

VII. STRESZCZENIE

Pęcherzyca jest śródskórkową dermatozą pęcherzową o podłożu autoimmunologicznym, cechującą się występowaniem autoprzeciwciał skierowanych przeciw antygenom desmosomalnym, warunkującym przyleganie komórek warstwy kolczystej naskórka. Jest to ciężka, potencjalnie zagrażająca życiu choroba skóry. Wymaga długotrwałego, czasem nawet kilkuletniego przyjmowania preparatów glikokortykosteroidowych (GKS) w skojarzeniu z lekami immunosupresyjnymi do uzyskania pełnej remisji klinicznej i negatywizacji zjawisk immunologicznych.

Do lat pięćdziesiątych XX wieku śmiertelność wśród pacjentów chorujących na pęcherzycę była bardzo wysoka i wynosiła około 75%. Wprowadzenie do leczenia kortykosteroidów pozwoliło w znaczącym stopniu kontrolować aktywność tego schorzenia. W chwili obecnej śmiertelność w pęcherzycy zmniejszyła się do 5-10% i w większości przypadków nie jest związana z aktywnością procesu chorobowego, ale z powikłaniami stosowanego leczenia. Wystąpienie wtórnej osteoporozy, choroby zakrzepowo-zatorowej, cukrzycy czy też miażdżycy i następstw z nią związanych powoduje niejednokrotnie dolegliwości bólowe, upośledza sprawność fizyczną, psychiczną, ale również ogranicza, a czasem nawet uniemożliwia wykonywanie pracy zawodowej. Obserwowane zjawisko stanowi nie tylko problem leczniczy i rehabilitacyjny, ale w konsekwencji też społeczny i ekonomiczny. Dostępne piśmiennictwo nie podaje jednak, na ile problemy te dostrzegalne są w praktyce dermatologa oraz jaki odsetek chorych na pęcherzycę jest właściwie monitorowanych i otrzymuje odpowiednie leczenie profilaktyczne. Stąd też celem podjętych badań w grupie chorych na pęcherzycę leczonych przewlekłe glikokortykosteroidami było:

VII. STRESZCZENIE

Pęcherzyca jest śródskórkową dermatozą pęcherzową o podłożu autoimmunologicznym, cechującą się występowaniem autoprzeciwciał skierowanych przeciw antygenom desmosomalnym, warunkującym przyleganie komórek warstwy kolczystej naskórka. Jest to ciężka, potencjalnie zagrażająca życiu choroba skóry. Wymaga długotrwałego, czasem nawet kilkuletniego przyjmowania preparatów glikokortykosteroidowych (GKS) w skojarzeniu z lekami immunosupresyjnymi do uzyskania pełnej remisji klinicznej i negatywizacji zjawisk immunologicznych.

Do lat pięćdziesiątych XX wieku śmiertelność wśród pacjentów chorujących na pęcherzycę była bardzo wysoka i wynosiła około 75%. Wprowadzenie do leczenia kortykosteroidów pozwoliło w znaczącym stopniu kontrolować aktywność tego schorzenia. W chwili obecnej śmiertelność w pęcherzycy zmniejszyła się do 5-10% i w większości przypadków nie jest związana z aktywnością procesu chorobowego, ale z powikłaniami stosowanego leczenia. Wystąpienie wtórnej osteoporozy, choroby zakrzepowo-zatorowej, cukrzycy czy też miażdżycy i następstw z nią związanych powoduje niejednokrotnie dolegliwości bólowe, upośledza sprawność fizyczną, psychiczną, ale również ogranicza, a czasem nawet uniemożliwia wykonywanie pracy zawodowej. Obserwowane zjawisko stanowi nie tylko problem leczniczy i rehabilitacyjny, ale w konsekwencji też społeczny i ekonomiczny. Dostępne piśmiennictwo nie podaje jednak, na ile problemy te dostrzegalne są w praktyce dermatologa oraz jaki odsetek chorych na pęcherzycę jest właściwie monitorowanych i otrzymuje odpowiednie leczenie profilaktyczne. Stąd też celem podjętych badań w grupie chorych na pęcherzycę leczonych przewlekłe glikokortykosteroidami było:

1. Określenie stopnia zaburzeń procesu mineralizacji kośćca na podstawie oznaczeń wybranych parametrów: badania densytometrycznego, markerów przebudowy kości (OPG, sRANKL, osteokalcyna) oraz $25(OH)D_3$.
2. Ocena prawdopodobieństwa występowania zaburzeń gospodarki lipidowej i węglowodanowej.
3. Ocena ryzyka rozwoju powikłań zakrzepowo-zatorowych.

