

آنتی بادی های در گردش خون پمفیگوس ولگاریس در فامیل های درجه اول مبتلایان به پمفیگوس ولگاریس

فریده گل فروشان: گروه پوست، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز: نویسنده رابط

E-mail: dr_fGolfroushan@yahoo.com

حمیده عظیمی: گروه پوست، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
رسول استخری: گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
عبدالودود رضائیان: گروه پوست، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دریافت: ۸۸/۷/۸، پذیرش: ۸۹/۵/۶

چکیده

زمینه و اهداف: بیماری پمفیگوس یک بیماری تاولی داخل اپیدرمی خود ایمن است که در صورت عدم درمان می تواند کشنده باشد. واکنش اتوآنتی بادیها علیه دسموزوم ها مکانیسم پاتوژنیک شناخته شده ای است که پوست و غشاهای مخاطی را درگیر می کند. اقوام درجه اول مبتلایان به پمفیگوس ولگاریس، احتمال بیشتری برای بروز آنتی بادی های در گردش خون پمفیگوس ولگاریس نسبت به افراد عادی دارند.

مواد و روش ها: از تعداد ۷۰ بیمار مبتلا به پمفیگوس ولگاریس مراجعه کننده به درمانگاه پوست و یک نفر از فامیل درجه اول به ازای هر بیمار، آزمایش ایمونوفلورسانس غیرمستقیم جهت بررسی تیتراژ آنتی بادی پمفیگوس ولگاریس به عمل آمد. از ۷۰ بیمار پوستی مراجعه کننده به درمانگاه پوست، با تشخیص هایی غیر از پمفیگوس ولگاریس و بدون سابقه فامیلی بیماری فوق، به عنوان گروه شاهد، تست مذکور انجام گرفت. نتایج بدست آمده از بیماران و بستگان درجه اول آنان با نتایج بدست آمده از گروه شاهد مورد مقایسه قرار گرفت.

یافته ها: میانگین سن بیماران $41/14 \pm 12/57$ سال، میانگین سن اقوام درجه اول بیماران و افراد گروه کنترل به ترتیب $39/04 \pm 15/43$ و $36/61 \pm 13/51$ سال بود. $57/14\%$ بیماران زن و $42/86\%$ مرد بود ولی رابطه معنی داری بین جنسیت بیماران و شیوع بیماری دیده نشد ($P=0/23$). تست ایمونوفلورسانس غیرمستقیم در $94/29\%$ از بیماران و $11/43\%$ بستگان درجه اول بیماران مثبت گزارش گردید که در مقایسه با گروه کنترل رابطه معنی داری دیده شد.

نتیجه گیری: آنتی بادیهای در گردش خون پمفیگوس ولگاریس در اقوام درجه اول بیماران، بیشتر از افراد عادی است.

کلید واژه ها: پمفیگوس ولگاریس، ایمونوفلورسانس غیرمستقیم، فامیل درجه اول، اتو آنتی بادی های در گردش خون

مقدمه

دیده می شود (۴ و ۵). تشخیص بیماری پمفیگوس بر اساس علائم بالینی، پاتولوژی و ایمونوپاتولوژی است (۶). علائم پوستی با تاولهای شل در نواحی مختلف بدن و نیز تاولهای مخاطی مخصوصاً مخاط دهان که به سرعت پاره شده و سطوح اروزو و دردناک در دهان ایجاد می کنند، مشخص می شود. در پاتولوژی تاولهای سوپر ابازال با سلولهای آکانتولیتیک مشخصه پمفیگوس است (۷). آکانتولیز نتیجه واکنش اتوآنتی بادی ها علیه سطح سلولهای کراتینوسیت بخصوص دسموگلین ها است که چسبندگی

پمفیگوس یک بیماری تاولی اتوایمون نادر است که پوست و مخاطات را گرفتار می کند (۱). در سال ۱۹۶۴ Jordon و Beutner اتو آنتی بادی را علیه سطح کراتینوسیت های پوست که کلیدی ترین نقش را در بیان ماهیت پمفیگوس ایفا می کند کشف کردند (۲). این اتوآنتی بادی ها در بستگان درجه اول بیماران مبتلا به پمفیگوس نیز دیده می شود (۳). بررسی های متعدد استعداد ژنتیکی برای پمفیگوس را مطرح می کنند. اکثر بیماران فنوتیپ HLA DR₆ یا HLA DR₄ دارند. این بیماری در یهودی های آشکنازی بیشتر

