

SENSIBILITATEA ASPECTELOR CLINICE,
HISTOPATOLOGICE ȘI IMUNOLOGICE
ÎN DIAGNOSTICUL DERMATOZELOR BULOASE
AUTOIMUNE

THE SENSITIVITY OF CLINICAL, HISTOLOGIC
AND IMMUNOLOGIC FINDINGS FOR THE DIAGNOSIS
OF AUTOIMMUNE BULLOUS DISEASE

CORINA BAICAN*, A. BAICAN*, LILIANA ROGOJAN**, DORINA CIUCE*, G. SAMĂȘCA***,
VICTORINA MACOVEI*, ALINA PERTA*, N. MAIER*, C. SITARU****

București

Rezumat

Bolile buloase autoimune cutanate sunt caracterizate prin producția de autoanticorpi împotriva proteinelor structurale din piele și/sau mucoase. Diagnosticul corect necesită evaluare clinică, histologică și imunopatologică. Scopul acestui studiu a fost de a evalua sensibilitatea aspectelor clinice, histologice și imunologice pentru diagnosticul bolnavilor cu pemfigus, pemfigoid bulos și dermatită herpetiformă. În acest studiu, am evaluat prospectiv 70 de pacienți cu pemfigus, 59 de pacienți cu pemfigoid bulos și 12 pacienți cu dermatită herpetiformă. Sensibilitatea diagnosticului clinic și histologic pentru pemfigus, pemfigoid bulos și dermatită herpetiformă a fost de 52,8%, 52,5%, 41,%, respectiv 78%, 50,8% 50%. Comparând performanța diagnosticului clinic și histologic cu ELISA, sensibilitatea ELISA a fost mai mare. În concluzie, evaluarea clinică și histologică de rutină trebuie completate de imunofluorescența directă/indirectă și ELISA pentru a crește performanța diagnosticului.

Cuvinte cheie: pemfigus, pemfigoid bulos, dermatita herpetiforma, sensibilitate.

Summary

Autoimmune bullous skin diseases are characterized by autoantibody production against structural proteins of the skin and/or mucous membranes. The accurate diagnosis requires clinical evaluation, histologic and immunopathologic findings. The aim of our study was to evaluate the sensitivity of clinical, histologic and immunologic findings for the diagnosis of pemphigus, bullous pemphigoid and dermatitis herpetiformis. In this study, we prospectively investigated 70 patients with pemphigus, 59 patients with bullous pemphigoid and 12 patients with dermatitis herpetiformis. The sensitivity of clinical and histological diagnosis for pemphigus, bullous pemphigoid and dermatitis hepetiformis was 52.8%, 52.5% 41.6% and 78% 50.8%, 50%, respectively. Comparing the performance of the clinical and histological diagnosis with ELISA, the sensitivity of ELISA was higher. We conclude that clinical assessment and routine histologic evaluation must be complemented by direct/indirect immunofluorescence and ELISA to improve the diagnostic performance.

Key words: pemphigus, bullous pemphigoid, dermatitis herpetiformis, sensitivity.

DermatoVenerol. (Buc.), 56: 11-19

* Clinica de Dermatologie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca.

** Anatomie Patologică, Spitalul Clinic Județean de Urgență, Cluj-Napoca.

*** Clinica de Pediatrie, Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii, Cluj-Napoca.

**** Departamentul de Dermatologie, Universitatea din Freiburg, Germania.

Bolile cutanate buloase autoimune sunt caracterizate printr-un răspuns imun împotriva proteinelor structurale din piele și mucoase (1). În funcție de caracteristicile clinice, histologice și imunologice se descriu grupul pemfigus și dermatozele buloase autoimune subepidermale.

Pemfigusul este caracterizat prin pierderea adeziunii intercelulare la nivelul epidermului și a epitelului mucoaselor, indusă de autoanticorpi orientați împotriva desmogleinelor 1 și 3 din structura desmozomilor (2). Prin distrucția structurilor de adeziune intercelulară apar fante intraepidermice, cu celule acantolitice vizibile la examenul histopatologic. Aceste modificări microscopice evoluează și devin manifeste clinic sub formă de bule flasce cutanate și eroziuni la nivelul mucoaselor. Imunfluorescența directă și indirectă arată un aspect patognomonic de rețea la nivelul epidermului, demonstrând depozite de IgG pe suprafața keratinocitelor, respectiv a celulelor epiteliale utilizate ca substrat. Pemfigusul se împarte în două subtipuri majore: pemfigus vulgar și pemfigus foliaceu. Alte variante rar întâlnite sunt pemfigusul vegetant, pemfigusul eritematos, pemfigusul paraneoplazic, pemfigusul indus medicamentos și pemfigusul cu IgA.

