

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

دکتر حمیده عظیمی: استادیار پوست، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز: نویسنده رابط

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: ۸۵/۶/۶ پذیرش: ۸۶/۳/۲۳

چکیده

زمینه و اهداف: پمفیگوس و لگاریس 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 کراتینوسیت 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 و لگاریس و ارزیابی اثر داروهای مهارکننده ایمنی 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 و لگاریس 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 آزاتیوپرین (۳-۲ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بیمار در روز) یا درمان پالس با سیکلوفسفامید (۵۰۰ 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 ۳۹/۵۵±۱۲/۷ سال بود. رسوب IgG در پوست ۲۰ نفر از بیماران بصورت ++ یا +++ وجود داشت. آنتی بادی گردشی در سرم ۵۲ بیمار قبل از درمان، با عیار ۱/۲۰ تا ۱/۱۶ مثبت بود. آنتی بادی گردشی ۳-۲ ماه بعد از شروع درمان در سرم ۳۷ بیمار با عیار ۱/۲۰ تا ۱/۱۶ مثبت بود. در بررسی میزان همبستگی بین تیتراژ IgG گردشی قبل از آغاز درمان با سطوح آن بعد از آغاز درمان نتایج زیر بدست آمد: $P = 0/005$, $r = 0/415$.

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

کلیدواژه ها: پمفیگوس و لگاریس، 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 (۴۵). گاه علامتی از بدخیمی های ارگان های داخلی مثل ریه، گوارش و تناسلی می باشد (۷و۶). درمان کلاسیک بیماری، گلوکوکورتیکوئیدهای سیستمیک همراه با سایر ایمونوساپرسیوها نظیر آزاتیوپرین است. هدف اصلی درمان، ریشه کنی یا کاهش آنتی بادیهای بیماریزا می باشد (۴و۱).

اصطلاح پمفیگوس به گروهی از بیماریهای مزمن تهدید کننده زندگی اطلاق می شود که با تاول های پوستی مخاطی تظاهر می کنند. در پمفیگوس و لگاریس که شایعترین فرم بیماری می باشد، اتوآنتی بادی بر علیه دسموگلین ۳۱ ایجاد می گردد (۳-۱). این بیماری کشنده معمولاً در افراد میانسال و ندرتاً در سنین پائین با علائم 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 میکرونی (توسط Cryosection) قرار گرفته و پس از اتصال (Coating) به سطح لام و فیکساسیون و با استفاده از کونزوگه فلورسنتی زیر میکروسکوپ فلورسنت مورد مطالعه قرار می گرفت. این بیماران بسته به شرایط عمومی نظیر سن، سابقه فشار خون بالا و عملکرد ارگانه های داخلی تحت درمان کلاسیک با پردنیزولون (۲-۱ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و آزا تیوپرین (۳-۲ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) یا درمان پالس (با متیل پردنیزولون ۱ گرم در روز به مدت ۴ روز و سیکلوفسفامید 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 کشید)، تحت آزمایش مجدد IIF قرار می گرفتند. تغییر سطوح آنتی بادیهای در گردش خون بعنوان معیاری برای اثر بخشی درمان های به کاررفته 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 ۱/۳ سطح محل مورد نظر؛ دسته سوم، فرم متوسط با ابتلا ۱/۳-۲/۳ محل مورد نظر و دسته چهارم فرم شدید با ابتلا بیش از ۲/۳ 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 $\geq 0/5$ با همبستگی بالا تلقی شده اند.

ارتباط سطوح این اتوانتی بادیها با شدت علائم کلینیکی بیماری بدرستی مشخص نمی باشد. در برخی مطالعات، سطح سرمی اتوانتی بادیهای گردشی بر ضد کراتینوسیت ها که به روش ایمونوفلورسانس غیر مستقیم تعیین شده اند، متناسب با شدت فعالیت بیماری است (۸ و ۹). در حالیکه نتایج مطالعات دیگر این رابطه مستقیم را بین علائم کلینیکی و سطوح آنتی بادی نشان 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 پمفیگوس ولگاریس و ارزیابی اثر داروهای مهار کننده ایمنی 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 پمفیگوس ولگاریس به مدت یکسال تحت مطالعه قرار گرفتند. میانگین سنی این بیماران $39/55 \pm 12/7$ با کمترین سن ابتلا ۲۰ سال و بیشترین سن ابتلا ۷۹ سال می باشد. متوسط طول دوره شروع بیماری $1/03 \pm 1/93$ سال بوده است. از مجموع ۶۲ بیمار ۲۸ مورد (۴۵٪) مذکر و ۳۴ مورد (۵۵٪) مونث بوده اند. در این بیماران قبل از شروع درمان ردیابی رسوب IgG همراه با C₃ در پوست با روش ایمونوفلورسانس مستقیم^۱ و تیتراژ 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 پمفیگوس ولگاریس