شده در آزمایشگاه مرکز آموزشی-درمانی امام خمینی تبریز بررسی شد و تیتراژ آنتی بادی گزارش شده توسط آزمایشگاه در پرسشنامه بیماران درج گردید. بیماران گروه کنترل با سابقه بیماری ایمونوبولوز یا بیماریهای خود ایمن دیگر از مطالعه حذف شدند. در بستگان درجه اول بیماران پمفیگوس ولگاریس نیز، سابقه هرگونه بیماری خود ایمن از مطالعه حذف شدند. بعد از جمع آوری اطلاعات از سه گروه مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS انجام گرفت. جهت مقایسه متغیرهای کمی از آزمون T (One-Sample test) و آزمون T مستقل (Independent samples test) استفاده شد. از آزمون مجذور کای جهت تعیین ارتباط بین متغیرهای کیفی استفاده گردید که $P.V < 0.05$ از نظر آماری معنی دار تلقی شد.

یافته ها

در این بیماری تعداد کل ۷۰ بیمار مبتلا به پمفیگوس ولگاریس با در نظر گرفتن سن و جنس بیماران و مدت زمان ابتلا به بیماری، از نظر میزان آنتی بادی های پمفیگوس در گردش خون با استفاده از روش ایمونوفلورسانس غیرمستقیم مورد مطالعه قرار گرفتند.

یک فامیل درجه اول (پدر، مادر، خواهر، برادر، دختر، پسر) به ازای هر بیمار مبتلا به پمفیگوس ولگاریس یعنی ۷۰ نفر از نظر آنتی بادی فوق و به روش فوق الذکر مورد بررسی قرار گرفت. همچنین از تعداد ۷۰ بیمار مبتلا به سایر بیماریهای پوستی به غیر از پمفیگوس ولگاریس بعنوان گروه شاهد آزمایش ذکر شده درخواست گردید.

دامنه و میانگین سه گروه در جدول شماره ۱ آورده شده است که ارتباط معنی داری از نظر سن بین افراد مورد مطالعه در سه گروه بدست نیامد ($P=0/19$).

در جدول شماره ۱ فراوانی جنسی در سه گروه آورده شده که تفاوت معنی داری در دو جنس در بیماران و فامیل درجه اول بیماران و دو گروه کنترل وجود نداشت ($P=0/23$).

در گروه بیماران مبتلا به پمفیگوس ولگاریس طول مدت ابتلا به بیماری مطالعه شد که نتایج بدست آمده ۳۵ نفر بیماری را مدت کمتر از یکسال (۵۰٪ بیماران) ۲۴ نفر مدت بیماری ۱-۲ سال داشتند (۴۳/۳٪ بیماران)، ۴ نفر مدت بیماری ۲-۳ سال (۵/۷٪ بیماران) و ۷ نفر بیش از ۳ سال از دوره بیماریشان گذشته بود (۱۰٪ بیماران) متوسط طول دوره بیماری در بین بیماران مبتلا به پمفیگوس ۱۸±۱۴/۷۲ ماه بود. در هر سه گروه فراوانی آنتی بادهای ضد پمفیگوس در گردش خون بطور مجزا مورد بررسی قرار گرفت و نتایج زیر بدست آمد: در گروه بیماران پمفیگوس ۹۴/۲۹٪ تست IIF مثبت بود. در ۱۱/۴۳٪ اقوام درجه اول بیماران پمفیگوس تست IIF مثبت بود و در گروه کنترل در هیچ یک از افراد آنتی بادی ضد پمفیگوس دیده نشد.

بین کراتینوسیتها از بین می رود. در ایمونوپاتولوژی وجود اتوآنتی بادی علیه دسموگلین I و III که مهمترین اتو آنتی ژن بحساب می آید قابل شناسایی است. وجود این اتوآنتی بادی در پوست و مخاط بیماران مبتلا به پمفیگوس بوسیله ایمونوفلورسانس مستقیم قابل شناسایی است. روشهای ایمونوفلورسانس غیرمستقیم و نیز ایمونوبلات و ELISA روشهای دیگر برای شناسایی اتوآنتی بادی های در گردش خون هستند (۸-۱۰).

هدف از این مطالعه بررسی اتوآنتی بادی های در گردش خون بیماران مبتلا به پمفیگوس و مقایسه آن در بستگان درجه اول بیماران مبتلا به پمفیگوس ولگاریس و گروه شاهد از بین بیماران مراجعه کننده به درمانگاه و بخش پوست آموزشی-درمانی سینای تبریز می باشد.

