

Pemfigusta Desmoglein Antikor Serum Düzeyleri ile Direkt İmmünofloresan Bulgularının Hastalığın Klinik Aktivitesi ile İlişkisi

Relationship of Serum Levels of Anti-Desmoglein Antibodies and Direct Immunofluorescence Findings with Clinical Activity of Pemphigus

Mediha Yılmaz, Emel Bülbül Başkan, Ferah Budak*, Hayriye Sarıcaoğlu, Şükran Tunalı

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

*Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

Özet

Amaç: Pemfigus deri ve mukozalarda bül oluşumuyla seyreden, otoimmün bir hastalıktır. Bu çalışmada bül oluşumunda rolü olan desmoglein-1 (dsg-1) ve desmoglein-3 (dsg-3)'e karşı oluşmuş antikorların saptanmasında kullanılan iki yöntem olan direkt immüno-floresan (IF) inceleme ve ELISA yönteminin hastalık aktivitesi ve remisyonla ilişkisi araştırılmaktadır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya 23'ü pemfigus vulgaris, 2'si pemfigus foliaceus tanısı almış toplam 25 hasta alındı. Hastaların tedavi öncesi ve klinik remisyonun 3., 6. ve 12. aylarındaki anti-dsg-1 ve anti-dsg-3 serum antikor düzeyleri ELISA ile araştırıldı. Eş zamanlı olarak aktif hastalıkta lezyon kenarından, remisyonunda ise sağlam kalça derisi/alt dudak mukozasından direkt IF inceleme yapıldı. Nüks halinde tetkikler tekrarlandı.

Bulgular: Pemfigus vulgaris hastalarının tedavi öncesi 17'sinde (%73,9) anti-dsg-1 antikor, hepsinde (%100) anti-dsg-3 antikor pozitif saptandı. İki pemfigus foliaceus olgusunda tedavi öncesi anti-dsg-1 pozitif değerlerde iken anti-dsg-3 negatif saptandı. Anti-dsg-1 antikor serum düzeyleri deri şiddet skoru ile (r: 0,577; p: 0,003), anti-dsg-3 antikor serum düzeyleri ise oral mukoza şiddet skoru ile korele idi (r: 0,539; p: 0,008). Tam remisyonuna giren hastaların 16'sında (%84,2) tedavi öncesi direkt IF'da saptanan birikim remisyonla birlikte negatifleşti. Nüks gözlenen 9 hastanın hepsinde nüks sırasında anti-dsg-1 ve/veya anti-dsg-3 serum düzeylerinde artış saptandı. Dokuz olgunun 3'ünde ise klinik remisyon halinde iken nüksten 1-4 ay öncesinde serum antikor düzeylerinde yükselme tespit edildi.

Sonuç: Bu çalışmada serum desmoglein otoantikor değerlerinin hastalık şiddeti ve aktivitesi ile ilişkili olabileceğini saptadık. Klinik remisyon esnasında desmoglein antikorlarının seri ölçümleri takip ve tedavi modifikasyonunda yol gösterici olabilir. (Türkderm 2011; 45: 77-82)

Anahtar Kelimeler: Pemfigus vulgaris, pemfigus foliaceus, direkt immünofloresan, desmoglein antikorları, hastalık aktivitesi

Summary

Background and Design: Pemphigus is an autoimmune disease that results in blistering of the skin and mucous membranes. In this study, we investigated the relationship between disease activity and remission with ELISA scores and direct immunofluorescence (IF) - two methods used for the detection of antibodies against desmoglein-1 (dsg-1) and desmoglein-3 (dsg-3) that are responsible for blister formation.

Material and Method: Twenty-three pemphigus vulgaris patients and two pemphigus foliaceus patients were enrolled in the study. The serum levels of anti-dsg-1 and anti-dsg-3 antibodies were measured with ELISA before therapy and at 3, 6, and 12 month of clinical remission. Concurrently, direct IF was performed on perilesional skin during active disease and on normal buttock skin/lower lip mucosa in remission. The tests were repeated if relapse has occurred.

Results: Anti-dsg-1 was detected in 17 (73.9%) pemphigus vulgaris patients and anti-dsg-3 in 23 (100%) pemphigus vulgaris patients. In two pemphigus foliaceus patients, anti-dsg-1 values were positive, while anti-dsg-3 values were negative. A statistically significant correlation was seen between anti-dsg-1 antibody serum levels and skin severity scores (r: 0.577; p: 0.003), as well as between anti-dsg-3 antibody serum levels and oral mucosa severity scores (r: 0.539; p: 0.008). Direct IF results in 16 patients (84.2%) who achieved complete remission were negative. In 9 patients who relapsed, elevated serum values of anti-dsg-1 and/or anti-dsg-3 were also found. Increase in serum antibody levels was detected 1-4 months before the relapse in three of them.