Badania przeprowadzono u 53 osób, w tym u 29 chorych na pęcherzycę (17 kobiet, 12 mężczyzn) w wieku od 23 lat do 75 lat (średni wiek 57,4 lat), leczonych w latach 1994 - 2009 w Klinice Dermatologii i Wenerologii Uniwersytetu Medycznego oraz Centrum Diagnostyczno-Leczniczym Chorób Skóry w Łodzi, a także 24 zdrowych wolontariuszy dobranych odpowiednio pod względem płci i wieku.

Rozpoznanie pęcherzycy ustalono na podstawie obrazu klinicznego, histopatologicznego oraz immunofluorescencyjnego bezpośredniego i pośredniego. Metodą terapii z wyboru były kortykosteroidy w dawce początkowej od 100-80 mg/dobę stopniowo obniżane na przestrzeni wielu lat w skojarzeniu z cyklofosfamidem (50-100 mg/dobę). Czas trwania leczenia u wszystkich badanych wynosił od 3 miesięcy do 13 lat (średnio 5,5 lat).

Projekt pracy został zaakceptowany przez Komisję Bioetyki Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (RNN/395/09/KB). Osoby biorące udział w eksperymencie medycznym zostały poinformowane o celu i założeniach pracy. Badania przeprowadzono po uzyskaniu pisemnej zgody pacjentów oraz zdrowych wolontariuszy.

Diagnostykę osteopenii i osteoporozy przeprowadzono, wykonując badanie densytometryczne odcinka L1-L4 kręgosłupa metodą absorpcjometrii rentgenowskiej dwufotonowej. Stężenie badanych parametrów w

surowicy/osoczu tj. liganda receptora aktywującego czynnik jądrowy kappa B, osteoprotegeryny, osteokalcyny, 25-hydroksycholekalcyferolu, D-dimerów oraz czynnika tkankowego oznaczano metodami immunoenzymatycznymi z zastosowaniem gotowych zestawów. Pomiarów stężeń cholesterolu całkowitego i trójglicerydów w surowicy oraz glukozy w osoczu dokonano metodami enzymatycznymi.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej z zastosowaniem testu nieparametrycznego Manna-Whitneya dla zmiennych nie pochodzących z rozkładu normalnego. Poziomy $p < 0,05$ uznawano za znamienne statystycznie.

U chorych na pęcherzycę wartości wskaźnika T-score mieściły się w granicach od -3,3 do -0,4, zaś w grupie kontrolnej od -1,1 do -0,4. Średnie wartości T-score wynosiły odpowiednio -2,0 i -0,7. W grupie badanych chorych średnie wartości T-score były niższe w porównaniu z wynikami u osób w grupie kontrolnej o 1,3 tj. o 65%. Wykazana różnica w rozkładzie tej cechy była znamienna statystycznie ($p < 0,004$). Średnie wartości wskaźnika T-score zarówno u chorych kobiet jak i mężczyzn były istotnie statystycznie niższe niż u osób z grupy kontrolnej zgodnej pod względem płci (odpowiednio $p < 0,002$; $p < 0,05$). W grupie badanej zdiagnozowano osteopenię/osteoporozę u 12 spośród 17 chorych na pęcherzycę, co stanowi 70,59%. W grupie kontrolnej wartości wskaźnika BMD w skali T-score pozostawały w zakresie normy u wszystkich niemal badanych, jedynie u 1 osoby rozpoznano osteopenię.

Wartości stężeń sRANKL w grupie chorych wahały się w granicach od 270,80 do 997,30 pmol/l, zaś w grupie kontrolnej od 213,50 do 572,10 pmol/l. Średnie stężenie tego parametru było znacząco wyższe u osób w grupie chorych (539,05 pmol/l) niż u osób w grupie kontrolnej (394,14 pmol/l) o 26,88%. Wykazana różnica była istotna statystycznie ($p < 0,001$). Średnie wartości stężeń sRANKL, zarówno u chorych kobiet jak i mężczyzn, były istotnie statystycznie

wyższe niż u osób z grupy kontrolnej, zgodnej pod względem płci (odpowiednio $p < 0,002$; $p < 0,02$).

