

بررسی آنتی بادیهای IgG گردشی و راسب در بیماران دچار پمفیگوس ولگاریس قبل و بعد از درمان به روش ایمونوفلورسانس

دکتر حمیده عظیمی: استادیار پوست، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
E-mail : Hamide_Azimi @ Yahoo.com

دکتر جعفر مجیدی: دانشیار ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دکتر رسول استخری: استادیار پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دکتر حمید رضا نعمت الهی: دانشجوی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

بهنام اکبرزاده: کارشناس آزمایشگاه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دریافت: ۸۶/۳/۲۳ پذیرش: ۸۵/۶/۸

چکیده

زمینه و اهداف: پمفیگوس ولگاریس یک بیماری اتوایمیون نادر و کشنده با درگیری پوست و سطوح مخاطی است که از نظر آسیب شناسی با تاول های داخل اپیدرمی و آکانتولیز و از نظر ایمونولوژی با تشکیل اتوآنتی بادیها (از نوع IgG) بر علیه کراتینوسيت ها در سرم و رسوب آنها در پوست و مخاطات مشخص می شود. هدف از این مطالعه تعیین آنتی بادیهای IgG گردشی و راسب، قبل از درمان در بیماران دچار پمفیگوس ولگاریس و ارزیابی اثر داروهای مهارکننده اینمی بر سطوح آنتی بادیهای گردشی بعد از درمان می باشد.

روش بررسی: در این مطالعه، ۶۲ بیمار (شامل ۳۴ زن و ۲۸ مرد) با تشخیص بالینی و آسیب شناسی پمفیگوس ولگاریس به مدت یکسال تحت مطالعه قرار گرفته، آزمایش ایمونوفلورسانس مستقیم قبل از درمان و ایمونوفلورسانس غیر مستقیم قبل و ۲-۳ ماه بعد از درمان انجام شد. این بیماران مبتلا به فرم های خفیف و متوسط بیماری بودند.

بیماران براساس وضعیت عمومی تحت درمان کلاسیک با پردنیزولون (۲-۱ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بیمار) و آزاتیپرین (۰-۳ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بیمار در روز) یا درمان پالس با سیکلوفسقامید (۰-۵۰ میلی گرم در روز اول) و متیل پردنیزولون (۱ گرم در روز) به مدت ۴ روز بودند.

یافته ها: مطالعه شامل ۳۴ زن و ۲۸ مرد با میانگین سنی 12.7 ± 5.0 سال بود. رسوب IgG در پوست $20 \text{ ng/}\mu\text{g}$ نفر از بیماران بصورت + یا ++ وجود داشت. آنتی بادی گردشی در سرم $52 \text{ ng/}\mu\text{g}$ بیمار قبل از درمان، با عیار $1/10,000$ مثبت بود. آنتی بادی گردشی $2-3$ ماه بعد از شروع درمان در سرم $37 \text{ ng/}\mu\text{g}$ بیمار با عیار $1/10,000$ مثبت بود. در بررسی میزان همبستگی بین تبتراز IgG گردشی قبل از آغاز درمان با سطوح آن بعد از آغاز درمان نتایج زیر بدست آمد: $P = 0.005$, $t = 2$.

نتیجه گیری: درمان های بکار رفته در بیماران دچار پمفیگوس ولگاریس نتوانسته اند باعث کاهش چشمگیری در سطوح آنتی بادی گردشی شوند.

کلیدواژه ها: پمفیگوس ولگاریس ، اتوآنتی بادی های گردشی ، اتوآنتی بادی راسب

مقدمه

نظر ایمونولوژی با رسوب کمپلمان و IgG در پوست و آنتی بادی های گردشی تظاهر می کند (۱). گاه علامتی از بد خیمی های

ارگان های داخلی مثل ریه، گوارش و تناسلی می باشد (۲).

درمان کلاسیک بیماری، گلوکوکورتیکوئیدهای سیستمیک همراه با سایر ایمونوساپرسیوها نظیر آزاتیپرین است. هدف اصلی درمان، ریشه کنی یا کاهش آنتی بادیهای بیماریزا می باشد (۳) و (۴).

