSG1’in ekspresyonu oldukça sınırlıdır (35).

Desmoglein kompanzasyon teorisini özetlemek gerekirse, mukozal PV’de sorumlu antijen, DSG3’tür. Deride, DSG3 disfonksiyonu DSG1 tarafından telafi edildiği için bül oluşumu gözlenmez. Buna karşılık, mukozal bölgelerde DSG3 disfonksiyonunu telafi etmek için yetersiz olan düşük DSG1 konsantrasyonu, kutanöz tutulum olmaksızın mukozal lezyonların baskınlığına yol açar. Mukokutanöz PV’de hem anti-DSG1 hem de anti-DSG3 antikorları bulunur (Şekil 3). Bu yüzden hem ciltte hem de mukoza zarlarında yaygın bül oluşumu gözlenir (36, 37).



Şekil 3. Desmoglein kompanzasyon teorisi (Koga'dan 37).

2.3.3 Otoimmün Mekanizmalar

2.3.3.1 İmmün Sistem (Bağışıklık)

Bağışıklık sistemi, iki temel kategoriye ayrılır: Doğal (innate) immün sistem ve kazanılmış (adaptif) immün sistem. Kazanılmış bağışıklık sistemi ile karşılaştırıldığında doğal bağışıklık sistemi, bir patojen ya da tehlike sinyaliyle karşılaştığında çok daha hızlı ve özgül olmayan (nonspesifik) bir şekilde tepki verirken, kazanılmış bağışıklık tanıdığı patojenlere özgül yanıt verdiğinden daha yavaş işler ve tanıma süreci sonrası bir hafıza mekanizması geliştirir (38).

Doğal Bağışıklık

Doğal bağışıklık sistemi esas olarak vücudu enfeksiyonlara karşı ilk savunan sistemdir. Bu sistem, patojenlerin vücuda girişini engelleyen fiziksel ve kimyasal bariyerler ile farklı savunma hücre türlerinin istilacı patojenleri tanımasına ve antimikrobiyal bağışıklık yanıtlarını harekete geçirmesine dayanır. Doğal bağışıklık sisteminin temel bileşenleri

arasında, öncelikle epitelyal bariyerler yer alır. Deri, solunum ve gastrointestinal sistem gibi mukozal yüzeyler, sıkı hücre bağlantıları (tight junctions) ve mukus üretimi sayesinde patojenlerin fiziksel girişini engeller. Bu anatomik bariyerlere ek olarak, epitel hücreleri ve fagositik hücreler tarafından salgılanan lizozim gibi antimikrobiyal enzimler de savunmada görev alır. Ayrıca, bu hücreler tarafından üretilen defensinler ve katelisin gibi antimikrobiyal peptitler, mikroorganizmaların hücre zarlarını hedef alarak doğrudan mikrobisidal etki gösterir (39). Bu humoral savunma mekanizmalarının yanı sıra, doğal bağışıklık sistemi enfeksiyonlara karşı hücresel düzeyde de aktif bir yanıt oluşturur. Doğal bağışıklığın hücresel komponentlerini nötrofiller, monositler, makrofajlar, mast hücreleri ve doğal öldürücü (NK) hücreler oluşturur. Nötrofiller, enfeksiyon bölgesine hızla göç ederek fagositoz yoluyla patojenleri elimine ederken, monositler dokulara geçerek makrofajlara farklılaşır ve fagositik kapasite kazanır. NK hücreleri enfekte veya neoplastik hücreleri lizis yoluyla ortadan kaldırırken, mast hücreleri inflamatuvar yanıtın başlatılmasında rol oynar. Bununla birlikte, doğal bağışıklık sistemi çeşitli plazma proteinlerini de içerir. Kompleman sistemi, patojenleri doğrudan lizis yoluyla ortadan kaldırma veya fagositoz için işaretleme (opsonizasyon) işlevi görürken, akut faz proteinleri (örneğin C reaktif protein, serum amiloid A, lektinler ve ficolinler) inflamatuvar süreçlerin düzenlenmesine katkı sağlar (40).

Mikroorganizmaların tanınması, özgül olmayan ancak evrimsel olarak korunmuş patojen (patern) tanıma reseptörleri (PRR) aracılığıyla gerçekleşir. Özellikle Toll benzeri reseptörler (TLR), patojenle ilişkili moleküler paternleri (PAMP) tanıyarak sinyal iletim yollarını aktive eder ve bağışıklık yanıtlarını başlatır. Bu süreçte sitokinler ve kemokinler gibi inflamatuvar mediatörlerin salınımı hem doğal bağışıklığın etkinliğini artırır hem de edinilmiş bağışıklık yanıtının şekillenmesini sağlar (41).

Sonuç olarak, doğal bağışıklık sistemi, fiziksel ve kimyasal bariyerler, fagositik ve sitotoksik hücreler, plazma proteinleri, antimikrobiyal moleküller ve reseptörler aracılığıyla hızlı ve etkili bir koruma sağlar. Bu sistem, patojenlere karşı ilk savunmayı oluşturarak organizmanın bağışıklık dengesini ve hayatta kalımını sürdürmesinde hayati rol oynamaktadır (42).

Kazanılmış (Adaptif) Bağışıklık

Adaptif bağışıklık tepkisi uyandırabilen herhangi bir maddeye antijen (antikor cevabını uyaran) denir. Adaptif bağışıklık sistemi, belirli antijenleri tanımaya ve onlara yanıt vermeye yönelik özelleşmiş reseptörler aracılığıyla spesifik yanıt veren hücreler ve efektör

mekanizmaların bütününden oluşur. Bu sistemin temel ayırt edici özellikleri arasında antijen özgüllüğü, immünolojik hafıza oluşturabilme ve tekrarlayan karşılaşmalarda daha güçlü yanıt verebilme yetisi yer alır. Bu özellikler, doğal bağışıklık sisteminin hızlı fakat özgül olmayan yanıtlarıyla farklılık oluşturur (43). Adaptif bağışıklık, yalnızca patojenlere karşı değil, aynı zamanda malign hücrelere karşı da konak savunmasında kritik bir rol üstlenir. Bununla birlikte, bu güçlü yanıt mekanizmasının regülasyonundaki bozukluklar, otoimmün hastalıklar ve kronik inflamasyon gibi patofizyolojik durumların temelini oluşturabilir. Adaptif bağışıklık yanıtları, lenfositler olarak adlandırılan beyaz kan hücreleri tarafından gerçekleştirilir. Adaptif bağışıklık sistemi tarafından geliştirilen yanıtlar, işlevsel özelliklerine göre, antikor aracılı (humoral) yanıtlar ve hücre aracılı (hücrel) bağışıklık yanıtları olmak üzere iki ana gruba ayrılır.

Humoral bağışıklık yanıtı, antijenle karşılaşan B lenfositlerinin aktivasyonu ve bunların plazma hücrelerine farklılaşmasıyla başlar. Oluşan plazma hücreleri, özgül antijenlere yüksek afiniteyle bağlanabilen immünoglobulin (antikor) moleküllerini sentezler. Antikorlar, enfeksiyonla mücadelede çeşitli etkili mekanizmalarla görev alırlar. Adaptif bağışıklık sisteminin ikinci temel yanıt türü olan hücrel bağışıklık yanıtı ise T lenfositleri aracılığıyla gerçekleştirilir. T hücreleri, enfekte ya da malign hücrelerin yüzeyinde MHC molekülleri aracılığıyla sunulan yabancı antijenleri tanıyarak aktive olur. Aktive olmuş T hücreleri ya doğrudan hedef hücreleri öldürerek ya da sitokin gibi sinyal molekülleri salgılayarak makrofajları aktive etmek suretiyle mikroorganizmaların yok edilmesini sağlarlar. Bu mekanizmalar sayesinde adaptif bağışıklık sistemi hem etkili bir patojen eliminasyonu hem de uzun süreli koruyucu immün yanıt sağlar (44).

2.3.3.2 Otoimmünite ve Otoimmün Hastalıklar

Otoimmünite, immünolojik bir fenomen olarak, organizmanın kendi antijenlerine karşı geliştirdiği adaptif bağışıklık yanıtlarını ifade eder. Genetik yatkınlık ve çevresel tetikleyicilerin bir kombinasyonu tarafından başlatılan bu durum, tek başına hastalık anlamına gelmez. Otoimmün yanıtın doku hasarıyla sonuçlanması, patolojik süreçlerin başlaması ve klinik semptomların ortaya çıkması durumunda, tablo artık otoimmün hastalık olarak tanımlanır (45, 46). Otoimmün hastalıklar, tek bir nedenden kaynaklanmamakta, moleküler ve hücrel düzeydeki yolaklar ve olaylarla tetiklenmektedir. Ayrıca, belirli bir otoimmün hastalık başlangıçta tek bir tetikleyiciyle ortaya çıkmış olsa bile, süreç zamanla başka olayların ve düzenleyici mekanizmaların da devreye girmesiyle daha karmaşık bir hale

gelir (47). Otoimmün hastalıklar klinik olarak organ spesifik ve sistemik olmak üzere iki gruba ayrılır: Organ spesifik otoimmün hastalıklarda bağışıklık yanıtı, yalnızca belirli bir dokuya veya organa yöneliktir, örneğin Tip 1 diyabette otoantikorlar pankreastaki β hücrelerini hedef alır. Buna karşın sistemik otoimmün hastalıklarda, otoimmün yanıt birden fazla doku veya organ sistemine yayılır, sistemik lupus eritematozus (48) ve romatoid artrit (RA) bu gruba örnek verilebilir (49).

Otoimmün hastalıkların gelişiminde antijen sunumu, T ve B hücrelerinin aktivasyonu, sitokin üretimi ve immün regülasyonun bozulması gibi pek çok immünolojik mekanizma rol oynamaktadır (50). Timus ve kemik iliği gibi birincil lenfoid organlarda gelişen T ve B lenfositler, kendi antijenlerine yüksek afinite gösterdiklerinde elimine edilerek merkezi tolerans sağlanır, ancak bu süreç yetersiz olduğunda otoreaktif lenfositler periferik dolaşıma geçebilir. Bu otoreaktivite, lenfositlerde antijen tanıma çeşitliliğini sağlamak amacıyla gerçekleşen V(D)J rekombinasyonu ve B hücreleri için ek olarak periferde meydana gelen somatik hipermutasyon süreçlerinin doğal bir yan ürünü olarak ortaya çıkabilir (51). Periferik tolerans mekanizmaları, merkezi toleranstan kaçan otoreaktif lenfositlerin bağışıklık sistemini hedef almasını engelleyen ikinci bir savunma hattı olarak görev yapar. Bu mekanizmalar arasında klonal anergi, klonal silinme, T regülatör hücre aracılı supresyon ve immünolojik ignorans (dikkate almama) gibi süreçler yer alır (51). Ancak bu periferik kontrol noktalarının da bozulması, kendi antijenlerine karşı sürdürülebilir immün yanıtların gelişmesine ve dolayısıyla otoimmün hastalıkların ortaya çıkmasına zemin hazırlar.

Bu immün yanıtın önemli bir bileşeni de hem hedef dokuya zarar veren hem de immün sistemi düzenleyen IgG antikorlarıdır. IgG antikorları, patojenlere karşı gelişen immün yanıtta hem primer efektör fonksiyonları (nötralizasyon, opsonizasyon, kompleman aktivasyonu) hem de mediyatör benzeri regülatif rolleri (immün modülasyon, feedback inhibisyon) üstlenerek çift yönlü (dual) bir immünolojik etki gösteren temel moleküllerdir. Milyonlarca yıllık evrim, IgG'nin bu fonksiyonel dualitesini, konak savunmasında maksimum koruma sağlayacak şekilde optimize etmiştir (52).

2.3.4 Terapötik Yaklaşımlar

Pemfigus tedavisinde uygulanan yaklaşımlar, genellikle serum otoantikor düzeylerini azaltarak klinik semptomların hafifletilmesini hedeflemektedir. Bu hedefe ya doğrudan otoantikorları ortadan kaldırarak ya da immün sistemi genel olarak baskılayarak ulaşılmaktadır (53). Tedavide ilk basamak olarak rituksimab (54, 55) tek başına ya da düşük

doz prednizon (56) ile kombine edilebilir (10). Kortikosteroid kullanımını en aza indirmek amacıyla tedaviye azatiyoprin (57, 58), mikofenolat mofetil (59, 60) veya mikofelonat sodyum (61) eklenir. Siklofosfamid (62, 63) ise ciddi ve dirençli vakalarda tercih edilir. Bu ilaçlar T ve B hücre proliferasyonunu baskılayarak otoimmün cevabı zayıflatırlar (64, 65). Son yıllarda, özellikle hastalığın dirençli veya şiddetli formlarında, hedefe yönelik biyolojik ajanlar ön plana çıkmıştır. Rituksimab, CD20⁺ B hücrelerini hedef alan anti-CD20 monoklonal bir antikordur. Rituksimabın pemfigus tedavisinde birinci basamak tedavi olarak kullanımını değerlendiren çok merkezli, prospektif ve randomize bir klinik çalışma (66) sonucunda rituksimab, 2018 yılında ABD (Amerika Birleşik Devletleri) Gıda ve İlaç Dairesi (FDA: Food and Drug Administration) tarafından “çığır açan tedavi” (Breakthrough Therapy) olarak tanımlanmıştır.

Otoimmün hastalıkların patogenezinde rol oynayan immün regülasyon bozuklukları, son yıllarda terapötik hedeflerin belirlenmesinde önemli bir odak noktası haline gelmiştir. Bu doğrultuda, IgG antikorlarının yarılanma ömrünü ve dolaşımdaki düzeylerini düzenleyen neonatal Fc reseptörü (FcRn) hedef alan biyolojik ajanlar geliştirilmektedir. Bu ajanlardan biri olan efgartigimod, genetik mühendislik ile tasarlanmış bir Fc parçasıdır. FcRn inhibisyonu yoluyla, patojenik otoantikorlar da dahil olmak üzere dolaşımdaki IgG seviyelerini azaltır ve böylece PV gibi otoantikor aracılı hastalıkların tedavisinde umut vadetmektedir. Efgartigimod, PV tedavisine yönelik klinik geliştirme sürecinde faz 3 aşamasına ulaşmıştır (67). Ayrıca intravenöz immünoglobulin (IVIG), dolaşımdaki patojenik IgG antikorlarını nötralize etme ve FcRn aracılığıyla bu antikorların yıkımını artırma yoluyla terapötik etki gösterir, bu mekanizma özellikle otoimmün hastalık modellerinde yapılan deneysel fare çalışmalarında gösterilmiştir (68). Çok dirençli vakalarda plazmaferez (69, 70) veya immünadsorpsiyon (71) yöntemleri ile dolaşımdaki otoantikorlar fiziksel olarak temizlenebilir ancak bu etki genellikle geçicidir ve yeniden antikor üretimi görülebilmektedir. Tüm bu tedaviler uygulanırken hastanın cilt bütünlüğü korunmasına, sekonder enfeksiyonların önlenmesine dikkat edilmelidir. Lezyonun yaygınlığı, komorbiditeler ve ilaçlara erişim durumu gibi faktörler göz önünde bulundurularak hastaya özgü tedavi belirlenmelidir.

2.4. Genetik Yatkınlık

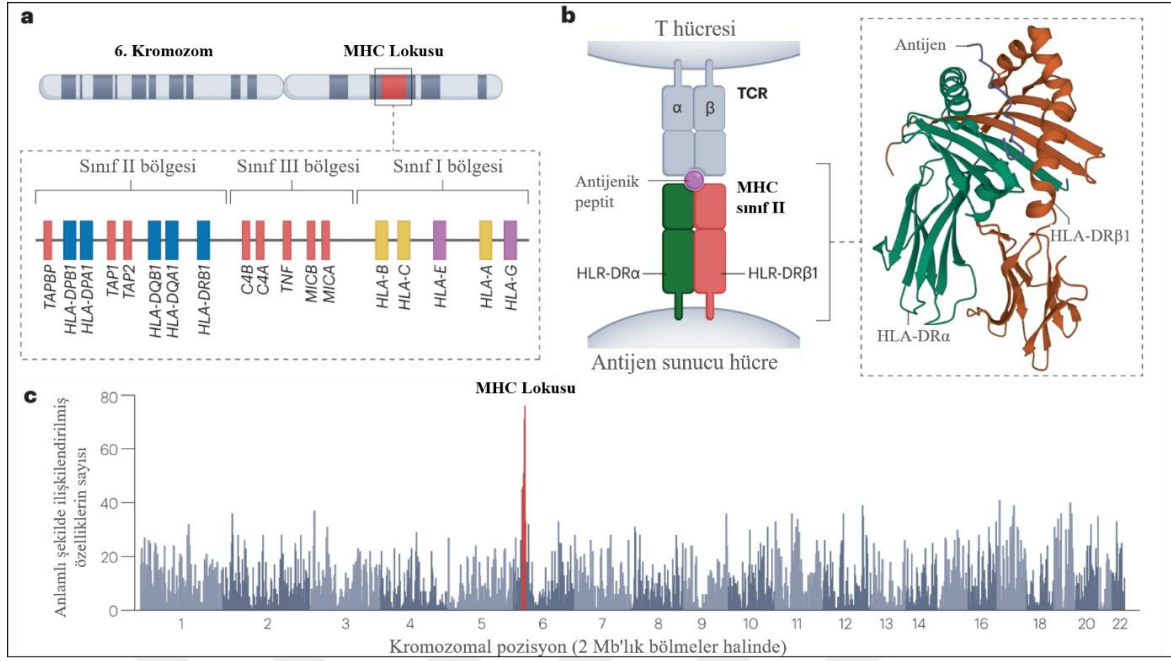
Genetik açıdan değerlendirildiğinde, PV’nin poligenik (multifaktöryel) bir yapıya sahip olduğu, hastalığın ortaya çıkışında birçok gen lokusu ve çevresel faktörlerin birlikte

rol oynadığı düşünülmektedir (72). Bu lokuslar arasında, özellikle majör histokompatibilite kompleksi (73) sınıf II genlerinde yer alan polimorfizmler, PV ile en güçlü ilişkilendirilen genetik etkenler arasında yer almaktadır (74-76).

2.4.1. Human Leukocyte Antigen (HLA)

İnsanda MHC, insan lökosit antijenleri (Human Leukocyte Antigen, HLA) olarak adlandırılır ve kromozom 6'nın kısa kolundaki 6p21.3 gen bölgesinde yer alır (73). MHC genlerini içeren HLA bölgesi, genomun en polimorfik kısmıdır. Bu genler, kalıtım yönünden klasik Mendelyen kalıtım modeliyle uyumludur ve hem maternal hem de paternal allellerin birlikte ve eşit düzeyde ifade edilmesiyle karakterize edilen kodominant ekspresyon gösterir (77). HLA sistemi, yapısal ve fonksiyonel olarak 3 sınıfa ayrılmaktadır (Şekil 4). MHC sınıf I molekülleri (HLA-A, -B, -C), hemen hemen tüm çekirdekli hücrelerde eksprese edilir ve endojen (hücre içi kaynaklı) antijenleri CD8⁺ sitotoksik T lenfositlerine sunarak sitozolik patojenlere karşı hücrel immün yanıtın oluşmasını sağlar. MHC sınıf II molekülleri (HLA-DR, -DQ, -DP) ise yalnızca dendritik hücreler, makrofajlar, aktive olmuş T hücreleri ve B lenfositler gibi profesyonel antijen sunucu hücrelerde ifade edilir, bu moleküller, ekzojen (hücre dışı kaynaklı) antijenleri CD4⁺ yardımcı T hücrelerine sunarak adaptif bağışıklık yanıtının başlatılmasında ve yönlendirilmesinde temel rol oynar. MHC sınıf III bölgesi ise doğrudan antijen sunumuna katılmamakla birlikte, kompleman sistemi proteinleri, bazı inflamatuvar sitokinler ve lökositlerin olgunlaşmasında görev alan çeşitli immün regülatör molekülleri kodlayarak bağışıklık yanıtını destekleyici işlev görür (78, 79).

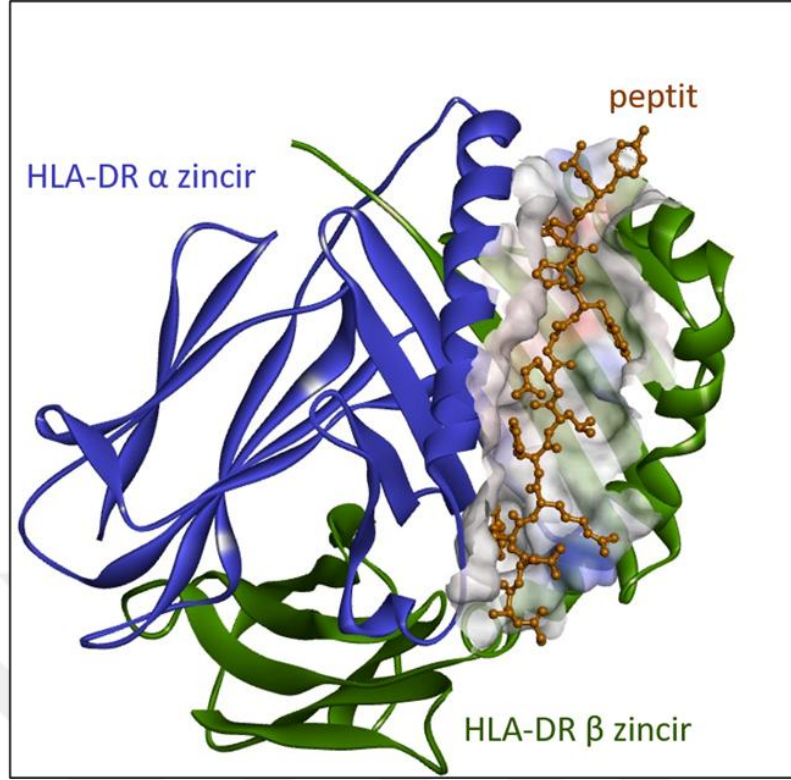
MHC sınıf I molekülleri, biri MHC sınıf I bölgesinde kodlanan α -zinciri, diğeri kodladığı gen kromozom 15'te yer alan β_2 -mikroglobulin olmak üzere iki polipeptit zincirinden oluşur. Bu moleküllerin antijen bağlayıcı oluğu her iki uçta kapalıdır ve bu durum, bağlanabilecek peptitlerin uzunluğunu genellikle 8-10 amino asitle sınırlar. Buna karşın, MHC sınıf II molekülleri, her ikisi de MHC bölgesinden kodlanan bir α -zinciri ve bir de β -zincirinden oluşur. Sınıf II moleküllerinin antijen bağlayıcı oluğu uçları açık bir yapıya sahiptir ve bu sayede daha uzun ve değişken boyutlardaki (genellikle 13-25 amino asit) peptitlerin bağlanmasına olanak tanır (Şekil 5) (80).



Şekil 4. İnsan kromozom 6'daki *HLA* genlerinin konumu, yapısı ve insandaki kalıtsal özelliklerle olan ilişkileri. a) İnsan MHC lokusunun şematik gösterimi, bölgenin üç ana sınıfını ve bunlar içindeki genleri vurgulamaktadır. Klasik sınıf I *HLA* genleri sarı, klasik sınıf II *HLA* genleri mavi, klasik olmayan *HLA* genleri mor ve *HLA* genleri dışındaki genler kırmızı ile gösterilmiştir. b) Antijenik peptidin, MHC sınıf II molekülü aracılığıyla T hücre reseptörü (TCR) ile etkileşime girerek T hücresine sunulması. Sağda, antijenik bir peptite bağlı *HLA-DRα* ve *DRβ1*'den oluşan MHC sınıf II kompleksinin protein yapısı gösterilmektedir (PDB (Protein data bank) numarası: 3L6F). c) UK Biobank ve FinnGen'deki 198 hastalık ve biyobelirteç arasında $p < 5 \times 10^{-8}$ olan 2 Mb genomik pencere içindeki herhangi bir varyantla ilişkili özelliklerin GWAS (genom çapında ilişkilendirme çalışmaları) ile bulunan sayısı. MHC bölgesi kırmızı pik ile vurgulanmıştır. (Sakaue'den 81).

2.4.2. *HLA-DRB1* Geni, Yapısı ve İmmünolojik Rolü

MHC bölgesi, genomun diğer bölgeleriyle karşılaştırıldığında, başta otoimmün ve enfeksiyöz hastalıklar olmak üzere birçok hastalıkla en güçlü genetik ilişkiyi gösteren bölge olarak öne çıkmaktadır. Bu bölge içerisinde yer alan MHC sınıf II genlerinden *HLA-DRB1*, yüksek derecede polimorfizme sahiptir ve farklı allellerinin çeşitli otoimmün hastalıklarla güçlü genetik ilişkiler gösterdiği bilinmektedir (82, 83). Örneğin, *HLA-DRB1*04* RA ile güçlü bir ilişki gösterirken (84), *HLA-DRB1*03:01* alleli sistemik lupus eritematozis (85) ve *HLA-DRB1*15:01* alleli de multipl skleroz (MS) (86) gibi başka otoimmün hastalıklarla ilişkilendirilmiştir.



Şekil 5. Sınıf II MHC proteini *HLA-DRB1*01:01*'in endojen bir peptit ile kompleks halinde bulunan kristal yapısı. α zinciri (mavi) ve β zinciri (yeşil), bağlanma oluğu şeklinde konumlanarak antijenik peptiti (kahverengi) stabilize eder. Peptit bağlanma bölgesi, T hücresi tanınmasında ve HLA-peptit özgülüğünde kritik rol oynar. Görselleştirme 1AQD PDB ID'li kristal yapı temel alınarak BIOVIA Discovery Studio Visualizer (87) yazılımının ücretsiz versiyonu kullanılarak oluşturuldu.

