

## حساسیت ELISA در تشخیص اتوآنتی‌بادی‌های دسموگلین ۱ و ۳ در بزاق و سرم بیماران مبتلا به پمفیگوس ولگاریس

**زمینه و هدف:** پمفیگوس ولگاریس به‌عنوان شایع‌ترین شکل بیماری خودایمنی پمفیگوس به‌شمار می‌رود. تهیه‌ی نمونه‌ی خون به‌منظور تشخیص بیماری، با دشواری‌هایی همراه است، درحالی که نمونه‌گیری از بزاق بسیار آسان‌تر می‌باشد. شناخت روش‌های ارجح تشخیصی و پایش فعالیت بیماری، به تسریع تشخیص، درمان بهتر، کاهش هزینه‌های درمانی، ارتقای کیفیت درمان و کاهش مرگ و ناتوانی ناشی از بیماری خواهد شد. هدف از مطالعه‌ی حاضر، بررسی حساسیت ELISA در تشخیص اتوآنتی‌بادی‌های anti-DSG3 و anti-DSG1 در بزاق و سرم بیماران مبتلا به پمفیگوس ولگاریس می‌باشد.

**روش اجرا:** در این مطالعه‌ی مورد - شاهده‌ی، ۴۰ بیمار مبتلا به پمفیگوس ولگاریس مراجعه‌کننده به بیمارستان رازی که تشخیص بیماری آن‌ها از طریق بررسی آسیب‌شناسی و انجام ایمونوفلوروسانس مستقیم به اثبات رسیده بود، به‌عنوان گروه بیمار و ۴۰ فرد سالم به‌عنوان گروه شاهد مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه‌ی بزاق غیرتحریکی با روش تف‌کردن (Spitting) به همراه نمونه‌ی سرم از هر دو گروه تهیه شد. اطلاعات دموگرافیک، شدت بیماری و فنوتیپ بیماری در پرسش‌نامه‌هایی که به این منظور تدوین شده بود، ثبت گردید. تست ELISA ی DSG3 و DSG1 بر روی نمونه‌های سرم و بزاق هر دو گروه انجام شد.

**یافته‌ها:** سن متوسط بیماران  $43.37 \pm 11.94$  با دامنه‌ی ۲۶ تا ۷۱ سال بود. ELISA ی DSG1 بزاق در ۱۷ بیمار (حساسیت ۴۲/۵٪) و ELISA ی DSG1 سرم در ۳۶ بیمار (حساسیت ۹۰٪) مثبت گزارش گردید. هم‌چنین ELISA ی DSG3 بزاق، در ۲۴ بیمار (حساسیت ۶۰٪) و ELISA ی DSG3 سرم در ۳۴ بیمار (حساسیت ۸۵٪) مثبت بود.

**نتیجه‌گیری:** اگرچه حساسیت سرم در تشخیص اتوآنتی‌بادی‌های پمفیگوس ولگاریس نسبت به بزاق بیشتر است، اما از بزاق می‌توان به‌عنوان یک بیومارکر مناسب جهت تعیین سطوح آنتی‌بادی‌ها و پایش فعالیت بیماری استفاده نمود.

**کلیدواژه‌ها:** ELISA، پمفیگوس ولگاریس، بزاق، دسموگلین، سرم

دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۰۳/۲۰ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۰۵/۱۷

پوست و زیبایی؛ تابستان ۱۳۹۳، دوره‌ی ۵ (۲): ۶۹-۷۵

دکتر حسین مرتضوی<sup>۱</sup>  
دکتر فرید عباسی<sup>۲</sup>  
دکتر مریم کوپائی<sup>۳</sup>  
دکتر نفیسه اسماعیلی<sup>۱،۲</sup>

۱. گروه پوست، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۲. مرکز تحقیقات بیماری‌های خودایمنی تاولی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۳. گروه بیماری‌های دهان، فک و صورت، دانشکده‌ی دندانپزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

نویسنده‌ی مسئول:

دکتر مریم کوپائی

تهران، خیابان وصال شیرازی، خیابان ایتالیا، شماره‌ی ۳۹، دانشکده‌ی دندانپزشکی دانشگاه شاهد، گروه بیماری‌های دهان، فک و صورت.

پست الکترونیک:

maria\_koopae@yahoo.com

تعارض منافع: اعلام نشده است.