Conclusion: In this study, we observed that serum desmoglein antibody levels correlated with disease severity and activity. In clinical remission, serial measurements of desmoglein antibodies can provide a guide for clinical follow-up and treatment modification. (Turkderm 2011; 45: 77-82)

Key Words: Pemphigus vulgaris, pemphigus foliaceus, direct immunofluorescence, desmoglein antibodies, disease activity

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Emel Bülbül Başkan, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dermatoloji Anabilim Dalı, 16059, Bursa, Türkiye
Tel.: +90 224 295 07 41 E-posta: emel@uludag.edu.tr **Geliş Tarihi/Received:** 23.08.2010 **Kabul Tarihi/Accepted:** 01.10.2010

Türkderm-Deri Hastalıkları ve Frengi Arşivi Dergisi, Galenos Yayınevi tarafından basılmıştır.
Turkderm-Archives of the Turkish Dermatology and Venerology, published by Galenos Publishing.



Giriş

Pemfigus yaşamı tehdit eden, kronik seyirli, otoimmün, büllöz bir hastalıktır. Pemfigusun klasik iki formu pemfigus vulgaris (PV) ve pemfigus foliaceus (PF) tur. Her iki pemfigus formu da akantolizis denen epidermal hücrelerin birbirinden ayrılması ile karakterizedir. Akantolizis sonucu deri ve mukozalarda intraepidermal bül oluşumu gerçekleşir¹⁻³.

Pemfigus grubu hastalıklardaki temel patoloji olan akantolizis gelişiminde, hücreler arası bağlantıyı sağlayan desmozomal bütünlüğün bozulması rol oynar. Desmozomal bütünlüğün bozulması bir adezyon molekülü olan desmogleinin ekstrasellüler kısmına karşı gelişen otoantikörler tarafından oluşturulur. Bunların arasında desmoglein 1 (dsg 1) ve desmoglein 3 (dsg 3) en iyi tanımlanmış olanlarıdır⁴⁻⁸.

Pemfigus hastalarının takibinde klinik düzelmenin yanında hastalık aktivitesini izlemek için adjuvan, objektif verilere gereksinim duyulmuştur. Bu amaçla değerlendirilen direkt immünofloresan (DİF) yöntem hem tanıda hem de hastalığın immünolojik aktivitesinin saptanmasında indirekt immünofloresan (İİF) yöntemine göre daha değerli bulunmuştur⁹⁻¹¹. DİF yanında kantitatif veri elde edilmesine olanak sağlayan ELISA yöntemi ile otoantikörlerin takibinin de hem hastalık şiddeti hem de hastalık aktivitesi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir^{3,12}.

Bu çalışmada pemfigusta anti-dsg 1 ve anti-dsg 3 antikor serum düzeyleri ile DİF incelemelerin hastalık aktivitesi ve remisyon ile ilişkisini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem

Çalışma grubunu Nisan 2007 ile Haziran 2008 tarihleri arasında takip edilen 12'si kadın, 13'ü erkek 25 hasta oluşturmaktaydı. Klinik ve histopatolojik incelemeler sonucunda pemfigus vulgaris ve pemfigus foliaceus tanıları alan hastalar çalışmaya alındı. Çalışma öncesinde Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alındı (etik kurul onay no:2007-7/31) ve çalışma kriterlerine uygun olarak tedaviye alınan hastalara aydınlatılmış onam belgesi imzalatıldı.

Hastaların tedavi öncesi ve eğer nüks gelişmişse nüks esnasındaki hastalık şiddetleri Harman ve ark.¹³ tarafından önerilen skorlama sistemine göre deri ve oral mukoza için ayrı olmak üzere derecelendirildi.

Çalışmaya alınan hastalardan tedavi öncesinde, aynı gün lezyonlu deri kenarından doku örneği ve periferik venöz kan alındı. Prednizolon ≤ 20 mg/gün tedavisi alan ve 3 aydır yeni lezyon çıkışı olmayan hastalar tam remisyon; tedavi öncesindeki lezyonların iyileşmesi ancak kısa sürede iyileşen geçici yeni lezyonların çıkışının görülmeye devam etmesi ise kısmi remisyon olarak kabul edildi. Remisyonun 3., 6. ve 12. aylarında hastalardan periferik venöz kan örnekleri ve lezyonsuz kalça bölgesinden doku örnekleri alındı¹⁰. Oral mukozaya sınırlı hastalığı olanlardan doku örneği alt dudak mukozasından alındı. Takip esnasında nüks gelişen hastalardan aynı gün lezyonlu deri kenarından doku örneği ve periferik venöz kan örnekleri tekrarlandı.

Serum anti-dsg 1 ve 3 IgG antikor düzeyleri ELISA (Mesacup Desmoglein Test "Dsg 1 ve Dsg 3"; Medical & Biological Labo-

ratuvarları, Nagoya, Japonya) ile araştırıldı. Serum örnekleri kit prosedürüne göre 1:101 oranında dilue edildi.

Doku kesitlerinde İİF ile immün birikimler (IgG, IgA, IgM, C3) araştırıldı. Değerlendirme floresan mikroskopta yapıldı. Epidermis boyunca hücreler arasında kesintisiz "balık ağı" görünümündeki elma yeşili floresans pozitif olarak değerlendirildi.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme 'SPSS for Windows Version 13,0' istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Verinin normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro-Wilk testi ile incelendi. Normal dağılmayan veri için iki grup karşılaştırmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Değişkenler arasındaki ilişkiler Pearson korelasyon ve Spearman korelasyon katsayıları ile incelendi. Kategorik verinin incelenmesinde Pearson Ki-kare testi ve Fisher'in Kesin Ki-kare testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $\alpha=0,05$ olarak belirlendi.