HLA-DRB1 geninin otoimmün hastalıklarla ilişkili bu polimorfik yapısının, PV gibi otoimmün deri hastalıklarında da önemli rol oynadığı bildirilmektedir. Bu doğrultuda, HLA polimorfizmlerine yönelik yapılan bir meta-analiz, *HLA-DRB1*04*, *HLA-DRB1*08* ve *HLA-DRB1*14* allellerinin PV ile anlamlı düzeyde ilişkili olduğunu ve bu allellerin hastalığa genetik duyarlılığı artırdığını ortaya koymuştur (88). Loiseau ve arkadaşları tarafından Fransa'da 37 PV, 20 PF hastası ve 106 sağlıklı kontrol birey üzerinde gerçekleştirilen çalışmada, *HLA-DRB1*0402*, *HLA-DRB1*1401/1404*, *HLA-DQB1*0302* ve *HLA-DQB1*0503* allellerinin PV gelişimiyle anlamlı düzeyde ilişkili olduğu gösterilmiş, bu allellerin PV'ye karşı genetik yatkınlık oluşturduğu sonucuna varılmıştır (75). Yan ve arkadaşları tarafından 18 çalışmanın dahil edildiği kapsamlı bir meta-analizde, PV hastalarında *HLA-DRB1*04*, *HLA-DRB1*08* ve *HLA-DRB1*14* allellerinin sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı derecede daha sık görüldüğü ve PV'ye karşı genetik yatkınlık oluşturduğunu desteklemektedir (88). Vodo ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği kapsamlı bir

derleme çalışmasında, İspanya, Fransa, İtalya, Slovakya, Kuzey Amerika ve Brezilya gibi farklı coğrafi bölgelerde yapılan araştırmalar incelenmiş ve bu çalışmalarda *HLA-DQB1*0503* ile *HLA-DRB1*0402* allellerinin, PV ile en sık ilişkilendirilen HLA sınıf II allelleri olduğu belirtilmiştir (89).

Ülkemizde Tunca ve arkadaşları tarafından yapılmış bir çalışmada, 25 PV hastası ile 113 sağlıklı transplant donörünün HLA sınıf II genotipleri karşılaştırılmış ve *HLA-DRB1*04* ve *HLA-DRB1*14* allellerinin PV hastalarında sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı şekilde daha yüksek frekansa sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, *HLA-DRB1*04/DQB1*03* ve *HLA-DRB1*14/DQB1*05* haplotiplerinin de hastalarda kontrollere göre anlamlı ölçüde daha sık olduğu saptanmıştır (90). Koç ve arkadaşları tarafından Güney Türkiye’de gerçekleştirilen çalışmada, HLA sınıf I allellerinden *HLA-A*11* ve *HLA-CW*01*, HLA sınıf II allellerinden ise *HLA-DRB1*14*, *HLA-DQB1*05* ve *HLA-DPB1*0401*’in PV hastalarında sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı derecede daha sık görüldüğü bildirilmiştir. Çalışmada ayrıca, *HLA-DRB1*14/DQB1*05* ve *HLA-A*11/DQB1*05* allel kombinasyonunun hastalık için predispozan (hastalık riskini artırıcı) etkide bulunduğu, buna karşılık *HLA-B*50/DQB1*02* allel kombinasyonunun ise koruyucu etkiye sahip olabileceği vurgulanmıştır (91). Ülkemizin doğu bölgelerinde Dere ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, 30 PV hastası ile 30 sağlıklı kontrol karşılaştırılmıştır. Çalışmada, HLA sınıf I allellerinden *HLA-A*03*’ün ve HLA sınıf II allellerinden *HLA-DRB1*04* ile *HLA-DRB1*14*’ün hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde daha sık görüldüğü bildirilmiştir (92). Üniversitemizin Tıp fakültesinden Altun ve arkadaşları tarafından yapılan vaka kontrol çalışmasında 49 PV hastası ve 50 sağlıklı kontrolde HLA sınıf I moleküllerinden HLA-E genotipleri incelenmiştir. Çalışmada, *HLA-E*0101/0103X* genotipinin erkek PV hastalarında, sağlıklı erkek kontrollere kıyasla daha sık görüldüğü, buna karşın, *HLA-E*0103X/0103X* genotipinin PV hastalarında kontrollere göre daha düşük sıklıkta bulunduğu bildirilmiştir. Ayrıca, *HLA-E*0101/0103* genotipinin mukokutanöz tip PV hastalarında, *HLA-E*0101/0101* genotipinin ise mukozal PV hastalarında, diğer PV alt tiplerine göre daha yüksek oranda bulunduğu saptanmıştır (93).

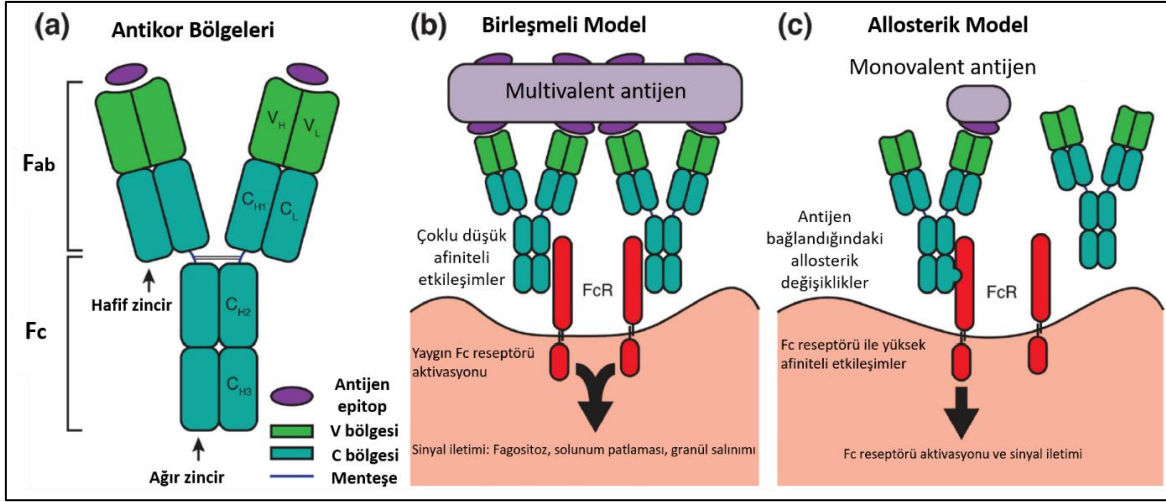
Çeşitli çalışmalar, PV hastaları ve sağlıklı bireylerde DSG3 peptitlerine karşı gelişen T hücre yanıtlarının, PV gelişiminden bağımsız olarak farklı HLA sınıf II allellerinin bu peptitleri sunabilmesine bağlı olduğunu güçlü biçimde ortaya koymaktadır (94). *HLA-DRB1*04:02* alleli gibi belirli HLA sınıf II moleküllerinin PV’ye yatkınlık oluşturmadaki

temel mekanizmalardan biri, bu allellerin DSG3 epitoplarını yüksek afiniteli şekilde sunabilmesidir. DSG3'ten türetilen peptitlerin, *HLA-DRB1*04:02* alleli taşıyan reseptörün peptit bağlayıcı oluğuna yüksek afiniteyle bağlanması, DSG3'e özgü CD4⁺ T hücrelerinin aktivasyonunu kolaylaştırarak, B hücrelerini anti-DSG3 otoantikorları üretmesi yönünde uyardığı ve PV riskini oldukça arttırdığı düşünülmektedir (95). Ayrıca, T hücre reseptörü (TCR) aracılığıyla endojen peptitlerin ayırt edilememesi ve merkezi toleransın bozulması da *HLA-DRB1*04:02*'nin PV ile ilişkisini açıklayan güçlü bir mekanizma olarak öne çıkmaktadır (26). Bir diğer görüş, Timus'ta gerçekleşen negatif seleksiyon sürecinde *HLA-DRB1*04:02* alleli taşıyan reseptörün, DSG3 gibi otoantijenlere ait peptitleri yeterli afinitede sunamadığında, Timus'ta gerçekleşen negatif seleksiyon sürecinin yetersiz kalabildiği, DSG3'e özgü otoreaktif CD4⁺ T hücrelerinin seleksiyondan kaçarak periferik dolaşıma geçip, periferdeki bu otoreaktif T hücrelerinin aktivasyonuna ve nihayet B hücrelerini anti-DSG3 otoantikorları üretmeleri yönünde uyararak PV patogeneze katkıda bulunabileceği şeklindedir (96).

*HLA-DRB1*04:02* alleli taşıyan reseptörün, DSG3 peptitleri ile yapısal uyumlu bağlanma ceplerine sahip olması, peptit sunumundaki seçiciliği açıklayan önemli bir faktördür. Özellikle peptit bağlanma bölgesindeki P4 cebinin yükü, MHC ile bağlantılı PV duyarlılığının kritik bir belirleyicisi gibi görünmektedir. Bu bağlanma farklılığı, MHC moleküllerinin 71. pozisyonundaki amino asit farkından kaynaklanır. *DRB1*04:04* molekülü bu pozisyonda pozitif yüklü bir Arjinin kalıntısı taşıdığından negatif yüklü peptitlerle elektrostatik etkileşimi kolaylaştırır. Buna karşılık, *DRB1*04:02* molekülünde bu pozisyonda negatif yüklü bir Glutamik asit bulunur ve bu yapı, pozitif yüklü peptitlere bağlanmayı tercih eder (26).

2.4.3. FCGR2B Geninin Yapısı ve İşlevi

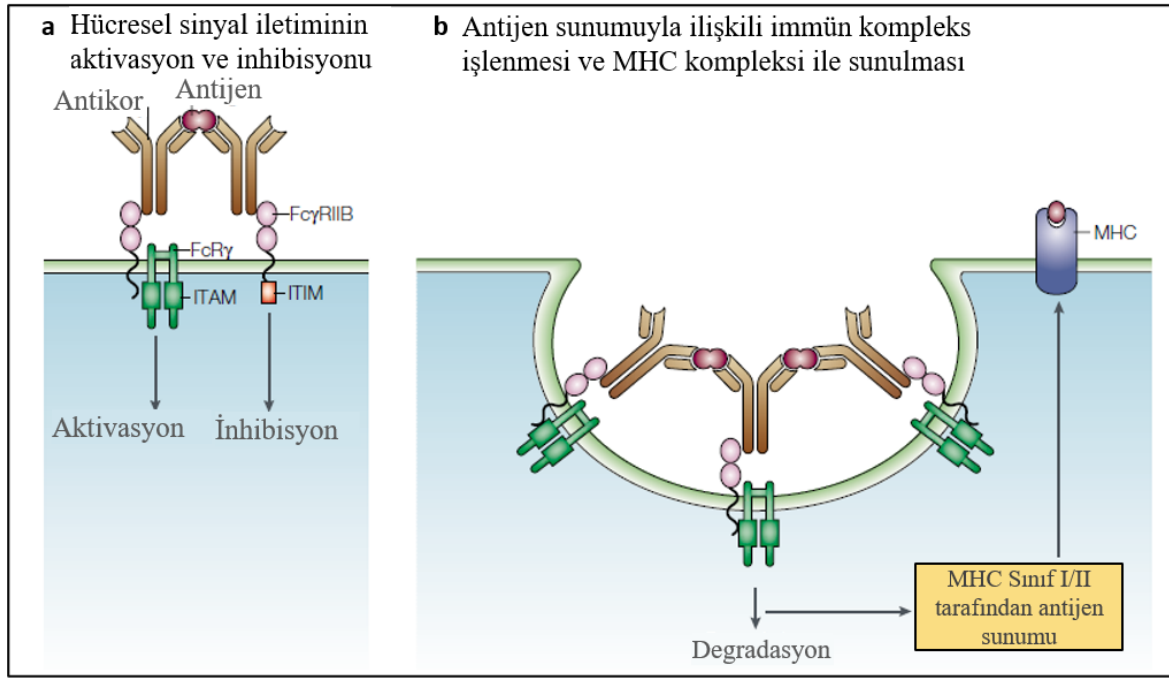
Bağışıklık sistemi hücreleri, antijenleri tanımak ve yanıt oluşturmak için çeşitli reseptörlerden yararlanır. Bu reseptörler arasında B hücresi reseptörleri (BCR), TCR ve Fc reseptörleri (FcR) yer alır. BCR ve TCR doğrudan antijenlerin özgül epitoplarını tanıırken, Fc reseptörleri antijenleri değil, bağlanmış antikorların Fc bölgesini tanıyarak immün komplekslere yanıt verilmesini sağlar (Şekil 6) (97).



Şekil 6. Antikor sinyalleme modellerinin karşılaştırması. (a) Antikor molekülünün sadeleştirilmiş bir şeması, H (ağır) ve L (hafif) zincirleri birlikte V (değişken) ve C (sabit) bölgeleri gösterilerek sunulmuştur. İmmüoglobulinler, iki antijen bağlayıcı Fab parçasına ve bir Fc parçasına ayrılabilir. Her Fab, tek bir antijen epitopu ile etkileşen bir bağlanma bölgesi içerir. (b) Antikor sinyalleme model, en az iki epitopa sahip multivalent (çoklu) antijenleri gerektirir. Antijen-bağlı immüoglobulinlerin yakınlığı, antikor Fc bölgeleri ile hücrel Fc reseptörleri (FcR) arasında birçok düşük afinite etkileşimin oluşmasına neden olur, bu da nihayetinde FcR aktivasyonuna ve sinyalleme yol açar. (c) Allosterik model, monovalent antijenlere bağlanmış antikorlar tarafından FcR aktivasyonunu açıklayabilir. Bu modelde, antijenin V bölgesine bağlanması, Fc bölgesine kadar yayılan konformasyonel değişikliklere neden olur ve bu da antikoru Fc reseptörüne olan bağlanma yeteneğini artırır. Birleşmeli ve allosterik antikor sinyalleme modellerinin birbirini dışlamamaktadır (Bowen'den 98).

Antikorlar, antijenlere bağlanmalarının ardından Fc bölgeleri aracılığıyla Fc reseptörlerine sinyal iletimini başlatır. Fc reseptörleri, bu etkileşim sonucunda çeşitli hücrel yanıtların başlatılmasını sağlar, bu yanıtlar arasında fagositoz, sitokin salınımı, ADCC (antikor-bağımlı hücrel sitotoksite) ve inflamatuvar yanıtlar bulunur. Bu süreçte rol alan moleküler mekanizmaların çeşitliliği, farklı model önerilerini beraberinde getirmiştir. Son yıllarda, antikor aracılı sinyal iletim mekanizmasını açıklamak amacıyla, biri birleşmeli (associative), diğeri ise allosterik olmak üzere iki temel model öne sürülmüştür (Şekil 6). Birleşmeli model, antikorların çoklu (multivalent) antijenlere bağlanması sonucu Fc reseptörlerinin kümelenerek immün sinyali başlattığını öne sürerken; allosterik model, antikoru yapısal değişiklikler aracılığıyla reseptör aktivasyonunu tetiklediğini savunur. Her iki model de Fc reseptörlerinin antikor aracılı sinyal iletimindeki rolünü farklı mekanizmalar üzerinden açıklamaya çalışmakta olup, bu durum immün yanıtın

karmaşık yapısı ve dinamikliğini yansıtmaktadır (98). Fc reseptörleri, bağlandıkları antikorun izotipine (IgG, IgA, IgE vb.) göre sınıflandırılır ve isimlendirilirler. Fc reseptörleri arasında özellikle immün yanıtın düzenlenmesinde kritik rol oynayan Fc gama reseptörleri (Fc γ R), IgG antikorlarının Fc bölgesini tanıyarak efektör hücrelerin aktivasyonunu ya da inhibisyonunu sağlar (99) (Şekil 7).

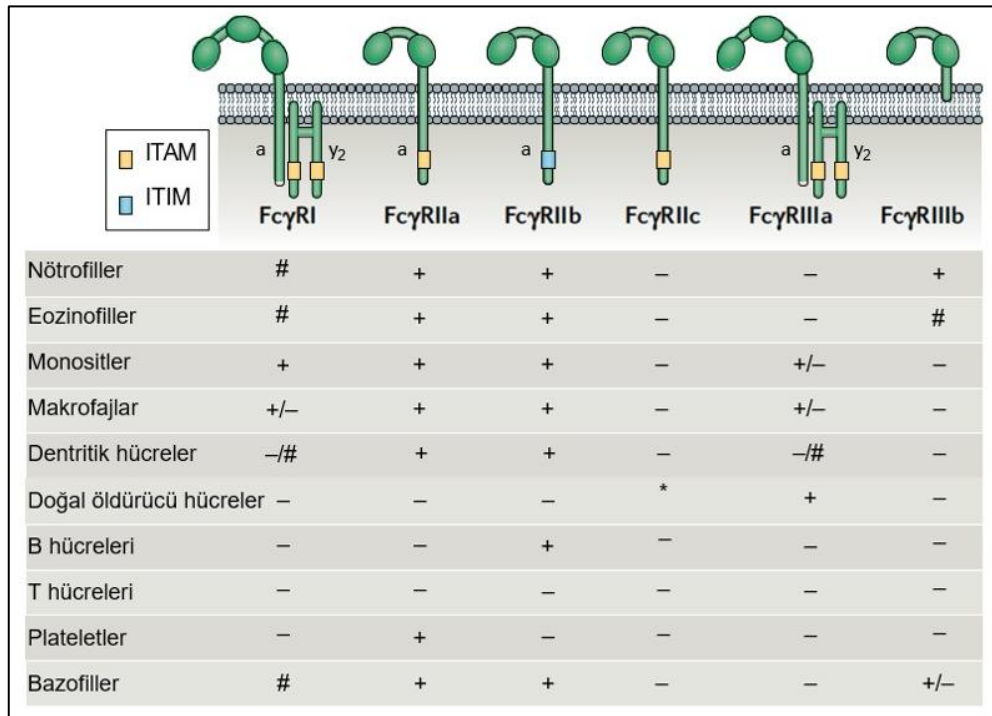


Şekil 7. Fc γ reseptörlerinin temel işlevleri. a) Hücrel sinyal iletiminin pozitif ve negatif düzenlenmesi. Fc reseptörleri, bağışıklık sisteminin çeşitli hücrelerinde eksprese edilir ve antijen-antikor kompleksleriyle etkileşim sonrasında immün yanıtların düzenlenmesinde merkezi bir rol üstlenir. FcR'lerinin, yaygın γ zinciri (Fc γ R) aracılığıyla başlattığı aktivasyon kaskadı, fagositoz, antikora bağlı hücrel sitotoksiste, süperoksit üretimi, sitokinlerin ve pro-inflamatuar mediatörlerin üretimi ile salınımına yol açan hücrel aktivasyonla sonuçlanır. Öte yandan, Fc γ RIIb reseptörü ITIM (immunoreceptor tyrosine based inhibitory motif) içerir ve ITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motif) aracılı aktivasyon kaskadını inhibe ederek hücrel aktivasyonu sınırlar. b) İmmün komplekslerin temizlenmesi ve MHC sınıf I ve sınıf II kısıtlı antijen sunumu. FcR aracılığıyla gerçekleşen fagositoz veya endositoz sonrasında, immün kompleksler hücre içinde etkin bir şekilde parçalanır. Bunu, antijenlerin MHC sınıf I ve sınıf II molekülleri aracılığıyla sunulması süreci takip eder (Takai'den 100).

Fc γ R ailesi, bağışıklık yanıtı üzerindeki etkilerine göre aktivatör ve inhibitör reseptörler olmak üzere iki ana gruba ayrılır. İnsanlarda, aktive edici Fc γ reseptörleri arasında Fc γ RI, Fc γ RIIa, Fc γ RIIc ve Fc γ RIIIa yer alır. Bu reseptörler, ITAM içerir (69). Bu

motifler, Fc γ RIIa ve Fc γ RIIc reseptörlerinde doğrudan ligand bağlayıcı α -zincirde, Fc γ RI ve Fc γ RIIIa reseptörlerinde ise onlara bağlanan γ -zincirde bulunur. ITAM motifleri, bu reseptörlerin hücre yüzeyinde doğru şekilde ifade edilmesi, membrana yerleşimi ve sinyal iletimi için gereklidir (Şekil 7). Fc γ RIIb, insanlardaki tek inhibitör Fc γ reseptörü olup, sitoplazmik bölgesinde bulunan ITIM yoluyla sinyal iletimini sağlar. Fc γ reseptörleri, hücre içi domainlerinde ITAM (69) veya ITIM bulunmasına bağlı olarak aktive veya inhibe edici olarak sınıflandırılır. Çoğu efektör lökosit, aktive edici ve inhibe edici Fc γ R kombinasyonlarını birlikte eksprese eder ve bu reseptörlerin zıt sinyal iletim aktiviteleri, IgG aracılı inflamasyonun sonucunu belirler. Fc γ R'ler, çeşitli lökosit alt grupları arasında bol miktarda eksprese edilse de inflamatuvar sinyaller ve hücre farklılaşma durumu, bu reseptörlerin ekspresyonunu modüle ederek, efektör lökositlerin IgG aracılı sinyallemeye yanıtını değiştirir.

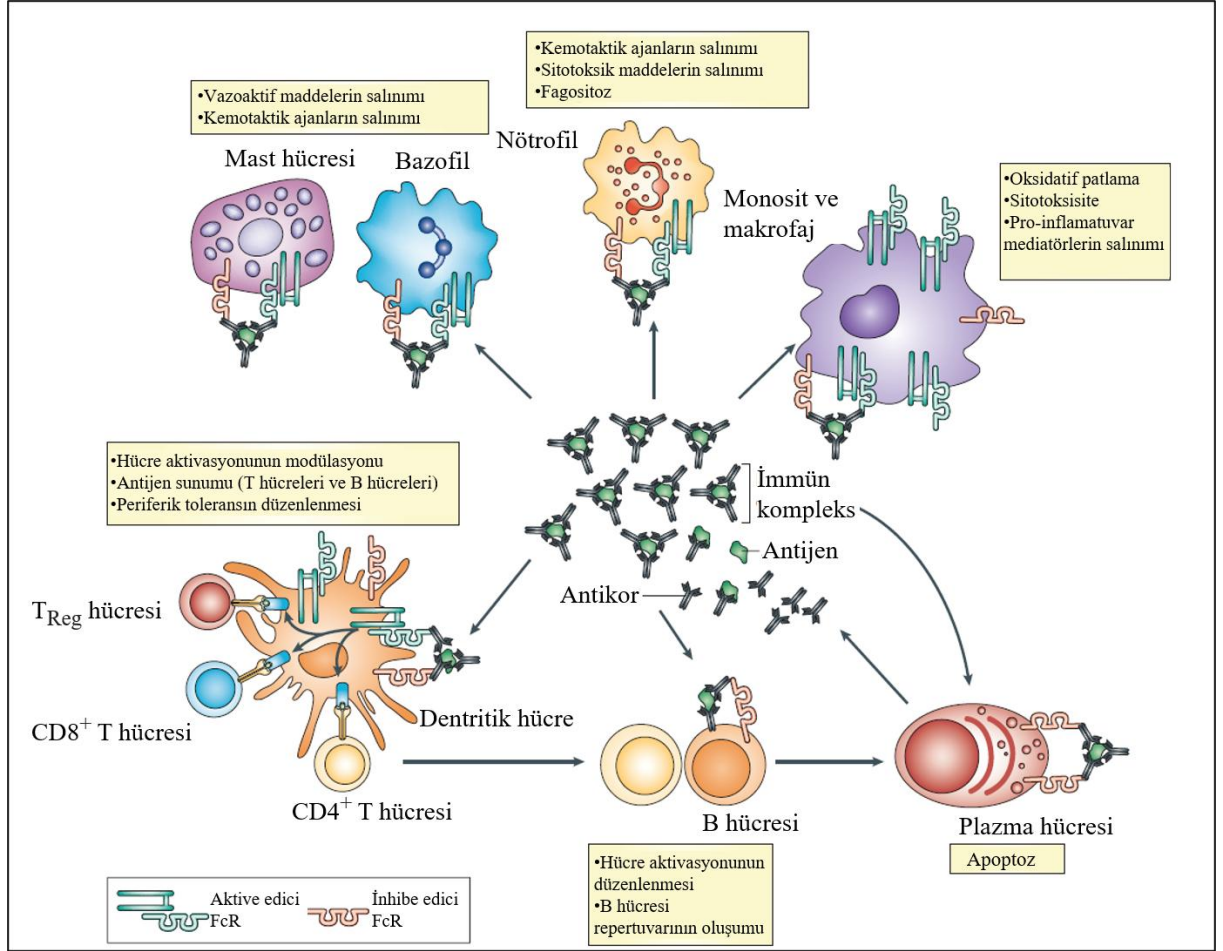
Aktive edici veya baskılayıcı Fc γ reseptörlerinden farklı olarak Fc γ RIIIb, glikozilfosfatidilinositol (GPI) çapalı bir protein olarak hücre yüzeyine tutunur ve bu nedenle doğrudan sinyal iletimi yapma yeteneğinden yoksundur. Fc γ RIIIb, aktive edici reseptörler özellikle Fc γ RIIa ile etkileşerek sinyalleri iletme kapasitesine sahiptir (Şekil 8).



Şekil 8. Fc γ R ailesine genel bakış ve insan efektör lökositler arasında ekspresyon örüntüleri. +: sürekli ekspresyon, -: ekspresyon yok, #: indüklenebilir ekspresyon, *: ekspresyon FCGR2C allelik durumuna bağlıdır (Bournazos'dan 101).

Aktivasyon sinyalleri, çoğu aktifleştirici Fc γ reseptörünün sitoplazmik bölgesinde doğrudan bulunan ya da ilişkili adaptör proteinler aracılığıyla taşınan ITAM motifleri üzerinden iletilir. Bu motifler, reseptörün IgG ile çapraz bağlanmasının ardından fosforilasyon yoluyla aktive olur ve Syk gibi tirozin kinazların bağlanmasına olanak tanır. Böylece fagositoz, sitokin salınımı ve ADCC gibi proinflamatuvar hücresel yanıtlar tetiklenir (102). Buna karşılık, insanlarda tanımlanmış tek inhibitör Fc γ reseptörü olan Fc γ RIIb, sitoplazmik kuyruğunda bulunan ITIM aracılığıyla negatif düzenleyici sinyaller iletir. Reseptör, IgG içeren immün komplekslerle çapraz bağlandıktan sonra ITIM motifindeki tirozin kalıntıları fosforillenir ve bu fosforilasyon, SH2 domain içeren tirozin fosfatazlardan SHP-1 ve SHP-2'nin bağlanmasını sağlar. Bu fosfatazlar, aktivatör reseptörler üzerinden iletilen ITAM aracılı sinyalleri baskılayarak hücre içi yanıtları inhibe eder. B hücre yanıtlarının bu şekilde düzenlenmesi, antikor üretimi ve inflamatuvar süreçlerin aşırı aktivasyonunu engeller, böylece bağışıklık sisteminde denge (homeostaz) ve toleransın sürekliliği sağlanır (Şekil 9) (103).