U chorych na pęcherzycę stężenie osteoprotegeryny (OPG) mieściło się w granicach od 12,60 do 40,60 pmol/l, zaś w grupie kontrolnej od 11,50 do 21,60 pmol/l. Średnie wartości stężeń OPG wynosiły odpowiednio 22,30 pmol/l i 18,63 pmol/l. W grupie badanych chorych średnie stężenie osteoprotegeryny było wyższe w porównaniu z wynikami u osób w grupie kontrolnej o 3,67 pmol/l, tj. o 16,46%. Wykazana różnica w rozkładzie tej cechy była znamienna statystycznie ($p < 0,02$). Średnie stężenie OPG u chorych kobiet leczonych glikokortykosteroidami było istotnie statystycznie wyższe niż u zdrowych kobiet w grupie kontrolnej ($p < 0,05$). Nie stwierdzono natomiast podobnych różnic u mężczyzn ($p > 0,05$).

W grupie chorych średnie stężenie markera kościotworzenia - osteokalcyny wynosiło 22,14 ng/ml. Poniżej normy (N dla kobiet: w okresie przedmenopauzalnym 12-41 ng/ml, pomenopauzalnym 20-48 ng/ml; dla mężczyzn 11-43 ng/ml) stwierdzono je u 7 spośród 29 chorych (4 kobiet, 3 mężczyzn). Średnie stężenie tego samego markera w grupie osób zdrowych wynosiło 27,01 ng/ml i u wszystkich osób w tej grupie wartości były w granicach normy. W grupie badanej, w odniesieniu do grupy porównawczej, wykazano statystycznie niższe średnie stężenie osteokalcyny o 18,03% przy poziomie istotności $p < 0,05$. U chorych mężczyzn średnie wartości osteokalcyny były istotnie statystycznie niższe niż u osób w grupie kontrolnej ($p < 0,004$). Nie stwierdzono podobnej zależności u kobiet (chore vs kontrola).

W grupie chorych na pęcherzycę stężenie 25(OH)D₃ było niższe od zalecanego poziomu (tj. 30-80 ng/ml) u 24 (82,8%) osób, w tym u 5 (17,2%) stwierdzono hipowitaminozę, u 9 (31,1 %) niedobór, zaś u 10 (34,5%) deficyt. W tej grupie pacjentów średnie stężenie 25-hydroksycholekalcyferolu wynosiło 17,2 ng/ml i było niższe w porównaniu z wynikami u osób w grupie kontrolnej o

19,0 ng/ml, tj. o 52,5%. Wykazana różnica w rozkładzie tej cechy była
równomierna statystycznie ($p < 0,001$). Średnie stężenie badanego parametru,
porównano u chorych kobiet jak i mężczyzn, było istotnie statystycznie niższe niż
osób z grupy kontrolnej, zgodnej pod względem płci (odpowiednio $p < 0,003$;
 $p < 0,001$).

Wartości stężeń cholesterolu całkowitego w grupie chorych na pęcherzycę
wynosiły od 127 mg/dl do 360 mg/dl, zaś w grupie kontrolnej od 142 mg/dl o
43 mg/dl. Podwyższone stężenie cholesterolu całkowitego (> 200 mg/dl)
obserwowano u 21 spośród 29 pacjentów leczonych przewlekle
kortykosteroidami, tj. u 72,41%. Średnie stężenie tego parametru było wyższe u
osób w grupie chorych (228,07 mg/dl) niż w grupie kontrolnej (181,79 mg/dl) o
20,29% przy poziomie istotności $p < 0,001$. Średnie stężenie badanego parametru,
porównano u chorych kobiet jak i mężczyzn, było istotnie statystycznie wyższe niż
osób z grupy kontrolnej zgodnej pod względem płci (odpowiednio $p < 0,001$,
 $p < 0,02$) (ryc. 25). U chorych kobiet wynosiło bowiem 229,2 mg/dl, zaś u kobiet
w grupie kontrolnej 186,9 mg/dl, odpowiednio u chorych mężczyzn 226,5
mg/dl, a u mężczyzn w grupie kontrolnej 171,6 mg/dl.

