مقاله پژوهشی

ارزش تشخیصی ایمنوفلورسانس مستقیم برروی نمونه‌های بیوپسی مخاط و پوست قرارداده‌شده در فرمالین ۱۰٪ در مقایسه با نمونه‌های قرارداده‌شده در نرمال‌سالین به‌عنوان روش استاندارد طلایی در تشخیص گروهی از بیماری‌های تاولی خودایمن

الهه نظری
کامبیز کامیاب حصاری
سحر منتظری
نازنین منصورزاده
ویدا فیضی
حسین مرتضوی
علیرضا قنادان
نفیسه اسماعیلی

گروه پاتولوژی، بیمارستان رازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

نویسنده مسئول:
کامبیز کامیاب‌حصاری

تهران، خیابان حافظ، میدان وحدت اسلامی، بیمارستان رازی
پست الکترونیک:
drkamyabhesari@yahoo.com

تعارض منافع: اعلام نشده است.

زمینه و هدف: ایمنوفلورسانس مستقیم (DIF) به‌عنوان روش استاندارد طلایی در تشخیص بیماری‌های تاولی خودایمن مطرح است. محیط مورد قبول برای حفظ نمونه‌های بیوپسی پوست و مخاط، قبل از معاینه دیف نرمال‌سالین، نیتروژن مایع و محلول میشل است. گاهی پزشکان، نمونه بیوپسی گرفته‌شده برای دیف را در فرمالین ده درصد قرار می‌دهند و گاهی نیز به‌صورت هم‌زمان درخواست دیف می‌کنند و فقط یک نمونه مواجهه‌یافته با فرمالین و فرورفته در پارافین در دسترس است. در این مطالعه معین‌کردن ارزش تشخیصی دیف روی نمونه‌های بیوپسی پوست و مخاط مواجهه یافته با فرمالین ۱۰٪ در مقایسه با نمونه‌های مشابه مواجهه‌یافته با نرمال‌سالین مورد بررسی قرار گرفت.

روش اجرا: در ۷۴ بیمار (۳۸ بیمار تاولی و ۲۳ بیمار درماتیت مزمن) که گروه دوم نقش کنترل سالم را داشتند، دو بیوپسی پانچ از کنار ضایعه از پوست یا مخاط انجام شد که یکی در فرمالین ۱۰٪ گذاشته شد و در پارافین ثابت شد و یکی در نرمال‌سالین گذاشته شد و DIF روی دو نمونه انجام شد.

یافته‌ها: حساسیت و ویژگی DIF با IgG، به‌ترتیب ۳۱ و ۱۰۰٪ در پمفیگوس، ۱۵ و ۹۳٪ در بی‌پی و با C3، ۳۹ و ۱۰۰٪ در پمفیگوس و ۷ و ۹۱٪ در بولوس پمفیگوئید بود.

نتیجه‌گیری: DIF در نمونه‌های مواجهه‌یافته با فرمالین نسبت به نرمال‌سالین در تشخیص پمفیگوس و بی‌پی کمتر حساس و تقریباً یکسان است؛ به‌ویژه در بیماران پمفیگوس وقتی فقط یک نمونه مواجهه‌یافته با فرمالین در دسترس است، سودمند است.

کلیدواژه‌ها: بیوپسی، ایمنوفلورسانس، بیماری‌های تاول‌زای خودایمن

دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۱۲/۱۳ پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۰۱/۲۵

پوست و زیبایی؛ بهار ۱۴۰۱، دوره ۱۳ (۱): ۵۲-۴۰

مقدمه

بیماری‌های تاولی خودایمن پوست، گروهی از اختلالات خودایمن هستند که با تولید اتوآنتی‌بادی علیه پروتئین‌های ساختاری اپیدرم یا درمواپیدرمال جانکشن، ازنظر پاتوژنز و ایجاد بلیستر و اروزیون در پوست یا غشاهای مخاطی ازنظر بالینی مشخص می‌شوند.

براساس سطح تاول (اینتراپیدرمال یا ساب‌اپیدرمال)، بیماری‌های تاولی اتوایمون پوست به دو گروه پمفیگوس و پمفیگوئید تقسیم می‌شوند؛ پمفیگوس با تاول‌های سست اینتراپیدرمال و اروزیون‌های پوست و مخاط و اتوآنتی‌بادی، علیه اتصالات چسبنده بین دو کراتینوسیت؛ یعنی دسموزوم‌ها مشخص می‌شود و خود بر پنج گونه است: پمفیگوس

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-15]
[DOR: 20.1001.1.20087470.1401.13.1.6.4]

سطحی یا فولیاسه، پمفیگوس عمقی یا ولگر، پمفیگوس IgA، پمفیگوس اریتماتو و پمفیگوس پارانئوپلاستیک. پمفیگوئید با ضایعات کهیری، تاول‌های سفت، اروزیون‌های پوست و مخاط و اتوآنتی‌بادی علیه پروتئین‌های ساختاری درمواپیدرمال جانکشن مشخص می‌شود و شامل بولوس پمفیگوئید، سیکاتریسیل پمفیگوئید، هرپس جستیشنالیس، درماتیت هرپتیفرمیس، لینه‌آرIgA و اپیدرمولیزیس بولوزای اکتسابی می‌باشند.

چون معیارهای بالینی و خصوصیات هیستوپاتولوژیک برای اثبات تشخیص کافی نیستند، بررسی میکروسکوپیک به روش ایمنوفلورسانس مستقیم روی نمونه بیوپسی پوست یا تست‌های سرولوژیک برای تشخیص دقیق لازم است. پس تشخیص دقیق بیماری‌های ایمنوبولوس، نیازمند بررسی یافته‌های بالینی، هیستوپاتولوژیک و ایمنوفلورسانس است. تشخیص بین بیماری‌های تاولی مختلف پوست به‌دلیل تفاوت در روش‌های درمانی و پیش‌آگهی، اهمیت بسیاری دارد[۱-۳].

گرچه بیماری‌های ایمنوبولوس ناشایع‌اند، اثر دراماتیکی روی بیمار و بستگانش و نیز ازنظر اقتصادی برای خانواده بیمار و سیستم‌های بهداشتی دارند[۴].

برای تشخیص پمفیگوس ولگاریس، فولیاسه و بولوس پمفیگوئید یافته‌های بالینی و هیستوپاتولوژیک به‌تنهایی کافی نیست و نیازمند اثبات وجود آنتی‌بادی علیه سطح سلول کراتینوسیت در پمفیگوس و جانکشن درمواپیدرمال در مورد بولوس پمفیگوئید است. به این منظور از یکی از روش‌های ایمنوفلورسانس مستقیم روی بیوپسی پوست و مخاط، ایمنوفلورسانس غیرمستقیم روی خون و سایر مایعات بدن یا الایزا، ایمنوبلات و ایمنوپرسپیتیت استفاده می‌گردد[۵-۷].

یافته‌های هیستوپاتولوژیک در پمفیگوس شکاف سوپرابازال، آکانتولیز و ارتشاحات ائوزینوفیلی و در بولوس پمفیگوئید تاول ساب‌اپیدرمال و ارتشاح درمال با ارجحیت ائوزینوفیل‌هاست[۸].

در این میان ایمنوفلورسانس مستقیم به‌دلیل ویژگی و حساسیت بالا، روش استاندارد طلایی محسوب می‌شود[۴و۶و۹]. حساسیت روش ایمنوفلورسانس مستقیم از نود تا صد درصد در مورد بیماران پمفیگوس ذکر شده است[۵و۱۰].