Bulgular

Çalışmaya alınan hasta grubu 12 kadın (%48), 13 erkek (%52) olmak üzere toplam 25 kişiden oluşuyordu. Olguların yaşları 37-87 arasında değişmekte olup, ortalama $53,4 \pm 11,3$ idi. Yirmi beş pemfigus hastasının 23'ü (%92) klinik ve histopatolojik olarak pemfigus vulgaris tanısı, 2'si (%8) pemfigus foliaceus tanısı almıştı. Pemfigus vulgaris hasta grubunda 6 olguda (%26,1) hastalık oral mukozaya sınırlı iken, 17 olgu (%73,9) mukokütanöz pemfigus vulgaris formunda idi. Hastaların 19'u (%76) yeni tanı alan hastalar iken, 6'sı (%24) daha önce tanı almış ancak klinik izleme devam etmeyen ve çalışmaya alınma sırasında tedavisiz dönemi takiben hastalık aktivasyonu olan hastalar idi. Olguların hastalık süreleri 1,5-19 yıl arasında değişmekte olup, ortalama $4,4 \pm 4,4$ idi.

Çalışmaya alınan 25 hastanın 2'si (biri PV, biri PF) DİF için deri "punch" biyopsi örneğini vermeyi kabul etmediği için, 1 PV hastasının da tedavi öncesi alınan doku örneğinde dermoepidermal bileşke gözlenmediğinden DİF sonuçları değerlendirilmeye alınmadı. Yirmi iki hastanın 21'inde (%95) tedavi öncesinde DİF'da balık ağı immün birikim saptandı.

Mukokütanöz pemfigus vulgarisli 17 hastanın tedavi öncesinde tamamında anti-dsg 3, 15 hastada da (%88,2) anti-dsg 1 pozitif bulundu. Mukozal pemfigus vulgarisli 6 hastanın tedavi öncesinde hepsinde anti-dsg 3, 2 olguda da (%33,3) anti-dsg 1 pozitif saptandı. Pemfigus foliaceuslu iki olguda tedavi öncesinde anti-dsg 1 pozitif, anti-dsg 3 negatifti (Tablo 1).

Hastalık şiddet derecelendirmesi deri tutulumu yönünden 7 hastada (%28) şiddetli, 7 hastada (%28) orta, 5 hastada (%20) hafif şiddette idi. Oral mukoza hastalık şiddet derecelendirmesi ise 9 hastada (%39) şiddetli, 8 hastada (%34,8) orta, 4 hastada (%17,4) hafif şiddette idi. Anti-dsg 1 antikor serum düzeyleri deri şiddet

Tablo 1. Tedavi öncesi pemfigus tiplerinde desmoglein antikorlarının pozitif saptanma oranları

	Mukokütanöz PV (n:17) n (%)	Mukozal PV (n:6) n (%)	PF (n:2) n (%)
Anti-dsg-1	15 (%88,2)	2 (%33,3)	2 (%100)
Anti-dsg-3	17 (%100)	6 (%100)	0

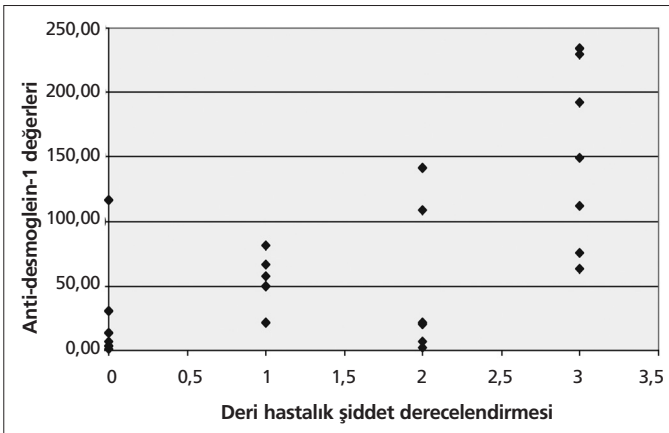
PV: Pemfigus vulgaris, PF: Pemfigus foliaceus, Anti-dsg-1: Anti-desmoglein-1, Anti-dsg-3: Anti-desmoglein-3

derecelendirmesi ile ($r:0,577$; $p:0,003$), anti-dsg-3 antikor serum düzeyleri ise oral mukozaya şiddet derecelendirmesi ile anlamlı derecede ilişkili bulundu ($r:0,539$; $p:0,008$) (Şekil 1, Şekil 2).