W grupie chorych na pęcherzycę stężenie trójglicerydów mieściło się w
granicach od 39 do 257 mg/dl i było podwyższone (> 150 mg/dl) u 12 osób, tj.
41,37%. Średnie wartości stężeń trójglicerydów wynosiły 140,24 mg/dl w
grupie pacjentów leczonych kortykosteroidami i 118,54 mg/dl w grupie
kontrolnej. W grupie chorych średnie stężenie trójglicerydów było wyższe w
porównaniu z wynikami u osób w grupie zdrowych wolontariuszy o 21,7 mg/dl,
tj. o 15,47%. Wykazana różnica w rozkładzie tej cechy nie była, jednakże
istotna statystycznie ($p > 0,05$). Średnie stężenie trójglicerydów u chorych kobiet
wynosiło 138,9 mg/dl, zaś u kobiet w grupie kontrolnej 120,4 mg/dl, u chorych
mężczyzn natomiast 142,2 mg/dl, a w grupie kontrolnej 114,9 mg/dl. Wykazana
różnica badanej cechy nie była jednak istotna statystycznie.

Wartości wskaźnika BMI w grupie chorych wahały się w granicach od 19,5 do 39,7, zaś w grupie kontrolnej od 19,3 do 25,8. Średnia wartość tego parametru była wyższa u osób w grupie chorych (26,0) niż u osób w grupie kontrolnej (22,3) o 14,2%. Wykazana różnica była znamienna statystycznie przy poziomie $p < 0,001$. U 13 osób (44,8%) spośród 29 chorych wykazano nieprawidłową masę ciała, w tym nadwagę u 7 osób (24,1%) oraz otyłość u 6 osób (20,7%). Średnie wartości wskaźnika BMI, zarówno u chorych kobiet jak i mężczyzn były istotnie statystycznie wyższe niż u osób z grupy kontrolnej, zgodnej pod względem płci (odpowiednio $p < 0,02$; $p < 0,008$).

Wartości stężeń glukozy w grupie chorych wahały się w granicach od 77 mg/dl do 157 mg/dl, zaś w grupie kontrolnej od 69 mg/dl do 109 mg/dl. Podwyższone stężenie glukozy w osoczu krwi na czczo (> 99 mg/dl) wykazano u 16 pacjentów leczonych glikokortykosteroidami, co stanowi 55,17%. Średnie stężenie tego parametru było wyższe u pacjentów w grupie chorych (105,41 mg/dl) w porównaniu z wynikami uzyskanymi u osób w grupie kontrolnej (88,79 mg/dl) o 15,77%. Różnica w rozkładzie tej cechy była istotna statystycznie ($p < 0,001$). Średnie stężenie glukozy u chorych kobiet wynosiło 107,5 mg/dl, u chorych mężczyzn zaś 102,4 mg/dl i było wyższe niż u osób z grupy kontrolnej, zgodnej pod względem płci (odpowiednio 88,6 mg/dl, 89,1 mg/dl).

Wartości stężeń D-dimerów w grupie chorych mieściły się w granicach od 0,22 μ g/ml do 0,68 μ g/ml, zaś w grupie kontrolnej od 0,12 μ g/ml do 0,24 μ g/ml. Wśród chorych na pęcherzycę stężenie tego parametru tylko u 2 pacjentów było powyżej normy, tj. $> 0,5$ μ g/ml, u pozostałych chorych oraz w grupie kontrolnej znajdowało się w granicach normy. Średnie stężenie D-dimerów u osób w grupie chorych wynosiło 0,33 μ g/ml i było wyższe niż u osób w grupie kontrolnej (0,18 μ g/ml) o 0,15 μ g/ml, tj. 45,5%. Średnie stężenie D-dimerów u chorych kobiet (0,33 μ g/ml) było istotnie statystycznie wyższe niż u kobiet w

grupie kontrolnej (0,19 $\mu\text{g/ml}$), podobnie jak u mężczyzn (w gr. chorych - 0,32 $\mu\text{g/ml}$, w gr. kontrolnej - 0,18 $\mu\text{g/ml}$).