İmmün komplekslerin dendritik hücrelerdeki FcR'lere bağlanması, fagositoz ve antijenik peptitlerin MHC sınıf I ve sınıf II molekülünde sunulmasıyla sonuçlanır. Bu peptit-MHC komplekslerini tanıyan antijen-spesifik CD8⁺ sitotoksik T hücreleri, CD4⁺ yardımcı T hücreleri veya düzenleyici T hücreleri (T_{Reg} hücreleri) aktive olur ve virüsle enfekte olmuş hücrelerin öldürülmesi, bağışıklık tepkilerinin modülasyonu veya antijen-spesifik B hücreleri için T hücresi yardımı sağlanması gibi çeşitli efektör işlevlerine aracılık eder. B hücreleri, IgG'ye özgü tek inhibitör Fc reseptörü olan düşük afiniteli Fc γ RIIb'yi ifade eder ve bu reseptör, BCR sinyallemesinin negatif düzenlenmesini sağlar. Plazma hücrelerinde, antijen-spesifik antikorların üretildiği plazma hücrelerinde, BCR ekspresyonu çok düşük seviyededir ya da hiç yoktur. Bu nedenle, yalnızca inhibitör sinyal iletim yolları aktive olur.



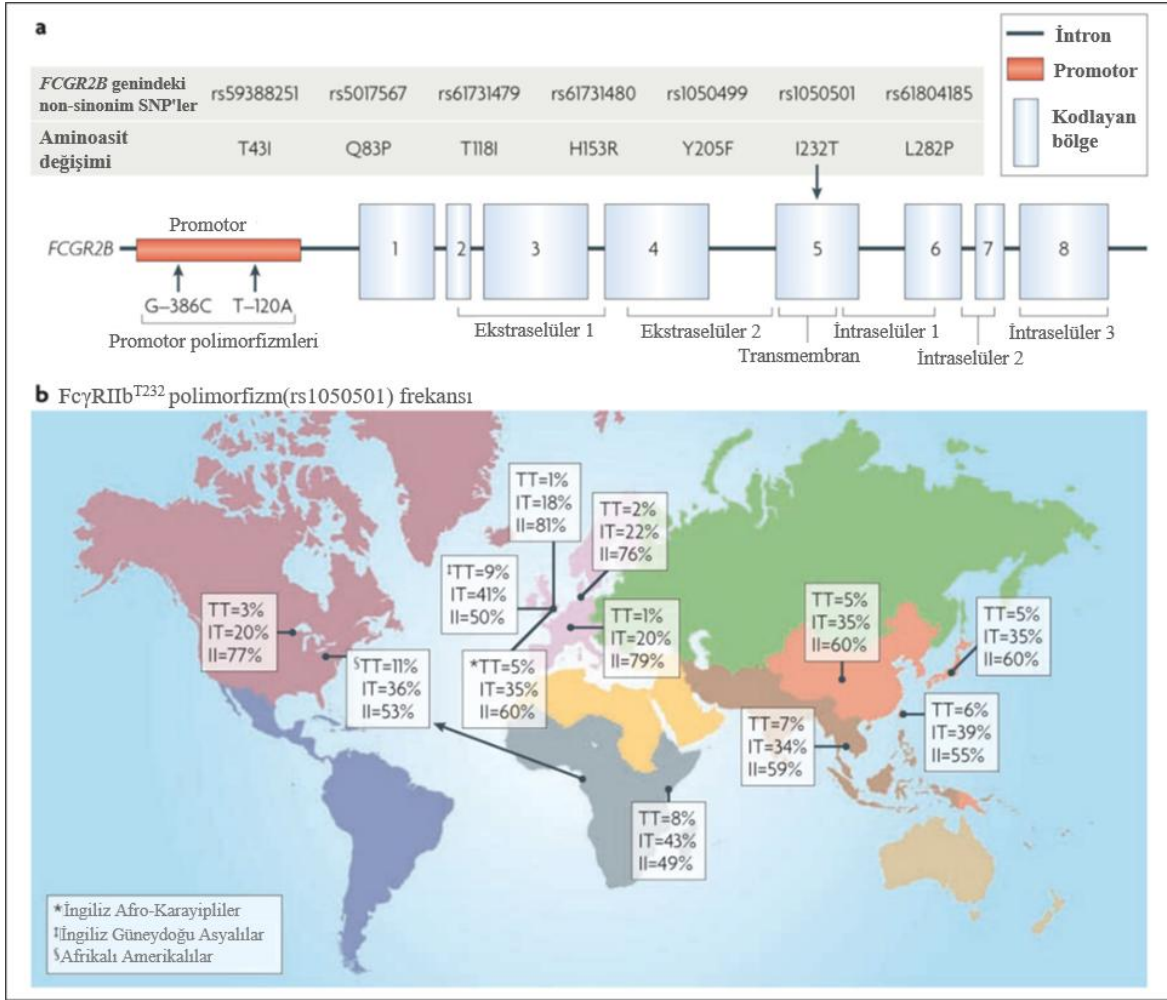
Şekil 9. İmmün komplekslerin düzenleyici işlevleri. Bağışıklık kompleksleri, bazofiller, mast hücreleri, nötrofiller, monositler ve makrofajlar gibi doğuştan gelen bağışıklık efektör hücreleri tarafından ifade edilen aktive edici FcR ve inhibitör FcR'lere bağlanır ve burada belirtilen efektör tepkilerini tetiklerler. (Nimmerjahn'dan 99).

FCGR2B geni, bağışıklık sistemine ait B lenfositleri, dendritik hücreler, makrofajlar ve plazma hücreleri gibi çeşitli hücre tiplerinde eksprese edilen inhibitör bir IgG reseptörü olan Fc gama reseptör IIb'yi (FcγRIIb) kodlamaktadır. FcγRIIb, immün yanıtın düzenlenmesinde ve özellikle otoimmün reaksiyonların baskılanmasında kritik rol oynayan tek inhibitör Fc reseptörüdür (99, 104).

İnsan *FCGR2B* geninde 7 non-sinonim (amino asit değişimine yol açan) SNP tanımlanmıştır (105, 106), ancak bunlardan yalnızca biri anlamlı sıklıkta görülmektedir. Bu non-sinonim değişim, ekzon 5'teki T>C dönüşümü (c.671T>C) olup, FcγRIIb proteininin transmembran bölgesinde, 232. pozisyonundaki İzolösin (I) amino asidinin yerini Treonin (T) almasına neden olur ve FcγRIIb^{T232} olarak adlandırılmaktadır. FcγRIIb^{T232} varyantını taşıyan proteinin bu bölgesi, hücre zarında sinyal iletimi açısından kritik öneme sahip olan lipid raft

(lipid salları) bölgelerine yerleşemez. Bu durum, LYN (Lck/Yes related Novel) tirozin kinaz tarafından gerçekleştirilen fosforilasyonun azalmasına, hücre içi sinyal iletiminde rol oynayan fosfoinositidleri modifiye ederek PI3K/Akt yolunu baskılayan SHIP (Src Homology 2 domain-containing Inositol-5-Phosphatase) proteinine anormal bağlanmaya (107) ve sonuç olarak, makrofaj ve B hücresi yanıtlarında FcγRIIb aracılığıyla sağlanan inhibisyonun zayıflamasına yol açar (108). FcγRIIb^{T232} varyantının homozigot görülme sıklığı, etnik gruplar arasında değişkenlik göstermektedir: Kafkasyalı bireylerde %1, Afrikalılarda %8-11 (109) ve Güneydoğu Asyalılarda %5-7 arasında bildirilmektedir (Şekil 10) (110). Kafkas popülasyonlarında nadirdir (%1 homozigotluk), ancak sıtmanın endemik olduğu Afrika ve Güneydoğu Asya gibi bölgelerde daha yaygındır (%5-11 homozigotluk). Bu durum, FcγRIIb fonksiyonundaki azalmanın sıtma hastalığına karşı bir hayatta kalım avantajı sağlamış olabileceğini düşündürmektedir. FcγRIIb-T232 varyantının, monosit ve makrofajlarda inhibe edici sinyal iletimini azaltarak sıtma enfeksiyonuna karşı daha güçlü bir inflamatuvar yanıtı teşvik ettiği ve böylece parazitin kontrolünü kolaylaştırdığı düşünülmektedir. Bu bulgu, kompleks otoimmüniteye yatkınlık oluşturan ve seçilim baskısıyla korunmuş bir bağışıklık polimorfizminin ilk örneklerinden birini oluşturabilir. Nitekim bu varyant, FcγRIIb'nin inhibisyon kapasitesini düşürerek B hücre aktivasyonu ve otoantikor üretimini artırmakta, bu da SLE gibi otoimmün hastalıklara yatkınlığa neden olabilmektedir (105). FcγRIIb^{T232} varyantı, sıtma enfeksiyonunda sağladığı koruyucu etkisi nedeniyle evrimsel olarak korunmuş olabilir ve SLE duyarlılığında gözlenen etnik farklılıkların açıklanmasına yönelik bir temel oluşturabilir. Bu durum, zararlı etkilerine rağmen popülasyonda yüksek frekansta korunabilen allelleri açıklayan dengeleyici seleksiyon (balancing selection) ve heterozigot avantajı olarak adlandırılan mekanizmalara örnek teşkil etmektedir (106, 109).

HLA-DRB1 geni, antijen sunumu ve CD4⁺ T hücre aktivasyonunda merkezi rol oynarken, *FCGR2B* geni, immün yanıtı baskılayan inhibitör bir Fc gama reseptörünü kodlaması ve SLE, RA gibi çeşitli otoimmün hastalıklarla ilişkilendirilmiş olması nedeniyle bu iki genin allelik varyantlarının PV etiyopatogenezinde de bir rolü olup olmadığı bu tez kapsamında sorulmuş ve genetik ilişki çalışması yöntemiyle araştırılmıştır.



Şekil 10. İnsan *FCGR2B* geni polimorfizmleri. a) *FCGR2B* geninin promotor ve kodlayan bölgelerinde çeşitli SNP'ler tanımlanmıştır. İnsan *FCGR2B* geninde yedi adet non-sinonim SNP tanımlanmıştır. Ekzon 5'te meydana gelen bu non-sinonim T>C (rs1050501), *FcγRIIb* proteininin transmembran bölgesinde 232. pozisyonda izolösin yerine treonin gelmesine neden olur (*FcγRIIb*^{T232}). Bu varyanta sahip reseptör lipid sallarından dışlanır ve belirgin şekilde bozulmuş inhibitör fonksiyona sahiptir. Bu varyantı kodlayan polimorfizm, Güneydoğu Asya ve Kafkas popülasyonlarında SLE için artmış duyarlılıkla ilişkilendirilmiştir. b) *FcγRIIb*^{T232} varyantının farklı popülasyonlardaki frekansı önemli ölçüde değişiklik gösterir. Kafkas popülasyonlarında nadirdir (%1 homozigotluk) ancak sıtmanın endemik olduğu Afrika ve Güneydoğu Asya gibi bölgelerde daha yaygındır (%5-11 homozigotluk). (Smith'den 103).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Çalışma Grubu

Bu çalışma, PV hastalığının genetik etiyolojisini aydınlatmaya yönelik olarak Karadeniz Teknik Üniversitesi (KTÜ) Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı ve Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı arasında BAP11-disiplinler arası iş birliği projesi (Proje No: TDI-2022-10157) kapsamında yürütülen araştırmanın bir devamı niteliğinde gerçekleştirildi. Olgu-kontrol desenli çalışmamıza KTÜ Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı polikliniklerinde klinik, histopatolojik, direkt immün floresan (55) ve/veya ELISA ile PV tanısı almış, Büllü Hastalıklar polikliniğinde takip edilen, yaşları 21 ile 81 arasında değişen, başka bir otoimmün hastalığı bulunmayan ve çalışmaya katılım için bilgilendirilmiş onam veren toplam 86 PV hastası dahil edildi. Kontrol grubu olarak, bilinen herhangi bir otoimmün hastalığı bulunmayan, yaş ve cinsiyet özellikleri çalışma grubuna benzer olan, çalışmaya katılım için bilgilendirilmiş onam veren (Ek 1) 200 sağlıklı bireyler dahil edildi. Her iki gruptaki katılımcılardan 5-9 ml periferik kan örneği EDTA'lı (etilen diamin tetra asetik asit) tüplere alındı. Bu çalışma, KTÜ Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 2022/51 protokol numarası (Ek 2) ile onaylanmıştır.

3.1.2. Kimyasallar

Agaroz	Lonza, 50004
Deoksinükleotit trifosfat (dNTPs)	NEB, N0446S
EDTA disodyum dihidrat ($\text{Na}_2 \text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	AppliChem, A2937.0500
Etidyum bromür ($\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{Br}$)	Sigma, E-7637
Etil alkol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)	AppliChem, A 8075,1000
Glasiyel asetik asit ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$)	Merck, 1.00056.2500
Kalsiyum klorür (CaCl_2)	Merck, 910TA654681
Orange G	Sigma, O-1625
Oligonükleotit primer	Macrogen
Potasyum bikarbonat (KHCO_3)	AppliChem, A2375.1000
Proteinaz K	Promega, V3021
Sephadex®G-50	Sigma, S5897-25G
Sodyum dodesil sülfat (SDS)	Merck, 822050
Sodyum klorür (NaCl)	Merck, 1.01540.0500
Tris-Base ($\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}_3$)	Sigma, T6791
Tris-HCl ($\text{C}_4\text{H}_{12}\text{ClNO}_3$)	Sigma, 93363

3.1.3. Kitler ve Enzimler

BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit	Thermo, 4337455
GoTaq® G2 Flexi DNA polymerase	Promega, M7808
One Lambda SSP® HLA Typing Kit	Thermo, RSSOX2B1
PCR Clean-up Gel Extraction Kit	Macherey-Nagel, 740609.50
POP-7™ Polymer	App. Biosystems, 4352759
100 bp plus DNA ladder	Thermo, SM0321

3.1.4. Diğer Sarf Malzemeler

Falkon tüp (50 mL)	Thermo, 339652
Mikrosantrifüj tüpler (1.5 mL)	Greiner bio-one, 616201
Pipet ucu (200 µL ve 1000 µL)	Axygene, 301-02-301
Pipet ucu (10 µL)	İsolab, I.00501001901

3.1.5. Cihazlar

Bulaşık makinesi	Bosch, Almanya
Buzdolabı (4 °C)	Bosch, Almanya
Buz makinesi	Hoshaizaki, Japonya
Derin dondurucu (-20 °C)	Bosch, Almanya
Distile su cihazı	GFL, Almanya
Genetik analizör cihazı	ABI 3130, ABD
Hassas terazi	OHAUS, ABD
Jel görüntüleme sistemi	Gel Logic 2000, ABD
Luminex LABScan3D	One Lambda, ABD
Manyetik karıştırıcı	IKA, ABD
Mikrodalga fırın	Arçelik MD554, Türkiye
Mikrosantrifüj	Thermo, ABD
Nanodrop® 2000 UV-Vis Spektrofotometre	Thermo, ABD
Otoklav	Tutnauer 3150 ELV, İtalya
Pastör fırını	Memmert, Almanya
pH metre	Hanna, Portekiz
Santrifüj	Eppendorf 5810, Almanya
Soğutmalı santrifüj	Eppendorf 5804R, Almanya
Thermal Cyclers	Techne TC512, İngiltere
Vorteks	IKA, ABD
Yatay elektroforez düzeneği	HU13, İngiltere
-80 °C dondurucu	Thermo Scientific, ABD

3.1.6. Solüsyonlar

3.1.6.1. DNA İzolasyonu Solüsyonları

Eritrosit Lizis Tamponu (105) (10X) (pH 7.4)

155 mM	NH ₄ Cl
10 mM	KHCO ₃
0.5 M	Na ₂ EDTA

Hazırlanışı:

82.9 g NH₄Cl, 10 g KHCO₃ ve 20 mL 0,5 M Na₂EDTA ddH₂O'da çözülerek pH 7.4'e ayarlandıktan sonra son hacim bir litreye tamamlandı. 121°C'de bir atm basınçta 20 dakika otoklavlandı. Oda sıcaklığında saklandı.

Nuclei Lizis Tamponu (NLB) (pH 8.2)

10 mM	C ₄ H ₁₁ NO ₃
400 mM	NaCl
2 mM	Na ₂ EDTA

Hazırlanışı:

1.21 g C₄H₁₁NO₃, 23.4 g NaCl ve 0.74 g Na₂EDTA ddH₂O'da çözülerek pH 8.2'ye ayarlandıktan sonra son hacim bir litreye tamamlandı. 121°C'de bir atm basınçta 20 dakika otoklavlandı. Oda sıcaklığında saklandı.

%10'luk (w/v) Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) Solüsyonu

Hazırlanışı:

10 g SDS ddH₂O ile 100 mL'ye tamamlanarak 68°C'de ısıtılarak çözüldü. Oda sıcaklığında saklandı.

Sodyum Klorür (6 M)

Hazırlanışı:

58.4 g NaCl ddH₂O ile 100 mL'ye tamamlanarak çözüldü. Oda sıcaklığında saklandı.

0.1 M Na₂EDTA (pH 8.0)

Hazırlanışı:

37,22 g Na₂EDTA ddH₂O'da çözülerek 10 M'lık NaOH ile pH 8.0'e ayarlanarak son hacim bir litreye tamamlandı. 121°C'de bir atm basınçta 20 dakika otoklavlandı.

Proteinaz K Seyreltme Tamponu (pH 8.0)

0.05 M C₄H₁₂N₄O₃

1 mM CaCl₂

Hazırlanışı:

0.788 g C₄H₁₂N₄O₃, 0.011 g CaCl₂ ddH₂O'da çözülerek pH 8.0'e ayarlandıktan sonra son hacim 100 mL'ye tamamlandı. 121°C'de bir atm basınçta 20 dakika otoklavlandı. Oda sıcaklığında saklandı.

Proteinaz K Çözeltisi (10 mg/mL)

Hazırlanışı:

100 mg liyofilize haldeki Proteinaz K, 10 mL Proteinaz K seyreltme tamponunda son konsantrasyon 10 mg/mL olacak şekilde buz üzerinde çözülerek hazırlandı. Proteinaz K çözeltisi 600 µL olacak şekilde 1.5 mL'lik mikrosantrifüj tüplere bölündü ve -20°C'de saklandı.

1 M Tris-HCl (pH 7.4)

Hazırlanışı:

157.6 g C₄H₁₂N₄O₃ ddH₂O'da çözülerek pH 7.4'ye ayarlandı. Son hacim deiyonize su ile bir litreye tamamlandı. 121°C'de 1 atm basınçta 20 dakika otoklavlandı.

TE Tamponu (pH 7.5)

10 mM C₄H₁₂N₄O₃

1 mM Na₂EDTA

Hazırlanışı:

0.394 g C₄H₁₂N₄O₃, 0.093 g Na₂EDTA ddH₂O'da çözülerek pH 7.5'e ayarlandı. Son hacim deiyonize su ile 250 mL'ye tamamlandı. 121°C'de bir atm basınçta 20 dakika otoklavlandı.

3.1.6.2. Agaroz Jel Elektroforezinde Kullanılan Solüsyonlar

Tris-Asetat-EDTA (TAE) Tamponu (50X, 1 L)

800 mL ddH₂O üzerine 242 g C₄H₁₁NO₃ (Mw: 121.14 g/mol), 100 mL 0.5 M EDTA (pH:8.0) ve 57.1 mL C₂H₄O₂ eklendikten sonra manyetik karıştırıcıda C₄H₁₁NO₃ çözünene kadar karıştırıldı. Sonrasında pH 8.5'e ayarlandı ve son hacmi ddH₂O ile bir litreye tamamlandı.

Etidyum Bromür (1 mL)

10 mL steril ddH₂O'de 0.1 g etidyum bromür çözüldü. Kullanılmak üzere ışıktan korunmasını sağlayacak koyu renkli bir plastik kap içinde muhafaza edildi.

Orange G DNA Yükleme Tamponu (10X, 25 mL)

20 mL ddH₂O'da 10 g süktroz çözüldü ve üzerine 0.05 g Orange G çözüldükten sonra hacim 25 mL'ye tamamlandı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu

Hasta ve kontrol grubunun bireylerinden 5-10 mL EDTA'lı tüpe periferik kan örneği alındı. Periferik kan örneklerinden genomik DNA (gDNA) izolasyonu “yüksek tuz konsantrasyonu ile çöktürme” (Salting Out) yöntemi ile gerçekleştirildi (111).

Toplam 2 gün süren protokolün 1'nci gününde öncelikle EDTA'lı tüplerdeki kan 50 mL'lik steril falkon tüplere alındı ve üzerine 40 mL eritrosit lizis tamponu ilave edilip çalkalanarak eritrositlerin parçalanması sağlandı. 2500 rpm'de 15 dakika 4°C'de santrifüj edildi ve süpernatant uzaklaştırıldı. Bu işlem üç kez tekrarlandıktan sonra süpernatant atıldı ve pellet üzerine 4 mL nükleer lizis tamponu ve 125 µL Proteinaz K (10 mg/mL) eklenerek pellet dağılana kadar çalkalandı. Homojen hale gelen karışımın üzerine %10'luk 425 µL SDS eklenerek hafifçe alt üst edildi ve 37°C'de bir gece etüvde inkübe edildi.

İkinci gün, etüvden çıkartılan falkonlar oda sıcaklığına gelene kadar bekletildikten sonra üzerlerine 1,4 mL 6 M NaCl eklenerek 15 s (saniye) boyunca hızlı bir şekilde çalkalandı. Sonra 4500 rpm'de 15 dk (dakika) santrifüj edildi. Süpernatant yeni bir falkona alındı ve yeniden 4500 rpm'de 15 dk santrifüj edilerek süpernatant tekrar yeni bir falkona alındı. Süpernatantın üzerine iki katı kadar %96'lık -20°C'den çıkarılan etil alkolden eklendi. Falkonlar yavaş hareketlerle alt üst edilerek gDNA'nın presipite olması sağlandı. Görünür hale gelen gDNA pipet ucuyla 1,5 mL'lik vida kapaklı tüpe alınarak üzerine 500 µL %70'lik etil alkol eklendi. Santrifüjde 45 sn spin atılarak gDNA'nın dibe çökmesi sağlandı. gDNA'ya dokunmadan etil alkol pipet ucu ile alındıktan sonra tüpün kapağı açık bırakılarak kalan alkolün uçmasına izin verildi. Alkol uçtuktan sonra gDNA'nın üzerine 500 µL TE tamponu eklenerek çözülmesi için önce oda sıcaklığında daha sonra 4°C de bekletildi. Etiketlenerek -80°C dondurucuda muhafaza edildi.

3.2.2. DNA Konsantrasyonlarının ve Çalışma Solüsyonlarının Ayarlanması

Muhafaza edilen gDNA'lardan çalışma solüsyonu hazırlamak için stok gDNA'dan 20µl alınarak 80µl enjeksiyonluk su ile seyreltildi. Seyreltilen gDNA'lar oda sıcaklığında 1 gün bekletildi ve 1µl alınarak Nanodrop® 2000 UV-Vis spektrofotometre'de 260/280 ile 260/230 absorbans değeri oranları kullanılarak saflığı ve konsantrasyonları ölçüldü. Konsantrasyonları belirlenen seyreltilmiş gDNA'lardan her bir örnek için 50 ng/µL konsantrasyonda çalışma solüsyonu hazırlandı.

3.2.3. DNA Varyasyon Analizi

3.2.3.1. *FCGR2B* geni Ekzon 5 için PCR primerlerinin tasarımı

FCGR2B geninin, yaklaşık 63 kb upstream (5' yönünde) konumda yüksek düzeyde dizi benzerliği gösterdiği bir paraloğu (*FCGR2C*- Fc Gamma Receptor IIC) olması nedeniyle, primer tasarımı süreci, yanlış geni çoğaltmamak için, klasik primer dizaynı yöntemlerinden oldukça farklı ve dikkatlice yürütüldü. Bu amaçla, her iki genin yüksek düzeyde dizi homolojisi gösteren bölgelerinin DNA dizisi UCSC (University of California, Santa Cruz Genome Browser) Genome Browser (48) üzerinden bir bütün olarak indirildi ve Clustal Omega (112) programı kullanılarak çoklu hizalama (multiple sequence alignment) işlemi gerçekleştirildi. İlgilenilen bölgenin özgül biçimde çoğaltılabilmesi için, yalnızca *FCGR2B* geninde yer alan ve *FCGR2C* geninde bulunmayan, yan yana en az 2 nükleotid farkı olan özgül sekanslar hedef alınarak primer çiftleri (forward ve reverse) tasarlandı. Bu şekilde tasarlanan primer çiftleri ayrıca UCSC Genom Browser sayfasında in-silico PCR aracı kullanılarak özgün bir şekilde istenilen bölgelerin çoğaltılıp çoğaltılmadığı test edildi. Test edilen primerlerin özgün bir şekilde *FCGR2B* geninin hedeflenen dizisini çoğalttığı tespit edildi. Buna göre Tablo 1'de verilen PCR ve Sanger dizileme primerleri tasarlandı.