اصطلاح پمفیگوس به گروهی از بیماریهای مزمن تهدید کننده زندگی اطلاق می شود که با تاول های پوستی مخاطی تظاهر می کنند. در پمفیگوس ولگاریس که شایعترین فرم بیماری می باشد، اتوآنتی بادی بر علیه دسموگلین $1/10,000$ ایجاد می گردد (۱-۳). این بیماری کشنده معمولاً در افراد میانسال و ندرتاً در سینین پائین با علامت کلینیکی بصورت تاول های پوستی مخاطی، علائم آسیب شناسی بصورت آکانتولیز و تشکیل تاول بین سلولهای اپیدرم و از

DIF نمونه حاصل از بیوپسی پوست اطراف ضایعه بیماران در آزمایشگاه ایمونولوژی اختصاصی مرکز آموزشی-درمانی امام خمینی، تحت برش های میکروپنی (توسط Cryosection) قرار گرفته و پس از اتصال (Coating) به سطح لام و فیکساسیون و با استفاده از کونژوگه فلورستی زیر میکروسکوپ فلورسنت مورد مطالعه قرار می گرفت. این بیماران بسته به شرایط عمومی نظری سن، سابقه فشار خون بالا و عملکرد ارگانهای داخلی تحت درمان کلاسیک با پردنیزولون ۱-۲ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و آزاتیوپرین (۲-۳ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) یا درمان پالس با (متیل پردنیزولون ۱ گرم در روز به مدت ۴ روز و سیکلوفسافامید ۵۰۰ میلی گرم در روز اول) قرار می گرفتند. بیماران مورد درمان بعد از بهبودی نسبی و کاهش حداقل ۵۰٪ علائم بالینی (که حدود ۳-۲ ماه طول می کشد)، تحت آزمایش مجدد IIF قرار می گرفتند. تغییر سطوح آنتی بادیهای در گردش خون بعنوان معیاری برای اثر بخشی درمان های به کار رفته در نظر گرفته شده است. بیماران از نظر متغیرهایی مثل سن، جنسیت، مدت شروع بیماری، وجود و شدت ضایعات در پوست، دهان و سر قبل و بعد از درمان مورد مطالعه قرار می گرفتند. از نظر شدت ابتلا بیماران به ۴ دسته تقسیم شدند. دسته اول، شامل عدم ابتلا محل مورد نظر (پوست، دهان و سر)؛ دسته دوم، فرم خفیف با ابتلا کمتر از $\frac{1}{3}$ سطح محل مورد نظر؛ دسته سوم، فرم متوسط با ابتلا $\frac{1}{3}$ - $\frac{2}{3}$ محل مورد نظر و دسته چهارم فرم شدید با ابتلا بیش از $\frac{2}{3}$ سطح محل مورد نظر بودند (جدول یک). نتایج بدست آمده از این مطالعه توسط نرم افزار SPSS ویرایش ۱۳، آنالیز و بصورت میانگین \pm انحراف معیار (Mean \pm SD) بیان شده است. جهت بررسی همبستگی، از ضریب همبستگی پیرسون استفاده شده است. نتایج این تحلیل در صورت $P \leq 0.05$ معنی دار و موارد بیش از ۰/۵ با همبستگی بالا تلقی شده اند.

ارتباط سطوح این آنتی بادیها با شدت علائم کلینیکی بیماری بدرستی مشخص نمی باشد. در برخی مطالعات، سطح سرمی آنتی بادیهای گردشی بر ضد کراتینوسیت ها که به روش ایمونوفلورسانس غیر مستقیم تعیین شده اند، متناسب با شدت فعالیت بیماری است (۸۹). در حالیکه نتایج مطالعات دیگر این رابطه مستقیم را بین علائم کلینیکی و سطوح آنتی بادی را بین نمی دهند. ایمونوفلورسانس مستقیم روش استاندارد برای ردیابی IgG راسب در پوست می باشد. هدف از این مطالعه تعیین آنتی بادی های IgG گردشی و راسب قبل از درمان در بیماران دچار پمفيگوس ولگاریس و ارزیابی اثر داروهای مهار کننده اینمی بر سطوح آنتی بادی های گردشی بعد از درمان می باشد. این مطالعه روی ۶۲ بیمار (شامل ۳۴ زن و ۲۸ مرد) انجام گرفته است.

