حساسیت ELISA در تشخیص اتوآنتی‌بادی‌های دسموگلین ۱ و ۳ در بزاق و سرم بیماران مبتلا به پمفیگوس‌ولگاریس

دکتر حسین مرتضوی[۱و۲]
دکتر فرید عباسی[۳]
دکتر مریم کوپائی[۳]
دکتر نفیسه اسماعیلی[۱و۲]

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_koopaie@yahoo.com

تعارض منافع: اعلام نشده است.

زمینه و هدف: پمفیگوس‌ولگاریس 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-DSG1 و anti-DSG3 در بزاق و سرم بیماران مبتلا به پمفیگوس‌ولگاریس می‌باشد.

روش اجرا: در این مطالعه‌ی مورد ــ شاهدی، ۴۰ بیمار مبتلا به پمفیگوس‌ولگاریس مراجعه‌کننده به بیمارستان رازی که تشخیص بیماری آن‌ها ازطریق بررسی آسیب‌شناسی و انجام ایمونوفلوئورسانس 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 ELISAی DSG1 و DSG3 برروی نمونه‌های سرم و بزاق هر دو گروه انجام شد.

یافته‌ها: سن متوسط بیماران ۱۱/۹۴±۴۳/۳۷ با دامنه‌ی ۲۶ تا ۷۱ سال بود. ELISAی DSG1 بزاق در ۱۷ بیمار (حساسیت ۴۲/۵٪) و ELISAی DSG1 سرم در ۳۶ بیمار (حساسیت ۹۰٪) مثبت گزارش گردید. هم‌چنین ELISAی DSG3 بزاق، در ۲۴ بیمار (حساسیت ۶۰٪) و ELISAی DSG3 سرم در ۳۴ بیمار (حساسیت ۸۵٪) مثبت بود.

نتیجه‌گیری: اگرچه حساسیت سرم در تشخیص اتوآنتی‌بادی‌های پمفیگوس‌ولگاریس 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 ، پمفیگوس‌ولگاریس، بزاق، دسموگلین، سرم

دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۰۳/۲۰ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۰۵/۱۷
پوست و زیبایی؛ تابستان ۱۳۹۳، دوره‌ی ۵ (۲): ۷۵-۶۹

مقدمه

پمفیگوس شامل گروهی از بیماری‌های خودایمن تهدیدکننده‌ی حیات است که باعث بروز تاول و اروژن در پوست و غشاهای مخاطی می‌شود[۱]. انواع اصلی پمفیگوس شامل پمفیگوس‌ولگاریس (با زیرگروه پمفیگوس‌وژتان)، پمفیگوس فولیاسه (با زیرگروه پمفیگوس هرپتی‌فرم و پمفیگوس اریتماتوز)، پمفیگوس مرتبط با دارو و پمفیگوس پارانئوپلاستیک می‌باشد[۲]. در پمفیگوس فولیاسه تاول در لایه‌ی سلولی گرانولر سطحی ایجاد می‌شود، درحالی که در پمفیگوس‌ولگاریس ضایعه عمیق‌تر بوده و درست بالای لایه‌ی سلول‌های بازال ایجاد می‌شود[۱]. پمفیگوس‌ولگاریس شایع‌ترین شکل پمفیگوس بوده که

[Downloaded from jdc.tums.ac.ir on 2024-07-28]

تقریباً ۷۰٪ از موارد پمفیگوس را شامل می‌شود[۲]. ۸۰٪ تا ۹۰٪ بیماران مبتلا به پمفیگوس‌ولگاریس، ضایعات دهانی را در طی دوران بیماری نشان می‌دهند و در ۶۰٪ از بیماران ضایعات دهانی اولین نشانه‌ی این بیماری است. پمفیگوس‌ولگاریس 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 ایمونوفلوئورسانس مستقیم (direct immunofluorescne [DIF]) تأیید می‌شود که رسوب IgG در سطح کراتینوسیت‌های اپی‌درم، داخل و اطراف ضایعات را نشان می‌دهد که IgG1 و IgG4 شایع‌ترین زیرگروه‌ها هستند. IgM، IgA و C3 با شیوع کمتری نسبت به IgG حضور دارند[۲]. روش دیگر تشخیصی، تست آنتی‌بادی ایمونوفلورسنت غیرمستقیم (indirect immunofluorescne [IIF]) می‌باشد که برروی سرم بیمار انجام می‌شود. با روش IIF اتوآنتی‌بادی‌های در گردش پمفیگوس در بیش از ۸۰٪ از بیماران شناسایی می‌شوند[۲]. تیتر آنتی‌بادی با سطح و شدت بالینی بیماری مرتبط می‌باشد و ممکن است به‌صورت دوره‌ای طی درمان و جهت ارزیابی فعالیت بیماری انجام شود[۱]. 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[۲].