در ایمنوفلورسانس مستقیم نمونه‌های بیوپسی پوست یا مخاط پری‌لژیونال با سه آنتی‌بادی IgG، IgA و C3 نشان‌دارشده با رنگ فلورسانس مجاور می‌شوند و درصورت اتصال به آنتی‌بادی‌های متصل در بافت، زیرمیکروسکوپ فلورسانس با تابش نور فرابنفش به‌صورت نور مرئی متبلور می‌شوند[۱۱].

الگوی حاصله در مورد پمفیگوس ولگاریس و فولیاسه، شبکه‌ای از IgG، C3، IgA و گاهی IgM در اپی‌درم است. در بولوس پمفیگوئید رسوب خطی ممتد در ناحیه غشای پایه از IgG، C3 یا ترکیب این دو دیده می‌شود[۸]. حساسیت ایمنوفلورسانس مستقیم در پمفیگوس ولگاریس در ضایعات اولیه، کمتر و در حدود ۹۵٪ و در موارد با بیماری فعال ۱۰۰٪ است. در هنگام رمسیون، منفی‌شدن آن نشانه پروگنوستیک خوبی است. گرچه تصور می‌شود مثبت کاذب ندارد؛ ولی در درماتیت اسپونژیوتیک، پسوریازیس، ایمپتیگوی بولوس و حاشیه اولسرهای مختلف، به‌دلیل حضور پلاسما ممکن است مثبت شود که با حضور غیراختصاصی منوراکتانت‌هایی مثل IgA، IgM، فیبرینوژن و آلبومین افتراق داده می‌شوند.

در بولوس پمفیگوئید رسوب خطی در ایمنوفلورسانس مستقیم با C3 در ۱۰۰٪ موارد و با IgG در ۹۵-۶۵ درصد موارد دیده می‌شود[۱۲].

محیط معمول برای انتقال نمونه‌های بیوپسی پوست به آزمایشگاه جهت انجام ایمنوفلورسانس، سرم نرمال‌سالین می‌باشد و محیط معمول جهت انتقال نمونه‌های بیوپسی جهت انجام هیستوپاتولوژی معمول، فرمالین ده درصد می‌باشد. گاهی به‌طور اتفاقی نمونه

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-15]

[DOR: 20.1001.1.20087470.1401.13.1.6.4]

پری‌لژیونال در فرمالین ده درصد قرار داده می‌شود. گاهی نیز به‌صورت رتروگرید انجام ایمنوفلورسانس توسط پزشک درخواست می‌شود که فقط یک نمونه قرارگرفته در فرمالین و سپس بلاک‌شده در پارافین در دسترس است.

هدف از این مطالعه تعیین ارزش تشخیصی انجام ایمنوفلورسانس مستقیم روی بیوپسی پوست آغشته به فرمالین ده درصد روی پوست پری لژیونال در مقایسه با ایمنوفلورسانس مستقیم روی نمونه آغشته به نرمال‌سالین روی پوست پری لژیونال به عنوان روش استاندارد طلایی است.

روش اجرا

جمعیت هدف

بیماران مبتلا به بیماری‌های ایمنوبولوس پمفیگوس، بولوس پمفیگوئید و درماتیت هرپتیفرمیس.

جمعیت تحت مطالعه

بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان رازی که به‌عنوان موارد جدید درمان‌نشده و به‌منظور تشخیص بیماری‌شان تحت بیوپسی پوست یا مخاط جهت انجام روش ایمنوفلورسانس مستقیم در محیط حاوی نرمال‌سالین (روش استاندارد طلایی) قرار می‌گیرند.

معیارهای ورود و خروج

در این مطالعه کلیه بیمارانی که در بازه زمانی اول اردیبهشت لغایت آخر آبان ۹۷ در بخش زنان، مردان و اتاق عمل سرپایی پوست به‌عنوان موارد جدید و به‌منظور تشخیص بیماری‌شان تحت بیوپسی پوست یا مخاط، جهت انجام روش ایمنوفلورسانس مستقیم در محیط حاوی نرمال‌سالین (روش استاندارد طلایی) قرار می‌گیرند و در برگه درخواست بیوپسی‌شان توسط درماتولوژیست‌های مختلف بیمارستان رازی، حداقل یکی از موارد ذیل به‌عنوان تشخیص افتراقی مطرح شده است و نیز پس از اخذ رضایت آگاهانه رضایت به شرکت در این طرح داده‌اند تا زمان تکمیل تعداد لازم برای مطالعه وارد مطالعه می‌شوند. تشخیص افتراقی‌های ذکرشده در برگه درخواست حداقل شامل یکی از موارد پمفیگوس ولگاریس، پمفیگوس فولیاسه، بولوس پمفیگوئید، درماتیت هرپتی فرم یا درماتیت باشند.

روش محاسبه حجم نمونه و حجم نمونه

حجم نمونه در این مطالعه از فرمول زیر با اطمینان ۹۵٪ و خطای ۵٪ ، ۷۴ نفر محاسبه شد؛ یعنی اگر ارزش تشخیصی تست برابر با ۹۵٪ باشد، با احتساب اطمینان ۹۵٪ و دقت ۵٪، به ۷۴ نفر نیاز داریم.

$$N = \frac{\left(z-\frac{\alpha}{2}\right)\times p(1-p)}{d^2}$$

مکان انجام مطالعه

این مطالعه در بیمارستان رازی (واحد اتاق عمل سرپایی و بخش پاتولوژی) انجام می‌شود.

روش جمع‌آوری داده‌ها و روش اجرای طرح

محیط استاندارد طلایی قراردهی و انتقال نمونه بیوپسی پوست یا مخاط برای انجام روش ایمنوفلورسانس مستقیم سرم فیزیولوژی (نرمال‌سالین ۰/۹ درصد می‌باشد) که در این مطالعه، به‌عنوان روش استاندارد طلایی محسوب می‌شود.

در این مطالعه نمونه برداشته‌شده از پوست پری‌لژیونال که به‌طور معمول در ظرف پلاستیکی درب‌دار حاوی نرمال‌سالین قرار داده می‌شود و نیز نمونه دوم از پوست یا مخاط لژیونال جهت بررسی هیستوپاتولوژیک معمول هماتوکسیلین ـ ائوزین برداشته می‌شود (تا این مرحله جزء پروسه لازم و معمول تشخیص بیماری‌های ایمنوبولوس است؛ لذا هزینه یا عملیات اضافه به بیمار تحمیل نمی‌گردد)، سپس درصورت کسب رضایت آگاهانه از بیمار، نمونه دیگری توسط فرد انجام‌دهنده بیوپسی از ناحیه پری لژیونال و ترجیحاً محلی که با اسکار کمتری همراه است گرفته شده و نمونه دوم در ظرف حاوی فرمالین ده درصد (روش تحت بررسی) قرار داده می‌شود؛ سپس هر دو نمونه در مدت کمتر از یک ساعت به

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-15]

[DOR: 20.1001.1.20087470.1401.13.1.6.4]

آزمایشگاه آسیب‌شناسی تحویل و آنجا بعد از کددهی توسط مسئول پذیرش بخش، توسط تکنسین آزمایشگاه آسیب‌شناسی که جزء همکاران طرح می‌باشد، ظرف مدت حداکثر یک ساعت نمونه‌ها به روش زیر آماده می‌شوند.