مواد و روش ها

در مطالعه از نوع قبل و بعد از مداخله، ۶۲ بیمار با علائم بالینی و آسیب شناسی پمفيگوس ولگاریس به مدت یکسال تحت مطالعه قرار گرفتند. میانگین سنی این بیماران $39/55 \pm 12/7$ سال با کمترین سن ابتداء ۲۰ سال و بیشترین سن ابتداء ۷۹ سال می باشد. متوسط طول دوره شروع بیماری $1/93 \pm 1/03$ سال بوده است. از مجموع ۶۲ بیمار ۲۸ مورد (۴۵٪) مذکور و ۳۴ مورد (۵۵٪) مونث بوده اند. در این بیماران قبل از شروع درمان ردیابی رسوب IgG همراه با در C₃ پوست با روش ایمونوفلورسانس مستقیم^۱ و تیتر از سطوح IgG موجود در گردش خون با روش ایمونوفلورسانس غیرمستقیم انجام گرفته است. جهت انجام IIF، بعد از خونگیری از بیماران سرم آنها جدا شده و بر روی برش های پوستی حاصل از ختنه نوزادان که روی لام فیکس شده بود، اضافه می گردید تا در صورت وجود آنتی بادیهای گردشی از نوع IgG به دسموزوم های بین کراتینوسیت ها اتصال یابد. سپس آنتی بادی ضد IgG انسانی که از خرگوش تهیه و با مواد فلورسنت نشان دار شده بود اضافه گردیده نهایتاً در زیر میکروسکوپ فلورسنت مورد بررسی قرار می گرفت. جهت انجام

جدول ۱: شیوع و شدت علائم کلینیکی در بیماران دچار پمفيگوس ولگاریس

شدت ابتلا	عدم ابتلا		شدت ابتلا
	نفر (%)	نفر (%)	
پوست	(۵۸/۳۳)	(۳۱/۶۲۰)	(۱۰/۱۶)
دهان	(۵۱/۶۳۲)	(۳۸/۴۲۴)	(۱۰/۶)
سر	(۷۳/۳۴۵)	(۲۰/۱۳)	(۶/۷۴)

جدول ۲: سطوح آنتی بادیهای IgG در گردش با روش IIF قبل و بعد از درمان در بیماران دچار پمفيگوس ولگاریس

زمان درمان	متفاوت	متغیر	سطح آنتی بادی	شدت ابتلا
قبل از درمان	(۳۲/۲۲۰)	(۲۴/۳۱۵)	(۱۶/۱۱۰)	(۱۱/۳۷)
بعد از درمان	(۱۶/۱۱۰)	(۲۲/۶۱۲)	(۱۷/۹)	(۵/۷۳)

1. Direct immunofluorescence, DIF
2. Indirect immunofluorescence, IIF

یافته ها

علیرغم بهبود علائم کلینیکی باعث کاهش چشمگیر سطوح آنتی بادی نشده اند. در مورد چگونگی تغییرات تیتر این آنتی بادی ها در سیر درمان بیماری، مطالعات مختلفی صورت گرفته و نتایج متفاوتی ارائه شده اند. در چند مطالعه کاهش چشمگیر سطوح آنتی بادی های گردشی پس از درمان موفق بیماری در آزمایش ایمونوفلورسانس گزارش شده است(۱۴و۱۵).

در دو مطالعه دیگر که اثر پلاسمافرژیس در یک بیمار مقاوم به درمان با پردنیزون و سیکلوفسفامید مطالعه شده است، بطور متوسط ۶ هفته بعد از شروع درمان کاهش چشمگیر آنتی بادی های گردشی در آزمایش ایمونوفلورسانس همراه با بهبود علائم کلینیکی گزارش شده است(۱۶و۱۷).

در مطالعه ای دیگر که در مورد تأثیر ایمونوگلوبولین وریدی (IVIg) در ۲۱ بیمار مبتلا به فرم شدید پمفيگوس ولگاریس انجام شده کاهش چشمگیر سطوح آنتی بادی های سرم، ۶ تا ۶ ماه بعد از شروع درمان در ایمونوفلورسانس غیر مستقیم گزارش شده است (۱۸). ولی بررسی های دیگر نتایج متفاوت و گاه مضادی را ارائه کرده اند. در یک مطالعه که اثر پردنیزولون خوارکی در ۴۶ بیمار مبتلا به پمفيگوس ولگاریس بررسی شده، کاهش تیتر آنتی بادی های گردشی بعد از درمان به روش ایمونوفلورسانس، تنها در افراد با شدت زیاد بیماری مشاهده شده ولی در بیماران دچار فرم های خفیف یا متوسط بیماری تغییرات سطوح آنتی بادی های گردشی چشمگیر نبوده است (۱۹).