تیتر آنتی‌بادی تشخیص داده‌شده در این روش‌ها، مسیر بعدی درمان و دوز داروی موردنیاز را دیکته خواهد کرد. جهت تعیین تیتر 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 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 موردبررسی قرار گرفتند. پرسش‌نامه‌ای شامل اطلاعات دموگرافیک، فنوتیپ بیماری (شامل مخاطی، پوستی ـ مخاطی یا پوستی) و محل ضایعات برای هر بیمار تکمیل شد. Severity score برای درگیری پوستی مخاطی براساس معیار 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 استریلِ ازقبل 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 ($۳۷۰۰g(m/s^2)$) به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریوفوژ شدند و در دمای ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگه‌داری شد. نمونه‌های سرم و بزاق بین ساعت ۹ تا ۱۱ صبح جمع‌آوری شدند تا از تنوع‌های circadian جلوگیری شود.

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

[Downloaded from jdc.tums.ac.ir on 2024-07-28]

توصیه‌های سازنده‌ی کیت انجام گردید. نمونه‌های سرم براساس توصیه‌ی سازنده‌ی کیت و نمونه‌های بزاق به‌نسبت یک‌دوم رقیق شدند. میزان ELISAی بالاتر از ۲۰ برای آنتی‌بادی‌های DSG1 و DSG3 مثبت درنظر گرفته شد. نتایج ELISAی 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[۳].

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 اتوایمیون تاولی 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±میانگین خلاصه و در قالب جداول توصیف شدند. داده‌های اسمی و رتبه‌ای به‌شکل فروانی و فراوانی نسبی (٪) ارائه شدند. به‌منظور مقایسه‌ی میانگین داده‌های کمی (تیتر اتوآنتی‌بادی‌های علیه DSG3 و DSGI1 به روش ELISA) برروی 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) موردبررسی قرار گرفتند. ابتلای این بیماران قبلاً توسط بررسی آسیب‌شناختی مشخص شده بود. سن متوسط بیماران ۱۱٫۹۵±۴۳٫۳۷ 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 ـ مخاطی مشاهده گردید. در مجموع ۳۴ بیمار (۸۵٪) از بیماران درگیری مخاطی و ۳۶ بیمار (۹۰٪) درگیری پوستی داشتند. میزان اتوآنتی‌بادی‌های DSG1 و DSG3 که توسط روش ELISA برروی سرم و بزاق گزارش گردید، درصورت منفی‌بودن عدد صفر گزارش گردید و درصورت مثبت‌بودن جواب، اعداد در محدوده‌ی ۱ تا بیشتر از ۲۰۰ گزارش شد. نتایج کلی به شرح زیر است:

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

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

میانگین مقدار اتوآنتی‌بادی DSG3 تشخیص داده‌شده در روش ELISA برروی سرم برابر با ۷۷٫۲۸±۱۸۱٫۱۵ می‌باشد. هم‌چنین میانگین مقدار اتوآنتی‌بادی DSG3 تشخیص داده‌شده در روش ELISA برروی بزاق برابر با ۹۰٫۴۰±۹۸٫۱۵ می‌باشد. میانگین مقدار اتوآنتی‌بادی DSG1 تشخیص داده‌شده در روش ELISA برروی سرم برابر با ۷۴٫۸۶±۱۷۳٫۷۱ و میانگین مقدار اتوآنتی‌بادی DSG1 تشخیص داده‌شده در روش ELISA برروی بزاق برابر با ۴۶٫۹۹±۶۰٫۴۰ می‌باشد.

میانگین مقدار اتوآنتی‌بادی DSG3 تشخیص داده‌شده در روش ELISA برروی سرم بیماران مبتلا با فنوتیپ‌های پوستی برابر با ۰٫۴۰±۱٫۳۶ و میانگین مقدار اتوآنتی‌بادی DSG3 تشخیص داده‌شده در روش ELISA برروی بزاق بیماران مبتلا با فنوتیپ‌های پوستی برابر با ۲٫۱۱±۲٫۲۸ می‌باشد.