شدت ابتلا	عدم ابتلا نفر (%)	ابتلا	
		خفیف نفر (%)	متوسط نفر (%)
پوست	۵۸/۳۳۶	۳۱/۶۲۰	۱۰/۱۰۶
دهان	۵۱/۶۳۲	۳۸/۴۲۴	۱۰/۶
سر	۷۳/۳۴۵	۲۰/۱۱۳	۶/۷۴

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

زمان درمان	سطح آنتی بادی نفر (%)	منفی			
		نفر (%)	نفر (%)	نفر (%)	نفر (%)
قبل از درمان	۱۶/۱۱۰	۳۲/۲۲۰	۲۴/۳۱۵	۱۶/۱۱۰	۱۱/۳۷
بعد از درمان	۳۰/۲۱۶	۲۴/۵۱۳	۲۲/۶۱۲	۱۷/۹	۵/۷۳

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

یافته ها

علیرغم بهبود علائم کلینیکی باعث کاهش چشمگیر سطوح آنتی بادی نشده اند. در مورد چگونگی تغییرات تیتراژ 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 (۱۴ و ۱۵).

در دو مطالعه دیگر که اثر پلاسما فرزیس در یک بیمار مقاوم به درمان با پردنیزون و سیکلوفسفامید مطالعه شده است، بطور متوسط ۶ هفته بعد از شروع درمان کاهش چشمگیر آنتی بادهای گردشی در آزمایش ایمونوفلورسانس همراه با بهبود علائم کلینیکی گزارش شده است (۱۶ و ۱۷).

در مطالعه ای دیگر که در مورد تأثیر ایمونوگلوبولین وریدی (IVIg) در ۲۱ بیمار مبتلا به فرم شدید پمفیگوس و لگاریس انجام شده کاهش چشمگیر سطوح آنتی بادهای سرم، ۴ تا ۶ ماه بعد از شروع درمان در ایمونوفلورسانس غیر مستقیم گزارش شده است (۱۸). ولی بررسی های دیگر نتایج متفاوت و گاه متضادی را ارائه کرده اند. در یک مطالعه که اثر پردنیزولون خوراکی در ۴۶ بیمار مبتلا به پمفیگوس و لگاریس بررسی شده، کاهش تیتراژ آنتی بادهای 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 بادهای گردشی چشمگیر نبوده است (۱۹).

در یک مطالعه کنترل نشده، اثر تعویض پلاسما و کورتیکواستروئید در بیماران دچار پمفیگوس و لگاریس بررسی شده و مشاهده گردید که در برخی از بیماران سطوح آنتی بادهای 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 پمفیگوس و لگاریس 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 تیتراژ 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 پمفیگوس و لگاریس تأکید دارند. در مطالعه حاضر نیز متوسط سطوح آنتی بادهای گردشی کاهش چشمگیری نداشت (P=۰/۱۲۲, t=۱/۵۷۷) که دلایل متفاوتی ممکن است داشته باشد. اولاً نوع درمان به کار رفته در تغییرات سطوح آنتی بادی های گردشی تأثیر 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 (۵۸/۳٪) عدم ابتلا پوستی و ۲۶ بیمار (۴۱/۷٪) ابتلا پوستی بصورت خفیف، متوسط یا شدید داشتند (جدول یک). از نظر ابتلا دهانی، ۳۲ مورد (۵۱/۶٪) عدم ابتلا دهانی و ۳۰ مورد ابتلا دهانی با شدت های متفاوت داشتند. از نظر ابتلا سر، ۴۵ مورد (۷۳/۳٪) 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 (۲۳/۷٪)، DIF منفی، ۹ بیمار (۳۴/۶٪) رسوب IgG⁺ و در ۱۱ بیمار (۴۲/۳٪) رسوب IgG⁺⁺ وجود داشت. در مورد IIF قبل از شروع درمان، ۱۰ بیمار (۱۶/۱٪) منفی ولی ۵۲ بیمار (۸۳/۹٪) حاوی آنتی بادی گردشی بودند که عیار آن از ۱/۲۰ تا ۱/۱۶۰ متغیر بود (جدول ۲).