در یک مطالعه کترول نشده، اثر تعیض پلاسمای کورتیکوستروئید در بیماران دچار پمفيگوس ولگاریس بررسی شده و مشاهده گردید که در برخی از بیماران سطوح آنتی بادی های گردشی در آزمایش ایمونوفلورسانس کاهش یافته است ولی در برخی دیگر، تغییری مشاهده نشده یا حتی میزان علیرغم بهبود علائم کلینیکی افزایش یافته است (۲۰). مطالعه دیگر، ۷۸ بیمار مبتلا به پمفيگوس ولگاریس را مورد بررسی قرار دادند که سطوح آنتی بادی های گردشی به روش ایمونوفلورسانس در تعدادی از بیماران بعد از درمان کاهش ولی در تعدادی دیگر عدم تغییر یا حتی افزایش تیتر از Ab مشاهده گردید. در این مطالعه بررسی پاسخ به درمان از طریق سنجش سریال سطوح آنتی بادی های گردشی توصیه نشده است (۲۱). در مطالعات دیگر نتایج مشابهی بدست آمده است (۲۲-۲۴).

همانطور که ملاحظه می گردد مطالعات فوق بر غیر قابل پیش بینی بودن تغییرات سطوح آنتی بادی های گردشی در بیماران دچار پمفيگوس ولگاریس تأکید دارند. در مطالعه حاضر نیز متوسط سطوح آنتی بادی های گردشی کاهش چشمگیری نداشت (۲۲)، $P=0.122$ ، $t=1.077$ که دلایل متفاوتی ممکن است داشته باشد. اولاً نوع درمان به کار رفته در تغییرات سطوح آنتی بادی های گردشی تاثیر دارد (۱۹،۲۳). استفاده از چند روش درمانی بصورت همزمان باعث افت بیشتر سطوح آنتی بادی می شود. ثانیاً

از نظر میزان ابتلا پوستی، ۳۶ مورد (۵۸٪) عدم ابتلا پوستی و ۲۶ بیمار (۴۱٪) ابتلا پوستی بصورت خفیف، متوسط یا شدید داشتند (جدول یک). از نظر ابتلا دهانی، ۳۲ مورد (۵۱٪) عدم ابتلا دهانی و ۳۰ مورد ابتلا دهانی با شدت های متفاوت داشتند. از نظر ابتلا سر، ۴۵ مورد (۷۳٪) عدم ابتلا و تنها ۱۷ مورد ابتلا پوست سر بصورت خفیف، متوسط یا شدید داشتند (جدول ۱).

نتایج حاصل از DIF در مورد رسوب IgG در پوست قبل از شروع درمان به این صورت بود که در ۳۶ بیمار بعلت عدم ابتلا پوستی DIF انجام نشد. در بیماران با ضایعات پوستی ۶ مورد (۱۲٪)، ۹ بیمار (۳۴٪) DIF منفی، ۹ بیمار (۱۶٪) رسوب IgG⁺ و در ۱۱ بیمار (۴۲٪) رسوب IgG⁺⁺ وجود داشت. در مورد IIF قبل از شروع درمان، ۱۰ بیمار (۱۶٪) منفی ولی ۵۲ بیمار (۸۳٪) حاوی آنتی بادی گردشی بودند که عیار آن از $1/16$ تا $1/2048$ متغیر بود (جدول ۲).

در آزمایش IIF بعد از شروع درمان، ۱۶ مورد (۳۰٪) فاقد آنتی بادی گردشی ولی ۳۷ بیمار (۶۹٪) دارای آنتی بودند (جدول ۲). در ۹ بیمار بعلت عدم مراجعته مجدد انجام آزمایش محدود نشد. هیچ موردی از مرگ بیماران در طی مدت مطالعه وجود نداشت. در بررسی میزان همبستگی بین تیتر از گردشی IgG قبل از آغاز درمان با تیتر آن بعد از درمان نتایج زیر بدست آمد: $P=0.005$ ، $t=4.15$

در مورد میانگین نتایج بدست آمده در مورد سطوح IgG گردشی قبل از آغاز درمان با مقادیر آن بعد از آغاز درمان تفاوت چشمگیری مشاهده نمی شود ($t=1.077$ ، $P=0.122$)

بحث

علیرغم آنکه اصطلاح پمفيگوس اولین بار در سال ۱۷۹۱ توسط Wichmann توصیف شده است هنوز راهکارهای درمانی مشخصی برای این بیماری وجود ندارد (۱۰). بعلت عدم وجود مطالعات دو سویه کورکترول شده وسیع در درمان این بیماری از یک طرف و شیوع کم بیماری از طرف دیگر روش استاندارد درمانی وجود نداشته و از روش های مختلفی جهت درمان و کترول بیماران استفاده می شود. هدف نهایی، ریشه کنی یا خشی کردن آنتی بادی های گردشی می باشد. کترول شدت بیماری در مراحل حاد توسط علائم کلینیکی بوده ولی بعد از قطع بروز تاول های جدید و بهبود ضایعات قبلی، تغییرات سطوح آنتی بادی گردشی در تعیین دوز دارو کمک کننده می باشند (۲، ۸-۱۳).