ابتدا چسب فروزن یا کرایو روی آن‌ها ریخته می‌شود و پس از قالب‌گیری در دستگاه کرایوکات به برش‌های پنج میکرونی تقسیم می‌شوند، سپس نمونه‌ها روی دیش رنگ‌آمیزی قرار داده می‌شوند، کمی آب روی آن‌ها ریخته می‌شود، سپس آنتی‌بادی‌های C3 با غلظت یک‌سی‌ام و IgG و IgA هرکدام با غلظت یک‌چهلم از شرکت داکو جهت رنگ‌آمیزی استفاده و در ظرف به مدت چهل و پنج دقیقه گذاشته شده و سپس با محلول پی‌بی‌اس ۶/۹ مولار به‌مدت پنج دقیقه شسته و سپس در محیط خشک‌شده، نهایتاً با استفاده از محلول گلیسرول در پی بی اس (که به نسبت یک‌نهم رقیق‌شده) مونته می‌شوند؛ یعنی یک قطره از آن روی لام گذاشته می‌شود و لامل روی آن قرار می‌گیرد و همان روز توسط میکروسکوپ فلورسانس بخش آسیب‌شناسی توسط یکی از دو پاتولوژیست همکار طرح و کور نسبت به گزارش روش استاندارد طلایی و جواب گزارش هیستوپاتولوژی معمول هماتوکسیلین ـ ائوزین، گزارش می‌شوند.

نحوه کورسازی به این صورت است که تمامی نمونه‌ها هنگام پذیرش به‌صورت رندوم توسط کامپیوتر بخش پاتولوژی دارای کد، پذیرش می‌شوند و کد پذیرش توسط مسئول پذیرش روی ظرف نمونه و فرم‌های درخواست قید می‌شود، درنتیجه هنگام تحویل به بخش اجرا و پزشک پاتولوژیست همراه با سایر نمونه‌های بخش پاتولوژی آن روز می‌باشند. نحوه گزارش نمونه‌ها به‌صورت خفیف (یک پلاس یا ساجستیو)، متوسط (دو پلاس یا قابل انطباق) و شدید (سه پلاس یا سازگار) و به تفکیک دو آنتی‌بادی C3 و IgG است. درصورتی که در گزارش هیستوپاتولوژی یا ایمنوفلورسانس مستقیم به روش نرمال‌سالین (روش استاندارد طلایی) که در حالت روتین توسط آنتی آنتی‌بادی IgG، IgA و C3 انجام می‌گردد، شواهدی به نفع تشخیص درماتیت هرپتیفورمیس گزارش شود، ایمنوفلورسانس مستقیم روی نمونه‌های بیوپسی قرار داده‌شده در فرمالین ده درصد با استفاده از IgA هم تکرار می‌شود. یافته‌های مثبت در ایمنوفلورسانس مستقیم به‌صورت خطی ممتد در درمواپیدرمال جانکشن، شبکه‌ای در اپیدرم و گزارش سایر یافته‌های مورفولوژیک که حین انجام طرح به آن‌ها برمی‌خوریم می‌باشد.

گزارش روش گلداستاندارد و نیز گزارش هیستوپاتولوژی معمول هماتوکسیلین ـ ائوزین توسط چهار نفر از اساتید پاتولوژیست بخش پاتولوژی بیمارستان رازی که دو نفر از آن‌ها جز همکاران طرح هستند، انجام می‌شود؛ اما هیچ‌کدام از اینکه کدام مریض و کدام بیوپسی وارد طرح خواهد شد، مطلع نیستند. سپس قسمت فرم دوم شامل اطلاعات دموگرافیک، مدت ایجاد ضایعات و تشخیص هیستوپاتولوژیک به همراه شماره تماس بیمار توسط دستیار ثبت می‌شود. این فرم حاوی کد پذیرش است که توسط مسئول پذیرش روی برگه‌ها قید شده است. سپس در پایان ماه هر دو فرم توسط همکار سوم طرح جمع‌آوری و نمونه‌های مخدوش یا ناکافی برای رنگ‌آمیزی یا فاقد اطلاعات لازم برای کسب متغیرها از مطالعه خارج و سپس با استفاده از نسخه ۱۹ نرم‌افزار SPSS آنالیز می‌شوند. بعد از تکمیل اطلاعات، داده‌ها جهت کنترل سالم از بیمارانی که تشخیص هیستوپاتولوژیک درماتیت و ایمنوفلورسانس مستقیم منفی با استفاده از محیط نرمال‌سالین دارند، استفاده می‌شود.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

از آمارهای توصیفی، میانگین و انحراف‌معیار برای داده‌های کمی و فراوانی نسبی برای سنجش حساسیت، ویژگی و ارزش اخباری مثبت استفاده می‌شود.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-15]

[DOR: 20.1001.1.20087470.1401.13.1.6.4]

یافته‌ها

در این مطالعه ۷۴ بیمار مورد ارزیابی قرار گرفتند که ۳۲ بیمار (۴۳/۲٪) زن و ۴۲ بیمار (۵۶/۸٪) مرد بودند. ازنظر متغیر جنس نیز اکثریت بیماران گروه پمفیگوس (۶۵/۵٪) و گروه بولوس پمفیگوئید (۲۱/۹٪) زن بودند.

در مجموع کل بیماران، بیشتر بیماران در گروه سنی ۴۹-۴۰ سال قرار داشتند. ازنظر متغیر سن به تفکیک تشخیص اکثریت بیماران پمفیگوس در گروه ۴۹-۴۰ سال (۲۷/۶٪) قرار داشتند. در گروه بولوس پمفیگوئید نیز اکثریت بیماران در گروه ۸۹-۸۰ بودند.

پمفیگوس ولگاریس ۲۹ بیمار (۳۹/۲٪)، پمفیگوس فولیاسه ۹ بیمار (۱۲/۲٪)، بولوس پمفیگوئید ۱۳ (۱۷/۶٪) بیمار و درماتیت مزمن ۲۳ (۳۱/۱٪) بیمار داشتند. در بین ۵۱ بیمار با تشخیص ایمنوبولوس‌های مختلف ازنظر متغیر نوع بیماری، اکثر بیماران، (۳۸ بیمار (۷۵٪)) تشخیص پمفیگوس داشتند و ۱۳ بیمار (۲۵٪) تشخیص بولوس پمفیگوئید. به‌علاوه در بیماران پمفیگوس، ۲۹ بیمار پمفیگوس ولگر و ۹ بیمار پمفیگوس فولیاسه داشتند؛ یعنی در بین موارد جدید ایمنوبولوس در یک بازه زمانی شش ماهه ازنظر نوع تشخیص ارجحیت نسبی با گروه پمفیگوس‌ها و نوع ولگر بود.

جدول ۱: فراوانی نتایج محل بیوپسی.

	تعداد	درصد
اندام فوقانی	۱۱	۱۴/۹
اندام تحتانی	۱۰	۱۳/۵
تنه	۴۱	۵۵/۴
اسکالپ	۲	۲/۷
صورت	۳	۴/۱

جدول ۲: فراوانی مدت زمان بیماری.

	تعداد	درصد
کمتر از ۶ ماه	۳۱	۴۱/۹
۱۲-۶ ماه	۱۸	۲۴/۳
۱۸-۱۲ ماه	۱۲	۱۶/۲
۲۴-۱۸ ماه	۱	۱/۴
۳۰-۲۴ ماه	۴	۵/۴
بیشتر از ۳۶ ماه	۸	۱۰/۸

در روش استاندارد طلایی در ۲۳ مورد، IgG منفی بود که هر ۲۳ مورد تشخیص chronic dermatitis داشتند. شدت رنگ‌پذیری در موارد مثبت، شدید (+۳) و متوسط (+۲) بود.