### مقدمه

پمفیگوس شامل گروهی از بیماری‌های خودایمنی تهدیدکننده‌ی حیات است که باعث بروز تاول و اروژن در پوست و غشاهای مخاطی می‌شود<sup>۱</sup>. انواع اصلی پمفیگوس شامل پمفیگوس ولگاریس (با زیرگروه پمفیگوس وژتان)، پمفیگوس فولیاسه (با زیرگروه

پمفیگوس هرپتی‌فرم و پمفیگوس اریتماتوز)، پمفیگوس مرتبط با دارو و پمفیگوس پارائئوپلاستیک می‌باشد<sup>۲</sup>. در پمفیگوس فولیاسه تاول در لایه‌ی سلولی گرانولر سطحی ایجاد می‌شود، درحالی که در پمفیگوس ولگاریس ضایعه عمیق‌تر بوده و درست بالای لایه‌ی سلول‌های بازال ایجاد می‌شود<sup>۱</sup>. پمفیگوس ولگاریس شایع‌ترین شکل پمفیگوس بوده که

بیمارستان رازی انجام شد. ۴۰ بیمار جدید مبتلا به معیارهای زیر در مطالعه مورد بررسی قرار گرفتند:

۱. ویژگی‌های بالینی شامل تاول و اروژن روی پوست و غشاهای مخاطی؛
  ۲. آکانتولیزسوپرابازال در مطالعه‌ی آسیب‌شناسی؛
  ۳. رسوب بین سلولی ایمونوگلوبین و جزء C3 کمپلمان در بررسی ایمونوفلورسانس مستقیم.
- این مشخصات تأییدکننده‌ی ابتلا به پمفیگوس ولگاریس است. هیچ‌کدام از بیماران قبل از ورود به مطالعه، هیچ‌گونه درمانی دریافت نکرده بودند. ۴۰ فرد سالم به‌عنوان گروه کنترل مورد بررسی قرار گرفتند. پرسش‌نامه‌ای شامل اطلاعات دموگرافیک، فنوتیپ بیماری (شامل مخاطی، پوستی - مخاطی یا پوستی) و محل ضایعات برای هر بیمار تکمیل شد. معیار Severity score برای درگیری پوستی مخاطی براساس Pemphigus Disease Area Index (PDAI) تعیین شد. پس از تکمیل پرسش‌نامه‌ی مذکور و آگاهی بیمار در مورد طرح تحقیقاتی و هدف آن و اخذ رضایت‌نامه‌ی داوطلبانه کتبی از بیمار، نمونه‌های سرم و بزاق جمع‌آوری شد. نمونه‌های بزاق غیرتحریکی (Whole Saliva) به روش تف‌کردن (Spitting) در ظرف‌های استریل از قبل توزین‌شده جمع‌آوری گردید. به هر بیمار برای جمع‌کردن بزاق ۱۵ دقیقه فرصت داده شد، به این معنا که بیمار به مدت ۵ دقیقه بزاق خود را در حفره دهان جمع کرده و از بلع آن اجتناب و این محتوا را در ظرف مذکور تف می‌نمود. سپس نمونه‌های سرم و بزاق در شتاب  $3700 \text{ g(m/s}^2\text{)}$  به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند و در دمای  $-70^\circ\text{C}$  درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. نمونه‌های سرم و بزاق بین ساعت ۹ تا ۱۱ صبح جمع‌آوری شدند تا از تنوع‌های circadian جلوگیری شود.

ELISA دسموگلین ۱ و دسموگلین ۳ بر روی نمونه‌های سرم و بزاق با استفاده از کیت‌های (Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG, Lübeck, Germany) براساس مطالعات قبلی و