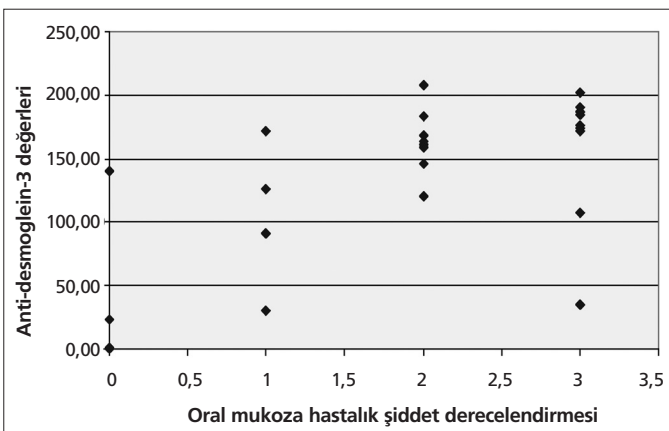
Tüm hastaların tedavi öncesi ve remisyonun 3. ayındaki anti-dsg-1 ve -3 antikor değerleri, 24 hastanın remisyonun 6. ayındaki anti-dsg-1 ve -3 antikor değerleri, 14 hastanın remisyonun 12. ayındaki anti-dsg-1 ve -3 antikor değerleri ELISA ile ölçüldü. Bir hastada remisyonun 5. ayında iken nüks gelişmesi nedeniyle remisyonun 6 ve 12. aylarındaki anti-dsg-1 ve -3 antikor değerleri ölçülemedi. Beş hastada remisyon süresi 1 yıla tamamlanmadan nüks gözlemlendiğinden, 4 hastada çalışma sonlandırıldığında 12. ay remisyon süresine erişilmediğinden, 6. ay remisyon süresini tamamlayan 1 hastada ise exitus geliştiğinden remisyonun 12. aylarındaki anti-dsg-1 ve 3 antikor değerleri ölçülemedi.

Yirmi iki olguda (%88) tam remisyon ortalama $4,7 \pm 1,7$ ay, 3 olguda (%12) kısmi remisyon ortalama 4 ± 1 ay sonunda gözlemlendi. Tam remisyon giren hastaların 16'sında (%84,2) tedavi öncesi DİF'da saptanan immün birikim remisyonunda negatifleşti.

Anti-dsg 1 değerleri tedavi öncesi pozitif saptanan 17 PV hastasının 15'inde (%88,2) remisyonunda anti-dsg 1 değerlerinde belirgin azalma gözlemlendi, 13 (%76,4) olguda remisyonun 3. ayında anti-dsg 1 negatifti. Anti-dsg 1 düzeylerinde azalma gözlenmeyen 2 olgunun 1'inde takiplerinde nüks gelişirken, 1 olgu ise kısmi remisyon gözlenen hasta grubunda idi. İki pemfigus foliaceus olgusunda ise



Şekil 1. Anti-dsg-1 serum antikor düzeyleri ile deri hastalık şiddet derecelendirmesi



Şekil 2. Anti-dsg-3 serum antikor düzeyleri ile oral mukozaya hastalık şiddet derecelendirmesi

remisyonun 3. ayında anti-dsg 1 düzeylerinde belirgin azalma saptandı ancak remisyonun 6. ayında negatifleşme gözlemlendi. Yirmi üç pemfigus vulgaris hastasının 14'ünde (%60,8) remisyonunda anti-dsg 3 düzeyleri belirgin azalma gösterdi, 14 olgunun 8'inde (%34,7) remisyonun 3. ayında anti-dsg 3 negatifti. Anti-dsg 3 düzeyleri azalmakla birlikte negatifleşmeyen 7 olgunun (%30,4) 2'sinde takiplerde nüks gelişirken 2 olgu ise kısmi remisyon girdi. Anti-dsg 3 düzeyleri yüksek seyreden 1 (%4,3) olguda takipte nüks gelişti. Anti-dsg 1 ve anti-dsg 3 değerlerinde remisyon giren gözlenen azalma istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0,001$). Anti-dsg 3 ortalama değerlerinin anti-dsg-1 ortalama değerlerine göre daha yüksek olduğu gözlemlendi. Remisyonun 12. ayında ortalama anti-dsg 3 değerlerinde saptanan yükselme, inceleme yapılan 14 olgunun 3'ünde anti-dsg 3 değerlerinde gözlenen artışa bağlandı. Desmoglein değerlerinde remisyon giren gözlenen yüzde değişimlerinde cinsiyet ve yaşa göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0,05$). Mukozal ve mukokütanöz pemfigus vulgaris hastaları arasında da remisyon giren gözlenen yüzde değişimlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0,05$). Tedavi öncesi ve remisyon esnasındaki ortalama anti-dsg-1 ve -3 değerleri Tablo 2'de gösterilmektedir.

Tam remisyon giren 9 (%36) pemfigus vulgaris hastasında nüks gözlemlendi. Nüks gözlenen hastaların 6'sı (%66,6) erkek, 3'ü (%33,4) kadındı. Nüks esnasında ortalama anti-dsg 1 değeri $15,9 \pm 22$ U/ml, ortalama anti-dsg 3 değeri $70,6 \pm 50,9$ U/ml idi. Nüks gözlenen ve gözlenmeyen grup arasında hem anti-dsg 1 hem de anti-dsg 3 değerlerinde remisyon giren gözlenen yüzde değişimleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0,05$). Nüks gelişen 9 olgunun 3'ünde nüksten 1-4 ay öncesinde anti-dsg 3 serum antikor düzeylerinde yükselme saptandı. Ancak olgu sayısı yetersiz olduğundan bu yükselmenin istatistiksel anlamlılığı değerlendirilemedi. İki olguda ise anti-dsg 3 değerleri klinik remisyonla rağmen yüksek seyrediyordu. Nüks gözlenen ve gözlenmeyen grup arasında remisyonun ortaya çıkma süreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

Nüks gözlenen 9 hastanın 5'inde (%55,5) remisyonunda negatifleşen DİF incelemede nüks sırasında immün birikim gözlemlendi. Ancak; anti-dsg-3 değerlerinde nüks öncesi 3 vakada gözlenen artış DİF incelemede gözlenmedi. DİF incelemelerinde remisyon ve nüks sırasında gözlenen değişiklikler Tablo 3'de gösterilmektedir.