Tablo 1. PCR ve Sanger dizileme için kullanılan primerler

Gen Adı	Pr no	Primer dizisi (5'-3')	Ürün uzunluğu (bp)	Amaç
FCGR2B	2281	TAGGACATAGCATTGGATGGG	3579	Ekzon 5
	2282	CAGAAACCAGCAGTAAGGATC		Long PCR
FCGR2B	2281	TAGGACATAGCATTGGATGGG	1235	Ekzon 5
	2236	AGCTCCCCTGCTCAGAGGCT		Nested PCR
FCGR2B	1914	ACAATACGGGCCTAGATCTGAA		Sekans primeri

3.2.3.2. *FCGR2B* Geni Üzerinde Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

FCGR2B geni ekzon 5 üzerindeki c.671T>C varyantına özgü primerler “Primer3” programı kullanılarak dizayn edildi (113). *FCGR2B* geninin ekzon 5 amplifikasyonu için dizayn edilen primerler kullanılarak Hot Start Long PCR reaksiyonu buz üzerinde hazırlandı. 25 µl son hacimde ve 1 reaksiyonluk karışım aşağıda belirtildiği şekilde, TC512 Thermal Cycler (Techne) cihazı kullanılarak aşağıda verilen koşullarda gerçekleştirildi.

<u>Long PCR Karışımı</u>	<u>1X (μL)</u>
5X LongAmp Taq Reaction Buffer	5
dNTP karışımı (10 mM)	0.75
Pr F (10 pmol/μL)	1
Pr R (10 pmol/μL)	1
LongAmp Taq DNA Polymerase	1
gDNA (25 ng/μL)	4
<u>dH₂O</u>	<u>12.25</u>
Toplam	25

<u>PCR Koşulları</u>	<u>Sıcaklık (°C)</u>	<u>Süre</u>	
Başlangıç denatürasyonu	96	2 dk	
Denatürasyon	96	30 s	} 7 Döngü
Bağlanma	70	3 dk	
Denatürasyon	96	30 s	} 25 Döngü
Bağlanma	65	3 dk	
Son sentez	65	10 dk	
Bekleme	10	∞	

Long PCR ürünü kalıp olarak kullanılarak yine Tablo 1'deki ilgili primerler kullanılarak nested PCR reaksiyonu, TC512 Thermal Cycler (Techne) cihazı kullanılarak aşağıda belirtildiği şekilde gerçekleştirildi.

<u>Nested PCR Karışımı</u>	<u>1X (μL)</u>
5X Colorless GoTaq® Reaction Buffer	5
MgCl ₂ (25 mM)	1.5
dNTP karışımı (10 mM)	0.6
Pr F (10 pmol/μL)	1
Pr R (10 pmol/μL)	1
GoTaq® DNA Polymerase (5 u/μL)	0.1
Long PCR ürünü (25 ng/μL)	1
<u>dH₂O</u>	<u>14.8</u>
Toplam	25

<u>PCR Koşulları</u>	<u>Sıcaklık (°C)</u>	<u>Süre</u>	
Başlangıç denatürasyonu	94	5 dk	
Denatürasyon	94	30 s	} 37 Döngü
Bağlanma	58	30 s	
Sentez	72	1 dk	
Son sentez	72	5 dk	
Bekleme	10	∞	

3.2.3.3. PCR Ürünlerinin Temizlenmesi

PCR reaksiyonu sonucunda elde edilen ampikonların 2 µL'si %2'lik agaroz jelde yürütülerek görüntülendi. Her bir birey için elde edilen ampikonlar ExS-Pure™ Enzymatic PCR Purification Kit (NimaGen) kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda enzimatik olarak TC512 Thermal Cycler (Techne) cihazı kullanılarak temizlendi.

<u>ExS-Pure Karışımı</u>	<u>1X (µL)</u>
ExS-Pure Buffer	1
Nested PCR ürünü	23
Toplam	24

<u>ExS-Pure Koşulları</u>	<u>Sıcaklık (°C)</u>	<u>Süre</u>
Enzimatik Temizleme	37	10 dk
İnkübasyon	90	1 dk

3.2.3.4. Döngüsel Dizileme Reaksiyonu (Cycle Sequencing)

Sanger dizileme reaksiyonu amplifikasyon primerleri (Tablo 1) ile BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kiti (114) kullanılarak aşağıda belirtilen karışım ve koşullarda 10 µl son hacimde gerçekleştirildi.

<u>Sanger Dizileme Reaksiyonu</u>	<u>1X (µL)</u>
Big Dye	1
Big Dye Buffer	1.5
Pr F (10 pmol/µL)	0.32
Temizlenmiş Nested PCR ürünü	5
dH ₂ O	2.18
Toplam	10

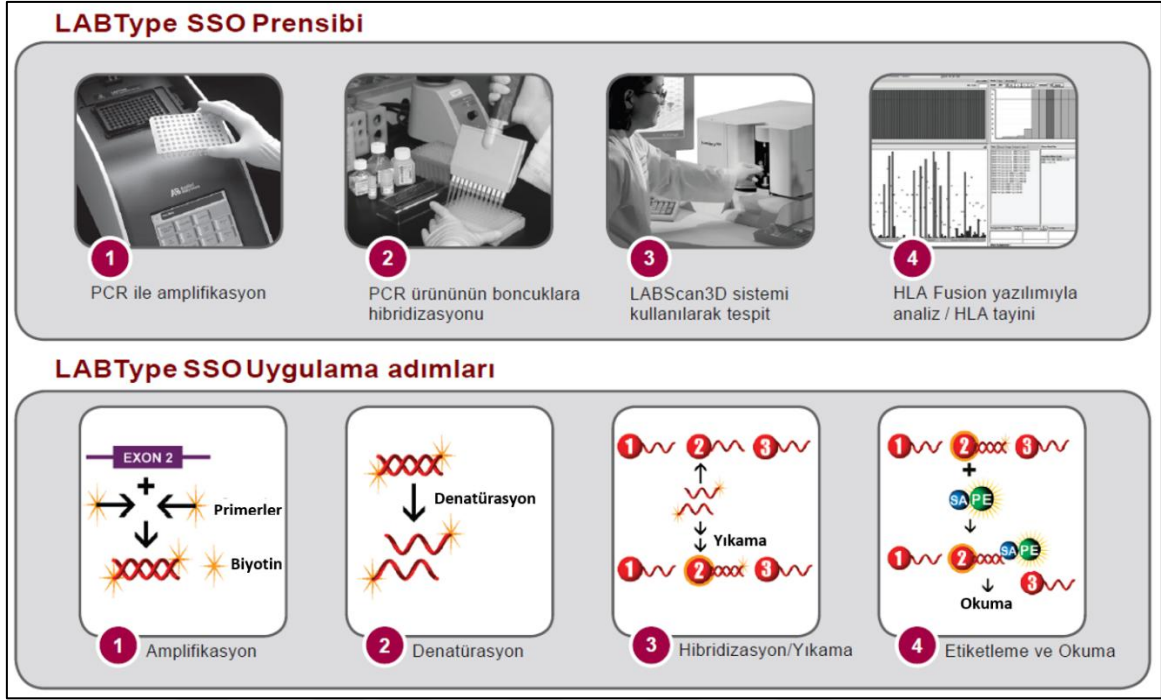
<u>Sanger Dizileme Reaksiyon Koşulları</u>	<u>Sıcaklık (°C)</u>	<u>Süre</u>
Başlangıç denatürasyonu	96	2 dk
Denatürasyon	96	15 s
Bağlanma	50	15 s
Sentez	60	2 dk
Son sentez	10	5 dk

} 25 Döngü

Sanger dizileme için yapılan PCR sonunda elde edilen ürünler Sephadex G-50 dekstran resin kullanılarak temizlendi ve 3130 Genetik Analizör (13) cihazına yüklendi. Dizileme sonrası sonuçlar “Chromas 2.6.6” ve “Sequencing Analyzing 5.3.1” programları kullanılarak analiz edildi ve ilgili genin referans dizisi ile karşılaştırıldı.

3.2.4. *HLA-DRB1* Geni Allelerinin PCR-SSOP-Luminex Yöntemiyle Belirlenmesi

Çalışma kapsamında, hasta ve kontrol bireylerinden izole edilen gDNA'lar *HLA-DRB1* genotiplerinin belirlenmesi amacıyla moleküler HLA tiplendirme işlemleri gerçekleştirildi. Bu analizler, hizmet alımı yöntemiyle, KTÜ Tıp Fakültesi Hematoloji Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirildi. *HLA-DRB1* allel tiplendirmesi PCR-SSOP (sekans spesifik oligonükleotid prob)-Luminex yöntemi ile gerçekleştirildi. (115). Bu yöntemin çalışma prensibi, hedef gen bölgesine özgül primerler kullanılarak PCR ile çoğaltılmış dizilerin (amplikonlar) diziye ve her bir HLA alleleine özgül kısa oligonükleotid problemler ile hibridizasyonuna dayanmaktadır. Elde edilen biyotinli PCR ürünleri, diziye özgü kısa oligonükleotid problemlerin bağlı olduğu, farklı spektral özelliklere sahip mikro boncuklarla hibridize edildi. Mikroboncuk-prob kompleksine hibridize olan biyotinli PCR ürünleri, streptavidin-phycoerythrin konjugatı ile floresan sinyal oluşturur ve bu durum, hedef allelin varlığını gösterir. Tiplendirme işlemi, çoklu analiz yapabilme özelliğine sahip Luminex LABScan3D (One Lambda) cihazı kullanılarak gerçekleştirildi ve veriler HLA Fusion yazılımı ile analiz edildi. Uygulamada, One Lambda SSP® HLA Typing (Thermo) ticari kiti tercih edildi (Şekil 11). Bu kit, insan HLA sınıf II bölgesindeki DRB1 lokusuna özgü allellerin belirlenmesini sağlayan, valide ve klinik çalışmalarda yaygın olarak tercih edilen bir sistem olup yüksek özgüllük ve güvenilirlik sunmaktadır (116).



Şekil 11. LABType SSO yöntemiyle HLA tiplemesinin temel prensibi ve uygulama adımları. SAPE: Streptavidin-R-Phycoerythrin Conjugate. One Lambda ürün tanıtım formundan (114) uyarlanmıştır.

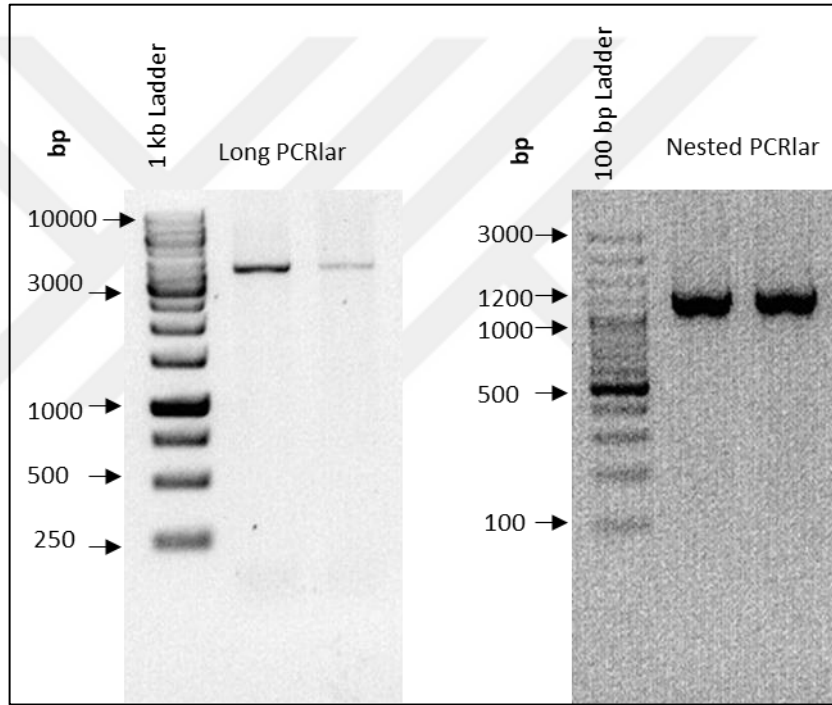
3.2.5. Biyoistatistiksel Analiz

Çalışmanın örneklem büyüklüğü planlanırken güç analizi, Power for Genetic Association Analyses (PGA, sürüm 2.0) yazılımı (117) kullanılarak gerçekleştirildi ve %80 istatistiksel güç elde edilebilmesi için gerekli hasta ve kontrol sayıları hesaplandı. *FCGR2B* geni c.671T>C varyantının kontrol ve PV gruplarındaki allel frekansları, Hardy-Weinberg dengesi açısından web tabanlı bir yazılımla (118) analiz edildi. *FCGR2B* geni c.671T>C varyantının kontrol ve PV gruplarındaki allel ve genotip frekansları ile *HLA-DRB1* allelleriyle ilişkin istatistiksel analizler, açık kaynaklı RStudio (v.2024.04.2) platformunda *dplyr*, *tidyr*, *ggplot2*, *writexl* ve *openxlsx* paketleri kullanılarak Pearson'ın Ki-kare (χ^2) bağımsızlık testi ve beklenen hücre sayısı <5 olan kontenjans tabloları için ise Fisher'in kesin (exact) testi ile gerçekleştirildi. Tüm analizlerde istatistiksel anlamlılık düzeyi, Benjamini-Hochberg yanlış keşif oranı (FDR: False Discovery Rate) düzeltmesi uygulandı ve düzeltilmiş p değeri (adj_p) <0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

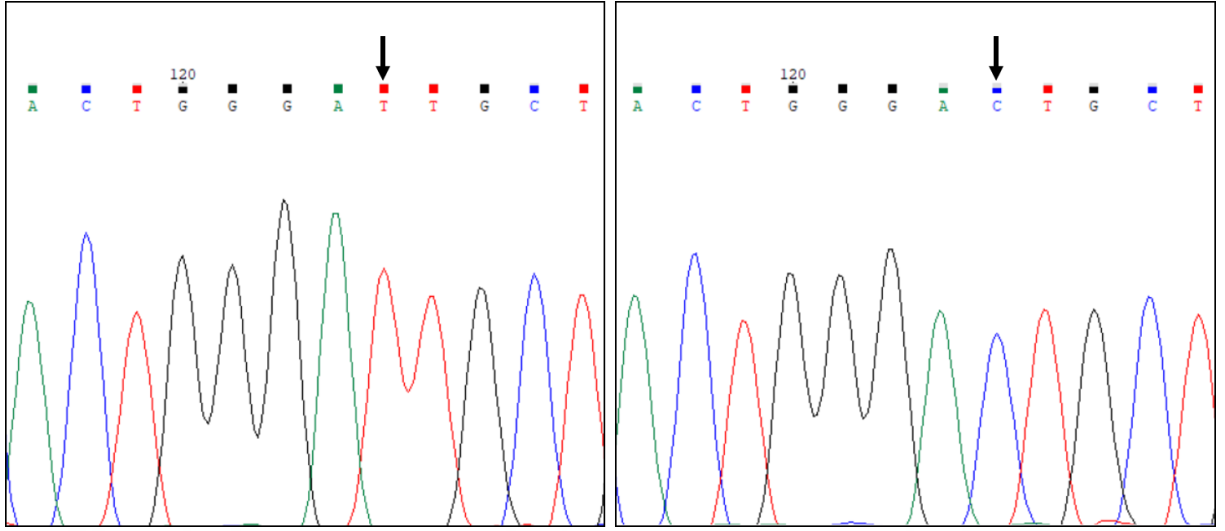
4. BULGULAR

4.1. *FCGR2B* Geni c.671T>C SNP Varyantının Moleküler Genotiplendirmesi

FCGR2B geni c.671T>C SNP varyantına yönelik yapılan PCR (Şekil 12) ve PCR ürünlerinin Sanger dizilemesiyle elde edilen genotiplendirme sonuçları Tablo 2 ve 3'te gösterilmektedir. Long PCR ve nested PCR ile çoğaltılan hedef bölge, agaroz jel elektroforezi ile doğrulandı (Şekil 12) ve ardından Sanger dizileme yöntemiyle analiz edildi. Elde edilen dizileme verilerine ait örnek bir kromatogram görüntüsü Şekil 13'te gösterilmektedir.



Şekil 12. *FCGR2B* geni c.671T>C SNP varyantı için yapılan PCR ürünlerinin agaroz jel görüntüleri. Long PCR (3579 bp, solda) ve nested PCR (1235 bp, sağda)



Şekil 13. c.671T>C varyantının Sanger dizi kromotogram örnekleri. Soldaki kromotogram referans alleli taşıyan bireye (T/T), sağdaki kromotogram ise aynı pozisyonda (C/C) varyantı taşıyan bireye aittir.

PV ve kontrol gruplarındaki genotip frekansları ayrı ayrı tablolar halinde Tablo 2 ve Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 2. PV hasta grubunda c.671T>C varyantı için yapılan genotiplendirme sonuçları

HASTA DNA No (DB-)	Genotip		HASTA DNA No (DB-)	Genotip		HASTA DNA No (DB-)	Genotip		HASTA DNA No (DB-)	Genotip	
2574	T	T	2641	C	C	3060	T	T	3223	T	T
2576	T	T	2642	T	C	3062	T	T	3224	T	T
2577	T	C	2643	T	T	3072	T	T	3225	T	T
2578	T	T	2644	T	C	3110	T	T	3227	T	T
2579	T	T	2662	T	C	3111	T	T	3228	T	C
2580	T	T	2670	T	T	3112	T	C	3229	T	T
2586	T	T	2686	T	T	3123	T	T	3230	T	T
2587	T	C	2695	T	T	3196	T	T	3231	T	T
2588	T	T	2704	T	T	3197	T	T	3232	T	T
2590	T	C	2705	T	T	3199	T	C	3233	T	T
2591	T	C	2710	T	T	3200	T	C	3234	T	T
2592	T	T	2777	C	C	3201	T	T	3235	T	T
2593	T	C	2778	T	T	3202	T	C	3236	T	C
2594	T	T	2788	T	T	3205	T	T	3237	T	T
2596	T	T	2802	T	T	3209	T	T	3239	T	T
2619	T	T	2807	C	C	3210	T	T	3249	T	T
2626	T	T	2827	T	T	3211	T	T	3250	T	T
2627	T	T	2828	T	T	3212	T	C	3251	T	T
2628	T	T	2971	T	T	3218	T	T	3259	T	C
2638	T	T	2973	T	T	3219	T	C	3260	T	T
2639	T	T	2984	T	T	3220	T	T			
2640	T	T	2986	T	T	3221	T	T			
Hasta (n)		T	C	T/C	C/C	T/T					
Genel Toplam	86	149	23	17	3	66					

Referans allel T, alternatif C alleli kırmızıyla gösterildi.

Tablo 3. Kontrol grubunda c.671T>C varyantı için yapılan genotiplendirme sonuçları

DNA (DB-)	Genotip		DNA (DB-)	Genotip		DNA (DB-)	Genotip		DNA (DB-)	Genotip		DNA (DB-)	Genotip	
447	T	T	898	T	C	1092	T	T	2847	T	T	846	T	T
450	T	C	900	T	T	1097	T	T	2848	T	C	848	T	T
452	T	T	901	T	T	1098	T	T	2849	T	T	855	T	T
455	T	T	902	T	T	1102	T	T	2850	T	T	870	T	C
464	T	T	903	T	C	1103	T	T	2851	T	T	885	T	T
498	T	T	904	T	T	1112	T	T	2852	C	C	888	T	C
502	T	T	909	T	T	1113	T	T	2853	T	T	892	T	T
558	T	T	912	T	C	1116	T	T	2854	T	T	895	T	T
560	T	T	918	T	T	1127	T	T	2855	T	C	1060	T	T
563	T	T	919	T	T	1132	T	T	2856	T	T	1062	T	T
566	T	T	922	T	T	1133	C	C	2857	T	T	1067	T	T
580	T	C	923	T	T	1134	T	T	2858	T	T	1068	T	T
587	T	T	924	T	T	1141	T	T	2859	T	T	1073	T	T
597	T	T	925	T	T	1143	T	T	2860	T	C	1077	T	C
598	T	T	926	T	T	1144	T	C	2861	T	T	1081	T	T
606	T	T	962	T	T	1150	T	T	2862	T	T	1090	T	T
617	T	T	963	T	T	1151	T	T	2863	T	T	1535	T	T
619	T	T	964	T	T	1157	T	C	2864	T	T	1548	T	T
627	T	T	965	T	T	1161	T	T	2865	T	T	1574	T	T
662	T	T	966	T	C	1163	T	T	2887	T	T	1575	T	T
663	T	C	990	T	T	1166	T	T	2888	T	T	2843	T	T
665	T	T	999	T	T	1171	T	T	2889	T	T	2844	T	T
691	T	T	1002	T	T	1174	T	T	2890	T	T	2845	T	C
729	T	T	1003	T	T	1248	T	T	2891	T	T	2846	T	C
730	T	T	1004	T	C	1258	T	T	2919	T	T	2985	T	T
733	T	T	1005	T	T	1259	T	T	2920	T	T	2987	T	T
735	T	C	1006	T	T	1260	T	T	2921	T	T	2995	T	C
740	T	T	1007	T	T	1261	T	T	2922	T	C	2997	T	T
746	T	T	1009	T	T	1262	T	T	2923	T	T	3198	T	T
747	T	T	1012	T	T	1263	T	T	2924	T	T	3204	T	T
760	T	T	1013	T	T	1264	C	C	2925	T	C	3206	T	T
762	T	T	1015	T	T	1265	T	T	2926	T	T	3207	T	T
806	T	C	1027	T	T	1374	T	C	2929	T	T	780	T	T
812	T	C	1030	T	T	1380	T	T	2930	T	T	805	T	T
814	T	T	1045	T	T	1389	T	T	2931	T	T	1020	T	C
822	T	T	1049	T	T	1393	T	T	2932	T	T	1023	T	C
834	T	T	1053	T	T	1438	T	T	2933	T	T	1266	T	T
840	T	T	1054	T	C	1502	T	C	2934	T	T	1267	T	T
841	T	T	1057	T	T	1521	T	T	2972	T	T	2927	T	T
843	T	T	1059	T	T	1534	T	T	2974	C	C	2928	T	T
Kontrol (n)			T		C	T/C	C/C	T/T						
Genel Toplam			200		363	37	29	4	167					

4.1.1 c.671T>C Varyantı için Yapılan Allel ve Genotip Test İstatistikleri

c.671T>C varyantı için yapılan genotiplendirme sonucu elde edilen allel verilerinin test istatistiklerine göre PV hastaları ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunamadı (Tablo 4).

Tablo 4. PV hastası ve kontrollerdeki c.671T>C değişiminin allel frekansları ve Pearson's Ki-kare test istatistikleri

Allel	Kontrol (n)	PV (n)	p	adj_p	OR	%95 CI
C	37	23	0.14	0.14	1.51	0.87-2.63
T	363	149	0.14	0.14	0.66	0.37-1.14

n: allel sayısı, adj_p: düzeltilmiş p değeri, OR: risk oranı, CI: güven aralığı

Yine c.671T>C varyantı için yapılan genotiplendirme sonucu elde edilen genotip frekanslarının test istatistikleri de iki grup arasında anlamlı bir fark olmadığını göstermiştir (Tablo 5).

Tablo 5. PV hastası ve kontrollerdeki c.671T>C değişiminin genotip frekansları ve Fisher'in kesin test istatistikleri

Genotip	Kontrol (n)	PV (n)	p değeri	adj_p	OR	%95 CI
C/C	4	3	0.43	0.43	1.77	0.38-8.08
C/T	29	17	0.29	0.43	1.45	0.75-2.81
T/T	167	66	0.18	0.43	0.65	0.34-1.21

n: örneklem sayısı, adj_p: düzeltilmiş p değeri, OR: risk oranı, CI: güven aralığı

Bulgularda yer alan Tablo 4'te Pearson's Ki-kare testi kullanılırken, Tablo 5'teki veriler için Fisher'in kesin testi kullanıldı. Bunun temel nedeni, Tablo 5'teki bazı hücrelerde beklenen gözlem sayılarının 5'in altında olmasıdır. Pearson's Ki-kare testi, teorik olarak her hücrede yeterli sayıda gözlem bulunmasını gerektirirken, bu koşul sağlanmadığında testin geçerliliği azalmakta ve hata payı artmaktadır. Fisher'in kesin testi ise küçük örneklem büyüklükleri veya düşük frekanslı hücreler söz konusu olduğunda daha güvenilir sonuçlar sunar. Bu nedenle, istatistiksel değerlendirmenin doğruluğunu ve güvenilirliğini korumak amacıyla Tablo 5'te Fisher'in kesin testi kullanıldı.

4.2. HLA-DRB1 Genotip Dağılımı

PV hastası ve kontrollerde *HLA-DRB1* geninin genotiplendirilmesinden elde edilen sonuçlar Tablo 6 (PV hasta) ve Tablo 7 (kontrol) de gösterilmektedir. Sunulan tablolardan da açıkça görülebileceği üzere, *HLA-DRB1*04:02* alleli PV hastalarında, kontrol grubuna kıyasla belirgin şekilde daha yüksek frekansta gözlemlendi. Buna karşılık, *HLA-DRB1*16:01* alleli kontrol grubunda PV hastalarına göre daha yüksek frekansta gözlemlendi.