مواد و روش ها

در این مطالعه که یک مطالعه توصیفی - مقایسه ای است نمونه های مربوط به سه گروه شامل بیماران مبتلا به پمفیگوس ولگاریس، فامیل درجه اول بیماران مبتلا به پمفیگوس ولگاریس و افراد سالم بعنوان کنترل بصورت مجزا از بین بیماران مراجعه کننده به درمانگاه پوست مرکز آموزشی و درمانی سینا در شهر تبریز انتخاب شدند و اطلاعات مربوط به سن و جنس از تمام افراد مورد مطالعه، طول مدت بیماری از بیماران مبتلا به پمفیگوس ولگاریس و نسبت فامیلی با بیمار در گروه اقوام درجه اول جمع آوری شده و در چک لیستی درج شد.

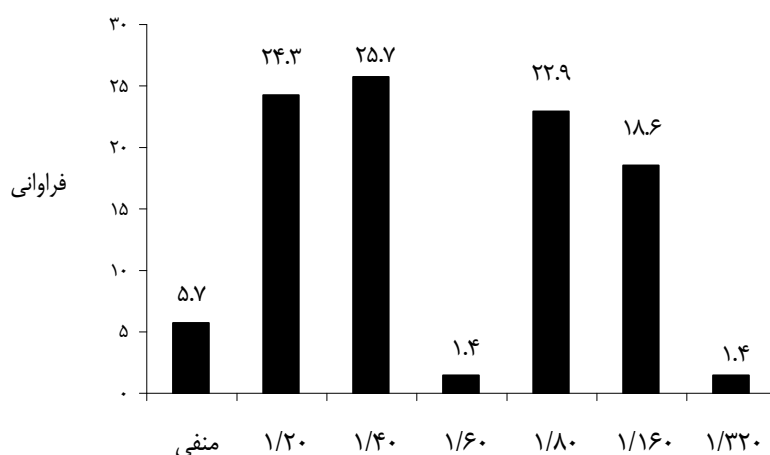
هر سه گروه مورد مطالعه ۷۰ نفر بوده و مجموعاً ۲۱۰ نفر مورد مطالعه قرار گرفت. از ۷۰ مورد بیماران مبتلا به پمفیگوس ولگاریس به صورت تصادفی ساده از مبتلایان شناخته شده و تحت درمان که برای کنترل بیماری به مرکز آموزشی-درمانی سینای تبریز مراجعه می کردند جمع آوری شده که پس از توضیح در مورد طرح تحقیقاتی مورد نظر و کسب رضایت از بیمار تست ایمونوفلورسانس غیرمستقیم (IIF) جهت بررسی تیتراژ آنتی بادی در گردش پمفیگوس ولگاریس از تمام بیماران درخواست گردید. سپس از بیماران نشانی منزل و یا شماره تلفن تماس درخواست گردید و با یکی از بستگان درجه اول بیماران (پدر، مادر، دختر، پسر، خواهر، برادر) تماس گرفته شد. و بعد از توجیه در مورد طرح تحقیقاتی جهت نمونه گیری برای آزمایش مشابه از آنان دعوت بعمل آمد، و با رضایت خود به آزمایشگاهی که جهت انجام تست تعیین شده بود مراجعه و خون گیری انجام شد. بدین صورت اطلاعات مربوط به دو گروه ۷۰ نفره بیماران و بستگان درجه اول بیماران جمع آوری گردید. برای جمع آوری گروه شاهد یا کنترل از بیماران مراجعه کننده به درمانگاه پوست مرکز آموزشی-درمانی سینا با تشخیص هایی غیر از پمفیگوس ولگاریس و بدون هیچگونه سابقه فامیلی بیماری مذکور یا هر بیماری خود ایمن دیگر، پس از توضیح در مورد طرح تحقیقاتی و جلب رضایت به صورت تصادفی ساده نمونه گیری شد. نمونه های تهیه

در ۷۰ بیمار پمفیگوس مورد مطالعه فراوانی میزان IIF سرم به شرح زیر بود:

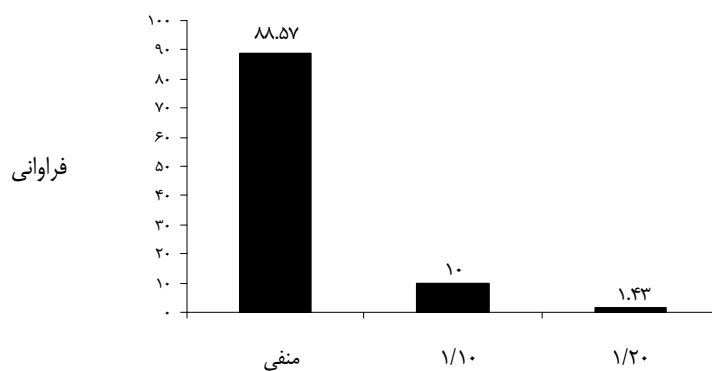
در ۴ مورد ۵/۷٪، IIF سرم منفی بود و در ۱۷ مورد ۲۴/۳٪، IIF سرم ۱/۲۰ بود و در ۱۸ مورد ۲۵/۷٪، IIF سرم ۱/۴۰ بود و در ۱ مورد ۱/۴٪، IIF سرم ۱/۶۰ بود و در ۱۶ مورد ۲۲/۹٪، IIF سرم ۱/۸۰ بود و در ۱۳ مورد ۱۸/۶٪، IIF سرم ۱/۱۶۰ بود و در ۱ مورد ۱/۴٪، IIF سرم ۱/۳۲۰ بود.

علاوه بر وجود آنتی بادی در گردش خون در افراد مورد مطالعه میزان آنتی بادی فوق نیز سنجیده شد. محدوده IIF مثبت در گروه اقوام درجه اول بین ۱/۱۰ تا ۱/۲۰ و محدوده IIF مثبت در بیماران مبتلا بین ۱/۲۰ تا ۱/۳۲۰ بدست آمد.

در اقوام درجه اول از ۷۰ فرد مورد مطالعه ۸ نفر یعنی در ۱۱/۴۳ موارد تست IIF مثبت بود که از این میزان ۸۷/۵٪ موارد تست مثبت یعنی ۱۰٪ کل موارد میزان سرم ۱/۱۰، ۱۲/۵٪ موارد یعنی ۱/۴۳٪ کل موارد ۱/۲۰ بدست آمد.



نمودار ۱: میزان آنتی بادی های گردش خون به روش IIF در بیماران مبتلا به پمفیگوس و لگاریس



نمودار ۲: فراوانی میزان آنتی بادی های گردش خون به روش IIF در اقوام درجه اول افراد مبتلا به پمفیگوس و لگاریس

جدول شماره ۱: مشخصات سنی و جنسی افراد مورد مطالعه

گروه مورد مطالعه	جنس		در صد		میانگین و انحراف معیار		دامنه سن
	مرد	زن	مرد	زن	سن (سال)		
بیماران مبتلا به پمفیگوس	۳۰	۴۰	(۴۲/۸۶)	(۵۷/۱۴)	۴۱/۱۴±۱۲/۵۷		۲۰-۸۱
اقوام درجه اول	۱۹	۵۱	(۲۷/۱۴)	(۷۲/۸۶)	۳۹/۰۴±۱۵/۴۳		۱۶-۶۹
گروه شاهد	۲۷	۴۳	(۳۸/۵۸)	(۶۱/۴۲)	۳۶/۶۱±۱۳/۵۱		۱۵-۸۳

بحث

در مطالعه ما آنتی بادهای آنتی بادی در گردش خون پمفیگوس ولگاریس در ۹۴/۲۹٪ از بیماران مبتلا به پمفیگوس ولگاریس یعنی ۶۶ نفر از ۷۰ بیمار و در ۱۱/۴۳٪ از افراد فامیل درجه اول سالم بیماران مبتلا به پمفیگوس ولگاریس یعنی ۸ نفر از ۷۰ نفر در ایمونوفلورسانس غیرمستقیم مثبت گزارش شد و در ۷۰ نفر گروه شاهد این تست منفی بود. ایمونوفلورسانس غیرمستقیم در افراد فامیل درجه اول سالم بیماران مبتلا به پمفیگوس ولگاریس در مقایسه با گروه کنترل رابطه معنی داری نشان داد ($P < 0.01$).