Tablo 2. Tedavi öncesi ve remisyonun 3., 6. ve 12. aylarındaki ortalama desmoglein-1 ve -3 değerleri

	Tedavi öncesi	Remisyon 3.ay	Remisyon 6.ay	Remisyon 12.ay
Dsg-1(U/ml)	73,1±71	19,5±36,8	11,5±24,7	10,1±18,7
Dsg-3(U/ml)	144,4±54	49,7±55,7	46,8±54,7	82,2±61

Dsg-1: Desmoglein-1, Dsg-3: Desmoglein-3

Tablo 3. DİF incelemelerinde remisyon ve nüks sırasında gözlenen değişiklikler

	DİF
Tedavi öncesi pozitif saptanma (%)	95
Remisyon giren negatifleşme (%)	84,2
Nüks sırasında immün birikim gözlenme (%)	55,5

Tartışma

Pemfigusta epidermal antijenlere karşı oluşmuş otoantikolar bül oluşumundan sorumlu tutulmaktadır²⁻⁷. Klinik ve histopatolojik tanıyı bu otoantikoların çeşitli yöntemler ile saptanması desteklemektedir. Son dönemde ELISA yöntemi ile anti-dsg 1 ve 3 antikor seviyelerinin tespiti hassas bir tanı yöntemi olarak kullanılmaktadır^{7,14,15}. Pemfigus vulgariste anti-dsg 3 antikoları için tanısıl hassasiyet değişik çalışmalarda %85-100 olarak bildirilmektedir^{7,14-16}. Anti-dsg 1 antikoları ise pemfigus vulgarisli hastalarda değişik oranlarda (%36-95 arasında) pozitif bulunmuştur^{7,15-19}. Bu çalışmada klinik ve histopatolojik olarak pemfigus vulgaris tanısı almış olan 23 hastanın hepsinde (%100) anti-dsg 3 antikoları pozitif saptanırken; anti-dsg 1 pozitifliği İtalya ve İran'dan bildirilen oranlara yakın (%73,9) bulunmuştur. Farklı çalışmalarda anti-dsg 1 otoantikolarında değişik sıklıkta pozitiflik saptanması klinik fenotiplerde görülebilen irksal farklılıklara bağlanmaktadır^{16,18}. Ülkemizde Akdeniz bölgesi'nde yapılan bir çalışmada olguların %87'sinde, İran'da ise %69,9 oranında mukokütanöz hastalık bildirilmiştir^{16,20}. Yüksek sıklıktaki anti-dsg 1 pozitifliği mukokütanöz fenotipin sıklığı ile ilişkili olabilir¹⁶. Bu çalışma grubunda da yakın coğrafik bölgelerde bulunan oranlara benzer şekilde %73,9 oranda mukokütanöz hastalık saptanmıştır.

Desmoglein otoantikolarının saptanmasında diğer bir yöntem olan DİF inceleme, çalışmalarda tedavi öncesinde %90-100 arasında değişen oranlarda pozitif bildirilmiştir^{21,22}. Çalışmamızda benzer olarak tedavi öncesi DİF inceleme %95 oranında pozitif saptanmıştır.

Pemfigus klinik formları desmoglein antikor profili ile ilişkilidir^{23,24}. Çalışmamızda da klinik formlar ile antikor profili uyumlu bulunmuştur. Pemfigus foliaseus tanısı alan 2 olguda sadece anti-dsg 1 antikor, mukozal pemfigus vulgaris tanısı olan 6 olgunun 4'ünde (%66,6) sadece anti-dsg 3 antikor, mukokütanöz hastalığı olan 17 vakanın 15'inde (%88,2) hem anti-dsg 1 hem de anti-dsg 3 antikoları pozitif bulunmuştur.

Anti-dsg 1 ve 3 otoantikoları etyopatogeneze esas rolü üstlenirse de yapılan araştırmalarda desmoglein dışında farklı otoantikolar da pemfigus serumunda gösterilmiştir²⁵⁻²⁸. Anti-dsg 1 antikolarının negatif olduğu halde 2 hastada deri lezyonlarının saptanması bu olasılığı desteklemektedir. Ayrıca desmoglein dışı antikolardan başka desmogleinin intraselüller kısmına karşı da antikoların geliştiği bildirilmiştir²⁹. ELISA ile saptanamayan intraselüler desmoglein antikoları, anti-dsg 1 negatif olduğu halde oluşan deri lezyonlarını açıklayabilir.

Hassas bir tanı yöntemi olarak kullanılan ELISA ile desmoglein antikolarının tespitinin aynı zamanda hastalık şiddeti ile de ilişkili olduğu gösterilmiştir^{3,12,13,16}. Bu çalışmada anti-dsg-3 antikor serum düzeyleri oral mukoza şiddet derecelendirmesi ile ilişkili, deri şiddet derecelendirmesi ile ilişkisiz iken; anti-dsg-1 antikor serum düzeyleri deri şiddet derecelendirmesi ile ilişkili, oral mukoza şiddet derecelendirmesi ile ilişkisiz idi. Benzer sonuç Harman ve ark.¹³, Daneshpazhooh ve ark.¹⁶ ve Akman ve ark.³⁰ tarafından da bildirilmiştir.