Tablo 6. PV hastalarında *HLA-DRB1* allel tiplendirme sonuçları

Hasta DNA No	HLA DRB1* Genotip	Hasta DNA No	HLA DRB1* Genotip	Hasta DNA No	HLA DRB1* Genotip	Hasta DNA No	HLA DRB1* Genotip
DB-2574	04:02 04:03	DB-2644	04:02 14:01	DB-3112	11:04 11:04	DB-3233	07:01 14:01
DB-2576	04:02 15:01	DB-2662	07:01 11:04	DB-3123	04:02 08:03	DB-3234	04:02 14:01
DB-2577	04:02 14:01	DB-2670	04:02 11:04	DB-3196	04:02 14:01	DB-3235	04:02 10:01
DB-2578	08:04 10:01	DB-2677	04:02 14:01	DB-3197	07:01 15:02	DB-3236	11:01 15:01
DB-2579	04:02 13:02	DB-2686	04:02 11:01	DB-3199	04:01 14:04	DB-3237	03:01 14:01
DB-2580	03:01 04:02	DB-2695	04:02 14:01	DB-3200	04:02 13:01	DB-3239	03:01 04:02
DB-2586	04:02 11:04	DB-2704	04:02 07:01	DB-3201	04:02 14:01	DB-3249	04:02 14:01
DB-2587	08:03 14:01	DB-2705	13:01 14:01	DB-3202	04:02 04:02	DB-3250	01:01 04:02
DB-2588	11:01 11:04	DB-2710	07:01 07:01	DB-3205	03:01 04:02	DB-3251	04:02 14:01
DB-2590	14:01 15:01	DB-2777	04:02 04:02	DB-3210	04:02 13:02	DB-3259	04:02 14:01
DB-2591	01:01 04:02	DB-2778	04:02 13:02	DB-3211	04:02 11:04	DB-3260	04:02 04:04
DB-2592	13:02 14:01	DB-2788	01:01 04:02	DB-3212	04:02 14:04		
DB-2593	04:02 04:03	DB-2802	04:03 13:01	DB-3218	04:02 07:01		
DB-2594	01:02 04:02	DB-2807	04:02 14:01	DB-3219	01:01 04:02		
DB-2596	04:02 13:01	DB-2827	04:02 08:03	DB-3220	04:02 11:03		
DB-2619	11:04 11:11	DB-2828	11:01 14:01	DB-3221	04:02 13:02		
DB-2626	04:02 14:01	DB-2971	01:02 14:04	DB-3223	04:02 04:03		
DB-2627	04:02 04:04	DB-2973	04:02 14:01	DB-3224	01:01 14:01		
DB-2628	08:01 14:01	DB-2984	04:02 11:04	DB-3225	04:02 14:01		
DB-2638	04:02 04:04	DB-2986	03:01 14:01	DB-3227	04:02 13:02		
DB-2639	04:02 14:01	DB-3060	04:02 14:01	DB-3228	04:02 14:01		
DB-2640	04:02 04:03	DB-3062	04:02 11:01	DB-3229	04:02 13:01		
DB-2641	04:02 15:01	DB-3072	04:02 15:01	DB-3230	04:02 13:01		
DB-2642	04:02 04:03	DB-3110	04:02 11:01	DB-3231	01:01 04:02		
DB-2643	04:02 14:01	DB-3111	04:04 14:01	DB-3232	04:02 14:01		

*HLA-DRB1*04:02* yeşil, *14:01* mavi olarak işaretlendi. Genotiplerden *04:02/04:02* sarı, *04:02/14:01* turuncu renkle vurgulandı.

Tablo 7. Kontrollerde *HLA-DRB1* allel tiplendirme sonuçları

KONTROL DNA No	HLA DRB1*		KONTROL DNA No	HLA DRB1*		KONTROL DNA No	HLA DRB1*		KONTROL DNA No	HLA DRB1*	
	Genotip			Genotip			Genotip			Genotip	
DB-447	15:01	15:01	DB-898	07:01	11:01	DB-1092	13:03	16:01	DB-2847	07:01	15:01
DB-450	11:04	11:04	DB-900	11:01	14:01	DB-1097	04:01	04:08	DB-2848	11:01	13:01
DB-452	11:01	14:01	DB-901	09:01	11:04	DB-1098	04:02	16:01	DB-2849	03:01	13:01
DB-455	07:01	07:01	DB-902	13:01	13:01	DB-1102	04:01	11:01	DB-2850	04:02	11:04
DB-464	11:04	11:04	DB-903	11:01	16:01	DB-1103	11:01	15:02	DB-2851	01:01	03:01
DB-498	03:01	14:01	DB-904	11:04	11:04	DB-1112	15:01	16:01	DB-2852	11:01	11:01
DB-502	07:01	07:01	DB-909	15:01	15:01	DB-1113	03:01	09:01	DB-2853	04:03	15:01
DB-558	11:04	11:04	DB-912	04:01	13:02	DB-1116	04:04	07:01	DB-2854	15:01	16:01
DB-560	11:03	11:03	DB-918	03:01	04:04	DB-1127	15:01	15:01	DB-2855	04:03	14:01
DB-563	11:03	11:04	DB-919	07:01	13:02	DB-1132	04:01	10:01	DB-2856	11:01	15:01
DB-566	03:01	11:01	DB-922	01:01	04:01	DB-1133	09:01	11:04	DB-2857	04:02	15:01
DB-580	11:04	11:04	DB-923	15:01	15:01	DB-1134	13:03	16:01	DB-2858	04:02	11:04
DB-587	11:04	11:04	DB-924	04:01	11:01	DB-1141	09:01	13:01	DB-2859	01:01	11:01
DB-597	11:04	11:04	DB-925	04:04	13:01	DB-1143	13:01	15:02	DB-2860	14:01	15:01
DB-598	04:07	13:02	DB-926	04:01	08:03	DB-1144	15:02	15:02	DB-2861	04:03	07:01
DB-606	11:01	13:05	DB-962	04:05	10:01	DB-1150	01:02	11:03	DB-2862	04:03	07:01
DB-617	07:01	11:01	DB-963	03:01	04:05	DB-1151	11:03	13:01	DB-2863	13:01	13:03
DB-619	11:04	11:04	DB-964	10:01	14:01	DB-1157	12:01	15:02	DB-2864	13:01	13:03
DB-627	12:01	13:01	DB-965	01:01	15:02	DB-1161	04:08	13:01	DB-2865	11:01	14:01
DB-662	15:01	15:01	DB-966	04:01	04:08	DB-1163	13:01	15:02	DB-2887	03:01	10:01
DB-663	11:04	11:04	DB-990	15:01	15:01	DB-1166	01:01	15:01	DB-2888	03:01	10:01
DB-665	07:01	13:01	DB-999	11:01	13:03	DB-1171	07:01	15:01	DB-2889	03:01	14:01
DB-691	03:01	07:01	DB-1002	01:01	16:01	DB-1174	07:01	15:01	DB-2890	04:03	14:01
DB-729	04:02	08:03	DB-1003	04:05	11:01	DB-1248	11:01	15:02	DB-2891	11:01	15:01
DB-730	08:03	11:01	DB-1004	04:02	11:01	DB-1258	04:02	15:02	DB-2919	10:01	16:01
DB-733	11:01	11:01	DB-1005	01:01	03:01	DB-1259	04:05	07:01	DB-2920	03:01	08:03
DB-735	01:01	11:04	DB-1006	01:01	11:04	DB-1260	10:01	11:01	DB-2921	03:01	11:01
DB-740	07:01	13:03	DB-1007	03:01	13:02	DB-1261	03:01	15:01	DB-2922	01:02	11:01
DB-746	01:01	14:01	DB-1009	07:01	11:01	DB-1262	03:01	04:02	DB-2923	08:03	13:02
DB-747	13:01	14:01	DB-1012	01:01	04:01	DB-1263	03:01	07:01	DB-2924	01:01	15:02
DB-760	04:03	08:04	DB-1013	04:01	11:01	DB-1264	04:02	11:04	DB-2925	04:02	13:03
DB-762	13:01	15:01	DB-1015	11:04	14:01	DB-1265	08:04	11:01	DB-2926	09:01	13:01
DB-780	11:04	11:04	DB-1020	10:01	11:04	DB-1266	07:01	10:01	DB-2927	04:07	16:01
DB-805	01:01	04:01	DB-1023	07:01	13:02	DB-1267	03:01	04:02	DB-2928	04:07	13:02
DB-806	01:02	04:04	DB-1027	04:02	10:01	DB-1374	07:01	14:01	DB-2929	04:03	16:01
DB-812	01:01	10:01	DB-1030	01:01	01:01	DB-1380	11:04	11:04	DB-2930	14:01	16:01
DB-814	04:01	04:08	DB-1045	01:01	16:01	DB-1389	03:01	16:01	DB-2931	04:02	11:04
DB-822	03:01	13:02	DB-1049	08:02	15:02	DB-1393	07:01	11:04	DB-2932	07:01	07:01
DB-834	01:01	04:08	DB-1053	15:01	16:01	DB-1438	11:01	16:01	DB-2933	03:01	04:06
DB-840	07:01	11:04	DB-1054	16:01	16:01	DB-1502	07:01	14:01	DB-2934	07:01	16:01
DB-841	07:01	16:01	DB-1057	08:02	13:03	DB-1521	07:01	13:02	DB-2972	07:01	07:01
DB-843	11:03	11:04	DB-1059	01:01	09:01	DB-1534	15:02	16:01	DB-2974	04:05	13:02
DB-846	03:01	13:03	DB-1060	16:01	16:01	DB-1535	11:04	11:04	DB-2985	13:03	14:01
DB-848	01:01	07:01	DB-1062	01:01	09:01	DB-1548	11:01	11:01	DB-2987	04:03	15:01
DB-855	07:01	15:01	DB-1067	09:01	15:01	DB-1574	04:02	11:01	DB-2995	07:01	11:01
DB-870	16:01	16:01	DB-1068	04:02	07:01	DB-1575	15:01	15:01	DB-2997	04:02	13:03
DB-885	16:01	16:01	DB-1073	01:01	03:01	DB-2843	03:01	04:05	DB-3198	04:01	16:02
DB-888	04:03	13:03	DB-1077	01:01	04:01	DB-2844	03:01	13:02	DB-3204	11:01	15:01
DB-892	04:01	08:03	DB-1081	13:01	13:01	DB-2845	07:01	11:01	DB-3206	11:01	15:01
DB-895	04:01	11:04	DB-1090	11:01	14:01	DB-2846	08:03	13:02	DB-3207	04:02	04:02

*HLA-DRB1**04:02 yeşil, *HLA-DRB1**14:01 mavi olarak işaretlendi. Genotipler 04:02/04:02 sarı renkle vurgulandı.

4.2.1. HLA-DRB1 Allel Frekansları ve Test İstatistikleri

PV hastalarında ve kontrol grubunda en sık gözlenen ilk 10 *HLA-DRB1* allelinin, frekans değerlerine göre büyükten küçüğe sıralanarak sunulmuştur (Tablo 8). PV grubunda en yüksek frekansta gözlenen allel %40 ile *HLA-DRB1**04:02 olurken, bunu %18 ile *HLA-DRB1**14:01 takip etmektedir. Kontrol grubunda ise en sık gözlenen alleller %9 frekansla *HLA-DRB1**11:01, 11:04 ve 07:01 olarak öne çıkmaktadır.

Tablo 8. PV hastası ve kontrollerdeki en sık gözlenen ilk 10 *HLA-DRB1* allelleri

<i>HLA-DRB1</i> *	PV (n)	%	<i>HLA-DRB1</i> *	Kontrol (n)	%
04:02	70	40	11:01	39	9
14:01	31	18	11:04	39	9
11:04	9	5	07:01	37	9
01:01	7	4	15:01	33	8
04:03	7	4	03:01	26	6
07:01	7	4	16:01	26	6
13:02	7	4	01:01	23	5
11:01	6	3	13:01	19	4
15:01	6	3	04:02	18	4
03:01	5	2	14:01	17	4
Toplam	155	87		277	64

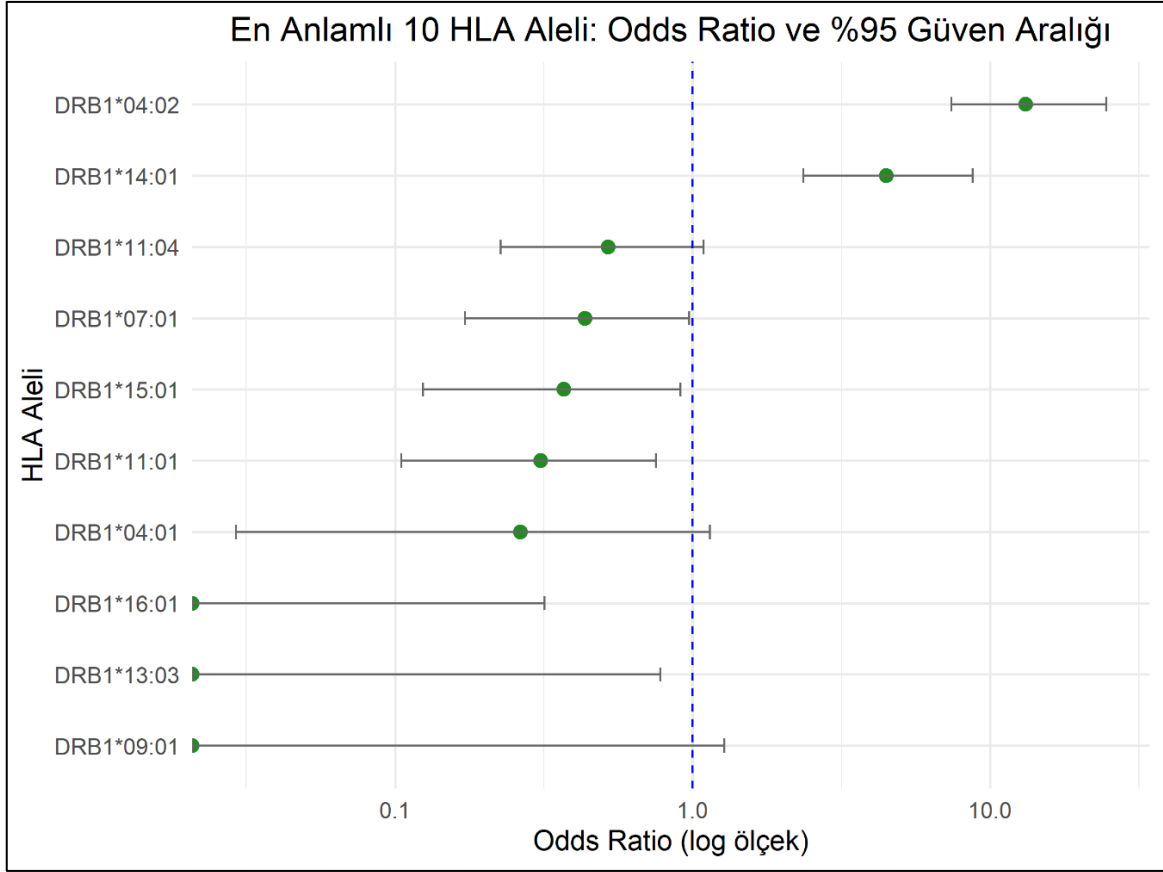
n: allel sayısı

PV hastası ve kontrollerde tespit edilen *HLA-DRB1* allel frekansları ve test istatistikleri Tablo 9’da verilmiştir. *HLA-DRB1**04:02 allelini taşımanın oluşturduğu hastalığa yakalanma riski değerlendirildiğinde bu alleli taşıyan bireylerin taşımayanlara oranla PV olma olasılığının 12.95 kat (OR: 12.95; %95 CI: 7.40-24.57) arttığı anlaşılmaktadır. Bir diğer allel olan *HLA-DRB1**14:01’in de PV hastalarında kontrollere göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p = 1.23 \times 10^{-5}$) (Tablo 9). *HLA-DRB1**14:01 allelini taşımanın oluşturduğu hastalığa yakalanma riski değerlendirildiğinde, bu alleli taşıyan bireylerin taşımayanlara oranla PV olma olasılığının 4,55 kat arttığı anlaşılmaktadır (OR: 4.55; %95 CI: 2.35-8.74). Çalışma grupları arasında toplam 33 farklı *HLA-DRB1* alleli tanımlandı. Saptanan allellerden en anlamlıları ve risk oranını gösteren grafik (forest plot) Şekil 14’te verilmiştir.

Tablo 9. *HLA-DRB1* allelleri ve Pearson'ın Ki-kare bağımsızlık test istatistikleri

<i>HLA-DRB1</i> *	Kontrol (n)	PV (n)	p	adj_p	OR	%95 CI
04:02	18	70	2.03×10^{-24}	6.71×10^{-23}	12.95	7.40-24.57
14:01	17	31	7.51×10^{-7}	1.23×10^{-5}	4.55	2.35-8.74
16:01	26	0	9.75×10^{-5}	0.001	0.03	0-0.31
11:01	39	6	0.00	0.037	0.33	0.10-0.75
14:04	0	4	0.00	0.06	20.19	1.46-∞
15:01	33	6	0.02	0.10	0.40	0.12-0.91
13:03	12	0	0.02	0.10	0.08	0-0.77
07:01	37	7	0.03	0.13	0.41	0.17-0.97
09:01	8	0	0.06	0.22	0.12	0-1.27
04:01	16	1	0.07	0.23	0.19	0.029-1.14
11:04	39	9	0.07	0.23	0.50	0.22-1.09
08:01	0	1	0.09	0.25	6.61	0.40-∞
11:11	0	1	0.09	0.25	6.61	0.40-∞
03:01	26	5	0.12	0.28	0.43	0.16-1.23
04:05	6	0	0.18	0.37	0.16	0-1.86
04:08	5	0	0.18	0.37	0.19	0-1.86
15:02	12	1	0.24	0.37	0.25	0.03-1.62
10:01	11	2	0.24	0.44	0.46	0.03-1.64
04:04	4	4	0.26	0.46	2.22	0.40-12.06
04:03	9	7	0.30	0.49	1.76	0.59-5.10
04:07	3	0	0.31	0.49	0.31	0-3.34
13:02	12	7	0.46	0.69	1.3	0.51-3.98
13:01	19	6	0.51	0.74	0.72	0.21-1.72
01:01	23	7	0.55	0.76	0.68	0.27-1.67
08:04	2	1	0.59	0.78	1.31	0.15-30.33
01:02	3	2	1	1	1.57	0.1-7.80
04:06	1	0	1	1	0.72	0-11.78
13:05	1	0	1	1	0.72	0-11.78
16:02	1	0	1	1	0.72	0-11.78
08:02	2	0	1	1	0.43	0-11.70
08:03	7	3	1	1	1.02	0.24-4.15
11:03	6	1	1	1	0.50	0.07-4.01
12:01	2	0	1	1	0.43	0-11.71

n: allel sayısı, adj_p: düzeltilmiş p değeri, OR: risk oranı, CI: güven aralığı



Şekil 14. *HLA-DRB1* allel grupları arasında istatistiksel olarak en anlamlı farklılık gösteren 10 allel

*HLA-DRB1*04:02* ve *HLA-DRB1*14:01* allellerinin PV hastalığına yakalanma riskini anlamlı düzeyde artırdığı saptandıktan sonra, bu iki allelin birlikte bulunmasının (heterozigotluk) hastalar ve kontroller arasındaki dağılımını incelemek amacıyla genotip test istatistikleri gerçekleştirildi. İlgili genotip verileri ve test istatistikleri Tablo 10'da sunulmuştur.

Tablo 10. Çalışmada PV hastalarında ve kontrollerde en sık gözlemlenen genotipler ve test istatistikleri

<i>DRB1</i> Genotip	Kontrol I (n)	P V (n)	a*	b*	c*	d*	p	adj_p	OR	%95 CI
04:02 / 14:01	0	20	20.5	0.5	71.5	200.5	1.63×10^{-11}	2.20×10^{-9}	114.97	6.86 – 1925.82
01:01 / 04:02	0	5	5.5	0.5	86.5	200.5	0.0027	0.0934	25.49	1.39 – 466.2
04:02 / 04:03	0	6	6.5	0.5	85.5	200.5	0.0008	0.0374	30.48	1.69 – 547.22
04:02 / 13:02	0	6	6.5	0.5	85.5	200.5	0.0008	0.0374	30.48	1.69 – 547.22
04:02 / 04:04	0	3	3.5	0.5	88.5	200.5	0.0298	0.6670	15.85	0.81 – 310.28
04:02 / 13:01	0	4	4.5	0.5	87.5	200.5	0.0091	0.2465	20.62	1.09 – 387.21
11:04 / 11:04	12	1	1.5	12.5	90.5	188.5	0.0700	1	0.24	0.04 – 1.38
15:01 / 15:01	7	0	0.5	7.5	91.5	193.5	0.1027	1	0.14	0.007 – 2.49
07:01 / 11:01	5	0	0.5	5.5	91.5	195.5	0.3294	1	0.19	0.01 – 3.55

* Haldane-Anscombe düzeltmesi kapsamında hücre frekanslarına 0.5 eklendi. Bu nedenle, güven aralığının üst sınırı sonsuz olarak hesaplandı. n: allel sayısı, adj_p: düzeltilmiş p değeri, OR Risk oranı, CI: güven aralığı

Dikkate değer bir diğer gözlem ise, *HLA-DRB1*04:02* ve *HLA-DRB1*14:01* allellerinin birlikte oluşturduğu heterozigot genotipin yalnızca PV hastalarında saptanmış olmasıdır (Tablo 10). Bu *HLA-DRB1*04:02/14:01* genotipini taşıyan bireylerin, PV hastalığına yakalanma riski değerlendirildiğinde, taşıyanların taşımayanlara göre 115 kat artmış PV riski taşıdığı anlaşılmaktadır (Tablo 10, Ek 3). Bu bulgu, PV gibi kompleks bir hastalığın genotip ile ilişkisinin ne kadar yüksek olduğunu ve ayrıca, kompleks nadir hastalıklar grubunda genotip ile risk artışı gösterilen hastalıklar içinde PV'yi çok ilginç bir örnek konumuna sokmaktadır.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

PV, hücre-hücre yapışmasından sorumlu DSG1 ve DSG3 proteinlerine karşı gelişen patojenik IgG sınıfı otoantikorların neden olduğu, mukozal ve kutanöz alanlarda büllerle seyreden, hayatı tehdit edebilen bir otoimmün hastalıktır (10, 19, 25). DSG1'e karşı gelişen otoantikorlar yalnızca kutanöz tutulumdan sorumlu iken, DSG3'e karşı gelişen otoantikorlar mukozal tutulumun gelişiminde rol oynamaktadır (25). Her iki DSG'ye karşı gelişen otoantikorlar da mukokutanöz tutulumdan sorumlu tutulmaktadır. Bu antijenlere karşı gelişen IgG otoantikorları, keratinositler arası desmosomal yapıları hedef alarak hücre-hücre adezyonunun bozulmasına ve akantolize neden olur ve bunun sonucunda bül oluşumu gözlenir (119).

PV'nin karakteristik klinik bulgularından asıl olarak B hücreleri aracılığıyla üretilen patojenik otoantikorlar sorumlu olsa da hastalığın immünolojik sürecini başlatan temel adım CD4+ T hücre aktivasyonudur (120). Bu nedenle, CD4+ T hücrelerinin aktivasyonunda rol oynayan HLA sınıf II molekülleriyle olan etkileşim, hastalığın immünopatogenezinin anlaşılması açısından kritik öneme sahiptir. Otoimmün hastalıkların gelişiminde, antijen sunumu ve immün yanıtın düzenlenmesinde görev alan HLA sınıf II molekülleri, özellikle de *HLA-DRB1* lokusu, merkezi bir rol oynamaktadır (121). Literatürde *HLA-DRB1*04:02* alleli ile PV arasında anlamlı bir ilişki bulan çeşitli çalışmalar yer almaktadır. Bu çalışmalar, farklı etnik gruplarda ve coğrafi bölgelerde yapılmış olup, *HLA-DRB1*04:02* allelinin PV gelişiminde önemli bir genetik risk faktörü olduğunu göstermektedir (122-127).

Akdeniz ve Avrupa kökenli bireylerde yapılan araştırmalarda *DRB1*04:02*'nin yüksek oranda PV ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir. İspanya'da gerçekleştirilen ve 26 İspanyol PV hastası ile 200 sağlıklı kontrol bireyin katıldığı bir çalışmada, *DRB1*04:02* allelinin frekansının PV hastalarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu gösterilmiştir ($p: 4.7 \times 10^{-27}$; OR: 100.8) (128). Slovakya'da yapılan 43 PV hastası ve 113 sağlıklı kontrol bireyin katıldığı vaka-kontrol çalışmasında, *DRB1*04:02* alleli ile PV arasında anlamlı düzeyde bir ilişki saptanmıştır (125). Bulgaristan'da yapılan ve 56 PV hastası ile 204 sağlıklı bireyi içeren başka bir çalışmada da *DRB1*04:02* alleli ile PV arasında anlamlı düzeyde bir ilişki gözlenmiştir (123). Bu veriler, Balkan coğrafyasındaki popülasyonlarda da söz konusu allelin PV için risk faktörü olduğunu göstermektedir. PV ile ilişkilendirilen bu allel, Brezilya'da 51 hasta ve 297 sağlıklı birey üzerinde yapılan çalışmada da istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde saptanmıştır (129). Yine Brezilya'da

gerçekleştirilen ve 83 PV hastası ile 1592 sağlıklı kontrolün katıldığı geniş ölçekli bir çalışmada, *DRB1*04:02* ve *DRB1*14:01* allellerinin PV ile anlamlı düzeyde ilişkili olduğu gösterilmiştir (130). Venezuela’da 49 PV hastası ve 101 sağlıklı kontrol bireyin dahil edildiği başka bir çalışmada, *DRB1*04:02* alleli ile PV arasında istatistiksel olarak güçlü bir ilişki saptanmıştır ($p: 1.1 \times 10^{-14}$; OR: 27.22; %95 CI: 94.7-7.82). Aynı çalışmada, *DRB1*14:01* alleli de PV ile anlamlı düzeyde ilişkili bulunan bir diğer allel olarak raporlanmıştır (131). Uzak Doğu coğrafyasına bakıldığında, Vietnamlı bireyler üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada, 22 PV hastası ve 101 sağlıklı kontrol karşılaştırılmış, *DRB1*14:01* allelinin hasta grubunda anlamlı şekilde daha yüksek frekansta bulunduğu rapor edilmiştir (132). Japonya’da gerçekleştirilen bir çalışmada, *HLA-DRB1*04* ve *DRB1*14* allellerinin PV için yatkınlık oluşturduğu ortaya konmuştur (133). Bu sonuçlar, Latin Amerika ve diğer coğrafyalarda farklı etnik geçmişlere sahip topluluklarda dahi *DRB1*04:02*’nin PV hastalığı için yüksek risk oluşturduğunu göstermektedir.