در ۴۴ مورد IgG با روش مورد آزمون مثبت بود که فراوانی آن به شرح جدول ۴ است. در مورد شدت رنگ‌پذیری با آنتی‌بادی IgG در روش مورد آزمون کاهش داشت و خفیف (+۱) و متوسط (+۲) بود (جدول ۴).

جدول ۳: فراوانی روش استاندارد طلایی با آنتی‌بادی IgG در افراد مورد مطالعه به تفکیک نوع بیماری.

	پمفیگوس ولگاریس	پمفیگوس فولیاسه	بولوس پمفیگوئید	درماتیت مزمن
IgG خطی ممتد (++)	۰	۰	۲۳/۱	۰
IgG خطی ممتد (+++)	۰	۰	۵۳/۸	۰
IgG شبکه‌ای ممتد (+++)	۹/۷۵	۱۰۰	۰	۰
IgG شبکه‌ای ممتد (++)	۲۰/۶	۰	۰	۰
IgG negative	۰	۰	۲۳/۱	۱۰۰

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-15]

[DOR: 20.1001.1.20087470.1401.13.1.6.4]

جدول ۴: فراوانی روش مورد آزمون با آنتی‌بادی IgG در افراد موردمطالعه به تفکیک نوع بیماری.

	پمفیگوس ولگاریس	پمفیگوس فولیاسه	بولوس پمفیگوئید	درماتیت مزمن
IgG خطی ممتد (+)	۰	۰	۷/۷	۸/۷
IgG خطی ممتد (++)	۰	۰	۷/۷	۸/۷
IgG خطی کانونی (+)	۲۰/۷	۲۲/۲	۳۸/۵	۲۱/۷
IgG خطی کانونی (++)	۱۰/۳	۲۲/۲	۰	۰
IgG شبکه‌ای کانونی (+)	۱۰/۳	۱۱/۱	۰	۰
IgG شبکه‌ای کانونی (++)	۱۰/۳	۲۲/۲	۰	۰
IgG خطی فوکال (+)، شبکه‌ای کانونی (+)	۱۰/۳	۰	۰	۰
IgG negative	۳۷/۸	۲۲/۲	۴۶/۲	۶۰/۹

در ۱۲ مورد از ۳۸ مورد پمفیگوس، IgG به روش مورد آزمون مثبت (شبکه‌ای کانونی) بود (از این ۱۲ مورد ۹ بیمار پمفیگوس ولگر و ۳ بیمار پمفیگوس فولیاسه داشتند) که این مورد در هیچ کدام از موارد درماتیت مزمن مثبت نبود. حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و منفی به‌ترتیب در مورد کل بیماران پمفیگوس ۳۱/۵٪، ۱۰۰٪، ۱۰۰٪ و ۵۸/۵٪ بود. با احتساب فقط بیماران پمفیگوس ولگر به همان ترتیب ۳۳/۳٪، ۱۰۰٪، ۱۰۰ و ۶۴/۲۸٪ و درصورت درنظرگرفتن فقط بیماران پمفیگوس فولیاسه، ۳۳/۳۳٪، ۱۰۰٪، ۱۰۰٪ و ۷۱/۸۵٪ بود. در ۲ بیمار از ۱۳ بیمار بولوس پمفیگوئید IgG به روش مورد آزمون مثبت بود (شامل الگوی خطی ممتد در درمواپیدرمال جانکشن) که در چهار مورد از موارد درماتیت مزمن نیز مثبت بود که حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی آن به‌ترتیب ۳۸/۱۵٪، ۴۴/۹۳٪، ۳۳/۳۳٪ و ۸۲/۸۳٪ بود.

در ۵۰ مورد از کل بیماران C3 در روش استاندارد طلایی مثبت بود. شدت رنگ‌پذیری با C3 در این روش متوسط (+۲) و شدید (+۳) بود.

در ۴۵ مورد C3 به روش مورد آزمون نیز مثبت بود که فراوانی آن به شرح جدول ۶ بود. در مورد شدت رنگ‌پذیری با روش مورد آزمون با آنتی‌بادیC3 کاهش داشت و خفیف (+۱) و متوسط (+۲) بود.

در ۱۵ مورد از ۳۸ مورد پمفیگوس C3 به روش مورد آزمون مثبت (شبکه‌ای کانونی) بود (از این ۱۷ مورد ۱۲ بیمار پمفیگوس ولگر و ۳ بیمار پمفیگوس فولیاسه داشتند) که این در هیچ موردی از موارد درماتیت مزمن مثبت نبود. حساسیت و ویژگی، ارزش اخباری مثبت و منفی به‌ترتیب در مورد کل بیماران پمفیگوس ۳۹/۴۷٪، ۱۰۰٪، ۱۰۰٪ و ۶۱/۴٪ بود. با احتساب فقط بیماران پمفیگوس ولگر به همان ترتیب ۳۷/۴۱٪، ۱۰۰٪، ۱۰۰٪ و ۶۷/۹۲٪ و درصورت درنظرگرفتن فقط بیماران پمفیگوس فولیاسه ۳۳/۳۳٪، ۱۰۰٪، ۱۰۰٪ و ۷۱/۸۵٪ بود.

جدول ۵: فراوانی روش استاندارد طلایی با آنتی‌بادی C3 در افراد موردمطالعه به تفکیک نوع بیماری.

	پمفیگوس ولگاریس	پمفیگوس فولیاسه	بولوس پمفیگوئید	درماتیت مزمن
C3 خطی ممتد (++)	۰	۰	۴۶/۲	۰
C3 خطی ممتد (+++)	۰	۰	۵۳/۸	۰
C3 شبکه‌ای ممتد (+++)	۷۹/۳۱	۱۰۰	۰	۰
C3 شبکه‌ای ممتد (++)	۱۷/۲	۰	۰	۰
C3 negative	۳/۴	۰	۰	۹۵/۷

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-15]

[DOR: 20.1001.1.20087470.1401.13.1.6.4]

جدول ۶: فراوانی روش مورد آزمون با آنتی‌بادی C3 در افراد مورد مطالعه به تفکیک نوع بیماری.

	پمفیگوس ولگاریس	پمفیگوس فولیاسه	بولوس پمفیگوئید	درماتیت مزمن
C3 خطی ممتد (+)	۰	۰	۷/۷	۸/۷
C3 خطی ممتد (++)	۰	۰	۷/۷	۸/۷
C3 خطی کانونی (+)	۲۰/۷	۲۲/۲	۳۸/۵	۲۱/۷
C3 خطی کانونی (++)	۱۰/۳	۲۲/۲	۰	۰
C3 شبکه‌ای کانونی (+)	۱۰/۳	۱۱/۱	۰	۰
C3 شبکه‌ای کانونی (++)	۱۰/۳	۲۲/۲	۰	۰
C3 خطی فوکال (+)، شبکه‌ای کانونی (+)	۱۰/۳	۰	۰	۰
C3 negative	۳۷/۸	۲۲/۲	۴۶/۲	۶۰/۹

بحث

در مطالعه حاضر، در بین موارد جدید ایمنوبولوس در یک بازه زمانی شش ماهه ازنظر نوع تشخیص، ارجحیت نسبی با گروه پمفیگوس‌ها و نوع ولگر بود.