Çalışmamızda tam remisyonda %88, kısmi remisyonda %12 oranında gözlenmiştir. Belirtilen remisyonda oranları daha önce bildirilen oranlara göre yüksektir; 1996'da Bystryn ve Steinman³¹ ortalama remisyonda oranını %28,9, 2000'de Herbst ve Bystryn %25 olarak

bildirmiştir. Ancak Herbst ve Bystryn³¹ tam remisyonda, hastanın sistemik tedavi almadığı ve 1 aydır lezyonsuz olduğu dönem olarak tanımlanmıştır, %25'lik oran ise hastaların 6 aydır sistemik tedavi almadığı dönemde saptanmıştır. Çalışmamızda hastalarda idame tedavisi alan hastaların lezyonsuz dönemi tam remisyonda kabul edilmiştir; saptanan yüksek remisyonda oranının buna bağlı olabileceği düşünüldü. Ayrıca %25 remisyonda oranı 2. yılda saptanmış iken, 5. yılda %50, 10. yılda %75 oranında tam ve uzun süreli remisyonda elde edildiği bildirilmiştir³². Bu konuda çalışmamızda hastaların sistemik tedavi almadığı uzun süreli takiplerinin yapılması gerektiği düşünmekteyiz.

Desmoglein antikoları hastalık şiddeti ile ilişkili olduğu gibi hastalık aktivitesiyle de paralel serum antikor düzeylerinde değişiklikler olmaktadır^{3,12,15,16,30}. Tedavi ve remisyonda desmoglein değerlerinde belirgin azalma gözlenmiştir (15,16,33). Bu çalışmada da ELISA ile ölçülen hem anti-dsg 1 hem de anti-dsg 3 değerlerinde belirgin azalma saptanmıştır.

Bu çalışmada remisyonda 17 hastada (%77,2) DİF negatif, 5 hastada (%28,8) pozitif saptandı. Benzer çalışmalarda DİF sırasıyla remisyonda %78,5; %42 oranlarında negatif, %21,5; %58 oranlarında pozitif bildirilmiştir^{10,11}. Gerek hastalığın aktif gerekse remisyonda dönemde DİF sonuçları ile ilgili literatürdeki farklı sonuçlar farklı merkezlerde yapılan testlerin duyarlılıkları ilişkili olabilir.

Klinik remisyonda elde edildiği halde immün birikim saptanması patojenik antikoların nonpatojenik forma değişiminden kaynaklanabilir. Bhol ve ark.³⁴ çalışmalarında hastalığın aktif döneminde otoantikoların IgG1 ve IgG4 alt sınıflarını, remisyonda veya sağlıklı yakınlarında ise sadece IgG1 alt sınıfını içerdiğini göstermişler ve IgG1 alt sınıfının nonpatojenik veya doğal antikor olduğunu ileri sürmüşlerdir. Çalışmamızda IgG alt sınıflarına bakılmamış olması bir limitasyonudur. Remisyondaki hastalarda saptanan otoantikor ve İF pozitiflikleri ile ilgili olarak literatürde rastlanan diğer bir ilginç veri de pemfigus hastalarının sağlıklı birinci derece akrabalarında otoantikor varlığının hem serumda hem de dokuda gösterilmesidir^{35,36}. Bu bulgu hastalığın ortaya çıkışında başka faktörlerin etkili olduğunu düşündürmektedir. Remisyonda saptanan pozitif İF sonuçlarını açıklamak için diğer ihtimal ise düşük ama saptanabilen otoantikoların akantolizi indüklediğidir¹⁰. Bu çalışmada desmoglein değerleri yüksek seyreden 4 olgunun 3'ünde nüks geliştiği, 1 olguda ise kısmi remisyonda elde edildiği saptanmıştır. Benzer sonuç desmoglein değerleri yüksek olan olgularda hastalığın da aktif saptandığı Atzori ve ark.¹⁵ çalışmasında da bildirilmiştir. Bunun yanında desmoglein değerleri azalmakla birlikte yüksek seyreden 6 hastanın 3'ünde remisyonda elde edilmiştir. Bu durum enzim reaksiyonu esasına dayanan ELISA yönteminde yüksek titrede antikor yoğunluğu içeren serumlarda enzimin doygunluğa ulaşmasından dolayı desmoglein değerlerinin beklenenden daha düşük saptanmasına bağlı olabilir^{37,38}. İleri dilüsyonlar ile aynı serumlar çalışıldığı takdirde aktif dönem ve remisyonda desmoglein değerleri arasında saptanan az farkın daha belirgin hale geleceği düşünülebilir.