*HLA-DRB1*04:02* allelinin PV hastalığı için yüksek risk oluşturmalarının olası mekanizmalarını açıklamaya dönük öne sürülen açıklamalardan biri, bu allelin otoantijen olan DSG3 epitoplarını yüksek afiniteyle bağlayarak DSG3’e özgül CD4⁺ T hücrelerinin aktivasyonunu kolaylaştırmasıdır. Yapısal çalışmalar, *HLA-DRB1*04:02* molekülünün peptit bağlama cebinin, özellikle DSG3’ün ekstraselüler domainlerinde yer alan belirli peptit dizilerini yüksek afiniteyle bağlayabildiğini ortaya koymuştur (134). Bu durum, tanınan peptitlerin sunulmasıyla aktive olan yardımcı T hücrelerinin B hücrelerini uyararak otoantikor üretimini teşvik etmesiyle sonuçlanmakta ve böylece PV’nin immünopatogenezinde merkezi bir rol oynamaktadır (135). Bu ilişkinin olası moleküler temeli olarak, söz konusu *HLA-DRB1*04:02* allelinde yer alan 68, 69 ve 72. pozisyonlarda bulunan izolösin, aspartik asit ve glutamik asit değişikliklerinin, toplumda yaygın görülen *DRB1* beta moleküllerinin peptit bağlama özelliklerini değiştirerek otoantijenik peptitlerin sunumunu etkileyebileceği ve dolayısıyla PV gelişiminde rol oynayabileceği ileri sürülmektedir (136).

Türkiye’de PV ile ilişkili HLA allellerine yönelik daha önce yapılmış çalışmalarda, genel olarak düşük çözünürlüklü (örneğin *DRB1*04* gibi 2 sayılı) PCR-SSP yöntemleri kullanılmış ve *HLA-DRB1*04* ile *HLA-DRB1*14* gibi allellerin PV ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (90-93). Ancak bu çalışmalar, allel düzeyinde sınırlı bilgi sunmakta olup, PV ile ilişkili alt allellerin (örneğin *DRB1*04:02* gibi 4 sayılı) ayırt edilmesine olanak

tanınamaktadır. Oysa, PV gibi kompleks ve allelik farklılıklar gösteren hastalıklarda, aynı düşük çözünürlüklü allel grubuna ait farklı alt allellerin hastalıkla ilişkisi dramatik şekilde değişebilmektedir. Bu bağlamda çalışmamız, yüksek çözünürlüklü HLA tiplendirme yaklaşımı sayesinde Türkiye popülasyonunda *DRB1*04:02* gibi belirli alt allellerin PV ile güçlü ilişkisini ilk kez tanımlamış ve literatüre kazandırmıştır. Daha önce bahsedilen, Dünya genelinde yapılan ve literatürlerde yüksek çözünürlükle yer almış çalışmaları bizim verilerimiz uyumludur. Özellikle *DRB1*04:02* allelinin PV için yaklaşık 13 kat artmış riskle ilişkilendirilmiş olması, bu allelin PV üzerindeki belirgin etkisini ortaya koymaktadır. Ayrıca, çalışma grubumuzdaki hem hasta hem de kontrol sayısının, daha önce Türkiye merkezli yapılan benzer çalışmalara kıyasla çok daha yüksek olması, araştırmamızın istatistiksel gücünü (power) artıran önemli metodolojik avantajlardan biri olarak öne çıkmaktadır. Bu sayede çalışmamız, Türkiye'deki HLA ile PV hastalığı arasındaki ilişki verilerini daha ileriye taşımıştır.

*HLA-DRB1*04:02* ve *HLA-DRB1*14:01* allelleri ile *HLA-DRB1*04:02/14:01* heterozigot genotipi, PV hastalarında kontrollere kıyasla anlamlı düzeyde daha yüksek frekansta gözlemlendi. Bu durum, her iki allelin yalnızca bağımsız olarak değil, birlikte taşındıklarında da PV için daha büyük bir genetik risk oluşturduğunu göstermektedir. Yaptığımız literatür taramalarında ulaşabildiğimiz kadarıyla, *HLA-DRB1*04:02/14:01* heterozigot genotipi ile ilgili bir veri bulunamamıştır. Bu bulgu, allel bazlı risk değerlendirmesinin yanında genotip risk değerlendirmesinin de önemli olduğunu ortaya koymaktadır. Genel olarak, genetik ilişki çalışmalarında allel ve genotip bazlı risk değerlendirmelerinin dikkate alındığı bilinmektedir. Buna ek olarak genotip riski değerlendirilirken resesiflik, dominantlık, kodominantlık vb. allellerin etkisini de dikkate alan birçok çalışma da mevcuttur (137, 138). HLA'nın kodominant kalıtıldığı uzun süredir bilinmesine rağmen, PV ile ilişkili önceki çalışmalarda genotip düzeyinde risk analizi değerlendirilmemiştir. Bu açıdan çalışmamızda HLA genotiplerinin de analiz edilmesi, literatüre özgün ve tamamlayıcı bir katkı sunmaktadır.

Çalışmamızda *HLA-DRB1*11:01* ve *HLA-DRB1*16:01* alellerinin kontrol grubunda PV hastalarına kıyasla anlamlı derecede yüksek frekansta bulunması, bu alellerin PV'ye karşı koruyucu rol oynayabileceğini göstermektedir. *HLA-DRB1*11:01* alleli, kontrol grubunda %9 oranıyla en sık gözlenen allel iken PV grubunda %3 oranında gözlenmiştir (Tablo 8 ve Tablo 9). *HLA-DRB1*11:01* alleli bazı çalışmalarda çeşitli otoimmün

hastalıklarla ilişkili risk faktörü olarak tanımlanmıştır. Örneğin, neonatal lupus eritematozus hastalığı (139) ve anti-HMGCR (3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A redüktaz) antikorlarıyla ilişkili nekrotizan miyopatiler (140). Benzer şekilde yakın tarihte yapılmış bir GWAS çalışmasında immünoglobulin-A vaskülit (IgAV) hastalığı ile *HLA-DRB1*16* alleli anlamlı derecede ilişkili bulunmuş (141) ancak, literatürde *HLA-DRB1*16:01* alleleline özgü herhangi bir otoimmün hastalıkla doğrudan bir ilişkiye rastlanmamıştır. *HLA-DRB1*16:01* ve *HLA-DRB1*11:01* alellerinin yalnızca kontrol grubunda görülmesi ya da anlamlı şekilde daha sık bulunması, bu alellerin PV'ye karşı koruyucu bir etki gösterebileceğini düşündürmektedir; özellikle *HLA-DRB1*16:01* taşıyan bireylerde hastalık geliştirme olasılığı, taşımayanlara kıyasla yaklaşık 3 kat daha düşüktür (OR: 0.03, 95% CI: 0.00-0.31), *HLA-DRB1*11:01* için ise bu oran yaklaşık 33 kat daha düşüktür (OR: 0.33, 95% CI: 0.10-0.75) (Tablo 8 ve Tablo 9).

PV'nin genetik temelini yalnızca HLA bölgesi ile sınırlı olmadığını gösteren bir GWAS çalışmasında, keratinosit farklılaşması ve apoptozunda rol oynayan *ST18* geninin promotör bölgesinde PV ile ilişkili bir varyant (rs17315309/ NM_014682.2: c.-497-65050T>C) tanımlanmıştır (142). Benzer şekilde non-HLA olan *FCGR2B* geni, B hücrelerinde inhibitör Fcγ reseptörü olan FcγRIIb'yi kodlamakta olup, immün toleransın korunmasında merkezi bir rol oynamaktadır. Bu reseptör, özellikle otoantikör üretiminin negatif düzenlenmesinde kilit bir görev üstlenmektedir. rs1050501 polimorfizmine bağlı olarak gerçekleşen I232T amino asit değişimi, FcγRIIb'nin hücre membranındaki lokalizasyonunu ve buna bağlı olarak sinyal iletim kapasitesini etkileyebilmektedir. Bu yapısal ve işlevsel değişiklik, daha önce SLE gibi otoimmün hastalıklarla anlamlı bir şekilde ilişkilendirilmiştir (143). Benzer şekilde, *FCGR2B* geni bağışıklık yanıtının inhibisyonunda görev alması nedeniyle PV patogenezinde de potansiyel bir aday gen olarak öne çıkmaktadır. Çalışmamızda, bağışıklık yanıtının negatif düzenleyicisi olan *FCGR2B* geninin beşinci ekzonunda yer alan polimorfizminin PV hastalığı ile ilişkisi araştırıldı. Ancak yapılan istatistiksel analizler sonucunda, söz konusu varyant ile hastalık arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanamadı. Bu sonuç, c.671T>C varyantının PV gelişiminde genetik risk faktörü olmayabileceği, eğer gerçekten bir risk faktörü ise bu farkın görülemeyeceği şekilde düşük power değerine sahip çalışmaların (tez çalışmamız da dahil) yapıldığını düşündürmektedir. Bilindiği gibi kompleks hastalık-genetik risk faktörü ilişkisi çoğu hastalıklar için görece düşük ama anlamlı olabilmektedir. GWAS çalışmalarından elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, kompleks hastalıklar için risk oluşturduğu gösterilen

varyantların risk faktörünün en fazla 2-3 kat olduğu görülmektedir (144-146). Dolayısıyla, *FCGR2B* geni üzerinde bulunan varyantın PV riski için etkisi olabilir, ancak bu etkinin var olduğunu gösterecek çalışma tasarımının (yeterli PV hastası ve kontrol grubu) oluşturulması gerekliliği göz önüne alınması gereken bir durumdur. Bununla birlikte, etnik köken farklılıkları da bu sonuçları etkileyebilmektedir. c.671T>C varyantında C allelinin minör allel frekansı (MAF), Beyaz ırkta 0.10, Doğu Afrikalılarda 0.25 ve Güneydoğu Asyalılarda ise 0.22-0.25 aralığındadır ve popülasyona göre ciddi farklılıklar göstermektedir (106). Çalışmamızda yer alan toplam 286 bireyin allel dağılımının hesaplandığı analizde C allelinin MAF değeri yaklaşık 0.11 (0.1066) olarak bulunmuştur. Bu veri Kafkasyalılar için verilen değerler ile uyumludur. C allelinin fonksiyonel etkilerine bakıldığında, hücresel sinyal iletim yollarının ve FcγRIIb reseptörünün IgG'nin Fc bölgesine bağlanma kapasitesini de önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (108). *FCGR2B* geninin beşinci ekzonunda yer alan c.671T>C varyantı, FcγRIIb reseptörünün transmembran bölgesinde İzolösün aminoasidi yerine Treonin aminoasidinin geçmesiyle sonuçlanmakta (I232T) ve reseptörün yapısal özelliklerinde belirgin değişikliklere neden olmaktadır. I232T değişiminin, özellikle SLE gibi otoimmün hastalıkların patogenezeine katkıda bulunabilecek şekilde immün toleransın bozulmasına yol açtığı gösterilmiştir (147). Bu yapısal değişiklik, FcγRIIb reseptörünün transmembran bölgesindeki eğimi değiştirerek, ektodomainin plazma membranına daha fazla yaklaşmasına neden olmaktadır. Böylece reseptörün IgG'nin Fc bölgesine *in situ* bağlanma afinitesi ve kinetiği önemli ölçüde azalmakta, bu da FcγRIIb'nin immün kompleksleri tanıma kapasitesini zayıflatmaktadır (108). Sonuç olarak, bağlanma etkinliğindeki bu azalma, reseptörün inhibitör sinyalleşme işlevini azaltarak, başta B hücreleri olmak üzere çeşitli immün hücrelerde kontrolsüz aktivasyonlara neden olabileceği düşünülmektedir. FcγRIIb reseptörüne ait baskılayıcı sinyalleşmenin azalması, antijen çeşitliliği geniş ve otoantijenlerin sistemik olarak ifade edildiği SLE gibi hastalıklarda daha belirgin bir rol oynayabilir. SLE'de bağışıklık toleransının bozulması sonucu, başta çekirdek bileşenleri olmak üzere çok sayıda self antijene karşı otoantikör yanıtı gelişir. En sık hedef alınan antijenler arasında çift sarmallı DNA ve histonlar yer alır (148). Bu self antijenleri organizmanın genelinde yaygın bir şekilde bulunması, immün yanıtın sistemik bir özellik kazanması ile çoklu organ tutulumuna yol açmaktadır (149). Bu bağlamda, SLE yatkınlığı için hedef antijenlerin vücutta yaygın ekspresyonu, FcγRIIb varyantlarının etkisini daha belirgin kılmakla birlikte (150), antijen spesifik (DSG3) immün yanıtların ön planda olduğu

PV gibi hastalıklarda bu mekanizmanın etkisinin daha sınırlı olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, *FCGR2B* geninin üzerindeki c.671T>C varyantının ve *HLA-DRB1* geni allelik varyantlarının PV hastalığında bir risk faktörü olup olmadığını araştırdığımız bu genetik ilişki çalışmasında, *HLA-DRB1*04:02* ve *HLA-DRB1*14:01* varyantlarının PV hastalığına yakalanmada oldukça yüksek düzeyde risk oluşturduğu ortaya koyulmuştur. Ayrıca, bu iki allelin birlikteliğinin (*HLA-DRB1*04:02/14:01*) bu riski çok daha fazla arttırdığını da belirlemiş durumdayız. Tez çalışmamızın en özgün tarafı, *HLA-DRB1*04:02/14:01* genotipinin bildiğimiz kadarıyla ilk kez bu çalışmada değerlendirilmiş olması ve bu genotipin, kompleks hastalık/genetik ilişki çalışmaları açısından bilinen yüksek risk oranlarından birine karşılık gelmesidir. Ayrıca, ülkemiz bazlı yapılan HLA ve PV ilişkisi çalışmalarından da yüksek çözünürlüklü ve en geniş örneklemli çalışma olması açısından da ayrılmaktadır. Sonuçlarımızın Türkiye popülasyonuna ait PV hastalığının genetik etiyolojisini göstermesi açısından da önemli olduğunu düşünmekteyiz. *FCGR2B* geni üzerindeki c.671T>C varyantının SLE için risk faktörü olduğu uzun yıllardır yapılan çalışmalarda ortaya koyulmuştur. Bu varyantın, PV için de bir risk faktörü olup olmadığını sorguladığımız bu araştırmamızda, en azından bu örneklem miktarıyla elde ettiğimiz sonuçlara göre, herhangi bir risk ilişkisi bulunamamıştır. Güncel literatür taraması yaptığımızda PV ile bu varyantın ilişkisini araştıran çok az sayıda çalışmadan birisi de bu tez çalışmasıdır. PV gibi otoimmün hastalıklarda çok daha fazla genetik risk faktörünün olması beklenen bir durumdur ve ileride daha geniş örneklem grubuyla yapılacak genetik ilişki çalışmalarının bu genetik risk faktörlerinin belirlenmesine katkı sağlayacağı da açıktır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında *FCGR2B* geninin üzerindeki c.671T>C varyantının ve *HLA-DRB1* geni allelik varyantlarının PV hastalığında bir risk faktörü olup olmadığı araştırılmıştır. Allelik bazda en güçlü ilişki, *DRB1*04:02* alleli ile saptandı ve bu allelin PV hastalarında kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek frekansta bulunduğu görüldü ($\text{adj_p} = 6.71 \times 10^{-23}$; OR: 12.95; %95 CI: 7.40-24.57). Bir diğer risk allelinin de *DRB1*14:01* olduğu ortaya çıkmıştır ($\text{adj_p} = 1.23 \times 10^{-7}$; OR: 4.55; %95 CI: 2.35-8.74). Öte yandan, *DRB1*11:01* ve *DRB1*16:01* allellerinin de PV için koruyucu (azalmış risk) olduğu belirlenmiştir.

Genotip düzeyinde ise, *HLA-DRB1*04:02/14:01* genotipinin PV için en yüksek risk oranına sahip olduğu bulundu ($\text{adj_p} = 2.20 \times 10^{-9}$; OR= 114.97 %95 CI: 6.86-1925.82). Bu genotip riski bildiğimiz kadarıyla ilk kez bu çalışmada değerlendirilmiştir.

FCGR2B geninde yer alan c.671T>C polimorfizminin PV ile olası ilişkisi araştırıldı, yapılan istatistiksel analizler sonucunda bu varyant ile hastalık arasında anlamlı bir ilişki saptanamadı. Bununla birlikte, FcγRIIb reseptörünün B hücreleri üzerindeki inhibitör rolü ve immün toleransın sağlanmasındaki kritik işlevi göz önünde bulundurulduğunda, söz konusu varyantın, bağışıklık yanıtlarının modülasyonunda fonksiyonel etkiler göstererek immün toleransın bozulmasında bir etken olabileceği -SLE hastalığındaki etkisi ve yatkınlığı artırması göz önüne alındığında- makul bir sorudur. Bu nedenle, c.671T>C varyantının PV üzerinde bir etkisi varsa, bu etkinin ortaya çıkartılması için çok daha fazla örneklemli çalışmaların gerektiği düşünmekteyiz.

*HLA-DRB1*04:02/14:01* alleli taşıyan sınıf II reseptörlerinin in-siliko olarak modellenmesi ve DSG3/1 proteinin EC 1/2 gibi, otoantikörlerin bağlandığı antijenik peptitlerinin belirlenip moleküler dinamik simülasyonlar kullanılarak analiz edilmesi, PV gelişiminde bu reseptör/antijen kompleksinin dinamiğinin daha iyi anlaşılmasını sağlayabilir diye düşünmekteyiz. Bir diğer araştırılmayı bekleyen husus, PV’de DSG3 ve DSG1’e karşı otoantikörleri üreten asıl tetikleyici mekanizmanın ne olduğudur. Bu konuda moleküler mimikri, beslenme, ilaçlar vs gibi birçok faktör ileri sürülmüşse de henüz tatmin edici (deneysel ve in-siliko analizlerle desteklenmiş) bir açıklama ya da hipotez bulunmamaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. Kneisel A, Hertl M (2011). Autoimmune bullous skin diseases. Part 1: Clinical manifestations. *JDDG J Dtsch Dermatol Ges* 9(10): 844-857.
2. Dickson S (1788). Observations on pemphigus. *Lond Med J* 9(Pt 3): 309-324.
3. Hashimoto T, Qian H, Ishii N, Nakama T, Tateishi C, Tsuruta D, Li X (2023). Classification and antigen molecules of autoimmune bullous diseases. *Biomolecules* 13(4):703.
4. Alpsoy E, Akman-Karakas A, Uzun S (2015). Geographic variations in epidemiology of two autoimmune bullous diseases: Pemphigus and bullous pemphigoid. *Arch Dermatol Res* 307(4): 291-298.
5. Kridin K, Schmidt E (2021). Epidemiology of pemphigus. *JID Innov* 1(1): 100004.
6. Yayli S, Harman M, Baskan EB, Karakas AA, Genc Y, Turk BG, Demirsoy EO, Gunasti S, Bilgili SG, Ilter N, Ferahbas A, Savk E, Afsar FS, Aytekin S, Kaya TI, Hayta SB, Ozgen Z, Gurel MS, Caliskan E, Balci DD, Gungor S, Kapicioglu Y, Ozuguz P, Aktan S, Dogramaci A, Kokcam I, Onsun N, Seckin D, Durdu M, Dursun R, Daye M, Dilek N, Karabacak E, Temel AB, Erdem C, Altun E, Gungor D, Kartal D, Akyol M, Koku Aksu EK, Uzun S (2017). Epidemiology of pemphigus in turkey: One-year prospective study of 220 cases. *Acta Dermatovenerol Croat* 25(3): 181-188.
7. Amagai M, Tsunoda K, Zillikens D, Nagai T, Nishikawa T (1999). The clinical phenotype of pemphigus is defined by the anti-desmoglein autoantibody profile. *J Am Acad Dermatol* 40(2): 167-170.
8. Yoshida K, Takae Y, Saito H, Oka H, Tanikawa A, Amagai M, Nishikawa T (2005). Cutaneous type pemphigus vulgaris: A rare clinical phenotype of pemphigus. *J Am Acad Dermatol* 52(5): 839-845.
9. Malik AM, Tupchong S, Huang S, Are A, Hsu S, Motaparthi K (2021). An updated review of pemphigus diseases. *Medicina* 57(10): 1080.
10. Joly P, Horvath B, Patsatsi A, Uzun S, Bech R, Beissert S, Bergman R, Bernard P, Borradori L, Caproni M, Caux F, Cianchini G, Daneshpazhooh M, De D, Dmochowski M, Drenovska K, Ehrchen J, Feliciani C, Goebeler M, Groves R, Guenther C, Hofmann S, Ioannides D, Kowalewski C, Ludwig R, Lim YL, Marinovic B, Marzano AV, Mascaró Jr JM, Mimouni D, Murrell DF, Pincelli C, Squarcioni CP, Sárdy M, Setterfield J, Sprecher E, Vassileva S, Wozniak K, Yayli S, Zambruno G, Zillikens D, Hertl M, Schmidt E (2020). Updated S2K guidelines on the management of pemphigus vulgaris and foliaceus initiated by the European Academy of Dermatology and Venereology (EADV). *J Eur Acad Dermatol Venereol* 34(9): 1900-1913..
11. Unlu S, Sanchez Navarro BG, Cakan E, Berchtold D, Meleka Hanna R, Vural S, Vural A, Meisel A, Fichtner ML (2024). Exploring the depths of igg4: Insights into autoimmunity and novel treatments. *Front Immunol* 15: 1346671.
12. Beutner EH, Jordon RE (1964). Demonstration of skin antibodies in sera of pemphigus vulgaris patients by indirect immunofluorescent staining. *Proc Soc Exp Biol Med* 117: 505-510.
13. Anhalt GJ, Labib RS, Voorhees JJ, Beals TF, Diaz LA (1982). Induction of pemphigus in neonatal mice by passive transfer of igg from patients with the disease. *N Engl J Med* 306(20): 1189-1196.
14. Hu CH, Michel B, Schiltz JR (1978). Epidermal acantholysis induced in vitro by pemphigus autoantibody. An ultrastructural study. *Am J Pathol* 90(2): 345-362.

15. Schiltz JR, Michel B (1976). Production of epidermal acantholysis in normal human skin in vitro by the igg fraction from pemphigus serum. *J Invest Dermatol* 67(2): 254-260.
16. Stanley JR, Yaar M, Hawley-Nelson P, Katz SI (1982). Pemphigus antibodies identify a cell surface glycoprotein synthesized by human and mouse keratinocytes. *J Clin Invest* 70(2): 281-288.
17. Hashimoto T, Ogawa MM, Konohana A, Nishikawa T (1990). Detection of pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus antigens by immunoblot analysis using different antigen sources. *J Invest Dermatol* 94(3): 327-331.
18. Koch PJ, Walsh MJ, Schmelz M, Goldschmidt MD, Zimbelmann R, Franke WW (1990). Identification of desmoglein, a constitutive desmosomal glycoprotein, as a member of the cadherin family of cell adhesion molecules. *Eur J Cell Biol* 53(1): 1-12.
19. Amagai M, Klaus-Kovtun V, Stanley JR (1991). Autoantibodies against a novel epithelial cadherin in pemphigus vulgaris, a disease of cell adhesion. *Cell* 67(5): 869-877.
20. Waschke J (2008). The desmosome and pemphigus. *Histochem Cell Biol* 130: 21-54.
21. Takeichi M (1990). Cadherins: A molecular family important in selective cell-cell adhesion. *Annu Rev Biochem* 59: 237-252.
22. Green KJ, Simpson CL (2007). Desmosomes: New perspectives on a classic. *J Invest Dermatol* 127(11): 2499-2515.
23. Delva E, Tucker DK, Kowalczyk AP (2009). The desmosome. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 1(2): a002543.
24. Kurts C, Robinson BW, Knolle PA (2010). Cross-priming in health and disease. *Nat Rev Immunol* 10(6): 403-414.
25. Stanley JR, Amagai M (2006). Pemphigus, bullous impetigo, and the staphylococcal scalded-skin syndrome. *N Engl J Med* 355(17): 1800-1810.
26. Wucherpfennig KW, Yu B, Bhol K, Monos DS, Argyris E, Karr RW, Ahmed AR, Strominger JL (1995). Structural basis for major histocompatibility complex (mhc)-linked susceptibility to autoimmunity: Charged residues of a single mhc binding pocket confer selective presentation of self-peptides in pemphigus vulgaris. *Proc Natl Acad Sci* 92(25): 11935-11939.
27. Dorsam RT, Kunapuli SP (2004). Central role of the p2y12 receptor in platelet activation. *J Clin Invest* 113(3): 340-345.
28. Koulu L, Kusumi A, Steinberg MS, Klaus-Kovtun V, Stanley JR (1984). Human autoantibodies against a desmosomal core protein in pemphigus foliaceus. *J Exp Med* 160(5): 1509-1518.
29. Mahoney MG, Wang Z, Rothenberger K, Koch PJ, Amagai M, Stanley JR (1999). Explanations for the clinical and microscopic localization of lesions in pemphigus foliaceus and vulgaris. *J Clin Invest* 103(4): 461-468.
30. Varadi M, Bertoni D, Magana P, Paramval U, Pidruchna I, Radhakrishnan M, Tsenkov M, Nair S, Mirdita M, Yeo J, Kovalevskiy O, Tunyasuvunakool K, Laydon A, Zidek A, Tomlinson H, Hariharan D, Abrahamson J, Green T, Jumper J, Birney E, Steinegger M, Hassabis D, Velankar S (2024). AlphaFold protein structure database in 2024: Providing structure coverage for over 214 million protein sequences. *Nucleic Acids Res* 52(1): 368-375.
31. Amagai M, Karpati S, Prussick R, Klaus-Kovtun V, Stanley JR (1992). Autoantibodies against the amino-terminal cadherin-like binding domain of pemphigus vulgaris antigen are pathogenic. *J Clin Invest* 90(3): 919-926.