تقریباً ۷۰٪ از موارد پمفیگوس را شامل می‌شود<sup>۲</sup>. ۸۰٪ تا ۹۰٪ بیماران مبتلا به پمفیگوس ولگاریس، ضایعات دهانی را در طی دوران بیماری نشان می‌دهند و در ۶۰٪ از بیماران ضایعات دهانی اولین نشانه‌ی این بیماری است. پمفیگوس ولگاریس توسط بیوپسی تشخیص داده می‌شود و بهترین روش آن تهیه‌ی نمونه از وزیکول‌ها و تاول‌های دست‌نخورده‌ای است که کمتر از ۲۴ ساعت از عمر آن‌ها گذشته باشد. تشخیص پمفیگوس توسط ایمونوفلورسانس مستقیم (direct immunofluorescence [DIF]) تأیید می‌شود که رسوب IgG در سطح کراتینوسیت‌های اپی‌درم، داخل و اطراف ضایعات را نشان می‌دهد که IgG1 و IgG4 شایع‌ترین زیرگروه‌ها هستند. IgA، IgM و C3 با شیوع کمتری نسبت به IgG حضور دارند<sup>۲</sup>. روش دیگر تشخیصی، تست آنتی‌بادی ایمونوفلورسانس غیرمستقیم (indirect immunofluorescence [IIF]) می‌باشد که بر روی سرم بیمار انجام می‌شود. با روش IIF اتوآنتی‌بادی‌های در گردش پمفیگوس در بیش از ۸۰٪ از بیماران شناسایی می‌شوند<sup>۲</sup>. تیتراژ آنتی‌بادی با سطح و شدت بالینی بیماری مرتبط می‌باشد و ممکن است به‌صورت دوره‌ای طی درمان و جهت ارزیابی فعالیت بیماری انجام شود<sup>۱</sup>. یکی از معایب IIF عدم توانایی این روش در افتراق پمفیگوس ولگاریس از پمفیگوس فولیاسه می‌باشد. اخیراً برای تشخیص سرمی پمفیگوس از روش ELISA استفاده می‌شود. ELISA در رقت‌های مناسب می‌تواند برای پایش فعالیت بیماری به‌کار رود<sup>۲</sup>.

تیتراژ آنتی‌بادی تشخیص داده‌شده در این روش‌ها، مسیر بعدی درمان و دوز داروی موردنیاز را دیکته خواهد کرد. جهت تعیین تیتراژ آنتی‌بادی در روش IIF و ELISA به‌طور معمول از سرم استفاده می‌شود.

## روش اجرا

این مطالعه از خرداد ماه سال ۱۳۹۲ تا اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۳ در مرکز تحقیقات بیماری‌های تاولی

درگیری پوستی داشتند. میزان اتوانتی‌بادی‌های DSG1 و DSG3 که توسط روش ELISA بر روی سرم و بزاق گزارش گردید، در صورت منفی بودن عدد صفر گزارش گردید و در صورت مثبت بودن جواب، اعداد در محدوده‌ی ۱ تا بیشتر از ۲۰۰ گزارش شد. نتایج کلی به شرح زیر است:

ELISA ی anti-DSG1 بزاق در ۱۷ بیمار مثبت (حساسیت ۴۲٫۵٪) و ELISA ی DSG3 بزاق در ۲۴ بیمار (حساسیت ۶۰٪) مثبت گزارش گردید.

ELISA ی anti-DSG1 سرم در ۳۶ بیمار مثبت (حساسیت ۹۰٪) و ELISA ی anti-DSG3 سرم در ۳۴ بیمار (حساسیت ۸۵٪) مثبت گزارش گردید. هم‌چنین ELISA ی anti-DSG1 و anti-DSG3 بزاق در ۱۶ بیمار (حساسیت ۴۰٪) و ELISA ی anti-DSG1 و anti-DSG3 سرم در ۳۲ بیمار (حساسیت ۸۰٪) مثبت گزارش گردید.

میانگین مقدار اتوانتی‌بادی DSG3 تشخیص داده‌شده در روش ELISA بر روی سرم برابر با  $181,15 \pm 77,28$  می‌باشد. هم‌چنین میانگین مقدار اتوانتی‌بادی DSG3 تشخیص داده‌شده در روش ELISA بر روی بزاق برابر با  $98,15 \pm 90,40$  می‌باشد. میانگین مقدار اتوانتی‌بادی DSG1 تشخیص داده‌شده در روش ELISA بر روی سرم برابر با  $173,71 \pm 74,86$  و میانگین مقدار اتوانتی‌بادی DSG1 تشخیص داده‌شده در روش ELISA بر روی بزاق برابر با  $60,40 \pm 46,99$  می‌باشد.

میانگین مقدار اتوانتی‌بادی DSG3 تشخیص داده‌شده در روش ELISA بر روی سرم بیماران مبتلا با فنوتیپ‌های پوستی برابر با  $1,36 \pm 0,40$  و میانگین مقدار اتوانتی‌بادی DSG3 تشخیص داده‌شده در روش ELISA بر روی بزاق بیماران مبتلا با فنوتیپ‌های پوستی برابر با  $2,28 \pm 2,11$  می‌باشد.