În grupul bulozelor subepidermale sunt incluse pemfigoidul bulos, dermatita cu Ig A liniar, epidermoliza buloasă autoimună și dermatita herpetiformă. Cea mai frecventă boală din acest grup este pemfigoidul bulos, caracterizat prin autoanticorpi împotriva a două componente ale hemidesmozomilor, BP 180 și BP 230 (3). Clinic, pacienții cu pemfigoid bulos prezintă bule sub tensiune, de obicei doar la nivel cutanat, iar examenul histologic evidențiază sediul subepidermic al leziunii. Imunfluorescența directă arată depozite de IgG de-a lungul membranei bazale, iar imunfluorescența indirectă realizată pe piele clivată demonstrează prezența acestor depozite pe versantul epidermic. Dermatita herpetiformă reunește un tablou clinic de vezicule pruriginoase grupate într-o configurație herpetiformă, sensibilizarea la gluten, localizarea subepidermică a veziculelor și depozitele granulare de IgA în special la nivelul papilelor dermice (4).

Diagnosticul afecțiunilor buloase autoimune se bazează pe aspectul clinic, sediul bulei

Autoimmune bullous skin diseases are characterized by an immune response against structural proteins of the skin and mucous membrane (1). Based on clinical, histo- and immunopathological findings the pemphigus group and sub-epidermal autoimmune blistering diseases are described.

Pemphigus is characterized by the loss of intercellular adhesion, at epidermal and epithelial mucous membrane level, induced by autoantibodies against desmogleins 1 and 3 from the desmosomes structure (2). By breaking the adhesion intercellular structures, intraepidermic cleavage occurs with acantholytic cells seen in histopathological examination. These microscopic changes develop and turn into clinical lesions in the form of cutaneous flaccid blisters and erosions on the mucous membrane level. Both direct and indirect immuno-fluorescence reveal a typical aspect with an intercellular binding of IgG and C3 in the epidermis and epithelium. Pemphigus consists of two main subtypes: pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus. Some other variants which are rarely met are pemphigus vegetans, pemphigus erythematosus, pemphigus paraneoplastic, drug induced pemphigus and pemphigus with IgA.

Bullous pemphigoid, linear IgA disease, epidermolysis bullosa acquisita and dermatitis herpetiformis are included in the group of subepidermal blistering diseases. The most frequent disease of this group is bullous pemphigoid, characterized by autoantibodies against two components of hemidesmosomes, BP180 and BP230 (3). Clinically, the patients suffering from bullous pemphigoid present tense blisters, usually only on the skin level, and histological examination shows subepidermal blisters. Direct immunofluorescence reveals linear deposition of IgG at the dermoepidermal junction, and indirect immunofluorescence, using salt-split human skin as substrate, demonstrates deposits of IgG on the epidermal side. Dermatitis herpetiformis consists of a clinical feature of pruritic blisters grouped into a herpetiform configuration, gluten-sensitive enteropathy, subepidermal blisters and granular deposits of IgA in dermal papillae (4).

The diagnosis of autoimmune blistering diseases is based on the clinical aspects, the level

evidențiat la examenul histopatologic, aspectul tipic din imunfluorescența directă și indirectă care demonstrează prezența autoanticorpilor în piele, respectiv circulație și determinarea proteinelor țintă prin ELISA și imunoblot.

În acest studiu am evaluat sensibilitatea examenului clinic, histopatologic și imunopatologic pentru diagnosticul bolnavilor cu pemfigus, pemfigoid bulos și dermatită herpetiformă.