32. Nagar B, Overduin M, Ikura M, Rini JM (1996). Structural basis of calcium-induced e-cadherin rigidification and dimerization. *Nature* 380(6572): 360-364.
33. Patel F, Wilken R, Patel FB, Sultani H, Bustos I, Duong C, Zone JJ, Raychaudhuri SP, Maverakis E (2017). Pathophysiology of autoimmune bullous diseases: Nature versus nurture. *Indian J Dermatol* 62(3): 262-267.
34. Ruocco V, Ruocco E, Lo Schiavo A, Brunetti G, Guerrera LP, Wolf R (2013). Pemphigus: Etiology, pathogenesis, and inducing or triggering factors: Facts and controversies. *Clin Dermatol* 31(4): 374-381.
35. Jamora MJ, Jiao D, Bystryjn JC (2003). Antibodies to desmoglein 1 and 3, and the clinical phenotype of pemphigus vulgaris. *J Am Acad Dermatol* 48(6): 976-977.
36. Amagai M, Koch PJ, Nishikawa T, Stanley JR (1996). Pemphigus vulgaris antigen (desmoglein 3) is localized in the lower epidermis, the site of blister formation in patients. *J Invest Dermatol* 106(2): 351-355.
37. Koga H, Tsuruta D, Ohyama B, Ishii N, Hamada T, Ohata C, Furumura M, Hashimoto T (2013). Desmoglein 3, its pathogenecity and a possibility for therapeutic target in pemphigus vulgaris. *Expert Opin Ther Targets* 17(3): 293-306.
38. Netea MG, Joosten LA, Latz E, Mills KH, Natoli G, Stunnenberg HG, O'Neill LA, Xavier RJ (2016). Trained immunity: A program of innate immune memory in health and disease. *Science* 352(6284): aaf1098.
39. Zanetti M (2004). Cathelicidins, multifunctional peptides of the innate immunity. *J Leukoc Biol* 75(1): 39-48.
40. Gabay C, Kushner I (1999). Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 340(6): 448-454.
41. Takeuchi O, Akira S (2010). Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell* 140(6): 805-820.
42. Aristizábal BG, Á (2013). *Innate immune system* El Rosario University Press, Bogota;m C2.
43. Bonilla FA, Oettgen HC (2010). Adaptive immunity. *J Allergy Clin Immunol* 125(2): 33-40.
44. Chaplin DD (2010). Overview of the immune response. *J Allergy Clin Immunol* 125(2): 3-23.
45. Miller FW (2023). The increasing prevalence of autoimmunity and autoimmune diseases: An urgent call to action for improved understanding, diagnosis, treatment, and prevention. *Curr Opin Immunol* 80: 102266.
46. Rosenblum MD, Remedios KA, Abbas AK (2015). Mechanisms of human autoimmunity. *J Clin Invest* 125(6): 2228-2233.
47. Atassi MZ, Casali P (2008). Molecular mechanisms of autoimmunity. *Autoimmunity* 41(2): 123-132.
48. Perez G, Barber GP, Benet-Pages A, Casper J, Clawson H, Diekhans M, Fischer C, Gonzalez JN, Hinrichs AS, Lee CM, Nassar LR, Raney BJ, Speir ML, van Baren MJ, Vaske CJ, Haussler D, Kent WJ, Haeussler M (2025). The ucsc genome browser database: 2025 update. *Nucleic Acids Res* 53(1): 1243-1249.
49. Davidson A, Diamond B (2001). Autoimmune diseases. *N Engl J Med* 345(5): 340-350.
50. Rose NR, Bona C (1993). Defining criteria for autoimmune diseases (witebsky's postulates revisited). *Immunol Today* 14(9): 426-430.
51. Goodnow CC, Sprent J, Fazekas de St Groth B, Vinuesa CG (2005). Cellular and genetic mechanisms of self tolerance and autoimmunity. *Nature* 435(7042): 590-597.

52. Hogarth PM, Pietersz GA (2012). Fc receptor-targeted therapies for the treatment of inflammation, cancer and beyond. *Nat Rev Drug Discov* 11(4): 311-331.
53. Kasperkiewicz M, Ellebrecht CT, Takahashi H, Yamagami J, Zillikens D, Payne AS, Amagai M (2017). Pemphigus. *Nat Rev Dis Primers* 3: 17026.
54. Heizmann M, Itin P, Wernli M, Borradori L, Bargetzi MJ (2001). Successful treatment of paraneoplastic pemphigus in follicular nhl with rituximab: Report of a case and review of treatment for paraneoplastic pemphigus in nhl and cll. *Am J Hematol* 66(2): 142-144.
55. Vezzoli P, Berti E, Marzano AV (2008). Rationale and efficacy for the use of rituximab in paraneoplastic pemphigus. *Expert Rev Clin Immunol* 4(3): 351-363.
56. Ratnam, K. V., Phay, K. L., Tan, C. K. (1990). Pemphigus therapy with oral prednisolone regimens. A 5-year study. *International journal of dermatology* 29(5): 363-367.
57. S. Sukanjanapong, D. Thongtan, S. Kanokrungeesee, P. Suchonwanit, K. Chanprapaph (2020). A Comparison of Azathioprine and Mycophenolate Mofetil as Adjuvant Drugs in Patients with Pemphigus: A Retrospective Cohort Study. *Dermatol Ther* 10: 179-189.
58. Schiavo, A. L., Puca, R. V., Ruocco, V., Ruocco, E. (2010). Adjuvant drugs in autoimmune bullous diseases, efficacy versus safety: Facts and controversies. *Clinics in dermatology* 28(3): 337-343.
59. Werth, V. P., Joly, P., Mimouni, D., Maverakis, E., Caux, F., Lehane, P., Gearhart, L., Kapre, A., Pordeli, P., Chen, D. M., PEMPHIX Study Group (2021). Rituximab versus Mycophenolate Mofetil in Patients with Pemphigus Vulgaris. *The New England journal of medicine* 384(24): 2295-2305.
60. Stefan Beissert, Daniel Mimouni, Amrinder J. Kanwar, Neil Solomons, Veena Kalia, Grant J. Anhalt (2010). Treating Pemphigus Vulgaris with Prednisone and Mycophenolate Mofetil: A Multicenter, Randomized, Placebo-Controlled Trial, *Journal of Investigative Dermatology* 130(8): 2041-2048.
61. Baskan, E. B., Yilmaz, M., Tunali, S., Saricaoglu, H. (2009). Efficacy and safety of long-term mycophenolate sodium therapy in pemphigus vulgaris. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV* 23(12): 1432-1434.
62. Hertzberg MS, Schifter M, Sullivan J, Stapleton K (2000). Paraneoplastic pemphigus in two patients with b-cell non-hodgkin's lymphoma: Significant responses to cyclophosphamide and prednisolone. *Am J Hematol* 63(2): 105-106.
63. Noursari HC, Brodsky RA, Jones RJ, Grever MR, Anhalt GJ (1999). Immunoablative high-dose cyclophosphamide without stem cell rescue in paraneoplastic pemphigus: Report of a case and review of this new therapy for severe autoimmune disease. *J Am Acad Dermatol* 40(5): 750-754.
64. Cupps TR, Gerrard TL, Falkoff RJ, Whalen G, Fauci AS (1985). Effects of in vitro corticosteroids on b cell activation, proliferation, and differentiation. *J Clin Invest* 75(2): 754-761.
65. Van Laethem F, Baus E, Smyth LA, Andris F, Bex F, Urbain J, Kioussis D, Leo O (2001). Glucocorticoids attenuate t cell receptor signaling. *J Exp Med* 193(7): 803-814.

66. Joly P, Maho-Vaillant M, Prost-Squarcioni C, Hebert V, Houivet E, Calbo S, Caillot F, Golinski ML, Labeille B, Picard-Dahan C, Paul C, Richard MA, Bouaziz JD, Duvert-Lehembre S, Bernard P, Caux F, Alexandre M, Ingen-Housz-Oro S, Vabres P, Delaporte E, Quereux G, Dupuy A, Debarbieux S, Avenel-Audran M, D'Incan M, Bedane C, Beneton N, Jullien D, Dupin N, Misery L, Machet L, Beylot-Barry M, Dereure O, Sassolas B, Vermeulin T, Benichou J, Musette P, French study group on autoimmune bullous skin d (2017). First-line rituximab combined with short-term prednisone versus prednisone alone for the treatment of pemphigus (ritux 3): A prospective, multicentre, parallel-group, open-label randomised trial. *Lancet* 389(10083): 2031-2040.
67. Goebeler M, Bata-Csorgo Z, De Simone C, Didona B, Remenyik E, Reznichenko N, Stoevesandt J, Ward ES, Parys W, de Haard H, Dupuy P, Verheesen P, Schmidt E, Joly P, Group A-IS (2022). Treatment of pemphigus vulgaris and foliaceus with efgartigimod, a neonatal fc receptor inhibitor: A phase ii multicentre, open-label feasibility trial. *Br J Dermatol* 186(3): 429-439.
68. Li N, Zhao M, Hilario-Vargas J, Prisanh P, Warren S, Diaz LA, Roopenian DC, Liu Z (2005). Complete fcγ dependence for intravenous ig therapy in autoimmune skin blistering diseases. *J Clin Invest* 115(12): 3440-3450.
69. Izaki S, Yoshizawa Y, Kitamura K, Kato H, Hashimoto H, Korman NJ, Hamamatsu Y, Ohashi N, Ogasa S (1996). Paraneoplastic pemphigus: Potential therapeutic effect of plasmapheresis. *Br J Dermatol* 134(5): 987-989.
70. Jing L, Shan Z, Yongchu H, Xixue C, Xuejun Z (2011). Successful treatment of a paraneoplastic pemphigus in a teenager using plasmapheresis, corticosteroids and tumour resection. *Clin Exp Dermatol* 36(7): 752-754.
71. Behzad M, Mobs C, Kneisel A, Moller M, Hoyer J, Hertl M, Eming R (2012). Combined treatment with immunoadsorption and rituximab leads to fast and prolonged clinical remission in difficult-to-treat pemphigus vulgaris. *Br J Dermatol* 166(4): 844-852.
72. Adebisi OT, Galloway DF, Augustin MS, Sinha AA (2022). The multifactorial complexities of autoimmune development in pemphigus vulgaris: Critical evaluation of the role of environmental and lifestyle "exposome" factors. *Front Immunol* 13: 1058759.
73. consortium TMs (1999). Complete sequence and gene map of a human major histocompatibility complex. The mhc sequencing consortium. *Nature* 401(6756): 921-923.
74. Hertl M, Eming R, Veldman C (2006). T cell control in autoimmune bullous skin disorders. *J Clin Invest* 116(5): 1159-1166.
75. Loiseau P, Lecleach L, Prost C, Lepage V, Busson M, Bastuji-Garin S, Roujeau JC, Charron D (2000). Hla class ii polymorphism contributes to specify desmoglein derived peptides in pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus. *J Autoimmun* 15(1): 67-73.
76. Ahmed AR, Wagner R, Khatri K, Notani G, Awdeh Z, Alper CA, Yunis EJ (1991). Major histocompatibility complex haplotypes and class ii genes in non-jewish patients with pemphigus vulgaris. *Proc Natl Acad Sci* 88(11): 5056-5060.
77. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S (2022). Cellular and molecular immunology. 10th ed Elsevier, Philadelphia; C6.
78. Dendrou CA, Petersen J, Rossjohn J, Fugger L (2018). Hla variation and disease. *Nat Rev Immunol* 18(5): 325-339.

79. Kloypan C, Koomdee N, Satapornpong P, Tempark T, Biswas M, Sukasem C (2021). A comprehensive review of hla and severe cutaneous adverse drug reactions: Implication for clinical pharmacogenomics and precision medicine. *Pharmaceuticals* 14(11): 1077.
80. Murphy KW, Casey (2016). *Janeway's immunobiology*. 9th Edition ed Garland Science, New York; 156.
81. Sakaue S, Gurajala S, Curtis M, Luo Y, Choi W, Ishigaki K, Kang JB, Rumker L, Deutsch AJ, Schonherr S, Forer L, LeFaive J, Fuchsberger C, Han B, Lenz TL, de Bakker PIW, Okada Y, Smith AV, Raychaudhuri S (2023). Tutorial: A statistical genetics guide to identifying hla alleles driving complex disease. *Nat Protoc* 18(9): 2625-2641.
82. Trowsdale J, Knight JC (2013). Major histocompatibility complex genomics and human disease. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 14: 301-323.
83. Price P, Witt C, Allcock R, Sayer D, Garlepp M, Kok CC, French M, Mallal S, Christiansen F (1999). The genetic basis for the association of the 8.1 ancestral haplotype (a1, b8, dr3) with multiple immunopathological diseases. *Immunol Rev* 167: 257-274.
84. McDaniel DO, Alarcon GS, Pratt PW, Reveille JD (1995). Most african-american patients with rheumatoid arthritis do not have the rheumatoid antigenic determinant (epitope). *Ann Intern Med* 123(3): 181-187.
85. Miglioranza Scavuzzi B, van Drongelen V, Kaur B, Fox JC, Liu J, Mesquita-Ferrari RA, Kahlenberg JM, Farkash EA, Benavides F, Miller FW, Sawalha AH, Holoshitz J (2022). The lupus susceptibility allele drb1*03:01 encodes a disease-driving epitope. *Commun Biol* 5(1): 751.
86. International Multiple Sclerosis Genetics C, Hafler DA, Compston A, Sawcer S, Lander ES, Daly MJ, De Jager PL, de Bakker PI, Gabriel SB, Mirel DB, Ivinson AJ, Pericak-Vance MA, Gregory SG, Rioux JD, McCauley JL, Haines JL, Barcellos LF, Cree B, Oksenberg JR, Hauser SL (2007). Risk alleles for multiple sclerosis identified by a genomewide study. *N Engl J Med* 357(9): 851-862.
87. Dassault Systèmes (2025). Discovery studio visualizer (v25.1.0.24284) [online]. Available from: <https://www.3ds.com/products-services/biovia/products/molecular-modeling-simulation/biovia-discovery-studio/visualization/> [Accessed 16 March 2025].
88. Yan L, Wang JM, Zeng K (2012). Association between hla-drb1 polymorphisms and pemphigus vulgaris: A meta-analysis. *Br J Dermatol* 167(4): 768-777.
89. Vodo D, Sarig O, Sprecher E (2018). The genetics of pemphigus vulgaris. *Front Med* 5: 226.
90. Tunca M, Musabak U, Sagkan RI, Koc E, Akar A (2010). Association of human leukocyte antigen class ii alleles with pemphigus vulgaris in a turkish population. *J Dermatol* 37(3): 246-250.
91. Koc CK, Sallakci N, Akman-Karakas A, Alpsoy E, Yegin O (2013). Human leukocyte antigens class i and class ii in patients with pemphigus in southern turkey. *Int J Dermatol* 52(1): 53-58.
92. Dere G, Yavuz IH, Ozaydin Yavuz G, Bayram Y, Gunes Bilgili S, Ozturk M (2020). Assessment of hla-a, hla-dr, and hla-dq alleles in patients with pemphigus vulgaris from eastern of turkey. *J Cosmet Dermatol* 19(9): 2432-2437.
93. Altun E, Yayli S, Toraman B, Arica DA, Kalay E, Selcuk LB, Bahadir S (2017). Hla-e*0101/0103x is associated with susceptibility to pemphigus vulgaris: A case-control study. *Acta Dermatovenerol Croat* 25(3): 189-194.

94. Veldman C, Stauber A, Wassmuth R, Uter W, Schuler G, Hertl M (2003). Dichotomy of autoreactive th1 and th2 cell responses to desmoglein 3 in patients with pemphigus vulgaris (pv) and healthy carriers of pv-associated hla class ii alleles. *J Immunol* 170(1): 635-642.
95. Eming R, Hennerici T, Backlund J, Feliciani C, Visconti KC, Willenborg S, Wohde J, Holmdahl R, Sonderstrup G, Hertl M (2014). Pathogenic igg antibodies against desmoglein 3 in pemphigus vulgaris are regulated by hla-drb1*04:02-restricted t cells. *J Immunol* 193(9): 4391-4399.
96. Gudjonsson JE, Kabashima K, Eyerich K (2020). Mechanisms of skin autoimmunity: Cellular and soluble immune components of the skin. *J Allergy Clin Immunol* 146(1): 8-16.
97. Dairon M (1997). Fc receptor biology. *Annu Rev Immunol* 15: 203-234.
98. Bowen A, Casadevall A (2016). Revisiting the immunoglobulin intramolecular signaling hypothesis. *Trends Immunol* 37(11): 721-723.
99. Nimmerjahn F, Ravetch JV (2008). Fcgamma receptors as regulators of immune responses. *Nat Rev Immunol* 8(1): 34-47.
100. Takai T (2002). Roles of fc receptors in autoimmunity. *Nat Rev Immunol* 2(8): 580-592.
101. Bournazos S, Gupta A, Ravetch JV (2020). The role of igg fc receptors in antibody-dependent enhancement. *Nat Rev Immunol* 20(10): 633-643.
102. Guillemins M, Bruhns P, Saeys Y, Hammad H, Lambrecht BN (2014). The function of fcgamma receptors in dendritic cells and macrophages. *Nat Rev Immunol* 14(2): 94-108.
103. Smith KG, Clatworthy MR (2010). FcgammaRIIB in autoimmunity and infection: Evolutionary and therapeutic implications. *Nat Rev Immunol* 10(5): 328-343.
104. Bolland S, Ravetch JV (2000). Spontaneous autoimmune disease in fc(gamma)RIIB-deficient mice results from strain-specific epistasis. *Immunity* 13(2): 277-285.
105. Kyogoku C, Dijstelbloem HM, Tsuchiya N, Hatta Y, Kato H, Yamaguchi A, Fukazawa T, Jansen MD, Hashimoto H, van de Winkel JG, Kallenberg CG, Tokunaga K (2002). Fcgamma receptor gene polymorphisms in japanese patients with systemic lupus erythematosus: Contribution of fcgr2b to genetic susceptibility. *Arthritis Rheum* 46(5): 1242-1254.
106. Willcocks LC, Carr EJ, Niederer HA, Rayner TF, Williams TN, Yang W, Scott JA, Urban BC, Peshu N, Vyse TJ, Lau YL, Lyons PA, Smith KG (2010). A defuncting polymorphism in fcgr2b is associated with protection against malaria but susceptibility to systemic lupus erythematosus. *Proc Natl Acad Sci* 107(17): 7881-7885.
107. Kono H, Kyogoku C, Suzuki T, Tsuchiya N, Honda H, Yamamoto K, Tokunaga K, Honda Z (2005). FcgammaRIIB ile232thr transmembrane polymorphism associated with human systemic lupus erythematosus decreases affinity to lipid rafts and attenuates inhibitory effects on b cell receptor signaling. *Hum Mol Genet* 14(19): 2881-2892.
108. Floto RA, Clatworthy MR, Heilbronn KR, Rosner DR, MacAry PA, Rankin A, Lehner PJ, Ouwehand WH, Allen JM, Watkins NA, Smith KG (2005). Loss of function of a lupus-associated fcgammaRIIB polymorphism through exclusion from lipid rafts. *Nat Med* 11(10): 1056-1058.
109. Clatworthy MR, Willcocks L, Urban B, Langhorne J, Williams TN, Peshu N, Watkins NA, Floto RA, Smith KG (2007). Systemic lupus erythematosus-associated defects in the inhibitory receptor fcgammaRIIB reduce susceptibility to malaria. *Proc Natl Acad Sci* 104(17): 7169-7174.

110. Siriboonrit U, Tsuchiya N, Sirikong M, Kyogoku C, Bejrachandra S, Suthipinittharm P, Luangtrakool K, Srinak D, Thongpradit R, Fujiwara K, Chandanayingyong D, Tokunaga K (2003). Association of fcgamma receptor iib and iiib polymorphisms with susceptibility to systemic lupus erythematosus in thais. *Tissue Antigens* 61(5): 374-383.
111. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 16(3): 1215.
112. Madeira F, Madhusoodanan N, Lee J, Eusebi A, Niewielska A, Tivey ARN, Lopez R, Butcher S (2024). The embl-ebi job dispatcher sequence analysis tools framework in 2024. *Nucleic Acids Res* 52(1): 521-525.
113. Untergasser A, Cutcutache I, Koressaar T, Ye J, Faircloth BC, Remm M, Rozen SG (2012). Primer3--new capabilities and interfaces. *Nucleic Acids Res* 40(15): e115.
114. Thermo Fisher Scientific (2022). Labtype™ sso tests product sheet [online]. Available from: https://www.thermofisher.com/onelambda/wo/en/products/_jcr_content.download?document_number=TDX-MKT-0031. [Accessed 4 April 2025].
115. Itoh Y, Mizuki N, Shimada T, Azuma F, Itakura M, Kashiwase K, Kikkawa E, Kulski JK, Satake M, Inoko H (2005). High-throughput DNA typing of hla-a, -b, -c, and -drb1 loci by a pcr-ssop-luminex method in the japanese population. *Immunogenetics* 57(10): 717-729.
116. Trajanoski D, Fidler SJ (2012). Hla typing using bead-based methods. *Methods Mol Biol* 882: 47-65.
117. Menashe I, Rosenberg PS, Chen BE (2008). Pga: Power calculator for case-control genetic association analyses. *BMC Genet* 9: 36.
118. Rousset F (2008). Genepop'007: A complete re-implementation of the genepop software for windows and linux. *Mol Ecol Resour* 8(1): 103-106.
119. Amagai M (2003). Desmoglein as a target in autoimmunity and infection. *J Am Acad Dermatol* 48(2): 244-252.
120. Araghi F, Dadkhahfar S, Robati RM, Tabary M, Shahidi-Dadras M (2023). The emerging role of t cells in pemphigus vulgaris: A systematic review. *Clin Exp Med* 23(4): 1045-1054.
121. Pollmann R, Schmidt T, Eming R, Hertl M (2018). Pemphigus: A comprehensive review on pathogenesis, clinical presentation and novel therapeutic approaches. *Clin Rev Allergy Immunol* 54(1): 1-25.
122. Lakos Jukic I, Mokos M, Marinovic B (2023). Hla class ii antigens in croatian patients with pemphigus vulgaris and their correlation with anti-desmoglein antibodies. *Front Immunol* 14: 1200992.
123. Drenovska K, Ivanova M, Vassileva S, Shahid MA, Naumova E (2022). Association of specific hla alleles and haplotypes with pemphigus vulgaris in the bulgarian population. *Front Immunol* 13: 901386.
124. Svecova D, Parnicka Z, Pastyrikova L, Urbancek S, Luha J, Buc M (2015). Hla drb1* and dqb1* alleles are associated with disease severity in patients with pemphigus vulgaris. *Int J Dermatol* 54(2): 168-173.
125. Parnicka Z, Svecova D, Javor J, Shawkatova I, Buc M (2013). High susceptibility to pemphigus vulgaris due to hla-drb1*14:54 in the slovak population. *Int J Immunogenet* 40(6): 471-475.
126. Weber R, Monteiro F, Preuhs-Filho G, Rodrigues H, Kalil J, Miziara ID (2011). Hla-drb1*04:02, drb1*08:04 and drb1*14 alleles associated to pemphigus vulgaris in southeastern brazilian population. *Tissue Antigens* 78(2): 92-93.

127. Lombardi ML, Mercurio O, Ruocco V, Lo Schiavo A, Lombardi V, Guerrera V, Pirozzi G, Manzo C (1999). Common human leukocyte antigen alleles in pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus italian patients. *J Invest Dermatol* 113(1): 107-110.
128. Gonzalez-Escribano MF, Jimenez G, Walter K, Montes M, Perez-Bernal AM, Rodriguez MR, Conejo-Mir JS, Nunez-Roldan A (1998). Distribution of hla class ii alleles among spanish patients with pemphigus vulgaris. *Tissue Antigens* 52(3): 275-278.
129. Gil JM, Weber R, Rosales CB, Rodrigues H, Sennes LU, Kalil J, Chagury A, Miziara ID (2017). Study of the association between human leukocyte antigens (hla) and pemphigus vulgaris in brazilian patients. *Int J Dermatol* 56(5): 557-562.
130. Brochado MJ, Nascimento DF, Campos W, Deghaide NH, Donadi EA, Roselino AM (2016). Differential hla class i and class ii associations in pemphigus foliaceus and pemphigus vulgaris patients from a prevalent southeastern brazilian region. *J Autoimmun* 72: 19-24.
131. Saenz-Cantele AM, Fernandez-Mestre M, Montagnani S, Calebotta A, Balbas O, Layrisse Z (2007). Hla-drb1*0402 haplotypes without dqb1*0302 in venezuelan patients with pemphigus vulgaris. *Tissue Antigens* 69(4): 318-325.
132. Vuong TBT, Do DM, Ong PT, Thanh Le TV (2022). Hla-drb1 and dqb1 genetic susceptibility to pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus in vietnamese patients. *Dermatol Reports* 14(2): 9286.
133. Miyagawa S, Higashimine I, Iida T, Yamashina Y, Fukumoto T, Shirai T (1997). Hla-drb1*04 and drb1*14 alleles are associated with susceptibility to pemphigus among japanese. *Journal of Investigative Dermatology* 109(5): 615-618.
134. Tong JC, Tan TW, Sinha AA, Ranganathan S (2006). Prediction of desmoglein-3 peptides reveals multiple shared t-cell epitopes in hla dr4- and dr6-associated pemphigus vulgaris. *BMC Bioinformatics* 7(5): 7.
135. Veldman C, Eming R, Wolff-Franke S, Sonderstrup G, Kwok WW, Hertl M (2007). Detection of low avidity desmoglein 3-reactive t cells in pemphigus vulgaris using hla-dr beta 1*0402 tetramers. *Clin Immunol* 122(3): 330-337.
136. Scharf SJ, Long CM, Erlich HA (1988). Sequence analysis of the hla-dr β and hla-dq β loci from three pemphigus vulgaris patients. *Human Immunology* 22(1): 61-69.
137. Bae H, Perls T, Steinberg M, Sebastiani P (2015). Bayesian polynomial regression models to fit multiple genetic models for quantitative traits. *Bayesian Anal* 10(1): 53-74.
138. Clarke GM, Anderson CA, Pettersson FH, Cardon LR, Morris AP, Zondervan KT (2011). Basic statistical analysis in genetic case-control studies. *Nat Protoc* 6(2): 121-133.
139. Miyagawa S, Shinohara K, Kidoguchi K, Fujita T, Fukumoto T, Hashimoto K, Yoshioka A, Shirai T (1997). Neonatal lupus erythematosus: Studies on hla class ii genes and autoantibody profiles in japanese mothers. *Autoimmunity* 26(2): 95-101.
140. Mammen AL, Gaudet D, Brisson D, Christopher-Stine L, Lloyd TE, Leffell MS, Zachary AA (2012). Increased frequency of drb1*11:01 in anti-hydroxymethylglutaryl-coenzyme a reductase-associated autoimmune myopathy. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 64(8): 1233-1237.
141. Xia L, Chen M, Zhang H, Zheng X, Bao J, Gao J, Zhu C, Sun L, Xia H, Zhang X (2022). Genome-wide association study of 7661 chinese han individuals and fine-mapping major histocompatibility complex identifies hla-drb1 as associated with iga vasculitis. *J Clin Lab Anal* 36(6): e24457.