میانگین مقدار اتوانتی‌بادی DSG1 تشخیص داده‌شده در روش ELISA بر روی سرم بیماران مبتلا با فنوتیپ‌های پوستی برابر با  $140,46 \pm 99,34$  و

توصیه‌های سازنده‌ی کیت انجام گردید. نمونه‌های سرم براساس توصیه‌ی سازنده‌ی کیت و نمونه‌های بزاق به‌نسبت یک‌دوم رقیق شدند. میزان ELISA ی بالاتر از ۲۰ برای آنتی‌بادی‌های DSG1 و DSG3 مثبت در نظر گرفته شد. نتایج ELISA ی منفی نمونه‌های سرم مجدداً تکرار شد. برای تعیین حجم نمونه با حساسیت ۸۵٪ برای تست ELISA و سطح اطمینان ۹۰٪ و خطای ۵٪، به ۴۰ نمونه جهت مطالعه نیازمندیم<sup>۳</sup>.

با توجه به موارد اخلاقی مربوط به نمونه‌گیری، قبل از نمونه‌گیری با بیماران صحبت، روند انجام پژوهش برای تک‌تک بیماران توضیح داده و رضایت آگاهانه از همه‌ی افراد شرکت‌کننده در مطالعه اخذ شد. برای انجام مطالعه، موافقت مرکز تحقیقات بیماری‌های اتوایمیون‌تاولی بیمارستان رازی اخذ گردید. سپس با رضایت کتبی بیماران اقدام به نمونه‌گیری گردید.

برای توصیف و تحلیل آماری داده‌ها از نسخه‌ی ۱۸ نرم‌افزار PSAW (IBM, Armonk, NY, USA) استفاده شد. داده‌های کمی پیوسته دارای توزیع نرمال به‌صورت انحراف معیار  $\pm$  میانگین خلاصه و در قالب جداول توصیف شدند. داده‌های اسمی و رتبه‌ای به‌شکل فراوانی و فراوانی نسبی (٪) ارائه شدند. به‌منظور مقایسه‌ی میانگین داده‌های کمی (تیتراژ اتوانتی‌بادی‌های DSG3 و DSG1 به روش ELISA) بر روی بزاق و سرم، از آزمون *t* جفتی (paired) استفاده شد.

## یافته‌ها

در این مطالعه ۴۰ بیمار جدید مبتلا به پمفیگوس (۱۰ زن و ۳۰ مرد) مورد بررسی قرار گرفتند. ابتلای این بیماران قبلاً توسط بررسی آسیب‌شناختی مشخص شده بود. سن متوسط بیماران  $43,37 \pm 11,95$  با دامنه‌ی ۲۶ تا ۷۱ سال بود. در ۴ نفر (۱۰٪) فنوتیپ مخاطی، در ۶ نفر (۱۵٪) فنوتیپ پوستی و در ۳۰ نفر (۷۵٪) از بیماران فنوتیپ پوستی - مخاطی مشاهده گردید. در مجموع ۳۴ بیمار (۸۵٪) از بیماران درگیری مخاطی و ۳۶ بیمار (۹۰٪)

داده شده است. مقایسه‌ی بهتر بین فنوتیپ‌های بیماری و قدرت تشخیصی تست ELISA براساس نوع آنتی‌بادی‌ها در شکل ۱ نشان داده شده است.

براساس آزمون *t* جفتی، روش ELISA در تشخیص اتوانتی‌بادی DSG3 سرم در مقایسه با تست ELISA در تشخیص اتوانتی‌بادی DSG3 بزاق از لحاظ آماری تفاوت معناداری را نشان داد ( $P < 0.001$ )، بدین معنا که سرم در تشخیص اتوانتی‌بادی‌ها نسبت به بزاق حساس‌تر است. هم‌چنین براساس آزمون *t* جفتی، روش ELISA در تشخیص اتوانتی‌بادی DSG1 در مقایسه با تست ELISA در تشخیص اتوانتی‌بادی DSG1 بزاق از لحاظ آماری تفاوت معناداری را نشان داد ( $P < 0.001$ ). با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، ELISA سرم نسبت به بزاق در تشخیص اتوانتی‌بادی‌های DSG1 حساسیت بیشتری دارد. در مقایسه‌ی سرم و بزاق، سرم در تشخیص اتوانتی‌بادی‌های پمفیگوس نسبت به بزاق حساس‌تر است.