Wartość czasu protrombinowego, wyrażonego w sekundach, wahała się w grupie chorych w granicach od 10,5 do 13,1, zaś w grupie kontrolnej od 12,1 do 13,9. W grupie chorych skrócenie czasu protrombinowego zaobserwowano u 9 spośród 17 osób, u pozostałych chorych oraz osób w grupie kontrolnej był on w normie. Średnia wartość tego parametru u osób w grupie chorych wynosiła 11,8 sekundy, natomiast u osób w grupie kontrolnej - 14,3 sekundy. Wykazana różnica była istotna statystycznie przy poziomie $p < 0,001$. Średnia wartość tego parametru u chorych kobiet (11,8 s) była istotnie statystycznie niższa niż u kobiet w grupie kontrolnej (14,3 s), podobnie jak u mężczyzn (w gr. chorych - 11,8 s, w gr. kontrolnej - 14,4 s).

W grupie chorych na pęcherzycę nie stwierdzono natomiast znamiennej statystycznie różnicy średnich wartości wskaźnika T-score, sRANKL, OPG, osteokalcyny, 25(OH)D₃, cholesterolu całkowitego, trójglicerydów, wskaźnika BMI, glukozy, D-dimerów oraz czasu protrombinowego w zależności od płci badanych. Analizując grupę chorych w oparciu o czas trwania glikokortykosteroidoterapii, nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie pomiędzy średnim stężeniem badanych parametrów w grupie I (3 m-ce - 2 lata) a w grupie II (3 - 13 lat). Zależność taką wykazano jedynie w odniesieniu do cholesterolu całkowitego, gdzie śr. stężenie w grupie I wynosiło 260,5 mg/dl, a w grupie II 208,2 mg/dl ($p < 0,005$).

Wartości stężeń czynnika tkankowego w grupie chorych wahały się w granicach od 284,23 pg/ml do 1088,40 pg/ml. Średnie stężenie tego parametru w grupie chorych wynosiło 571,56 pg/ml i było wyższe w porównaniu z wynikami uzyskanymi u osób w grupie kontrolnej (517,29 pg/ml) o 54,27 pg/ml, tj. o 9,49%. Wykazana różnica nie była istotna statystycznie ($p > 0,05$).

Uzyskane wyniki pozwoliły na sformułowanie następujących wniosków:

1. Badanie densytometryczne, oznaczenie markerów przebudowy kości, tj. sRANKL, OPG, osteokalcyny oraz $25(\text{OH})\text{D}_3$ są przydatnymi parametrami dla oceny mineralizacji kośćca, a wykazanie zaburzeń tego procesu u chorych na pęcherzycę, leczonych przewlekle kortykosteroidami, wskazuje na konieczność profilaktycznej suplementacji preparatów witaminy D.

2. Podwyższone stężenie cholesterolu całkowitego, trójglicerydów, glukozy oraz wskaźnika BMI w trakcie terapii GKS wskazuje na wysokie prawdopodobieństwo rozwoju miażdżycy i chorób sercowo-naczyniowych, cukrzycy oraz zespołu metabolicznego.

3. Brak wzrostu ekspresji czynnika tkankowego i stężenia D-dimerów u chorych na pęcherzycę sugeruje konieczność przeprowadzenia dalszych badań (z uwzględnieniem innych parametrów laboratoryjnych) dla oceny ryzyka wystąpienia powikłań zakrzepowo-zatorowych.

4. U chorych na pęcherzycę wykonywanie badania densytometrycznego oraz oznaczanie stężenia cholesterolu, trójglicerydów, glukozy oraz parametrów koagulologicznych powinno być standardem przed rozpoczęciem terapii glikokortykosteroidami oraz w czasie jej trwania.

Reasumując, kluczowe wydaje się zwiększenie wśród lekarzy świadomości dotyczącej istnienia realnego zagrożenia, związanego z rozwojem objawów niepożądanych w trakcie glikokortykosteroidoterapii. Tylko wówczas bowiem poprzez wdrożenie odpowiednich działań prewencyjnych, możemy skutecznie zapobiegać zarówno osteoporozie, miażdżycy i chorobom sercowo-naczyniowym, cukrzycy, jak również schorzeniom zakrzepowo-zatorowym.

VIII. ABSTRACT

Pemphigus is an autoimmune blistering intra-epidermal disease, characterized by the presence of autoantibodies directed against desmoglein. It is a severe and potentially life-threatening skin disease, requiring prolonged admission of high-dose corticosteroids in combination with immunosuppressive drugs to achieve remission.