در آزمایش IIF بعد از شروع درمان، ۱۶ مورد (۳۰/۲٪) فاقد آنتی بادی گردشی ولی ۳۷ بیمار (۶۹/۸٪) دارای آنتی بودند (جدول ۲). در ۹ بیمار بعلت عدم مراجعه مجدد انجام آزمایش IIF مقدور نشد. هیچ موردی از مرگ بیماران در طی مدت مطالعه وجود نداشت. در بررسی میزان همبستگی بین تیتراژ IgG گردشی قبل از آغاز درمان با تیتراژ آن بعد از درمان نتایج زیر بدست آمد: P=۰/۰۰۵, (r)=۰/۴۱۵

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 (P=۰/۱۲۲, t=۱/۵۷۷).

بحث

علیرغم آنکه اصطلاح پمفیگوس 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 کور کنترل 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 کنترل بیماران استفاده می شود. هدف نهایی، ریشه کنی یا خستی کردن آنتی بادهای گردشی می باشد. کنترل 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، ۱۳-۸).

در مطالعه حاضر، میانگین آنتی بادی گردشی بیماران، قبل و بعد از درمان تفاوت چشمگیری ندارند (P=۰/۱۲۲ و t=۱/۵۷۷). میزان همبستگی بین سطوح آنتی بادی گردشی قبل و بعد از درمان مثبت بوده ولی کمتر از حد متوسط است (P=۰/۰۰۵, r=۰/۴۱۵). این نتیجه نشان می دهد گرچه متوسط مقادیر آنتی بادی بعد از درمان کاهش یافته است ولی ارزشمند نبوده و درمانهای بکار رفته

روش‌های اندازه‌گیری رایج این تفاوت‌ها را مشخص نمی‌سازد (۶،۹). از طرفی، روش‌های اندازه‌گیری سطوح آنتی‌بادیهی حساسیت‌های متفاوتی داشته، روش ELISA در مقایسه با IIF حساس‌تر است. بعلاوه رقت نمونه‌های تهیه‌شده نیز باعث تفاوت در نتیجه‌گیری می‌گردد.

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر درمان‌های بکار رفته در بیماران پمفیگوس ولگاریس نتوانسته‌اند باعث کاهش چشمگیر سطوح اتوآنتی‌بادی‌های در گردش شوند. توصیه می‌شود مطالعات بعدی با در نظر گرفتن نوع و مدت درمان‌های بکار رفته، نوع ابتلا پوستی، مخاطی یا دهانی و استفاده از روش‌های ارزیابی حساس‌تر مثل ELISA برای سنجش آنتی‌بادی‌های گردش‌ی انجام پذیرد.

بسته به شدت بیماری تغییرات سطوح آنتی‌بادیهی متفاوت می‌باشد (۱۵،۱۸). در مطالعه حاضر، بیماران مبتلا به فرم‌های خفیف و متوسط بیماری بوده و موردی از فرم شدید وجود نداشت. چون بیشتر آنها قبل از بستری در بخش بطور سرپائی توسط پزشکان دیگر کورتیکواستروئید به اشکال و دوزهای مختلف دریافت کرده بودند و شاید به همین علت درمان‌های به کار رفته باعث تغییرات چشمگیر آنتی‌بادی نشده‌اند. از طرفی بسته به محل درگیری بیماران، تغییرات مشاهده‌شده در سطوح آنتی‌بادیهی گردش‌ی متفاوت بوده ابتلا دهان و سر، همانند مطالعه حاضر به علت داشتن محتوای آنتی‌ژنی زیاد باعث پایداری بیشتر آنتی‌بادیهی می‌شود. برخی مطالعات نشان داده‌اند که گرچه اتوآنتی‌بادیهی مختص پمفیگوس ولگاریس از نوع IgG می‌باشند ولی خود این آنتی‌بادی، زیر گروه‌های دیگری (مثل انواع ۱ و ۳) دارد که تنها برخی از آنها در روند بیماری زایی موثر می‌باشند و

References

1. Sacully 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; Blackwell 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 immunosorbent 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, Bystryk 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, Alviggi 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.