### بحث

نتایج مطالعه‌ی اخیر در یک گروه ۴۰ نفره از بیماران جدید مبتلا به پمفیگوس انجام شد و حساسیت و اختصاصیت ELISA سرم و بزاق در تحقیق حاضر ثبت گردید. حساسیت ELISA در تشخیص اتوانتی‌بادی‌های anti-DSG1 و anti-DSG3 سرم به ترتیب ۸۲٪ و ۸۰٪ است و هم‌چنین حساسیت ELISA در تشخیص اتوانتی‌بادی‌های anti-DSG1 و anti-DSG3 بزاق به ترتیب ۳۴٪ و ۴۸٪ می‌باشد. این نتایج، مؤید نتایج مطالعات دیگر در مورد پروفایل

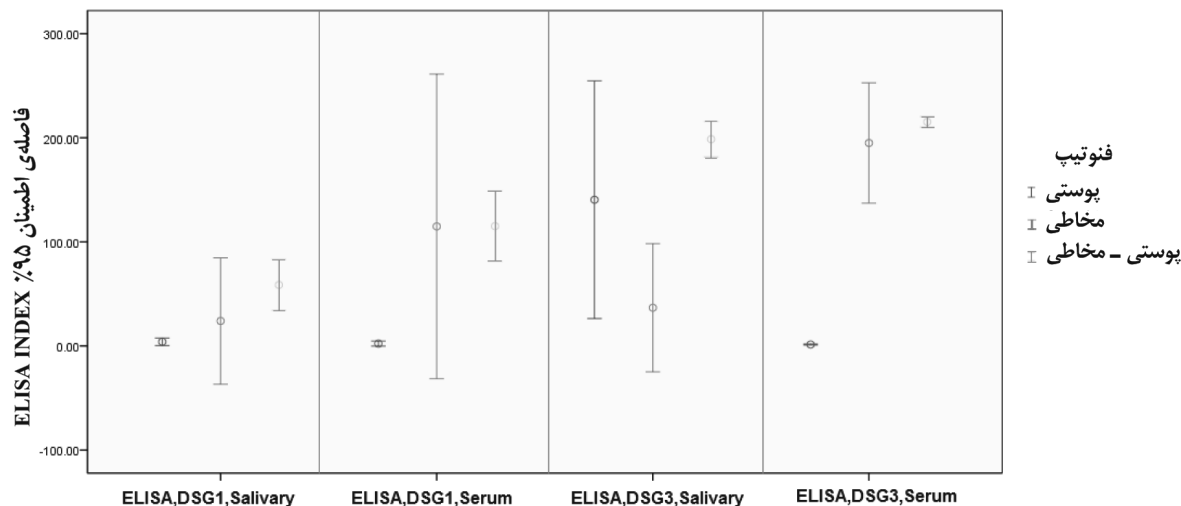
میانگین مقدار اتوانتی‌بادی DSG1 تشخیص داده‌شده در روش ELISA برروی بزاق بیماران مبتلا با فنوتیپ‌های پوستی برابر با  $470.3 \pm 31.16$  می‌باشد. میانگین مقدار اتوانتی‌بادی DSG3 تشخیص داده‌شده در روش ELISA برروی سرم بیماران مبتلا با فنوتیپ‌های مخاطی برابر با  $195.0 \pm 31.45$  و میانگین مقدار اتوانتی‌بادی DSG3 تشخیص داده‌شده در روش ELISA برروی بزاق بیماران مبتلا با فنوتیپ‌های مخاطی برابر با  $114.85 \pm 79.61$  می‌باشد. میانگین مقدار اتوانتی‌بادی DSG1 تشخیص داده‌شده در روش ELISA برروی سرم بیماران مبتلا با فنوتیپ‌های مخاطی برابر با  $36.72 \pm 33.50$  و میانگین مقدار اتوانتی‌بادی DSG1 تشخیص داده‌شده در روش ELISA برروی بزاق بیماران مبتلا با فنوتیپ‌های مخاطی برابر با  $33.05 \pm 24.00$  می‌باشد.