Until the early 1950s the mortality among patients suffering from pemphigus was on average 75%. The introduction of corticosteroids into the treatment allowed for significantly controlling the activity of the disease. This therapy has resulted in a dramatic fall in mortality to an average of 5-10%, but in most cases, the patient has been experiencing the side-effects of the prolonged immunosuppressive treatment. The occurrence of secondary osteoporosis, thromboembolism, diabetes, or atherosclerosis results in pain, impairs physical and mental fitness and can also limit or sometimes prevent professional work. Not only is the observed phenomenon a therapeutic and rehabilitation problem but also a social and economic one. However, the available literature does not state to what extent these problems occur in the dermatologist's practice and what percentage of pemphigus patients is properly monitored and receives appropriate prophylactic treatment. Hence the research into the group of pemphigus patients treated chronically with glucocorticosteroids which has the following aims:

1. Assessing the degree of disturbance in the skeletal mineralization process based on the determination of selected parameters: densitometry, bone remodelling markers (OPG, sRANKL, osteocalcin) and 25(OH)D₃.
2. Assessment of the probability of lipid and carbohydrate metabolism disorders.

3. Assessment of the risk of thromboembolic complications development.

The study was conducted in a group of 53 patients, including 29 patients with pemphigus (17 women and 12 men) aged between 23 years and 75 years (average age of 57.4 years) treated from 1994 until 2009 in the Department of Dermatology and Venereology, the Medical University of Lodz, as well as 24 healthy volunteers matched appropriately in terms of gender and age.

The diagnosis of pemphigus was established on the basis of the clinical picture, and histopathology, as well as direct and indirect immunofluorescence. The therapy of choice was the one with corticosteroids at an initial dose of 100-80 mg per day in combination with cyclophosphamide (50-100 mg/day), gradually lowered through the years. The duration of the corticosteroid therapy in all patients ranged from 3 months to 13 years (an average of 5.5 years).

The project work has been approved by the Commission of the Bioethics at the Medical University of Lodz (RNN/395/09/KB). All persons involved in the medical experiment were informed of the purpose and principles of work. The research was conducted after obtaining written consent from both the patients and the group of healthy volunteers.

The diagnosis of osteopenia and osteoporosis was carried out by densitometric examination of the L1-L4 section of the spine using two-photon X-ray absorptiometry. The concentration of the tested parameters in serum/plasma, i.e. ligand of the nuclear factor activating receptor kappa B, osteoprotegerin, osteocalcin, 25-hydroxycholecalciferol, D-dimers and tissue factor was evaluated immunoenzymatically using a commercially available assay set. The concentration of cholesterol and triglycerides in the serum, and glucose in the plasma were measured by enzymatic methods.

The Mann-Whitney U test was used to compare interval variables between 2 independent groups. In all calculations, a p value of less than 0.05 was regarded as statistically significant.

Among patients with pemphigus, the T-score ranged from -3.3 to -0.4, but in the control group from -1.1 to -0.4. The mean T-scores were -2.0 and -0.7, respectively. The mean T-score among pemphigus patients was found to be 1.3 (65%) lower than among those in the control group. The demonstrated difference was statistically significant ($p < 0.004$). The mean T-score in both women and men of the patient group was significantly lower than those found in their gender-compatible control group ($p < 0.002$ for women; $p < 0.05$ for men). In the group of pemphigus patients osteopenia/osteoporosis was diagnosed in 12 out of 17 cases, which equates to 70.59%. In the control group, the T-score remained within the normal range in almost all examined, only one person was diagnosed with osteopenia.

Concentrations of sRANKL ranged from 270.80 pmol/l to 997.30 pmol/l in pemphigus patients while they ranged from 213.50 pmol/l to 572.10 pmol/l in the control group. The average concentration of this parameter was significantly higher in the corticosteroid-treated group (539.05 pmol/l) than in the control group (394.14 pmol/l). The difference was 26.88%, which was statistically significant ($p < 0.001$). The mean concentrations of sRANKL in both women and men of the patient group were significantly higher than those found in their gender-compatible control group ($p < 0.002$ for women; $p < 0.02$ for men).