میانگین مقدار اتوآنتی‌بادی DSG1 تشخیص داده‌شده در روش ELISA برروی سرم بیماران مبتلا با فنوتیپ‌های پوستی برابر با ۹۹٫۳۴±۱۴۰٫۴۶ و

[Downloaded from jdc.tums.ac.ir on 2024-07-28]

میانگین مقدار اتوآنتی‌بادی DSG1 تشخیص داده‌شده در روش ELISA برروی بزاق بیماران مبتلا با فنوتیپ‌های پوستی برابر با ۴/۰۳±۳/۱۶ می‌باشد. میانگین مقدار اتوآنتی‌بادی DSG3 تشخیص داده‌شده در روش ELISA برروی سرم بیماران مبتلا با فنوتیپ‌های مخاطی برابر با ۱۹۵/۰۰±۳۱/۴۵ و میانگین مقدار اتوآنتی‌بادی DSG3 تشخیص داده‌شده در روش ELISA برروی بزاق بیماران مبتلا با فنوتیپ‌های مخاطی برابر با ۱۱۴/۸۵±۷۹/۶۱ می‌باشد. میانگین مقدار اتوآنتی‌بادی DSG1 تشخیص داده‌شده در روش ELISA برروی سرم بیماران مبتلا با فنوتیپ‌های مخاطی برابر با ۳۶/۷۲±۳۳/۵۰ و میانگین مقدار اتوآنتی‌بادی DSG1 تشخیص داده‌شده در روش ELISA برروی بزاق بیماران مبتلا با فنوتیپ‌های مخاطی برابر با ۳۳/۰۵±۲۴/۰۰ می‌باشد.

میانگین مقدار اتوآنتی‌بادی DSG3 تشخیص داده‌شده در روش ELISA در سرم بیماران مبتلا با فنوتیپ‌های پوستی ـ مخاطی برابر با ۲۱۵/۲۶±۱۳/۳۳ و میانگین مقدار اتوآنتی‌بادی DSG3 تشخیص داده‌شده در روش ELISA در بزاق بیماران مبتلا با فنوتیپ‌های پوستی ـ مخاطی برابر با ۱۱۵/۱۰±۸۸/۸۱ می‌باشد.

میانگین مقدار اتوآنتی‌بادی DSG1 تشخیص داده‌شده در روش ELISA برروی سرم بیماران مبتلا با فنوتیپ‌های پوستی ـــ مخاطی برابر با ۱۹۸/۶۳±۴۴/۷۷ و میانگین مقدار اتوآنتی‌بادی DSG1 تشخیص داده‌شده در روش ELISA برروی بزاق بیماران مبتلا با فنوتیپ‌های پوستی ـ مخاطی برابر با ۶۴/۳۵±۵۸/۶۵ می‌باشد. این نتایج در جدول ۱ نشان 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 اتوآنتی‌بادی DSG3 سرم در مقایسه با تست ELISA در تشخیص اتوآنتی‌بادی DSG3 بزاق از لحاظ آماری تفاوت معناداری را نشان داد ($P<0/001$)، بدین‌معنا که سرم در تشخیص اتوآنتی‌بادی‌ها نسبت به بزاق حساس‌تر است. هم‌چنین براساس آزمون t جفتی، روش ELISA در تشخیص اتوآنتی‌بادی DSG1 سرم در مقایسه با تست ELISA در تشخیص اتوآنتی‌بادی 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 اتوآنتی‌بادی‌های DSG1 حساسیت بیشتری دارد. در مقایسه‌ی سرم و بزاق، سرم در تشخیص اتوآنتی‌بادی‌های پمفیگوس نسبت به بزاق حساس‌تر است.