Material și metodă

Am luat în studiu 70 de cazuri de pemfigus, 59 de pemfigoid bulos și 12 de dermatită herpetiformă diagnosticate în Clinica de Dermatologie din Cluj-Napoca în ultimii 9 ani, din august 2001 până în august 2010. Protocolul de diagnostic pentru acești pacienți s-a bazat pe prezența leziunilor cutanate și/sau mucoase, examen histopatologic cu colorația hematoxilină-eozină realizat prin biopsierea leziunilor, imunfluorescență directă și indirectă și ELISA pentru determinarea anticorpilor împotriva desmogleinei 3 și 1, BP180, BP230 și transglutaminaza tisulară. Toți pacienții cuprinși în studiu au avut imunfluorescența directă pozitivă (Fig. 1). La realizarea imunfluorescenței directe am utilizat secțiuni de 6 μ m din pielea perilezională incubate cu anticorpi marcați cu fluoresceină împotriva IgG, IgA, IgM, și C3 (Dako). În plus, am realizat imunfluorescență indirectă pe secțiuni de esofag de maimuță la pacienții cu pemfigus și pe piele clivată în soluție NaCl 1M la bolnavii cu pemfigoid bulos. Nivelele de autoanticorpi împotriva desmogleinei 3 și 1, BP180, BP230 au fost evaluate utilizând antigene recombinante din kit ELISA (Medical & Biological Laboratories, Nagoya, Japan) urmând instrucțiunile producătorului. S-au considerat pozitive rezultatele ≥ 20 u/ml, pentru desmogleina 3 și 1, respectiv ≥ 9 u/ml pentru BP180 și BP230. Evaluarea prezenței autoanticorpilor împotriva desmogleinei 3 și 1 s-a făcut în funcție de tipul de pemfigus - vulgar (58 pacienți) sau foliaceu (12 pacienți). Iar pacienții cu pemfigus vulgar au fost grupați în varianta clinică cu leziuni doar pe mucoase (11 pacienți) și varianta cu leziuni cutaneo-mucoase (47 pacienți). La pacienții cu dermatită herpetiformă am

of blisters revealed by histological examination, the typical aspects existing in both and indirect immunofluorescence, which demonstrate the existence of autoantibodies in the skin and blood, and the detection of the target proteins by ELISA and immunoblotting.

The aim of this study was to evaluate the sensitivity of clinical, histo- and immuno-pathologic examinations in order to diagnose the patient with pemphigus, bullous pemphigoid and dermatitis herpetiformis.

Materials and methods

Seventy cases of pemphigus, fifty nine of bullous pemphigoid and twelve with dermatitis herpetiformis have been enrolled in the present study, in the last 9 years, since August 2001 until August 2010, at the Clinic of Dermatology in Cluj-Napoca. The inclusion criteria for these patients based on the existence of both skin and/or mucous membrane lesions, histologic examination using hematoxylin-eosin staining, direct and indirect immunofluorescence, and ELISA for detecting antibodies against desmogleins 3 and 1, BP180, BP230 and tissue transglutaminase. All the enrolled patients had positive direct immunofluorescence (Fig. 1). For the direct immunofluorescence technique, 6 μ m sections from perilesional skin were incubated with fluorescein labeled antibody against IgG, IgA, IgM and C3 (Dako). In addition, we performed indirect immunofluorescence on section of monkey esophagus for the patients with pemphigus and on split skin in 1M NaCl solution for the patients with bullous pemphigoid. The antibodies levels against desmogleins 3 and 1, BP180, BP230 were evaluated by using recombinant antigens in an ELISA kit following the manufacturer's instructions (Medical & Biological Laboratories, Nagoya, Japan). The cut-off values were ≥ 20 u/ml for desmogleins 3 and 1, respectively ≥ 9 u/ml for BP180 and BP230. The evaluation of the antibodies presence against desmogleins 3 and 1 was made by taking into consideration the type of pemphigus: vulgaris (58 cases), and foliaceus (12 cases). The patients with pemphigus vulgaris were grouped in the clinical variant with lesions only on mucous membrane (11 patients), and in the variant with both skin and mucous