Çalışmamızın önemli sonuçlarından biri nüks gelişen 9 olgunun 3'ünde nüksden 1-4 ay öncesinde ELISA ile ölçülen anti-dsg-3 serum antikor düzeylerinde yükselmenin gözlenmesidir. Ancak olgu sayımız yetersiz olduğundan bu gözlem üzerinde istatistiksel bir değerlendirme yapılamamıştır. Klinik remisyonda esnasında steroid tedavisi kritik değerlere azaltılan hastalarda görülen hastalık

nüksü tedavide güçlükler yaratmakta ve yan etki insidansını artırmaktadır. Bu yüzden remisyon esnasında serum desmoglein antikor düzeylerinde yükselme gözlenen hastalarda aynı dozda tedaviye devam edilmesini veya doz artırımına gidilmesi gerekebilir. Ancak daha önce belirtildiği gibi remisyonunda da pozitif desmoglein serum düzeyleri saptanabilmektedir, bu açıdan antikorların ELISA ile seri ölçümleri ve IgG alt sınıflarının saptanması tedaviyi yönlendirmede yol gösterici olabilir.

Bu çalışmada ayrıca remisyonun 12. ayında anti-dsg 3 değerlerinde artış gözlenen 3 olgunun 1'inin serum örneklemesinden hemen önce tedaviye kısa süreli ara verdiği saptanmıştır, tedavinin devamı ile olguda klinik olarak nüks gözlenmemiştir. Anti-dsg 3 değerlerinde gözlenen artış gözlenen diğer 2 olguda örneklemeden 1 ay sonra yapılan takipte klinik remisyonun devam ettiği gözlenmiştir. Ancak doğru yorumun yapılabilmesi için bu olguların uzun süreli takipleri gerekmektedir. Çalışmamızda daha önce yapılmış çalışmalar^{3,12,13,16,30} ile uyumlu olarak ELISA ile saptanan serum desmoglein otoantikor değerlerinin hastalık şiddeti ve aktivitesi ile uyumlu olduğunu gözlemledik. DİF incelemelerin de hastalık aktivitesi ile paralel seyir gösterdiğini saptadık. Ancak çalışmamızda literatürdeki araştırmalardan farklı olarak hastaların, remisyon esnasında 12 ay boyunca, daha uzun süreli takibini gerçekleştirdik. Dolayısıyla olguların uzun süreli immünolojik aktivitesi klinik bulgular ile beraber izlendi. Çalışmamızda nüks öncesi hastaların bir kısmında desmoglein otoantikor serum düzeylerinde yükselme saptayabildik. Bu hastalarda doz azaltımının yapılmaması veya doz artırımına gidilmesi yönündeki yaklaşımın yakın vadede gündeme gelebileceğini düşünüyoruz. Sonuçlarımız hastaların takipleri esnasında desmoglein antikor serum düzeylerinin ELISA ile seri ve dilüsyonel ölçümlerinin daha anlamlı olacağını desteklemektedir. Çalışmamızda remisyon sağlandıktan en erken 4 ay sonra nüks gözlenmiştir. Dolayısıyla pemfigus hastalarında remisyon esnasında doz azaltılırken en fazla 2-3 ayda bir desmoglein serum antikor düzeylerinin takibi uygun bir yaklaşım olabilir. Sonuçlarımızın uzun süreli takipli, daha fazla sayıda olguda desmoglein ölçümlerinin yapılabileceği ileri çalışmalar ile desteklenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Kaynaklar