در مطالعات متعدد انجام شده اتوآنتی بادی های پمفیگوس با تیتراژ پایین در بستگان درجه اول سالم بیماران پمفیگوس یافت شده است. Ahmed و همکاران تیتراژ پایین اتوآنتی بادی PV را در ۴۸٪ از ۱۲۰ فامیل درجه اول سالم ۳۱ بیمار پمفیگوس یافت و نشان داد که وجود این اتوآنتی بادی ها به هاپلوتیپ HLA DR4 یا DR6 بیماران بستگی دارد (۳).

Kricheli و همکاران در ۱۵٪، ۵۵ فامیل سالم ۲۵ بیمار مبتلا به پمفیگوس، اتو آنتی بادی پمفیگوس را با استفاده از ایمونوفلورسانس غیر مستقیم پیدا کرد در حالی که در ۲۵ بیمار پمفیگوس این تست در ۶۴٪ مثبت و در تمامی ۵۶ نفر گروه شاهد این تست منفی بود. تیتراژ آنتی بادی بین ۱/۱۰ تا ۱/۱۶۰ بود (۱۱). در مطالعه ما در مبتلایان به پمفیگوس تیتراژ بین ۱/۲۰ تا ۱/۱۶۰ و در بین بستگان ۱/۱۰ تا ۱/۲۰ گزارش شد.

Brandson و همکاران وجود آنتی بادی های پمفیگوس را به سه روش ایمونوفلورسانس مستقیم و غیرمستقیم و تکنیک ایمونوبلاتینگ در ۲۱ نفر از بستگان درجه اول ۱۲ بیمار مبتلا به پمفیگوس و در ۳۰ نفر گروه کنترل بررسی کردند. آنها انسیدانس بالاتری از IgG پمفیگوس (۷۱٪) با استفاده از سه تکنیک یافتند (۱۵ نفر از ۲۱ فامیل درجه اول) اما این ایمونوگلوبولین ها فقط در ۵ نفر یعنی ۲۵٪ فامیل درجه اول به سلولهای اپی درم باند شده بودند. در ۳۰ نفر از گروه کنترل در هیچ یک از روشهای استفاده شده تست مثبت گزارش نشد (۱۲).

در یک مطالعه دیگر توسط Mohimen و همکاران در ۶۷ نفر بستگان درجه اول ۱۲ بیمار ایتالیایی مبتلا به پمفیگوس PV-IgG بوسیله ایمونوفلورسانس غیرمستقیم ۳۱٪ و به روش ایمونوبلاتینگ ۴۷٪ گزارش شد. تیتراژ آنتی بادی بین ۱/۲۰ تا ۱/۸۰ بود (۱۳).

در بررسی دیگر Torzecka در سال ۲۰۰۳ در ۵۶ بستگان درجه اول ۳۷ مورد بیمار مبتلا به پمفیگوس اتو آنتی بادی پمفیگوس باروش IIF ۴۲/۸٪ و بروش ELISA ۱۹/۶٪ گزارش شد (۱۴) و در سال ۲۰۰۷ بین ۳۳ بیمار و ۶۷ فامیل درجه اول و ۵۰ نفر گروه کنترل به نتایج زیر دست یافت: در ۳۰ نفر از ۶۷ فامیل یعنی ۴۴/۸ و در گروه شاهد منفی بود ($P < 0.01$) (۱۵).

در مطالعه دیگر توسط Kavala در استانبول ترکیه روی ۴۵ بیمار پمفیگوس و ۷۵ فامیل سالم آنها و ۴۷ نفر بعنوان گروه شاهد مطالعه کرد، ایشان تست ایمونوفلورسانس مستقیم و غیرمستقیم در همه این افراد انجام داد و نتایج زیر بدست آمد: تست ایمونوفلورسانس غیرمستقیم در ۲۶/۷٪ وابستگان و فقط در ۴/۲٪ گروه شاهد مثبت بود. تست ایمونوفلورسانس مستقیم در ۳ وابسته یعنی ۴٪ موارد مثبت و در گروه شاهد همه ی موارد منفی بود (۱۶).

تیتراژ مثبت اتوآنتی بادی در گردش خون پمفیگوس در فامیل درجه اول سالم بیماران مبتلا به پمفیگوس هر چند در سطح های پایین زمینه ژنتیکی بیماری را توجیه می کند.

نتیجه گیری

با وجود شناسایی اتوآنتی بادی پمفیگوس در نزدیکان درجه اول بیماران با تیتراژ کمتر هنوز به این سوال پاسخ داده نشده است که چرا این افراد علائم بالینی پمفیگوس را نشان نمی دهند. آیا عواملی مثل مواد سمی، عفونت، نور خورشید یا سایر عوامل باعث بروز بالینی پمفیگوس می شود بدرستی شناخته نشده است و مطالعات زیادی را برای آشکار شدن ماهیت این بیماری طلب می کند.