در مطالعه پرفسور شمس که در همین مرکز (بیمارستان رازی) به‌عنوان بزرگترین مرکز ثبت، درمان و تحقیقات بیماری‌های ایمنوبولوس در ایران و طی یک بررسی ده ساله روی شیوع پمفیگوس انجام شده، با بررسی ۱۴۰۲ مورد، ۸۱٪ بیماران تشخیص پمفیگوس ولگر، ۱۱/۶٪ تشخیص بولوس پمفیگوئید و ۴/۴٪ تشخیص پمفیگوس فولیاسه داشتند[۱۳].

با وجود اینکه مطالعه ما در یک مقطع شش ماهه و با تعداد بیمار کمتر انجام شد و با درنظرگرفتن اینکه به هر حال موارد جدیدی که رضایت به انجام بیوپسی نداشتند وارد طرح نشدند، ولی نتایج آن با این مطالعه هماهنگ است.

در مطالعه دیگر که توسط پرفسور شمس و همکاران در همین مرکز و طی یک بررسی نوزده ساله روی ۱۲۰۹ مورد پمفیگوس انجام شده، ارجحیت پمفیگوس ولگر نسبت به پمفیگوس فولیاسه مشاهده شده است. ۹۱/۹٪ بیماران پمفیگوس ولگاریس و هفت درصد بیماران پمفیگوس فولیاسه داشتند[۱۴]. نتایج مطالعه ما با این مطالعه نیز از نظر ارجحیت بیماری پمفیگوس در بین بیماران ایمنوبولوس هماهنگ است.

در مطالعه دیگر در بیمارستان رازی که شامل ۱۴۰۲ بیمار و مورد جدید از بیماری‌های تاولی خودایمن بود، پمفیگوس ولگاریس با درصد فراوانی ۸۱/۲٪ بولوس پمفیگوئید با درصد فراوانی ۱۱/۶٪ و پمفیگوس فولیاسه با درصد فراوانی ۴/۴٪ ذکر شده‌اند که دقیقاً ازنظر درصد فراوانی به تفکیک نوع بیماری با مطالعه ما مشابه است[۱۵].

در مطالعه موتاسیم که یک مطالعه مروری است بولوس پمفیگوئید شایع‌ترین ایمنوبولوس در جوامع غربی و شیوع پمفیگوس ولگاریس در مدیترانه و یهودیان اشکنازی بیشتر است[۱۶]. مطالعه ما نیز شیوع بیشتر پمفیگوس ولگاریس را نشان داد.

در مطالعه ما اکثر بیماران پمفیگوس (شامل پمفیگوس ولگر و پمفیگوس فولیاسه) در گروه سنی ۴۹-۴۰ قرار داشتند که تقریباً نزدیک به سن متوسط شروع بیماری پمفیگوس در سه مطالعه فوق است که از ۴۲/۱۲ سال[۱۳و۱۴] تا ۴۲/۲ سال[۱۵] ذکر شده است و یافته‌های آن‌ها را تأیید می‌کند، گرچه هیچ‌کدام از این دو مطالعه اول صرفاً در موارد جدید پمفیگوس نبوده‌اند. در مطالعه مروری موتاسیم و همکاران شیوع پمفیگوس ولگاریس و فولیاسه در یک دهه بیشتر و در ۶۰-۵۰ سال ذکر شده است[۱۶] که با مطالعه ما متفاوت است. این مسأله می‌تواند ناشی از تفاوت‌های نژادی باشد.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-15]

[DOR: 20.1001.1.20087470.1401.13.1.6.4]

در مطالعه دکتر اسماعیلی و همکاران که روی ۱۴۰ مورد جدید پمفیگوس ولگاریس انجام شده است، سن بیماران زن در هنگام شروع بیماری ۴۲/۷±۴۱/۳ و سن بیماران مرد در هنگام شروع بیماری ۱۷/۷±۳۹/۷ قید شده است[۱۷] و ازآنجایی‌که در مطالعه ما سن بیماران در هنگام شروع بیماری به تفکیک جنس بررسی نشده است، می‌توان گفت که تقریباً مشابه با مطالعه ما می‌باشد.

در مورد متغیر سن در بیماران بولوس پمفیگوئید در مطالعه ما گروه ۸۹-۸۰ سال در اکثریت بود و از مطالعه دکتر اسماعیلی و همکاران در همین مرکز که شامل ۱۲۲ مورد می‌باشد، حدود دو دهه بیشتر است. در این مطالعه در مورد بیماران بولوس پمفیگوئید سن شروع ۶۵/۱۸± قید شده است[۱۸] و هم‌چنین نسبت به مطالعه دکتر دانش‌پژوه و همکاران باز در همین مرکز که ۵۹/۴ سال ذکر شده نیز بیشتر است[۱۵] که به‌نظر می‌رسد این تفاوت احتمالا ناشی از تعداد موارد پایین بولوس پمفیگوئید در مطالعه ما باشد که نتوانسته به‌خوبی نشان‌گر جامعه بزرگتر بیماران بولوس پمفیگوئید ازنظر سنی باشد. در مطالعه مروری موتاسیم بدون قید سن مشخص شیوع بولوس پمفیگوئید در بیماران مسن بیشتر است[۱۶] و با مطالعه ما ازلحاظ سن مشابه است.

در مطالعه پرفسور شمس در مورد ارجحیت جنسی در بیماران پمفیگوس ۱/۴۴:۱ با ارجحیت زنان[۱۳] و در مطالعه پرفسور شمس و همکاران نیز ارجحیت زنان ۱/۵:۱ گزارش شده است[۱۴]. در مطالعه دکتر دانش‌پژوه و همکاران ارجحیت زنان با نسبت ۳۹/۱:۱ در پمفیگوس ولگاریس، ۳۴/۱:۱ در بولوس پمفیگوئید و ۳۶/۱:۱ در پمفیگوس فولیاسه مشاهده شد[۱۵].

در مطالعه دکتر اسماعیلی و همکاران، ارجحیت سنی در ۱۴۰ مورد جدید پمفیگوس ولگاریس ۵۹/۱:۱ در زنان گزارش شده است[۱۷]. در مطالعه دکتر اسماعیلی و همکاران در بیماران بولوس پمفیگوئید ارجحیت زنان (۶۴/۸٪ در مقابل ۳۵/۲٪) مشاهده شده است[۱۸]. مطالعه ما در گروه پمفیگوس‌ها ارجحیت جنسی متفاوت با چهار مطالعه فوق[۱۳و۱۴و۱۵و۱۷] و ارجحیت جنسی مشابه در مورد بولوس پمفیگوئیدها با مطالعه ما [۱۸] داشت. این مسأله می‌تواند ناشی از تعداد کمتر بیماران در مطالعه ما یا این مسأله باشد که با توجه به اینکه در گروه پمفیگوس زنان ازنظر سنی جوان‌تر هستند، به‌دلیل cosmetic concern ناشی از عواقب بیوپسی کمتر در طرح شرکت کرده‌اند. در مطالعه موتاسیم و همکاران ارجحیت سنی نه برای پمفیگوس ولگاریس و نه برای پمفیگوس فولیاسه قید نشده است. در مورد متغیر سن در بیماران بولوس پمفیگوئید نیز اشاره‌ای نداشته است[۱۶].