1. James W: Pemphigus: Andrew's Diseases of the Skin: Clinical Dermatology. Ed. James WD, Berger TG, Elston DM. Kanada, Saunders Elsevier, 2006;459-478.
2. Uzun S: Pemfigus. Dermatoloji. Ed. Tüzün Y, Gürer MA, Serdaroğlu S, Oğuz O, Aksungur VL. İstanbul, Nobel, 2008;807-830.
3. Bystryń JC, Rudolf JL: Pemphigus. Lancet 2005;366:61-73.
4. Stanley JR, Koulu L, Thivolet C: Distinction between epidermal antigen binding pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus autoantibodies. J Clin Invest 1984;73:313-20.
5. Amagai M, Hashimoto T, Gren KJ et al: Antigen-specific immunoadsorption of pathogenic autoantibodies in pemphigus foliaceus. J Invest Dermatol 1995;104:895-901.
6. Amagai M, Klaus-Kovtun V, Stanley JR: Autoantibodies against a novel epithelial cadherin in pemphigus vulgaris, a disease of cell adhesion. Cell 1991;67:869-77.
7. Amagai M, Komai A, Hashimoto T et al: Usefulness of enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant desmogleins 1 and 3 for serodiagnosis of pemphigus. Br J Dermatol 1999;140:351-7.
8. Takeichi M: Cadherin cell adhesion receptors as a morphogenetic regulator. Science 1991;251:1451-5.
9. Judd KP, Lever WF: Correlation of antibodies in skin and serum with disease severity in pemphigus. Arch Dermatol 1979;115:428-32.
10. Balighi K, Taheri A, Mansoori P, Chams C: Value of direct immunofluorescence in predicting remission in pemphigus vulgaris. Int J Dermatol 2006;45:1308-11.
11. Ratnam KV, Pang BK: Pemphigus in remission: Value of negative direct immunofluorescence in management. J Am Acad Dermatol 1994;30:547-50.
12. Hertl M: Autoimmune Disease of the skin. Wien, Springer, 2005;45-69.
13. Harman KE, Seed PT, Gratian MJ, Bhogal BS, Challacombe SJ, Black MM: The severity of cutaneous and oral pemphigus is related to desmoglein 1 and 3 antibody levels. Br J Dermatol 2001;144:775-80.
14. Huang CH, Chen CC, Wang CJ, Chang YT, Liu HN: Using desmoglein 1 and 3 enzyme-linked immunosorbent assay as an adjunct diagnostic tool for pemphigus. J Chin Med Assoc 2007;70:65-70.
15. Atzori L, Deidda S, Aste N: Enzyme-linked immunosorbent assay in autoimmune blistering diseases: preliminary experience of the Dermatology Department of Cagliari. G Ital Dermatol Venereol 2008;143:1-8.
16. Daneshpazhooh M, Chams-Davatchi C, Khamesipour A et al: Desmoglein 1 and 3 enzyme-linked immunosorbent assay in Iranian patients with pemphigus vulgaris: correlation with phenotype, severity, and disease activity. J Eur Acad Dermatol Venereol 2007;21:1319-24.
17. Barnadas M, Gonzales M, Pui L et al: ELISA test in pemphigus: diagnostic value and relationship with clinical findings. J Invest Dermatol 2005;125:1089.
18. Harman KE, Gratian MJ, Bhogal BS, Challacombe SJ, Black MM: A study of desmoglein 1 autoantibodies in pemphigus vulgaris: racial differences in frequency and the association with a more severe phenotype. Br J Dermatol 2000;143:343-8.
19. Sharma VK, Prasad HR, Khandpur S, Kumar A: Evaluation of desmoglein enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in Indian patients with pemphigus vulgaris. Int J Dermatol 2006;45:518-22.
20. Uzun S, Durdu M, Akman A et al: Pemphigus in the Mediterranean region of Turkey: A study of 148 cases. Int J Dermatol 2006;45:523-8.
21. Bystryń JC: Interpretation of immunofluorescence tests in dermatology. Prog Dermatol 1985;19:1-8.
22. Sano SM, Quarracino MC, Aguas SC et al: Sensivity of direct immunofluorescence in oral diseases. Study of 125 cases. Med Oral Pathol Oral Cir Bucal 2008;13:287-91.
23. Amagai M, Tsunoda K, Zillikens D, Nagai T, Nishikawa T: The clinical phenotype of pemphigus is defined by anti-desmoglein autoantibody profile. J Am Acad Dermatol 1999;40:167-70.
24. Mahoney MG, Wang Z, Rothenberger K, Koch PJ, Amagai M, Stanley JR: Explanation of the clinical and microscopic localization of lesions in pemphigus foliaceus and vulgaris. J Clin Invest 1999;103:461-8.
25. Sison-Fonacier L, Bystryń JC: Heterogeneity of pemphigus vulgaris antigens. Arch Dermatol 1987;123:1507-10.
26. Kurzen H, Brenner S: Significance of autoimmunity non-desmoglein targets in pemphigus. Autoimmunity 2006;39:549-56.
27. Nguyen VT, Ndoye A, Shultz LD, Pittelkow MR, Grando SA: Antibodies against keratinocyte antigens other than desmogleins 1 and 3 can induce pemphigus vulgaris-like lesions. J Clin Invest 2000;106:1467-79.
28. Grando SA: Autoimmunity to keratinocyte acetylcholine receptors in pemphigus. Dermatology 2000;201:290-5.
29. Dmochowski M, Hashimoto T, Amagai M et al: The extracellular aminoterminal domain of bovine desmoglein 1 (Dsg 1) is recognized only by certain pemphigus foliaceus sera, whereas its intracellular domain is recognized by both by pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus sera. J Invest Dermatol 1994;103:173-7.

30. Akman A, Uzun S, Alpsoy E: Immunopathologic features of pemphigus in the east mediterranean region of Turkey. A proespective study. *Skinmed* 2010;8:12-6.
31. Bystryń JC, Steinman NM: The adjuvant therapy of pemphigus-an update. *Arch Dermatol* 1996;132:203-12.
32. Balighi K, Taheri A, Mansoori P, Chams C: Value of direct immunofluorescence in predicting remission in pemphigus vulgaris. *Int J Dermatol* 2006;45:1308-11.
33. Sami N, Bhol KC, Ahmed AR: Influence of IVIg therapy on autoantibody titers to desmoglein 1 in patients with pemphigus foliaceus. *Clin Immunol* 2002;105:192-8.
34. Bhol K, Mohimen A, Ahmed R: Correlation of subclasses of Ig G with disease activity in pemphigus vulgaris. *Dermatology* 1994;189:85-9.
35. Brandsen R, Frusic-Zlotkin M, Lyubimov H et al: Circulating pemphigus IgG in families of patients with pemphigus: Comparison of indirect immunofluorescence, direct immunofluorescence and immunoblotting. *J Am Acad Dermatol* 1997;36:44-52.
36. Günaştı S, Uzun S. Pemfiguslu hastaların sağlıklı birinci derece akrabalarında pemfigus otoantikorlarının sıklığının araştırılması. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2010;30:571-6.
37. Kwon EJ, Yamagami J, Nishikawa T, Amagai M: Anti-desmoglein IgG autoantibodies in patients with pemphigus in remission. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2008;22:1070-5.
38. 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 desmogleins 1 and 3. *Br J Dermatol* 2002;147:261-5.