در مطالعه حاضر، میانگین آنتی بادی گردشی بیماران، قبل و بعد از درمان تفاوت چشمگیری ندارند ($t=0.122$ و $P=0.122$). میزان همبستگی بین سطوح آنتی بادی گردشی قبل و بعد از درمان مثبت بوده ولی کمتر از حد متوسط است ($t=0.415$ ، $P=0.005$). این نتیجه نشان می دهد گرچه متوسط مقادیر آنتی بادی بعد از درمان کاهش یافته است ولی ارزشمند نبوده و درمانهای بکار رفته

روش های اندازه گیری رایج این تفاوت ها را مشخص نمی سازد (۶,۹). از طرفی، روش های اندازه گیری سطوح آنتی بادیها حساسیت های متفاوتی داشته، روش ELISA در مقایسه با IIF حساس تر است. بعلاوه رقت نمونه های تهیه شده نیز باعث تفاوت در نتیجه گیری می گردد.

نتیجه گیری

در مطالعه حاضر درمانهای بکار رفته در بیماران پمفيگوس ولگاریس توانسته اند باعث کاهش چشمگیر سطوح آتوآنتی بادی های در گردش شوند. توصیه می شود مطالعات بعدی با در نظر گرفتن نوع و مدت درمان های بکار رفته، نوع ابتلا پوستی، مخاطر یا دهانی و استفاده از روش های ارزیابی حساس تر مثل ELISA برای سنجش آنتی بادی های گردشی انجام پذیرد.

بسته به شدت بیماری تغییرات سطوح آنتی بادیها متفاوت می باشد(۱۵,۱۸). در مطالعه حاضر، بیماران مبتلا به فرم های خفف و متوسط بیماری بوده و موردی از فرم شدید وجود نداشت. چون بیشتر آنها قبل از بستری در بخش بطور سریائی توسط پزشکان دیگر کورتیکواستروئید به اشکال و دوزهای مختلف دریافت کرده بودند و شاید به همین علت درمان های به کار رفته باعث تغییرات چشمگیر آنتی بادی نشده اند. از طرفی بسته به محل درگیری بیماران ، تغییرات مشاهده شده در سطوح آنتی بادیهای گردشی متفاوت بوده ابتلا دهان و سر، همانند مطالعه حاضر به علت داشتن محتوای آنتی ژنی زیاد باعث پایداری بیشتر آنتی بادیها می شود. برخی مطالعات نشان داده اند که گرچه آتوآنتی بادیهای مختص پمفيگوس ولگاریس از نوع IgG می باشند ولی خود این آنتی بادی، زیر گروه های دیگری (مثل انواع ۳و۱) دارد که تنها برخی از آنها در روند بیماری زایی موثر می باشند و