درصورت انجام روش ایمنوفلورسانس مستقیم برروی نمونه‌های آغشته به نرمال‌سالین یعنی روش استاندارد طلایی، در مورد بیماران پمفیگوس ولگاریس و فولیاسه رسوب آنتی‌بادی اینتراپیدرمال و اینترسلولار یا همان شبکه‌ای با استفاده از رنگ‌آمیزی با آنتی‌بادی IgG مشاهده می‌شود[۵و۸و۱۲و۱۸]. رسوب IgG در ۹۵٪ موارد اولیه و ۱۰۰٪ بیماران با بیماری فعال دیده می‌شود[۸]. این الگو در پمفیگوس ولگاریس و پمفیگوس فولیاسه با استفاده از IgG در ۱۰۰٪ موارد بیماری فعال و در ۹۷٪ موارد early cases و افراد با ضایعات کم مثبت خواهد شد. رسوب C3 لزوماً در ایمنوفلورسانس مستقیم بیماران پمفیگوس دیده نمی‌شود که این مسأله احتمالاً ناشی از ارجحیت آنتی‌بادی IgG ۴ در پمفیگوس است که کمپلمان را فیکس نمی‌کند[۵].

در مطالعه موتاسیم تنها از الگوی اینتراسلولار شبکه‌ای با آنتی‌بادی IgG نام برده شده است[۱۶]. در مطالعه دکتر اسماعیلی و همکاران رسوب اینتراسلولار IgG و IgM در ۱۴۰ مورد از بیماران پمفیگوس ولگاریس تازه ثبت‌شده به‌عنوان موارد جدید نشان داده است؛ اما راجع به درصد آن در این مطالعه اشاره‌ای نشده است[۱۷].

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-15]

[DOR: 20.1001.1.20087470.1401.13.1.6.4]

در این پنج منبع راجع به رسوب C3 صحبتی نشده است که مطالعه ما ازلحاظ رسوب IgG با این پنج منبع مشابه ولی ازنظر رسوب C3 متفاوت بوده است. شاید به این دلیل که در این مطالعات و منابع به‌دلیل حساسیت بیشتر IgG تنها از آن استفاده شده است، ازلحاظ رسوب IgG و الگوی آن مطالعه ما با این منابع مشابه ولی ازلحاظ نوع آنتی‌بادی متفاوت بوده است.

در مطالعه بوچ و همکاران در ۵۸ بیمار پمفیگوس ولگاریس الگوی شبکه‌ای Intercellular Spaces (ICS) در ۵۱ بیمار و در هفت بیمار توام با رسوب C3 بود. اما در مورد روش موردآزمون (نمونه‌های آغشته به فرمالین) در بیماران پمفیگوس با استفاده از آنتی‌بادی IgG و C3، الگوی شبکه‌ای فوکال و خطی فوکال دیده شد.

در بیماران درماتیت مزمن که به‌عنوان کنترل سالم وارد مطالعه شدند، در همه بیماران نتایج منفی با استفاده از آنتی‌بادی IgG در روش مورد آزمون مشاهده شد و نهایتاً، حساسیت و ویژگی، ارزش اخباری مثبت و منفی به‌ترتیب در مورد کل بیماران پمفیگوس ۳۴/۲۱٪، ۱۰۰٪، ۱۰۰٪ و ۹۱/۴۷٪ بود.

مطالعات ایمونوفلورسانس مستقیم با استفاده از مدیاهای مختلف انجام شده است. در مورد مدیای فرمالین که هدف این مطالعه قرار دارد تعداد مطالعات محدود و ضدونقیض است. به‌علاوه در اکثر موارد در قسمت روش اجرا جزئیات قید نشده است. در مطالعه مروری پاتل گرچه به تفضیل راجع به الگوی ایمونوفلورسانس مستقیم بحث نشده؛ ولی در یک مورد به همراهی یافته‌های DIF نرمال‌سالین با فرمالین اشاره شده است[۱۹].

در مطالعه مرآ و همکاران که اثر مدیای فرمالین ده درصد را با نیتروژن مایع در شش بیمار پمفیگوس ولگاریس، شش بیمار بولوس پمفیگوئید و شش بیمار لوپوس در مقایسه با شش بیمار با تشخیص‌های غیرمرتبط را بررسی کرده است، راجع به تکنیک انجام آن و مدت زمانی که نمونه‌ها در فرمالین بودند در مقاله چیزی ذکر نشده است؛ فقط گفته شده که نمونه‌ها بعد از بیرون آوردن از فرمالین ۴۰ دقیقه تریپسینیزه شده‌اند. در پمفیگوس‌ها الگوی مشابه با نیتروژن مایع با استفاده از فرمالین ذکر شده است، البته با استفاده از رنگ‌آمیزی IgG. در مورد C3، IgA، IgM و فیبرینوژن نتایج منفی شده است.

در بولوس پمفیگوئید فلورسانس مشابه با نیتروژن مایع با IgG و C3 به‌دست آمد و تنها یک بیمار برای IgG و فیبرینوژن مثبت شد، در لوپوس هم الگو مشابه با نیتروژن مایع بود و IgG وIgM بیش از بقیه ثبت شده است[۲۰]. ازنظر الگو به‌نظر می‌رسد نتایج این مطالعه در بیماران پمفیگوس شبیه بیماران ما باشد، گرچه قید نشده است ولی می‌توان این چنین استنباط کرد. چون الگوی مشابه با انجام روش روی نمونه نیتروژن مایع مشاهده شده است و به‌صورت شبکه‌ای و اینترسلولار دراپیدرم بوده است. البته در مورد نوع آنتی‌بادی با مطالعه ما متفاوت بوده و تنها نتایج IgG مثبت شده است که می‌توان تصور کرد که این مسأله ناشی از تعداد اندک بیماران در این مطالعه باشد یا با توجه به اینکه مطالعه فوق مربوط به سی سال پیش است، ناشی از بهبود کیفیت کیت‌های تشخیصی C3 نسبت به گذشته باشد.

در مورد بیماران بولوس پمفیگوئید باز مطالعه راجع به الگو صحبتی نکرده است؛ ولی چون مشابهت به موارد ایمنوفلورسانس مستقیم در مدیای نیتروژن مایع داشته است، پس از این لحاظ با مطالعه ما متفاوت است. چون نتایج مثبت در مورد بیماران بولوس پمفیگوئید در مطالعه ما کم بوده است. ازلحاظ نوع آنتی‌بادی نیز بیماران بولوس پمفیگوئید هم برای C3 هم IgG مثبت شده‌اند که در مطالعه ما متفاوت و نتایج با C3 اندکی بهتر بود. این مسأله در مورد بیماران پمفیگوس ولگاریس هم در مطالعه ما دیده شد و با توجه به اینکه در روش ایمنوفلورسانس نیز همه موارد پمفیگوس رسوب C3 مثبت داشتند، حداقل در

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-15]

[DOR: 20.1001.1.20087470.1401.13.1.6.4]

مورد بیماران پمفیگوس می‌توان گفت با توجه به اینکه در این مطالعه قید نشده است که بیماران شامل موارد جدید یا تحت درمان بوده‌اند یا خیر، شاید ناشی از تفاوت در کیت تشخیصی استفاده‌شده و بهبود حساسیت روش‌های تشخیصی رسوب C3 با گذشت زمان یا ناشی از تیتر متفاوت آنتی‌بادی‌ها در اثر درمان باشد.

هم‌چنین ازنظر حساسیت، ویژگی و ارزش اخباری مثبت و منفی، گرچه اعداد ارائه نشده؛ ولی با توجه به اینکه در هفده بیمار از هجده بیمار تشخیص به‌درستی انجام گرفته و موارد مثبت کاذب آن در گروه کنترل کم بوده است؛ لذا می‌توان تخمین زد که نسبت به مطالعه ما حساس‌تر بوده است؛ ولی ازلحاظ ویژگی تقریباً دو مطالعه یکسانند. هم‌چنین درجه‌بندی مشابهی ازنظر شدت رنگ صورت گرفته و شدت رنگ‌پذیری در نمونه‌های مدیای فرمالین کمتر بوده است که این مسأله مشابه با مطالعه ما می‌باشد[۲۰].