Among patients suffering from pemphigus, the mean osteoprotegerin concentration was between 12.60 and 40.60 pmol/l (mean: 22.30 pmol/l), but for those in the control group the values found were between 11.50 and 21.60 pmol/l (mean: 18.63 pmol/l). The mean concentration of this protein was found to be up to 16.46% higher in pemphigus patients compared with those in the control group ($p < 0.02$). The average concentration of OPG in female patients

treated with corticosteroid therapy was significantly higher than the one discovered in the healthy control group ($p < 0.05$). Similar discrepancies were not observed in the male group ($p > 0.05$).

In corticosteroid-treated patients, the mean level of osteocalcin came to 22.14 ng/ml. In comparison to the normal limits (12-41 ng/ml for premenopausal women, 20-48 ng/ml for postmenopausal women and 11-43 ng/ml for men), this protein was found to be below the recommended levels in 7 out of 29 patients: four females and three males. The mean concentration of the same marker in the group of healthy people was 27.01 ng/ml, and the values were within normal limits for all of the people in this group. The patient group demonstrated a significantly lower concentration of osteocalcin down to 18.03% ($p < 0.05$). However, in men with pemphigus average osteocalcin levels were found to be significantly lower than those in the control group ($p < 0.004$). No similar relations have been demonstrated in women (patients vs. controls).

Among the patients suffering from pemphigus the concentration of 25(OH)D3 was lower than the recommended level (30-80 ng/ml) in 24 (82.8%) cases, five patients being diagnosed (17.2%) with hypovitaminosis, nine (31.1%) - with deficiency, and ten (34.5%) - deficit. This patient population demonstrated the mean 25(OH)D3 concentration of 17.2 ng/ml and was 52.5% lower than in the control group. The stated difference in the distribution of this trait was statistically significant ($p < 0.001$). The mean concentrations of this parameter in both women and men of the patient group were significantly lower than those found in their gender-compatible control group ($p < 0.003$ for women; $p < 0.001$ for men).

The concentration of cholesterol in the patient group ranged from 127 mg/dl to 360 mg/dl, however, in the control group the levels were 142 mg/dl and 243 mg/dl respectively. Thus, the increased levels of cholesterol (> 200 mg/dl) were observed in 21 out of 29 patients under prolonged corticosteroids

treatment, i.e. 72.41%. The mean concentration of this parameter was higher in the group of patients (228.07 mg/dl) than in the control group (181.79 mg/dl) by 20.29% with the significance level $p < 0.001$. The mean concentration of cholesterol in both the women and men of the patient group was significantly higher than the one found in their gender-compatible control group ($p < 0.01$ for women; $p < 0.02$ for men). It was 229.2 mg/dl among the women suffering from pemphigus, and 186.9 mg/dl among those from the control group, 226.5 mg/dl among the men in pemphigus group, and 171.6 mg/dl among those from the control group.

In the patient group, the triglyceride concentration ranged from 39 to 257 mg/dl and was elevated (>150 mg/dl) in 12 people (41.37%). The mean triglyceride levels were 140.24 mg/dl in the corticosteroid-treated and 118.54 mg/dl in the control group. In the group of patients, the mean concentration of triglycerides was higher than in the group of healthy volunteers by 21.7 mg/dl (15.47%). The demonstrated difference was not statistically significant ($p > 0.05$). The mean level of this parameter was 138.9 mg/dl in women with pemphigus, and 120.4 mg/dl in the control group, but 142.2 mg/dl in men with pemphigus, and 114.9 mg/dl in men in the control group. However, the demonstrated difference in the examined feature was not statistically significant.

BMI values in the group of patients fluctuated from 19.5 to 39.7, but in the control group from 19.3 to 25.8. The mean level of this parameter was 14.2% higher in the patient group (26.0) than in the control group (22.3). This difference was statistically significant ($p < 0.001$). Among 13 patients (44.8%) out of 29 abnormal body weight was demonstrated - overweight in seven (24.1%) and obesity in six (20.7%). The mean level of BMI in both women and men of the patient group were significantly higher than those found in their gender-compatible control group ($p < 0.02$ for women; $p < 0.008$ for men).