142. Vodo D, Sarig O, Geller S, Ben-Asher E, Olender T, Bochner R, Goldberg I, Nosgorodsky J, Alkelai A, Tatarsky P, Peled A, Baum S, Barzilai A, Ibrahim SM, Zillikens D, Lancet D, Sprecher E (2016). Identification of a functional risk variant for pemphigus vulgaris in the st18 gene. *PLoS Genet* 12(5): e1006008.
143. Su K, Yang H, Li X, Li X, Gibson AW, Cafardi JM, Zhou T, Edberg JC, Kimberly RP (2007). Expression profile of fcgammariib on leukocytes and its dysregulation in systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 178(5): 3272-3280.
144. Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, Goldstein DB, Hindorff LA, Hunter DJ, McCarthy MI, Ramos EM, Cardon LR, Chakravarti A, Cho JH, Guttmacher AE, Kong A, Kruglyak L, Mardis E, Rotimi CN, Slatkin M, Valle D, Whittemore AS, Boehnke M, Clark AG, Eichler EE, Gibson G, Haines JL, Mackay TF, McCarroll SA, Visscher PM (2009). Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature* 461(7265): 747-753.
145. Kang J, Cho J, Zhao H (2010). Practical issues in building risk-predicting models for complex diseases. *J Biopharm Stat* 20(2): 415-440.
146. Ioannidis JP, Trikalinos TA, Khoury MJ (2006). Implications of small effect sizes of individual genetic variants on the design and interpretation of genetic association studies of complex diseases. *Am J Epidemiol* 164(7): 609-614.
147. Hu W, Zhang Y, Sun X, Zhang T, Xu L, Xie H, Li Z, Liu W, Lou J, Chen W (2019). Fcgammariib-i232t polymorphic change allosterically suppresses ligand binding. *Elife* 8: e46689.
148. Rahman A, Isenberg DA (2008). Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 358(9): 929-939.
149. Karrar S, Cunninghame Graham DS (2018). Abnormal b cell development in systemic lupus erythematosus: What the genetics tell us. *Arthritis Rheumatol* 70(4): 496-507.
150. Crispin JC, Liossis SN, Kis-Toth K, Lieberman LA, Kyttaris VC, Juang YT, Tsokos GC (2010). Pathogenesis of human systemic lupus erythematosus: Recent advances. *Trends Mol Med* 16(2): 47-57.



EKLER

Ek 1. Gönüllü Olur Formu

Araştırmanın Adı: “Pemfigus vulgaris hastalarında FCGR2B ve HLADRB1 gen varyantlarının hastalığa etkisinin araştırılması”

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

Sayın,

Karadeniz Teknik Üniversitesinde Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalında “*Pemfigus vulgaris hastalarında FCGR2B ve HLADRB1 gen varyantlarının hastalığa etkisinin araştırılması*” isimli bir araştırma yürütülmektedir. Olgu-kontrol desenli bu çalışmamız, pemfigus vulgaris hastalarında ve sağlıklı gönüllülerde hastalığın genetik yatkınlığı hakkındadır. Bu konuda daha geniş fikir sahibi olabilmek için, hastalığa zemin hazırladığını düşündüğümüz FCGR2B geninde çeşitli değişimleri araştırmayı ve bunların, yine hastalıkta değeri ortaya konmuş HLADRB1 doku alt tipleri ile ilişkisini değerlendirmeyi hedefledik. Bunun için sizden 1 adet biyokimya tüpüne alınmış 5-10 ml kan örneğine ihtiyacımız vardır. Araştırma ile ilgili olarak sizin, onam verme ve bir adet biyokimya tüpüne alınacak kan örneği verme dışında başka sorumluluğunuz bulunmamaktadır. Bu örnekten DNA izole edilecek ve DNA’nız bu çalışma için kullanılacaktır. Çalışmamız KTÜ Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı Kliniği ve KTÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı tarafından yürütülecektir.

Çalışmaya alınan pemfigus vulgaris tanılı bireylerin adı, soyadı, cinsiyeti, yaşı, hastalığına ilişkin detaylar (başlangıç yaşı, tedaviye yanıtı, hastalık tutulum bölgeleri, anti-desmoglein antikor düzeyleri vb.), alışkanlıkları (sigara, alkol, vd.) kaydedilecektir. Çalışma süresince birlikte kullanımının sakıncalı olduğu ilaç ve besin bulunmamaktadır. Hasta onamını geri çekmesi durumunda çalışmadan çıkarılabilir. **Bu çalışmada herhangi bir tedavi uygulanmamaktadır.** Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size **hiçbir ödeme yapılmayacaktır.** **Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır.** Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz. Uygulama süresi boyunca, zorunlu olarak araştırma dışı ilaç almak durumunda kaldığınızda sorumlu araştırmacıyı önceden bilgilendirmek için, araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir bilgi almak için Araştırma Görevlisi **Dr. Hande Ermiş Akkuş’a** başvurabilirsiniz. Araştırmanın sonuçları yalnızca bilimsel amaçla kullanılacaktır.

Ek 1. (Devam)

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren bir sayfalık metni okudum/sözlü olarak dinledim. **Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım.** Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum.

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		
VELAYET VEYA VESAYET ALTINDA BULUNANLAR İÇİN VELİ VEYA VASİNİN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		
ARAŞTIRMA EKİBİ DIŞINDAN YETKİN BİR HEKİM		İMZASI
ADI & SOYADI		
TARİH		
GEREKTİĞİ DURUMLARDA TANIK		İMZASI
ADI & SOYADI		
GÖREVİ		
TARİH		

Ek 2. Etik Kurul Onay Belgesi



T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
TIP FAKÜLTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU

Sayı: 24237859-331
Konu: Etik Kurul Onayı

29.04.2022

Sayın; Dr. Öğr. Üyesi Bayram TORAMAN
Tıbbi Biyoloji ABD

“Pemfigus Vulgaris Hastalarında FCGR2B ve HLA-DRB1 Gen Varyantlarının Hastalığa Etkisinin Araştırılması” başlıklı etik kurul 2022/51 protokol numaralı çalışma önerisi raportör ve etik kurul görüşleri doğrultusunda; tıbbi etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilginizi ve gereğini rica ederim.

Prof. Dr. Faruk AYDIN
Etik kurul Başkanı

Ek: 1 adet onay belgesi

Ek 2. (Devam)

KTÜ TIP FAKÜLTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU				
BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	“Pemfigus Vulgaris Hastalarında FCGR2B ve HLA-DRB1 Gen Varyantlarının Hastalığa Etkisinin Araştırılması”		
	ARAŞTIRMANIN PROTOKOL/PLAN KODU	2022 /51		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Dr. Öğr. Üyesi Bayram TORAMAN		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyoloji		
	TEZ SAHİBİ/DİĞER ARAŞTIRICILAR, UNVANI/ADI/SOYADI	Arş.Gör.Dr.Hande ERMİŞ AKKUŞ, Doç.Dr.Deniz AKSU ARICA, Doç.Dr.Leyla BAYKAL SELÇUK, Prof.Dr.Savaş YAYLI, Prof.Dr.Ahmet MENTEŞE		
	DESTEKLEYİCİ			
	ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ			
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	TEZ ☐ AKADEMİK AMAÇLI ☒		
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☐

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ/PLANI			Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Açıklama
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	☐	
	SİGORTA	☐	
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☐	
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐	
	İLAN	☐	
	YILLIK BİLDİRİM	☐	
	SONUÇ RAPORU	☐	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐	
	DİĞER:	☐	

Sayfa 1

Ek 2. (Devam)

KTÜ TIP FAKÜLTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU KARAR FORMU

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 5	Tarih: 25.04.2022
	Dr.Öğr.Üyesi Bayram TORAMAN'ın sorumluluğunda yürütülmesi planlanan "Pemfigus Vulgaris Hastalarında FCGR2B ve HLA-DRB1 Gen Varyantlarının Hastalığa Etkisinin Araştırılması" başlıklı 2022/51 no.lu ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma/tez başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına; toplantıya katılan etik kurul üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir.	

KTÜ TIP FAKÜLTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU	
ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Faruk AYDIN

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	İlişki *	Katılım **	İmza
Prof. Dr. Faruk AYDIN Başkan:	Tıbbi Mikrobiyoloji	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Murat LİVAOĞLU Başkan Yrd.:	Plastik, Rekons. ve Estetik Cer.	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. S. Murat KESİM Raportör:	Tıbbi Farmakoloji	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Yılmaz BÜLBÜL Üye:	Göğüs Hastalıkları	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Murat ÇAKIR Üye:	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Şafak ERSÖZ Üye:	Tıbbi Patoloji	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Nazım Ercüment BEYHUN Üye:	Halk Sağlığı	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Demet SAĞLAM AYKUT Üye:	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin YAMAN Üye:	Tıbbi Biyokimya	KTÜ Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	

* :Araştırma ile İlişki
** :Toplantıda Bulunma

Ek 3. Kontrol ve Hasta Genotipleri Tablosu

Genotip	Kontrol	Hasta	a	b	c	d	p	adj_p	OR	%95 CI
DRB1*01:01+DRB1*01:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*01:01+DRB1*03:01	3	0	0,5	3,5	91,5	197,5	0,55449	1	0,30835	0,02-6,03
DRB1*01:01+DRB1*04:01	4	0	0,5	4,5	91,5	196,5	0,31317	1	0,23862	0,01-4,48
DRB1*01:01+DRB1*04:02	0	5	5,5	0,5	86,5	200,5	0,00277	0,0934	25,4971	1,39-466,21
DRB1*01:01+DRB1*04:08	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*01:01+DRB1*07:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*01:01+DRB1*09:01	2	0	0,5	2,5	91,5	198,5	1	1	0,43388	0,02-9,13
DRB1*01:01+DRB1*10:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*01:01+DRB1*11:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*01:01+DRB1*11:04	2	0	0,5	2,5	91,5	198,5	1	1	0,43388	0,02-9,13
DRB1*01:01+DRB1*14:01	1	1	1,5	1,5	90,5	199,5	0,52838	1	2,20442	0,23-21,48
DRB1*01:01+DRB1*14:04	0	1	1,5	0,5	90,5	200,5	0,31271	1	6,64641	0,27-164,74
DRB1*01:01+DRB1*15:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*01:01+DRB1*15:02	2	0	0,5	2,5	91,5	198,5	1	1	0,43388	0,02-9,13
DRB1*01:01+DRB1*16:01	2	0	0,5	2,5	91,5	198,5	1	1	0,43388	0,02-9,13
DRB1*01:02+DRB1*04:02	0	1	1,5	0,5	90,5	200,5	0,31271	1	6,64641	0,27-164,74
DRB1*01:02+DRB1*04:04	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*01:02+DRB1*11:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*01:02+DRB1*11:03	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*01:02+DRB1*14:04	0	1	1,5	0,5	90,5	200,5	0,31271	1	6,64641	0,27-164,74
DRB1*03:01+DRB1*04:02	2	3	3,5	2,5	88,5	198,5	0,1785	1	3,14011	0,61-16,22
DRB1*03:01+DRB1*04:04	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*03:01+DRB1*04:05	2	0	0,5	2,5	91,5	198,5	1	1	0,43388	0,02-9,13
DRB1*03:01+DRB1*04:06	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*03:01+DRB1*07:01	2	0	0,5	2,5	91,5	198,5	1	1	0,43388	0,02-9,13
DRB1*03:01+DRB1*08:03	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*03:01+DRB1*09:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*03:01+DRB1*10:01	2	0	0,5	2,5	91,5	198,5	1	1	0,43388	0,02-9,13
DRB1*03:01+DRB1*11:01	2	0	0,5	2,5	91,5	198,5	1	1	0,43388	0,02-9,13
DRB1*03:01+DRB1*13:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*03:01+DRB1*13:02	3	0	0,5	3,5	91,5	197,5	0,55449	1	0,30835	0,02-6,03
DRB1*03:01+DRB1*13:03	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*03:01+DRB1*14:01	2	2	2,5	2,5	89,5	198,5	0,59162	1	2,21788	0,38-13,03
DRB1*03:01+DRB1*15:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*03:01+DRB1*16:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*04:01+DRB1*04:08	3	0	0,5	3,5	91,5	197,5	0,55449	1	0,30835	0,02-6,03
DRB1*04:01+DRB1*08:03	2	0	0,5	2,5	91,5	198,5	1	1	0,43388	0,02-9,13
DRB1*04:01+DRB1*10:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*04:01+DRB1*11:01	3	0	0,5	3,5	91,5	197,5	0,55449	1	0,30835	0,02-6,03
DRB1*04:01+DRB1*11:04	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*04:01+DRB1*13:02	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*04:01+DRB1*14:04	0	1	1,5	0,5	90,5	200,5	0,31271	1	6,64641	0,27-164,74
DRB1*04:01+DRB1*16:02	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*04:02+DRB1*04:02	1	2	2,5	1,5	89,5	199,5	0,23137	1	3,71508	0,48-28,56

Ek 3. (devam)

DRB1*04:02+DRB1*04:03	0	6	6,5	0,5	85,5	200,5	0,00083	0,0375	30,4854	1,70-547,22
DRB1*04:02+DRB1*08:03	1	2	2,5	1,5	89,5	199,5	0,23137	1	3,71508	0,48-28,56
DRB1*04:02+DRB1*10:01	1	1	1,5	1,5	90,5	199,5	0,52838	1	2,20442	0,23-21,48
DRB1*04:02+DRB1*11:01	2	3	3,5	2,5	88,5	198,5	0,1785	1	3,14011	0,61-16,22
DRB1*04:02+DRB1*11:03	0	1	1,5	0,5	90,5	200,5	0,31271	1	6,64641	0,27-164,74
DRB1*04:02+DRB1*11:04	4	4	4,5	4,5	87,5	196,5	0,26269	1	2,24571	0,59-8,50
DRB1*04:02+DRB1*13:01	0	4	4,5	0,5	87,5	200,5	0,00913	0,2466	20,6229	1,10-387,21
DRB1*04:02+DRB1*13:02	0	6	6,5	0,5	85,5	200,5	0,00083	0,0375	30,4854	1,70-547,22
DRB1*04:02+DRB1*13:03	2	0	0,5	2,5	91,5	198,5	1	1	0,43388	0,02-9,13
DRB1*04:02+DRB1*14:01	0	20	20,5	0,5	71,5	200,5	1,6E-11	2E-09	114,972	6,86-1925,82
DRB1*04:02+DRB1*14:04	0	1	1,5	0,5	90,5	200,5	0,31271	1	6,64641	0,27-164,74
DRB1*04:02+DRB1*15:01	1	4	4,5	1,5	87,5	199,5	0,03459	0,6671	6,84	1,06-44,15
DRB1*04:02+DRB1*15:02	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*04:02+DRB1*16:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*04:03+DRB1*07:01	2	0	0,5	2,5	91,5	198,5	1	1	0,43388	0,02-9,13
DRB1*04:03+DRB1*08:04	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*04:03+DRB1*13:01	0	1	1,5	0,5	90,5	200,5	0,31271	1	6,64641	0,27-164,74
DRB1*04:03+DRB1*13:03	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*04:03+DRB1*14:01	2	0	0,5	2,5	91,5	198,5	1	1	0,43388	0,02-9,13
DRB1*04:03+DRB1*15:01	2	0	0,5	2,5	91,5	198,5	1	1	0,43388	0,02-9,13
DRB1*04:03+DRB1*16:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*04:04+DRB1*07:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*04:04+DRB1*13:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*04:04+DRB1*14:01	0	1	1,5	0,5	90,5	200,5	0,31271	1	6,64641	0,27-164,74
DRB1*04:05+DRB1*07:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*04:05+DRB1*10:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*04:05+DRB1*11:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*04:05+DRB1*13:02	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*04:07+DRB1*13:02	2	0	0,5	2,5	91,5	198,5	1	1	0,43388	0,02-9,13
DRB1*04:07+DRB1*16:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*04:08+DRB1*13:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*07:01+DRB1*07:01	4	1	1,5	4,5	90,5	196,5	1	1	0,72376	0,11-4,67
DRB1*07:01+DRB1*10:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*07:01+DRB1*11:01	5	0	0,5	5,5	91,5	195,5	0,32944	1	0,19424	0,01-3,55
DRB1*07:01+DRB1*11:04	2	1	1,5	2,5	90,5	198,5	1	1	1,31602	0,17-10,12
DRB1*07:01+DRB1*13:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*07:01+DRB1*13:02	3	0	0,5	3,5	91,5	197,5	0,55449	1	0,30835	0,02-6,03
DRB1*07:01+DRB1*13:03	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*07:01+DRB1*14:01	2	1	1,5	2,5	90,5	198,5	1	1	1,31602	0,17-10,12
DRB1*07:01+DRB1*15:01	4	0	0,5	4,5	91,5	196,5	0,31317	1	0,23862	0,01-4,48
DRB1*07:01+DRB1*15:02	0	1	1,5	0,5	90,5	200,5	0,31271	1	6,64641	0,27-164,74
DRB1*07:01+DRB1*16:01	2	0	0,5	2,5	91,5	198,5	1	1	0,43388	0,02-9,13
DRB1*08:01+DRB1*14:01	0	1	1,5	0,5	90,5	200,5	0,31271	1	6,64641	0,27-164,74
DRB1*08:02+DRB1*13:03	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*08:02+DRB1*15:02	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01

Ek 3. (devam)

DRB1*08:03+DRB1*11:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*08:03+DRB1*13:02	2	0	0,5	2,5	91,5	198,5	1	1	0,43388	0,02-9,13
DRB1*08:03+DRB1*14:01	0	1	1,5	0,5	90,5	200,5	0,31271	1	6,64641	0,27-164,74
DRB1*08:04+DRB1*10:01	0	1	1,5	0,5	90,5	200,5	0,31271	1	6,64641	0,27-164,74
DRB1*08:04+DRB1*11:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*09:01+DRB1*11:04	2	0	0,5	2,5	91,5	198,5	1	1	0,43388	0,02-9,13
DRB1*09:01+DRB1*13:01	2	0	0,5	2,5	91,5	198,5	1	1	0,43388	0,02-9,13
DRB1*09:01+DRB1*15:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*10:01+DRB1*11:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*10:01+DRB1*11:04	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*10:01+DRB1*14:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*10:01+DRB1*16:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*11:01+DRB1*11:01	3	0	0,5	3,5	91,5	197,5	0,55449	1	0,30835	0,02-6,03
DRB1*11:01+DRB1*11:04	0	1	1,5	0,5	90,5	200,5	0,31271	1	6,64641	0,27-164,74
DRB1*11:01+DRB1*13:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*11:01+DRB1*13:03	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*11:01+DRB1*13:05	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*11:01+DRB1*14:01	4	1	1,5	4,5	90,5	196,5	1	1	0,72376	0,11-4,67
DRB1*11:01+DRB1*15:01	4	1	1,5	4,5	90,5	196,5	1	1	0,72376	0,11-4,67
DRB1*11:01+DRB1*15:02	2	0	0,5	2,5	91,5	198,5	1	1	0,43388	0,02-9,13
DRB1*11:01+DRB1*16:01	2	0	0,5	2,5	91,5	198,5	1	1	0,43388	0,02-9,13
DRB1*11:03+DRB1*11:03	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*11:03+DRB1*11:04	2	0	0,5	2,5	91,5	198,5	1	1	0,43388	0,02-9,13
DRB1*11:03+DRB1*13:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*11:04+DRB1*11:04	12	1	1,5	12,5	90,5	188,5	0,07006	1	0,24994	0,05-1,38
DRB1*11:04+DRB1*11:11	0	1	1,5	0,5	90,5	200,5	0,31271	1	6,64641	0,27-164,74
DRB1*11:04+DRB1*14:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*12:01+DRB1*13:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*12:01+DRB1*15:02	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*13:01+DRB1*13:01	2	0	0,5	2,5	91,5	198,5	1	1	0,43388	0,02-9,13
DRB1*13:01+DRB1*13:03	2	0	0,5	2,5	91,5	198,5	1	1	0,43388	0,02-9,13
DRB1*13:01+DRB1*14:01	1	1	1,5	1,5	90,5	199,5	0,52838	1	2,20442	0,23-21,48
DRB1*13:01+DRB1*15:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*13:01+DRB1*15:02	2	0	0,5	2,5	91,5	198,5	1	1	0,43388	0,02-9,13
DRB1*13:02+DRB1*14:01	0	1	1,5	0,5	90,5	200,5	0,31271	1	6,64641	0,27-164,74
DRB1*13:03+DRB1*14:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*13:03+DRB1*16:01	2	0	0,5	2,5	91,5	198,5	1	1	0,43388	0,02-9,13
DRB1*14:01+DRB1*15:01	1	1	1,5	1,5	90,5	199,5	0,52838	1	2,20442	0,23-21,48
DRB1*14:01+DRB1*16:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*15:01+DRB1*15:01	7	0	0,5	7,5	91,5	193,5	0,10278	1	0,14098	0,01-2,50
DRB1*15:01+DRB1*16:01	3	0	0,5	3,5	91,5	197,5	0,55449	1	0,30835	0,02-6,03
DRB1*15:02+DRB1*15:02	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*15:02+DRB1*16:01	1	0	0,5	1,5	91,5	199,5	1	1	0,72678	0,03-18,01
DRB1*16:01+DRB1*16:01	4	0	0,5	4,5	91,5	196,5	0,31317	1	0,23862	0,01-4,48

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Soyadı, Adı : KASAP Burak Kaan
Uyruğu : T.C.
Doğum Tarihi ve Yeri : TRABZON
Telefon :
E-Posta :
Yazışma Adresi (İş) :

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora	KTÜ, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji AbD	2019'dan beri
Yüksek Lisans	KTÜ, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji AbD	2019
Lisans	Cumhuriyet Üni. Mol. Biy. ve Genetik Bölümü	2014
Lise	İMKB Beşikdüzü Anadolu Öğretmen Lisesi	2009

YAYINLAR

1. Toraman, Bayram & Er, İ & **Kasap, Burak Kaan** & Uzun, Ümit & Dinçer, Tuba & Yıldız, Gökhan & Karagüzel, Gülay & Kayipmaz, Saadettin & Kala, Ersan. (2025). A synonymous single nucleotide variant on the FAM20C gene causes non-lethal Raine syndrome. Human Molecular Genetics. 1-12. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddaf129>
2. **B. K. Kasap**, S. Ç. Bilginer, G. Yıldız & B. Toraman, Is the MTHFR C677T variant a genetic risk factor in the etiology of autism spectrum disorder? Is it alone or by combined with rare variants of the PHGDH gene?, Ann Med Res, 2022, 2636- 7688, 29, 4, 334-340. <https://doi.org/10.5455/annalsmedres.2021.06.438>

3. B. Toraman, S. C. Bilginer, S. T. Hesapcioglu, Z. Goker, H. O. Soykam, B. Erguner, T. Dincer, G. Yıldız, S. Unsal, **B. K. Kasap**, S. Kandıl & E. Kalay. Finding underlying genetic mechanisms of two patients with autism spectrum disorder carrying familial apparently balanced chromosomal translocations. J Gene Med. **2021**, 23: e3322. <https://doi.org/10.1002/jgm.3322>

BİLDİRİLER

1. **B. K. Kasap**, S. T. Hesapcioglu, S. C. Bilginer, T. Dincer, G. Yıldız, S. Kandıl, E. Kalay & B. Toraman. Investigation of the effect of variations on the MTHFR and PHGDH genes, which are involved in one carbon reactions, on the etiology of autism spectrum disorder. Oral presentation, XVI. International Participation Medical Biology and Genetics Congress, 27-30 October 2019. Bodrum, MUĞLA

ÖDÜLLER / TEŞVİKLER/ BURSLAR

1. YÖK 100/2000 Doktora Bursu (2019-2023)
2. TÜBİTAK 2250-Lisansüstü Bursları Performans Programı (2024, 1.ve 2. Dönem)

DAHİL OLUNAN PROJELER

1. Ersan KALAY (Yürütücü). TÜBİTAK 1001 Projesi. Seckel Sendromu ile ilişkili *CCDC84* geninin fonksiyonunun araştırılması. (2017-2018) *Bursiyer*.
2. Bayram TORAMAN (Yürütücü) TÜBİTAK 1001 Projesi. Resiprokal Kromozomal Translokasyon Görülen Otizm Spektrum Bozukluğu Hastalarında Genetik Etiyolojinin Araştırılması. (2018-2019) *Bursiyer*.
3. Sami FİDAN (Yürütücü) TÜBİTAK 1001 Projesi. *TFF3* ve *B3GALT5* Genlerinin Ekspresyonlarını Kontrol Eden Regülatör Diziler Üzerindeki Genetik Varyantların Ülseratif Kolit Riski Üzerindeki Etkisinin Araştırılması. (2024-...) *Bursiyer*
4. Bayram TORAMAN (Yürütücü) TÜSEB B Grubu. Rekombinant Mst1 proteini ülseratif kolit profilaksisinde ve tedavisinde etkili midir? (2025-...) *Bursiyer*