میانگین مقدار اتوانتی‌بادی DSG3 تشخیص داده‌شده در روش ELISA در سرم بیماران مبتلا با فنوتیپ‌های پوستی - مخاطی برابر با  $215.26 \pm 13.33$  و میانگین مقدار اتوانتی‌بادی DSG3 تشخیص داده‌شده در روش ELISA در بزاق بیماران مبتلا با فنوتیپ‌های پوستی - مخاطی برابر با  $115.10 \pm 88.81$  می‌باشد.

میانگین مقدار اتوانتی‌بادی DSG1 تشخیص داده‌شده در روش ELISA برروی سرم بیماران مبتلا با فنوتیپ‌های پوستی - مخاطی برابر با  $198.63 \pm 44.77$  و میانگین مقدار اتوانتی‌بادی DSG1 تشخیص داده‌شده در روش ELISA برروی بزاق بیماران مبتلا با فنوتیپ‌های پوستی - مخاطی برابر با  $64.35 \pm 58.65$  می‌باشد. این نتایج در جدول ۱ نشان

جدول ۱: میانگین میزان ابتلا به همراه انحراف معیار به تفکیک فنوتیپ‌های بیماران مبتلا به روش ELISA

DSG1 ELISA		DSG3 ELISA		تعداد نفرات مبتلا	فنوتیپ ابتلا
بزاق	سرم	بزاق	سرم		
(انحراف معیار±میانگین)	(انحراف معیار±میانگین)	(انحراف معیار±میانگین)	(انحراف معیار±میانگین)		
$470.3 \pm 31.16$	$140.46 \pm 99.34$	$228 \pm 211$	$136 \pm 0.4$	۶	پوستی
$337.05 \pm 24.00$	$36.72 \pm 33.50$	$114.85 \pm 79.61$	$195.0 \pm 31.45$	۴	مخاطی
$64.35 \pm 58.65$	$198.63 \pm 44.77$	$115.10 \pm 88.81$	$215.26 \pm 13.33$	۳۰	پوستی - مخاطی
$60.40 \pm 46.99$	$173.71 \pm 74.86$	$98.15 \pm 90.40$	$181.15 \pm 77.28$	۴۰	کل بیماران



شکل ۱: میانگین مقدار اتوانتی‌بادی به روش ELISA به همراه فاصله‌ی اطمینان ۹۵٪ به تفکیک فنوتیپ‌های بیماران.

ELISA به‌عنوان روشی برای افتراق فنوتیپ‌های پوستی و مخاطی از یکدیگر نیز استفاده شده است. در مطالعه‌ی Lenz و همکاران، هدف ارزیابی نمونه‌های سرم بیماران مبتلا به پمفیگوس ولگاریس و سایر بیماری‌های درماتولوژیک برای آنتی‌بادی‌های anti-DSG3 ذکر شده است. برای این منظور نمونه‌های سرم از بیماران مبتلا به پمفیگوس ولگاریس و چندین نوع بیماری پوستی تاول‌زا و غیرتاول‌زا برای آنتی‌بادی anti-DSG3 توسط ELISA تست شد. یک اشکال وارد بر این پژوهش، بررسی نمونه‌های سرم فقط یک بیمار است که با توجه به خصوصیات فیزیولوژیکی افراد مختلف، قابل تعمیم به همه‌ی افراد نمی‌باشد. در مطالعه‌ی حاضر با توجه به این که بیماران مورد بررسی بیماران جدیدی بودند که از لحاظ درگیری مخاط یا پوست و هم‌چنین شدت بیماری نیز متفاوت بودند، امکان مقایسه‌ی شدت بیماری و فنوتیپ پوستی یا مخاطی با تیتراژ اتوانتی‌بادی‌های DSG1 و DSG3 فراهم گردید و نتیجه‌ی آن بود که تیتراژ ELISA با سیر بالینی بیماری موازی است که هم‌راستا با نتایج مطالعه‌ی مذکور است.

در مطالعه‌ی Torzecka و همکاران نشان داده شد که پروفایل اتوانتی‌بادی‌های anti-DSG1 و

آنتی‌بادی و نوع بالینی پمفیگوس می‌باشد<sup>۳</sup>. هم‌چنین در این مطالعه، آزمون ELISA علاوه بر سرم، بر روی بزاق بیماران هم انجام شد و نتایج هر یک از این گروه‌ها با یکدیگر مقایسه شد. با بررسی میزان کمی اتوانتی‌بادی‌ها، توانایی تشخیص ELISA در مورد anti-DSG1 و anti-DSG3 سرم نسبت به بزاق بیشتر است ولی نتایج ELISA بزاق در تشخیص فنوتیپ‌های مختلف بیماری از یکدیگر و با سیر بالینی بیماری موازی است.