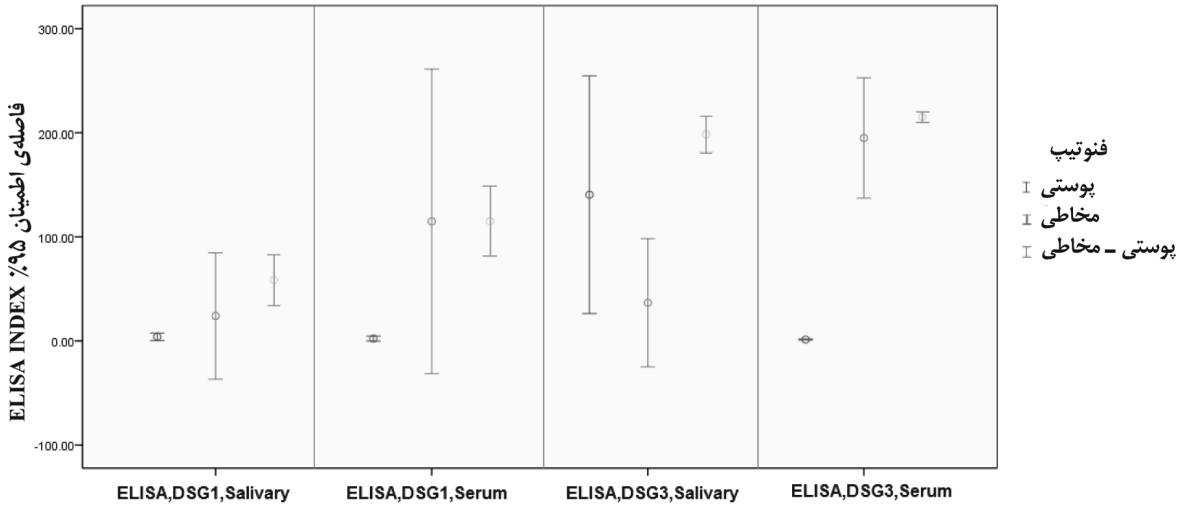
بحث

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 اتوآنتی‌بادی‌های anti-DSG1 و anti-DSG3 سرم به‌ترتیب ۸۲٪ و ۸۰٪ است و هم‌چنین حساسیت ELISA در تشخیص اتوآنتی‌بادی‌های anti-DSG1 و anti-DSG3 بزاق به‌ترتیب ۳۴٪ و ۴۸٪ می‌باشد. این نتایج، مؤید نتایج مطالعات دیگر در مورد پروفایل

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

فنوتیپ ابتلا	تعداد نفرات مبتلا	DSG3 ELISA		DSG1 ELISA	
		سرم (انحراف معیار±میانگین)	بزاق (انحراف معیار±میانگین)	سرم (انحراف‌معیار±میانگین)	بزاق (انحراف معیار±میانگین)
پوستی	۶	۱/۳۶±۰/۴	۲/۲۸±۲/۱۱	۱۴۰/۴۶±۹۹/۳۴	۴/۰۳±۳/۱۶
مخاطی	۴	۱۹۵/۰۰±۳۱/۴۵	۱۱۴/۸۵±۷۹/۶۱	۳۶/۷۲±۳۳/۵۰	۳۳/۰۵±۲۴/۰۰
پوستی ـ مخاطی	۳۰	۲۱۵/۲۶±۱۳/۳۳	۱۱۵/۱۰±۸۸/۸۱	۱۹۸/۶۳±۴۴/۷۷	۶۴/۳۵±۵۸/۶۵
کل بیماران	۴۰	۱۸۱/۱۵±۷۷/۲۸	۹۸/۱۵±۹۰/۴۰	۱۷۳/۷۱±۷۴/۸۶	۶۰/۴۰±۴۶/۹۹

[Downloaded from jdc.tums.ac.ir on 2024-07-28]



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

آنتی‌بادی و نوع بالینی پمفیگوس می‌باشد[۳و۴].