The glucose concentration in the group of patients ranged from 77 mg/dl to 157 mg/dl, whereas in the control group from 69 mg/dl to 109 mg/dl. Elevated level glucose in plasma (>99 mg/dl) was demonstrated in 16 of the corticosteroid-treated patients, which constitutes 55.17%. The mean concentration of this parameter was higher in the patient group (105.41 mg/dl) compared to the results in the control group (88.79 mg/dl) by 15.77%. The difference in the distribution of this feature was statistically significant ($p < 0.001$). The mean concentration of glucose level among pemphigus women was 107.5 mg/dl, contrasting with 102.4 mg/dl among the men in the same group, considerably higher than the levels found in their gender-compatible control group (88.6 mg/dl women; 89.1 mg/dl men).

Among the patients suffering from pemphigus, the D-dimer concentration was between 0.22 $\mu\text{g/ml}$ and 0.68 $\mu\text{g/ml}$, but in controls, the value was found to be between 0.12 $\mu\text{g/ml}$ and 0.24 $\mu\text{g/ml}$. The concentration of this parameter was elevated ($>0.5\mu\text{g/ml}$) only in two patients with pemphigus, whereas among the rest of the studied groups' members, the parameter remained normal. The mean concentration of D-dimers in the group of patients demonstrated the value of 0.33 $\mu\text{g/ml}$ and was 0.15 $\mu\text{g/ml}$, i.e. 45.5%. higher than in the control group (0.18 $\mu\text{g/ml}$). The mean level of D-dimers in pemphigus women (0.33 $\mu\text{g/ml}$) was statistically significantly higher than in women from the control group (0.19 $\mu\text{g/ml}$), and similarly among men, (in the patient group - 0.32 $\mu\text{g/ml}$ in the control group - 0.18 $\mu\text{g/ml}$)

The value of prothrombin time, expressed in seconds, ranged from 10.5 to 13.1 in the group of patients, and from 12.1 to 15.9 in the control group. In the pemphigus patients, the reduction of prothrombin time was observed in 9 out of 17 tested, in the remaining patients and in the control group it was normal. The mean value of this parameter in the patient group was 11.8 seconds, while in the control group - it was 14.3 seconds. The demonstrated difference was

statistically significant ($p < 0.001$). The mean level of prothrombin time in pemphigus women (11.8 s) was statistically significantly lower than in women in the control group (14.3 s), the same occurred among men (in the group of patients - 11.8 s, in the control group - 14.4 s).

As far as the pemphigus patients group was concerned there were no statistically significant differences depending on gender in the mean values of the T-score, sRANKL, OPG, osteocalcin, 25(OH)D3, cholesterol, triglycerides, BMI, glucose, D-dimers, and prothrombin time. Analysing the group of patients on the basis of the duration of glucocorticosteroid therapy, statistically significant differences were not found between the mean concentration of the parameters in group I (3 months - 2 years) and group II (3 - 13 years). Such a relationship was demonstrated only for cholesterol, where on average the concentration in group I was 260.5 mg/dl, and in group II - 208.2 mg/dl ($p < 0.005$).

Tissue factor concentrations in the group of patients ranged from 284.23 pg/ml to 1088.40 pg/ml. The mean concentration of this parameter among pemphigus patients was 571.56 pg/ml and was higher than in the control group (517.29 pg/ml) by 54.27 pg/ml (9.49%). The demonstrated difference was not statistically significant ($p > 0,05$).

The obtained results allowed to formulate the following conclusions:

I. Densitometry, determination of bone remodelling markers - sRANKL, OPG, osteocalcin and 25(OH)D3 are useful parameters for the evaluation of skeletal mineralization, and demonstrating disorders of this process in the corticosteroid-treated patients with pemphigus indicate the need for prophylactic supplementation of vitamin D.

2. The increased values of cholesterol, triglycerides, glucose, and BMI during corticosteroid therapy indicate a high probability of developing atherosclerosis and cardiovascular diseases, diabetes, and metabolic syndrome.

3. The lack of the increase in tissue factor expression and concentration of D-dimers among pemphigus patients suggests the need for further studies (considering other laboratory parameters) to assess the risk of thromboembolic complications.

4. Among pemphigus patients densitometry and determination of cholesterol, triglycerides, glucose concentrations and coagulological parameters values testing should be standard before and during corticosteroid therapy.

In conclusion, it is important to increase awareness among physicians about the real risk associated with the development of side effects during glucocorticoid therapy. Only then, through the implementation of the appropriate preventive measures, can we effectively prevent diabetes, osteoporosis, atherosclerosis, and cardiovascular diseases as well as thromboembolic disorders.