در مطالعه‌ی Harman و همکاران، پمفیگوس ولگاریس و پمفیگوس فولیاسه با اتوانتی‌بادی‌های نسبت به گلیکوپروتئین‌های DSG1 و DSG3 به ترتیب مشخص می‌شود. در این مطالعه روش ELISA که اتوانتی‌بادی‌های IgG نسبت به DSG1 و DSG3 را شناسایی می‌کند، ارزیابی شده است. هم‌چنین ELISAی anti-DSG1 و anti-DSG3 اطلاعات عینی، کمی و قابل تکرار را فراهم می‌نماید که به تمایز پمفیگوس ولگاریس از پمفیگوس فولیاسه کمک می‌کند و با توجه به این مزایا بهتر است که این روش یک تکنیک روتین در آزمایش‌های تشخیصی گردد<sup>۵</sup>. نتایج مطالعه‌ی Harman با نتایج مطالعه‌ی حاضر هم‌سو می‌باشد با این تفاوت که در مطالعه‌ی حاضر، از

توسط ELISA و سطوح anti-DSG1 و فعالیت بیماری وجود دارد ( $P < 0.01$ )<sup>۴</sup>. این نتیجه با نتایج مطالعه حاضر هماهنگ است. نتیجه‌ی دیگر این مطالعه آن است که ELISA index value برای مانیتور فعالیت بیماری مفید است که این نتیجه نیز با نتایج مطالعه‌ی حاضر هم‌سو می‌باشد.

حساسیت ELISA در تشخیص اتوانتی‌بادی‌های DSG1 سرم (۹۰٪) نسبت به بزاق (۴۲/۵٪) و حساسیت ELISA در تشخیص اتوانتی‌بادی‌های DSG3 سرم (۸۵٪) نسبت به بزاق (۶۰٪) بیشتر می‌باشد. حساسیت بزاق در تشخیص اتوانتی‌بادی‌های DSG3 (۴۸٪) بیشتر از حساسیت آن در تشخیص اتوانتی‌بادی‌های DSG1 (۴۲/۵٪) است. حساسیت ELISA سرم در تشخیص اتوانتی‌بادی‌های پمفیگوس نسبت به بزاق بیشتر است. بین سطوح آنتی‌بادی‌های تشخیص داده‌شده توسط ELISA سرم با ELISA بزاق و فعالیت بیماری همبستگی قابل توجهی وجود دارد ( $P < 0.05$ ).

anti-DSG3 با واریانت‌های بالینی پمفیگوس مرتبط است که مطالعه‌ی حاضر نیز مؤید این مطلب می‌باشد.<sup>۷</sup> در مطالعه‌ی مرتضوی و همکاران، حساسیت تست ELISA در بررسی اتوانتی‌بادی‌های anti-DSG1 و anti-DSG3 سرم به ترتیب ۹۴٪ و ۷۲٪ بود که با نتایج مطالعه‌ی حاضر به ترتیب ۸۲٪ و ۸۰٪ قابل مقایسه است و تفاوت در حساسیت ذکر شده بین دو مطالعه از لحاظ آماری معنادار نمی‌باشد.<sup>۳</sup> دلیل این تفاوت را می‌توان به تفاوت فنوتیپ بیماران مورد بررسی در دو مطالعه و تفاوت شدت بیماری در بیماران مختلف نسبت داد. در این مطالعه میزان اتوانتی‌بادی‌ها با شدت بیماری مقایسه شده است که یکی از مزایای آن است. در مطالعه‌ی حاضر علاوه بر حساسیت ELISA سرم حساسیت ELISA بزاق نیز بررسی شده است که در مقایسه با مطالعه‌ی مذکور، بررسی جامع‌تری در مطالعه‌ی حاضر انجام شده است. Zhong و همکارانش ادعا کردند ارتباط قابل توجهی بین سطوح anti-DSG3 تشخیص داده‌شده