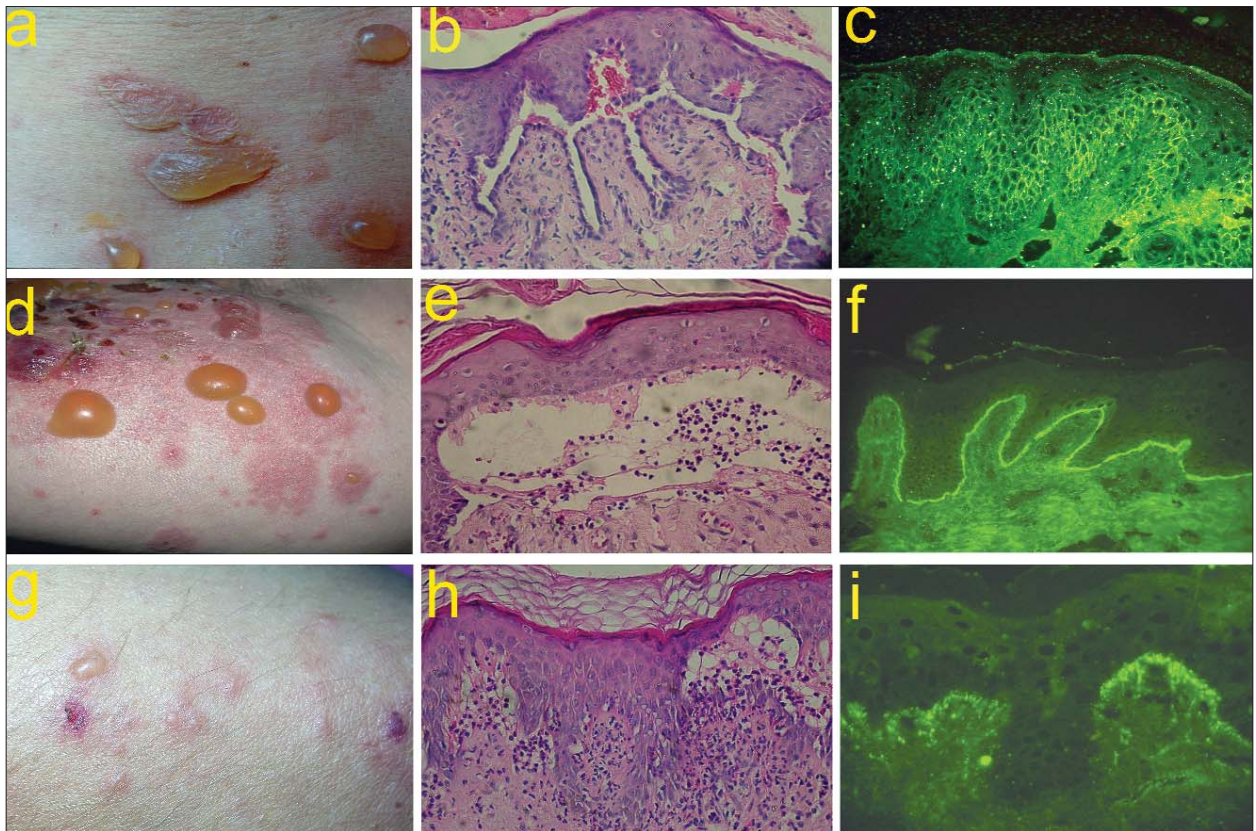


Fig. 1. Aspectele clinice, histologice și imunfluorescență directă la pacienții cu pemfigus, pemfigoid bulos și dermatită herpetiformă.

Fig. 1. Clinical and immunopathological findings in pemphigus, bullous pemphigoid and dermatitis herpetiformis.

determinat și anticorpilor antitransglutaminază tisulară prin ELISA (Hycor).

Analiza statistică a fost realizată utilizând formula: sensibilitatea = număr de cazuri adevărat pozitive / adevărat pozitive + fals negative $\times 100$. S-a calculat și intervalul de timp de la debutul leziunilor până la stabilirea corectă a diagnosticului.

Rezultate

Din cele 70 de cazuri de pemfigus, diagnosticul clinic corect a fost stabilit în 37 de cazuri, ceea ce a însemnat o sensibilitate de 52,8%. Examinarea histopatologică a permis diagnosticul de afecțiune acantolitică intraepidermică la 55 din lamele examinate, reprezentând o sensibilitate de 78% (Tab. I). Din cei 12 pacienți cu pemfigus foliaceu, 11 au avut valori

membrane lesions (47 pacienți). The detection of antibodies against tissue transglutaminase was performed using an ELISA kit (Hycor).

The statistical analysis was realized using the formula: sensitivity = number of true positives / number of true positive + number of false positive $\times 100$. It was also calculated the time interval from the lesions onset to the correct diagnosis.

Results

Of the 70 cases of patients with pemphigus, the correct diagnosis was establish in 37 cases, which means a sensitivity of 52.8%. Histologic examination supported the diagnosis of intraepidermal acantholytic disease in 55 biopsy specimens evaluated, which means a sensitivity of 78% (Tab. I). Of 12 patients with pemphigus

Tabelul I. Sensibilitatea diagnosticului clinic și histopatologic la pacienții cu pemfigus, pemfigoid bulos și dermatită herpetiformă

	Pacienți cu pemfigus (n = 70)	Pacienți cu pemfigoid bulos (n = 59)	Pacienți cu dermatită herpetiformă (n = 12)
Sensibilitatea examenului clinic (%)	52,8	50,8	41,6
Sensibilitatea examenului histologic (%)	78	52,5	50

Table I. Sensitivity of clinical and histologic diagnosis in patients with pemphigus, bullous pemphigoid and dermatitis herpetiformis