در یک مطالعه دیگر روی مدیای فرمالین مدت زمانی که اگر نمونه‌ها در فرمالین ده درصد قرار بگیرند ایمنورکتیویتی‌شان را حفظ می‌کنند، مورد بررسی قرار گرفته است. این مطالعه شامل دوازده بیمار بولوس پمفیگوئید، شش بیمار پمفیگوس ولگاریس و شش بیمار درماتیت هرپتیفرمیس بوده و به‌علاوه نمونه‌ها بعد از درآوردن از فرمالین در محلول میشل هم قرار داده شدند و با نمونه‌های فروزن تازه مقایسه شدند. گرچه در مطالعه آربسمن رنگ‌پذیری با هر دو آنتی‌بادی یکسان و بعد از ده دقیقه از غوطه‌وری در فرمالین غیراختصاصی شد، در پمفیگوس ولگاریس و درماتیت هرپتی فرم بعد از ده دقیقه با هر دو آنتی‌بادی و دربولوس پمفیگوئید تا نیم‌ساعت با C3 و تا دو ساعت با IgG الگوی مشابه فروزن تازه مشاهده شد[۲۱].

ازلحاظ الگوی مورد مشاهده و کاهش شدت رنگ‌پذیری در مورد پمفیگوس‌ها مشابه با مطالعه ما، شبکه‌ای در اپیدرم و در بولوس پمفیگوئیدها خطی در درمواپیدرمال جانکشن با IgG با / بدون C3 بوده است.

در مورد حساسیت و ویژگی صحبتی نشده است؛ ولی از همراهی با فروزن تازه طی زمان گفته‌شده می‌توان تخمین زد حساسیت بالای متفاوت و ویژگی بالای تقریباً مشابه با مطالعه ما داشته است.

در مطالعه ما یک الگوی جدید به‌صورت خطی در درمواپیدرمال جانکشن ولی فوکال (غیرپیوسته) مشاهده شد که این الگو در بیماران گروه پمفیگوس و درماتیت مزمن نیز دیده شد (مجموعا در ۲۷ بیمار (۴۸/۳۶٪) از کل بیماران دیده شد). در مورد الگوی شبکه‌ای اینتراپیدرمال فوکال در این مطالعه و فقط در مورد بیماران پمفیگوس (شامل ولگر و فولیاسه) مشاهده شد و در بیماران کنترل و در گروه دیگر بیماران یعنی بولوس پمفیگوئید دیده نشد، می‌توان گفت که نوع تغییریافته الگوی قابل انتظار در مورد ایمنوفلورسانس مستقیم در مدیای حاوی فرمالین است و فوکال‌شدن آن ناشی از تأثیر فرمالین می‌تواند باشد و از آنجایی‌که فقط در بیماران پمفیگوس دیده می‌شود، پس به‌نظر می‌رسد طبق این مطالعه، روش فرمالین درخصوص تشخیص بیماری پمفیگوس از بولوس پمفیگوئید، بتواند کمک‌کننده باشد؛ ولی به‌اندازه کافی حساس نیست لذا در کنار تست‌های تشخیصی دیگر می‌تواند برای تشخیص پمفیگوس به کار رود.

در مطالعه ما در مورد بیماران پمفیگوس ویژگی و ارزش اخباری مثبت با استفاده از IgG و C3 یکسان بود؛ ولی حساسیت و ارزش اخباری منفی با C3 کمی بیشتر بود که شاید به‌دلیل مقاومت بیشتر C3 به‌دلیل ساختار مولکولی متفاوت نسبت به IgG باشد و نیز شاید به‌دلیل تعداد کم مواردی که مثبت شده‌اند ناشی از کمی تعداد نمونه باشد. این مسأله هم‌چنین همان‌طور که قبلاً گفته شد، می‌تواند ناشی از تفاوت در تیتر آنتی‌بادی‌های در هنگام مطالعه (تأثیر درمان، تفاوت‌های نژادی یا تفاوت در کیت تشخیصی استفاده‌شده) باشد.

نتیجه در مورد شدت رنگ‌پذیری به‌وضوح در

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-15]

[DOR: 20.1001.1.20087470.1401.13.1.6.4]

مقایسه با روش استاندارد طلایی کاهش یافته بود و هیچ‌کدام از موارد مثبت، چه با آنتی‌بادی IgG چه با آنتی‌بادی C3 و چه در مورد بیماران پمفیگوس و در مورد بیماران بولوس پمفیگوئید رنگ‌پذیری شدید (+۳) مشاهده نشد و همه موارد مثبت خفیف (+۱) یا متوسط (+۲) بودند. این مسأله می‌تواند ناشی از آزار بافتی فرمالین و شسته‌شدن آنتی‌بادی‌ها طی فراوری و نیز ناشی از اثر زمان باشد. از آنجایی‌که در این مطالعه تمامی نمونه‌های هفته بعد از تماس با فرمالین رنگ‌آمیزی می‌شدند، شاید استفاده از نمونه‌های تازه‌تر با ایمنوراکتیوتی بیشتر و رنگ‌پذیری بیشتر توأم باشد.

با توجه به اینکه مشاهده رسوب خطی IgG در درمواپیدرمال جانکشن به نفع بیماری‌های ایمنوبولوس اینتراپیدرمال مثل پمفیگوس پارانئوپلاستیک یا اریتماتو و یا بیماری‌های ایمنوبولوس ساب‌اپیدرمال است[۱۲و۸و۶و۵]؛ لذا DIF روی نمونه‌های فرمالین حداقل در افتراق بیماری‌های ایمنوبولوس با الگوی خطی در درمواپیدرمال جانکشن از موارد سالم موفق نیست که مؤید حساسیت پایین مشاهده‌شده آن، هم با استفاده از IgG و هم C3 است و به‌علاوه ازآنجایی‌که الگوی فوق در بیماران درماتیت مزمن دیده می‌شود؛ لذا به‌اندازه کافی نه با IgG نه C3 ویژه هم نیست.

نتیجه می‌گیریم ایمنوفلورسانس مستقیم درصورت انجام‌شدن روی نمونه بیوپسی پوست یا مخاط قرار داده‌شده در فرمالین ده درصد نسبت به نمونه قرار داده‌شده در نرمال‌سالین با شدت رنگ‌پذیری کمتر توأمند (خفیف تا متوسط در روش فرمالین در مقابل متوسط تا شدید در روش نرمال‌سالین).

در مورد ارزش تشخیصی ایمنوفلورسانس مستقیم روی نمونه‌های بیوپسی پوست و مخاط قرار داده‌شده در فرمالین ده درصد در بیماران پمفیگوس ولگاریس، حساسیت و ارزش اخباری منفی هم با آنتی‌بادی C3 هم با آنتی‌بادی IgG کمتر از انجام این روش روی نمونه‌های بیوپسی پوست و مخاط قرار داده‌شده در نرمال‌سالین است؛ ولی در مورد ارزش اخباری مثبت و ویژگی با روش استاندارد طلایی برابری می‌کند و می‌تواند در مواردی که نمونه تازه به هر دلیل در دسترس نیست در تشخیص بیماری پمفیگوس کمک‌کننده باشد.