## References

1. Glick M, Greenberg M, Ship J. *Burket's Oral Medicine*. Hamilton: BC Decker Inc; 2008: 65-8.
2. Wojnarowska F, Venning VA. Immunobullous diseases. In: Burns T, Breathnach S, Cox N, Griffiths C (eds.). *Rook's textbook of dermatology*. 8<sup>th</sup> Ed. Chichester, John Wiley & Sons; 2010: p40.1-40.24.
3. Hallaji Z, Mortazavi H, Lajevardi V, et al. Serum and salivary desmoglein 1 and 3 enzyme-linked immunosorbent assay in pemphigus vulgaris: correlation with phenotype and severity. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2010; 24: 275-80.
4. Zhong S, Qiu Y, Han B, et al. [Detection of serum desmoglein antibody level using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for monitoring disease activity in patients with pemphigus vulgaris]. *Beijing da xue xue bao Yi xue ban. Journal of Peking University (Health Sciences)*. 2011; 43: 414-5. [Chinese]
5. Harman K, Gratian M, Seed P, et al. Diagnosis of pemphigus by ELISA: a critical evaluation of two ELISAs for the detection of antibodies to the major pemphigus antigens, desmoglein 1 and 3. *Clin Exp Dermatol* 2000; 25: 236-40.
6. Lenz P, Amagai M, Volc-Platzer B, et al. Desmoglein 3-ELISA: a pemphigus vulgaris-specific diagnostic tool. *Arch Dermatol* 1999; 135: 143-8.
7. Torzecka JD, Narbutt J, Sysa-Jedrzejowska A, et al. Detection of pemphigus autoantibodies by IIF and ELISA tests in patients with pemphigus vulgaris and foliaceus and in healthy relatives. *Med Sci Monit* 2003; 9: 528-33.

## ELISA sensitivity in detection of autoantibodies desmoglein 1 and 3 in saliva and serum of patient with pemphigus vulgaris

Hossein Mortazavi, MD<sup>1&2</sup>  
Farid Abbasi, DDS<sup>3</sup>  
Maryam Koopaie, DDS<sup>3</sup>  
Nafise Esmāeili, MD<sup>1&2</sup>

1. Department of Dermatology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
2. Autoimmune Bullous Diseases Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3. Department of Oral Medicine and Diagnostic Sciences, Shahed University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

**Corresponding Author:**  
Maryam Koopaie, DDS

No.39, Department of Oral Medicine,  
Shahed Dental School, Vesal Street, Italy  
Street, Tehran, Iran.  
Email: maria\_koopaie@yahoo.com

**Conflict of interest:** None to declare

**Background and Aim:** Pemphigus vulgaris (PV) is the most common bullous autoimmune disease, which can cause mortality and morbidity in the patients who suffer from it. Researches to find reliable noninvasive laboratory tests to diagnose and monitor PV patients are being conducted. The aim of this study is to find the sensitivity of serum and salivary anti-DSG1 and anti-DSG3 antibodies in the diagnosis of PV by ELISA and to compare the results of serum and salivary autoantibodies with each other.

**Methods:** In this case-control study, 40 newly diagnosed patients with PV were recruited. Forty healthy controls were also recruited to this study. The clinical diagnosis of PV was confirmed by histopathology and direct immunofluorescence (DIF). Demographic data, disease severity and phenotypes were recorded on the questionnaires, which were developed for this study. DSG1 and DSG3 ELISA test were performed on serum and salivary samples of patients and controls.

**Results:** The mean  $\pm$  standard deviation age of patients, 43.37  $\pm$  11.94, with a range of 26 to 71 years. The sensitivities of serum anti-DSG3 and anti-DSG1 were 85% (34 cases had positive test results) and 90%, (36 cases had positive test results) respectively. The sensitivities of salivary anti-DSG3 and anti-DSG1 antibodies were accordingly 42.5% (17 cases had positive test results) and 60%, (24 cases had positive test results) respectively.

**Conclusion:** While the sensitivities of serum ELISA in detection of anti-DSG1 and anti-DSG3 were significantly higher than those of salivary ELISA, since the levels of the latter are changing in parallel to those of serum ELISA, they might be used to monitor the disease activity.

**Keywords:** enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), pemphigus vulgaris, saliva, desmoglein, serum

Received: Jun 10, 2014      Accepted: Aug 8, 2014

Dermatology and Cosmetic 2014; 5 (2): 69-75