References

1. Saculy C, Challacombe SJ. Pemphigus Vulgaris: update on etiopathogenesis , oral manifestations, and management. *Crit Rev oral Biol med* 2002; **13**(5): 397-408.
2. Herzog S, Schmidt E, Goebeler M, Brocker EB and Zillikens D. Serum levels of autoantibodies to desmoglein in patients with therapy- resistant Pemphigus Vulgaris Successfully treated with adjuvant intravenous immunoglobulins. *Acta Derm venereol* 2004; **84**(1): 48-52.
3. Hahn K, Kippes W, Amagai M, Rzany B, Brocker EB, Zillikens D, Clinical aspects and immunopathology in patients with Pemphigus. *Hautarzt* 2000; **51**(9): 670-7.
4. Wojnarowska F, Venning VA, Burge SM. Immunobullous Disease. In: Burns T, Breathnach S, Cox N and Griffiths C, Rook's *Textbook of Dermatology*. 7th ed. Massachusetts; Black well Science, 2004; PP: 41.1-41.20.
5. James WD, Berger TG and Elston DM. *Clinical Dermatology*. 10th ed. Philadelphia Saunders, 2006; PP: 459-66.
6. Hinterhuber G, Drach J, Riedl E, Böhler K, Ferenci P, Wolff K. Paraneoplastic Pemphigus in association with hepatocellular Carcinoma. *J Am ACAD Dermatol* 2003; **49**(3): 538-40.
7. Niimi Y, Kawana J, Hashimoto T and Kusunoki T. Paraneoplastic Pemphigus associated with uterine Carcinoma. *J Am ACAD Dermatol* 2003; **48**(5): 69-72.
8. Cheng SW, Kobayashi M, Kinoshita- Kuroda K, Tanikawa A, Amagai M, Nishikawa T. Monitoring disease activity in Pemphigus with enzyme-linked immuno sorbent assay using recombinant esmogleins 1,3. *Br J Dermatol* 2002; **147**(2):261-5.
9. Harman KE, Seed PT, Gratian MJ, Bhogal BS, Challacombe SJ, Black MM. The severity of cutaneous and oral Pemphigus is related to desmoglein 1&3 antibody levels. *Int J Dermatol* 2003; **42**(5): 413-4.
10. Robinson ND, Hoshimoto T, Amagai M, Chan LS, Kurume C, Kurume I, et al. The new Pemphigus Variants. *J Am ACAD Dermatol* 1999; **40**(5): 649-67.
11. Auerbach R, Bystryn JC. Plasmapheresis and immunosuppressive therapy Effect on levels of intercellular antibodies in Pemphigus Vulgaris. *J Arch-Dermatol* 1979; **115**(6): 728-30.
12. Yano C, Ishiji T, Kamide R, Niimura M. A Case of Pemphigus Vulgaris Successfully treated with single filtration plasmapheresis: a correlation of clinical disease activity with serum antibody levels. *J Dermatol* 2000, **27**(6): 380-5.
13. Mimouni D, Nousari CH, Cummins DL, Kouba DJ, David M, Anhalt GJ. Differences, Similarities among expert opinions on the diagnosis and treatment of pemphigus Vulgaris. *J AM ACAD Dermatol* 2003; **49**(6): 1059-1063.
14. Hahn K, Kippes W, Amagai M, Rzany B, Brocker EB, Zillikens D. Clinical aspects and immunopathology in 48 patients with pemphigus. *Hautarzt* 2000; **51**(9): 670-677.
15. Weissman V, Feuerman EJ, Joshua H, Hazaz B. The correlation between the antibody titers in sera of patients with pemphigus Vulgaris and their clinical state. *J invest Dermatol* 1978; **71**(2): 107-109.
16. Ruocco V, Rossi A, Argenziano G, Aatarita C, Alaviggi L. Pathogenicity of the intercellular antibodies of pemphigus and their periodic

- removal from the circulation by plasmapheresis. *Br J Dermatol* 1978; **98**(2): 237-241.
17. Auerbach R, Bystryn JC. Plasmapheresis and immunosuppressive therapy. Effect on levels of intercellular antibodies in pemphigus Vulgaris. *J Arch Dermatol* 1979; **115**(6): 728-730.
18. Sami N, Bhol KC, Ahmed RA. Influence of intravenous immunoglobulin therapy on autoantibody titers to desmoglein 3 and desmoglein 1 in pemphigus vulgaris. *Eur J Dermatol* 2003; **13** (4): 377-381.
19. Golan D, Gilhar A, Shmuel Z, Moshkowitz M. Autoantibodies to epithelial cells (intercellular substance) and their correlation with clinical activity of pemphigus vulgaris. *Dermatologica* 1984; **169**(6): 339-341.
20. Roujeau JC, Andre C, Joneau Fabre M, Lauret P. Plasma exchange in pemphigus. Uncontrolled study of ten patients. *Arch Dermatol* 1983; **119**(3): 215-221.
21. Acosta E, Gilkes JJ, Ivanyi L. Relationship between the serum autoantibody titers and the clinical activity of pemphigus vulgaris. *Oral surg oral Med Oral pathol* 1985; **60**(6): 611-614.
22. Fitzpatrick RE, Newcomer VD. The correlation of disease activity and antibody titers in pemphigus. *Arch Dermatol*, 1980; **116**(3): 285-290.
23. Bhol K, Mohimen A, Ahmed AR. Correlation of subclasses of IgG with disease activity in pemphigus vulgaris. *Dermatology* 1994; **189**(1): 85-89.
24. Ljubojevic L. Pemphigus vulgaris: a review of treatment over a 19 -year period, *JEADV* 2002; **16**(1): 599-603.