References:

- Hong WU, Branding-Bennett HA, Harist TJ. Noninfectious Vesiculobullous and Vesiculopustular Diseases. In *levers Histopathology of the skin*. 10th ed. Walters Kluwer, Lippincott Williams & Wilkins, 2009; PP: 235-278.
- Stanley JR. Pemphigus in Fitzpatrick, *Dermatology in general medicine*. 6th ed. McGraw-Hill, 2003; PP: 558-567.
- Ahmed AR, Mohimen A, Yunis EJ, Mirza NM, Kumar V, Beutner EH, et al. Linkage of pemphigus vulgaris Antibody to the major histocompatibility complex in healthy relatives of patients. *J EXP Med* 1993; 177(1): 419-424.
- James WD, Berger TG, Elston DM. Chronic blistering dermatomes in Andrew's Diseases of the skin clinical dermatology. 10th ed. Saunders Elsevier 2006; PP: 459-464.
- Habif ThP Vesicular and Bullous: Diseases in skin disease Diagnosis and Treatment. 2nd ed. Elsevier Mosby, 2005; PP: 332-341.
- Wojnarowska F, Venning VA, Burge SM. Immunobullous Diseases. In: Burns T, Breathnach S, Cox N, Griffiths CH: *Rook's; Textbook of Dermatology*. 7th ed. Blackwell Pub 2004; PP: 1-59.
- George F Murphy, Klaus Sellheyer, Martin C, Mihm Jr. *The Skin of Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 6th ed. WB. Saunders Company, 2004; PP: 1260-1262.

8. Roitt I, Brostoff J, Male D, Hypersensitivity -type II; in *Immunology*. 6th ed. Mosby, 2001; PP: 345-355.
9. Hashimoto T, Amagai M, Garrod DR, Nishikawat. Immunofluorescence and immunoblot studies on the reactivity of pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus sera with desmoglein 3 and desmoglein. *Epithelial Cell Biol* 1996; 4(2): 63-69.
10. Mohimen A, Ahmed AR. Comparison of an indirect immunofluorescence assay and modified sensitive immune blot assay for the study of the autoantibody in pemphigus Vulgaris. *Arch Dermatology Res* 1995; 287(2): 202-208.
11. Kricheli D, David M, Frusic-zlotkin M, Goldsmith D, Rabinov M, Sulkes J, et al. The distribution of pemphigus vulgaris IgG subclasses and their reactivity with desmoglein 3 and 1 in pemphigus patients and their first-degree relatives. *Br Journal of Dermatology* 2000; 143(2): 337-342.
12. Brandsen R, Frusic-zlotkin M, Lyubimov H, Yunes F, Michel B, Tamir A, et al. Circulating pemphigus IgG in families of patients with pemphigus Vulgaris: comparison of indirect immunofluorescence, direct immunofluorescence and immunoblotting. *Journal of Am Acad Dermatology* 1997; 36(1): 44-52.
13. Mohimen A, Narula M, Ruocco V, Pisani M, Ahmed AR. Presence of the autoantibodies in healthy relatives of Italian patients with pemphigus vulgaris. *Arch Dermatology Res* 1993; 285(3): 176-177.
14. Torzecka JD, Narbutt J, Sysa-Jedrzejowska A, Waszczykowska E, Iukamowicz J, Pas HH. Detection of pemphigus antibodies by indirect immunofluorescence and enzyme-linked immunosorbent assays tested in patients with pemphigus vulgaris and foliaceus and in healthy relatives. *Med Sci Monit* 2003; 9(12): 528-533.
15. Torzecka JD, Wozniak K, Kowalewski C, Waszczykowska E, Sysa-Jedrzejowska A, Narbutt J, et al. Circulating pemphigus autoantibodies in healthy relatives of pemphigus patients: coincidental phenomenon with a risk of disease development? *Arch Dermatology Res* 2007; 299(5-6): 239-243.
16. Karula M, Kocaturk OE, Dermirkesen C, Can B, Zindanci I, Turkoglu Z. Detection of pemphigus autoantibodies in healthy relatives of Turkish patients with pemphigus vulgaris. *Article Asp* 2007; 73(4): 240-242.