هم‌چنین در این مطالعه، آزمون ELISA علاوه‌بر سرم، برروی بزاق بیماران هم انجام شد و نتایج هر یک از این گروه‌ها با یکدیگر مقایسه شد. با بررسی میزان کمی اتوآنتی‌بادی‌ها، 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 اتوآنتی‌بادی‌های نسبت به گلیکوپروتئین‌های DSG3 و DSG1 به‌ترتیب مشخص می‌شود. در این مطالعه روش ELISA که اتوآنتی‌بادی‌های 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 پمفیگوس‌ولگاریس از پمفیگوس فولیاسه کمک می‌کند و با توجه به این مزایا بهتر است که این روش یک تکنیک روتین در آزمایش‌های تشخیصی گردد[۵]. نتایج مطالعه‌ی Harman با نتایج مطالعه‌ی حاضر هم‌سو می‌باشد با این تفاوت که در مطالعه‌ی حاضر، از 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 پمفیگوس‌ولگاریس و سایر بیماری‌های درماتولوژیک برای آنتی‌بادی‌های anti-DSG3 ذکر شده است. برای این منظور نمونه‌های سرم از بیماران مبتلا به پمفیگوس‌ولگاریس و چندین نوع بیماری پوستی تاول‌زا و غیرتاول‌زا برای آنتی‌بادی anti-DSG3 توسط ELISA تست شد[۶]. یک اشکال وارد بر این پژوهش، بررسی نمونه‌های سرمِ فقط یک بیمار است که با توجه به خصوصیات فیزیولوژیکی افراد مختلف، قابل تعمیم به همه‌ی افراد نمی‌باشد. در مطالعه‌ی حاضر با توجه به این‌که بیماران موردبررسی بیماران جدیدی بودند که ازلحاظ درگیری مخاط یا پوست و هم‌چنین شدت بیماری نیز متفاوت بودند، امکان مقایسه‌ی شدت بیماری و فنوتیپ پوستی یا مخاطی با تیتر اتوآنتی‌بادی‌های DSG1 و DSG3 فراهم گردید و نتیجه‌ی آن بود که تیتر ELISA با سیر بالینی بیماری موازی است که هم‌راستا با نتایج مطالعه‌ی مذکور است.

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

[Downloaded from jdc.tums.ac.ir on 2024-07-28]

anti-DSG3 با واریانت‌های بالینی پمفیگوس مرتبط است که مطالعه‌ی حاضر نیز مؤید این مطلب می‌باشد[۷].

در مطالعه‌ی مرتضوی و همکاران، حساسیت تست ELISA در بررسی اتوآنتی‌بادی‌های anti-DSG1 و anti-DSG3 سرم به‌ترتیب ۹۴٪ و ۷۲٪ بود که با نتایج مطالعه‌ی حاضر به‌ترتیب ۸۲٪ و ۸۰٪ قابل مقایسه است و تفاوت در حساسیت ذکرشده بین دو مطالعه از لحاظ آماری معنادار نمی‌باشد[۳]. 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 اتوآنتی‌بادی‌ها با شدت بیماری مقایسه شده است که یکی از مزایای آن است. در مطالعه‌ی حاضر علاوه‌بر 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 توسط ELISA و سطوح anti-DSG1 و فعالیت بیماری وجود دارد ($P<۰/۰۱$)[۴]. این نتیجه با نتایج مطالعه حاضر هماهنگ است. نتیجه‌ی دیگر این مطالعه آن است که index value ELISA برای مانیتور فعالیت بیماری مفید است که این نتیجه نیز با نتایج مطالعه‌ی حاضر هم‌سو می‌باشد.

حساسیت ELISA در تشخیص اتوآنتی‌بادی‌های DSG1 سرم (۹۰٪) نسبت به بزاق (۴۲/۵٪) و حساسیت ELISA در تشخیص اتوآنتی‌بادی‌های DSG3 سرم (۸۵٪) نسبت به بزاق (۶۰٪) بیشتر می‌باشد. حساسیت بزاق در تشخیص اتوآنتی‌بادی‌های DSG3 (۴۸٪) بیشتر از حساسیت آن در تشخیص اتوآنتی‌بادی‌های DSG1 (۴۲/۵٪) است. حساسیت ELISA سرم در تشخیص اتوآنتی‌بادی‌های پمفیگوس نسبت به بزاق بیشتر است. بین سطوح آنتی‌بادی‌های تشخیص داده‌شده توسط ELISA سرم با ELISA بزاق و فعالیت بیماری همبستگی قابل‌توجهی وجود دارد($P<۰/۰۵$).

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. 8th 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.

[Downloaded from jdc.tums.ac.ir on 2024-07-28]

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

Hossein Mortazavi,MD[1&2]
Farid Abbasi,DDS[3]
Maryam Koopaie, DDS[3]
Nafise Esmaeili, MD[1&2]

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.

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 ± standard deviation age of patients, 43.37 ± 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 chnaging 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

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

[Downloaded from jdc.tums.ac.ir on 2024-07-28]