در مورد ارزش تشخیصی ایمنوفلورسانس مستقیم روی نمونه‌های بیوپسی پوست و مخاط قرار داده شده در فرمالین ده درصد در بیماران بولوس پمفیگوئید حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی هم با آنتی‌بادی C3 هم با آنتی‌بادی IgG کمتر از انجام این روش روی نمونه‌های بیوپسی پوست و مخاط قرار داده‌شده در نرمال‌سالین است.

پس در بیماران بولوس پمفیگوئید انجام روش ایمنوفلورسانس مستقیم روی نمونه‌های بیوپسی پوست و مخاط آغشته به فرمالین با مثبت واقعی کم و مثبت کاذب زیاد همراه است (در مورد IgG نتایج اندکی بهتر از C3 است)؛ لذا در مقایسه با استاندارد طلایی و به تفکیک هر دو آنتی‌بادی حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی کمتری دارد و نمی‌تواند به‌عنوان جایگزین خوبی برای روش استاندارد طلایی باشد.

References

1. Arundhathi S, Ragunatha S, Mahadeva KC. A cross-sectional study of clinical, histopathological and direct immunofluorescence spectrum of vesiculobullous disorders. J Clin Diagn Res 2013; 7: 2788.
2. Russo I, Saponeri A, Peserico A, et al. The use of biochip immunofluorescence microscopy for the diagnosis of Pemphigus vulgaris. Acta Histochem 2014;11: 713-16.
3. Baum S, Sakka N, Artsi O, et al. Diagnosis and classification of autoimmune blistering diseases Autoimmun Rev 2014 ;13: 482-89.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-15]

[DOR: 20.1001.1.20087470.1401.13.1.6.4]

4. Messenger AG, De Berker DA, Sinclair RD. Rook's Textbook of Dermatology. Blackwell Publishing Ltd 2010; 20.

5. Bolognia JL, Jorizzo JL, Schaffer JV. Dermatology E-book. Elsevier Health Sciences; 2012.

6. Weisshaar E, Fleischer Jr AB, Bernhard JD, et al. Pruritus and dysesthesia. Dermatology E-Book 2012:109.

7. Mohan KH, Pai S, Rao R, et al. Techniques of immunofluorescence and their significance. Indian J Dermatol Venereol Leprol 2008;74: 415-19.

8. Weedon D, Strutton G, Rubin AI, et al. The vesiculobullous reaction pattern; 3rd ed. Weedn Skin Pathol 2010; 3: 124-68.

9. Lebe B, GülNıflıoğlu G, Seyrek S, et al. Evaluation of clinical and histopathologic/direct immunofluorescence diagnosis in autoimmune vesiculobullous dermatitis: Utility of direct immunofluorescence. Turk Patoloji Derg 2012; 28: 11-6.

10. Arbache ST, Nogueira TG, Delgado L, et al. Immunofluorescence testing in the diagnosis of autoimmune blistering diseases: Overview of 10-year experience. An Bras Dermatol 2014;89: 885-89.

11. Aoki V, Sousa Jr JX, Fukumori LM, et al. Direct and indirect immunofluorescence. An Bras Dermatol 2010;85: 490-500.

12. Wu H. Non-infectious vesiculobullous and vesiculopustular diseases. Lever's Histopathology of the Skin 2009: 235.

13. Chams-Davatchi C. Prevalence and treatment of pemphigus in Iran. Dermatol Clin 2011; 29: 681-83.

14. Chams-Davatchi C, Valikhani M, Daneshpazhooh M, et al. Pemphigus: Analysis of 1209 cases. Int J Dermatol 2005; 44: 470-76.

15. Daneshpazhooh M, Chams-Davatchi C, Payandemehr P, et al. Spectrum of autoimmune bullous diseases in Iran: A 10 year review. Int J Dermatol 2012; 51: 35-41.

16. Mutasim DF, Bilic M, Hawayek LH, et al. Immunobullous diseases. J AM Acad Dermatol 2005; 52: 1029-43.

17. Esmaili N, Chams-Davatchi C, Valikhani M, et al. Pemphigus vulgaris in Iran: A clinical study of 140 cases. Int J Dermatol 2007;46: 1166-170.

18. Esmaili N, Hallaji Z, Soori T, et al. Bullous pemphigoid in Iranian patients: A descriptive study on 122 cases. Acta Med Iran 2012: 335-38.

19. Patel AN, Simpson RC, Cohen SN. In a patient with an immunobullous disorder, is transportation of the skin biopsy in normal saline adequate for direct immunofluorescence analysis? A critically appraised topic. Br J Dermatol 2013; 169: 6-10.

20. Mera SL, Young EW, Bradfield JW. Direct immunofluorescence of skin using formalin-fixed paraffin-embedded sections. J Clin Pathol 1980;33: 365-69.

21. Arbesman J, Grover R, Helm TN, et al. Can direct immunofluorescence testing still be accurate if performed on biopsy specimens after brief inadvertent immersion in formalin? J AM Acad Dermatol 2011; 65: 106-11.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-15]

[DOR: 20.1001.1.20087470.1401.13.1.6.4]

Diagnostic value of direct immunofluorescence of mucosal and skin biopsy specimens on formalin-fixed paraffin-embedded biopsy specimens compared to specimens placed in normal saline as the gold standard method in the diagnosis of a group of autoimmune blistering diseases

Elahe Nazari, MD
Kambiz Kamyab Hesari, MD
Sahar Montazeri, MD
Nazanin Mansourzadeh, MD
Vida Feizi, MD
Hossein Mortazavi, MD
Alireza Ghanadan, MD
Nafiseh Esmaeli, MD

Department of Pathology, Razi Hospital, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: May 18, 2022
Accepted: Jun 09, 2022
Pages: 40-52

Corresponding Author:
Kambiz Kamyab Hesari, MD

Vahdat-e-Eslami Sq., Hafez Ave, Razi Hospital, Tehran, Iran
Email: drkamyabhesari@yahoo.com

Conflict of interest: None to declare

Background and Aim: Direct immunofluorescence (DIF) is represented as a gold standard method in diagnosis of autoimmune blistering dermatoses. Normal saline, liquid nitrogen and michel' solution are a widely accepted media for preserving biopsy samples of skin or mucosa before DIF examination. Occasionally clinicians put the biopsy specimen taken for DIF in formalin 10%, occasionally clinicians ordered DIF retrogradely and only a paraffin-embedded biopsy specimen exposed to formalin 10% is available. To determine the diagnostic value of DIF when it was performed on biopsy samples of skin or mucosa exposed to formalin 10% in comparison to the same biopsy samples exposed to normal saline.

Methods: In 74 patients (38 immunobullous and 23 chronic dermatitis), which the latter served as the normal controls, 2 perilesional punch biopsy of skin or mucosa were done, one put in formalin 10% and fixed in paraffin and one put in normal saline, and DIF was done on both samples.

Results: DIF sensitivity and specificity was with IgG 31.5% and 100% in pemphigus and 15.36% and 93.44% in BP, with C3 39.47% and 100% in pemphigus and 7.69% and 91.80% in BP, respectively.

Conclusion: DIF on specimens exposed to formalin 10% in comparison to specimens exposed to normal saline is less sensitive but approximately as specific as it is in the diagnosis of pemphigus and BP patients and especially can be useful in pemphigus patients when only a formalin exposed samples is available.

Keywords: biopsy, immunofluorescence, autoimmune blistering dermatoses

Copyright © 2022 Published by Tehran University of Medical Sciences.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-15]

[DOR: 20.1001.1.20087470.1401.13.1.6.4]