	Patients with pemphigus (n = 70)	Patients with bullous pemphigoid (n = 59)	Patients with dermatitis herpetiformis (n = 12)
Sensitivity of clinical examination clinic (%)	52,8	50,8	41,6
Sensitivity of histologic examination (%)	78	52,5	50

pozitive la ELISA pentru anticorpii împotriva desmogleinei 1 (91,6%). Nici un pacient cu pemfigus foliaceu nu a prezentat anticorpi împotriva desmogleinei 3 (Tab. II). La pacienții cu pemfigus vulgar localizat doar pe mucoase s-au

foliaceus, 11 had positive results at ELISA for antibodies against desmoglein 1 (91.6%). Neither of the patients suffering from pemphigus foliaceus, presented antibodies against desmoglein 3 (Tab. II). The patients with

Tabelul II. Sensibilitatea determinării autoanticorpilor circulanți prin ELISA la pacienții cu afecțiuni buloase autoimune

	Ac anti-dsg1	Ac anti-dsg3	Ac anti-BP180	Ac anti-BP230	Ac anti-transglutaminază tisulară
Pemfigus foliaceu	91,6%	0%	–	–	–
Pemfigus vulgar cu leziuni pe mucoase	9%	81,8%	–	–	–
Pemfigus vulgar cutaneo-mucos	68%8	9,3	–	–	–
Pemfigoid bulos	–	–	89,6%	52%	–
Dermatita herpetiformă	–	–	–	–	72,7%

Table II. ELISA sensitivity for detection of circulating autoantibodies in patients with autoimmune bullous diseases

	Ac anti-dsg1	Ac anti-dsg3	Ac anti-BP180	Ac anti-BP230	Ac anti-tissue transglutaminase
Pemphigus foliaceus	91,6%	0%	–	–	–
Pemphigus vulgaris with mucosal lesions	9%	81,8%	–	–	–
Pemphigus vulgaris mucocutaneous	68%	89,3	–	–	–
Bullous pemphigoid	–	–	89,6%	52%	–
Dermatitis herpetiformis	–	–	–	–	72,7%

decelat anticorpi anti-desmogleina 3 la 9 pacienți (81,8%), iar un pacient a avut și anticorpi anti-desmogleină 1 (9%). Din cei 47 de pacienți cu leziuni atât cutanate cât și pe mucoase, 32 au fost pozitivi pentru anticorpi anti-dsg1 (68%) și 42 pentru anticorpi anti-dsg 3 (89,3%). În cazul pacienților cu pemfigoid bulos, diagnosticul clinic a fost corect formulat la 30 din 59 de cazuri, adică o sensibilitate de 50,8%. Analiza histologică a biopsiilor prelevate din leziunile de pemfigoid bulos au permis stabilirea diagnosticului în 31 de cazuri, cu o sensibilitate de 52,5%. Determinarea anticorpilor anti-BP180 a fost pozitivă la 52 de cazuri (89,6%), în timp ce anticorpii anti-BP230 au fost prezenți doar la 31 de cazuri (52%). La pacienții cu dermatită herpetiformă, sensibilitatea diagnosticului clinic a fost de 41,6 %, doar la 5 pacienți din 12 s-a formulat corect diagnosticul. Examenul histologic a fost sugestiv la 6 pacienți, adică o sensibilitate de 50%. ELISA pentru anticorpi antitransglutaminază tisulară a fost pozitivă la 8 pacienți (72,7%). Intervalul de timp între debutul leziunilor și stabilirea corectă a diagnosticului a fost la pacienții cu pemfigus de 5,1 luni cu limite între 2 săptămâni și 36 de luni, la cei cu pemfigoid bulos de 5,8 luni cu limite între 2 săptămâni și 48 de luni, iar la cazurile de dermatită herpetiformă de 30,3 luni și limite între 3 luni și 10 ani.

Discuții

Valorile obținute pentru sensibilitatea diagnosticului clinic, histopatologic și ELISA sunt apropiate de cele raportate în literatură. Astfel, Helander et al a obținut o sensibilitate a diagnosticului clinic și histopatologic în pemfigus de 50%, respectiv 66% într-un studiu realizat pe 21 de cazuri (5). Sensibilitatea imunofluorescenței directe și indirecte a fost raportată pentru cazurile de pemfigus la 89%, respectiv 86% (5,6). Imunoblotul la aceiași pacienți avea o performanță diagnostică inferioară (sensibilitate de 72%). În plus, imunoblotul este o tehnică mai laborioasă, consumatoare de timp, fiind rezervată cazurilor care nu pot fi elucidate prin imunofluorescență sau ELISA. Sensibilitatea metodei de evidențiere a autoanticorpilor circulanți anti-desmogleină 1 la pacienții cu pemfigus foliaceu este deosebit de înaltă atât în studiul nostru cât și alte studii

pemphigus vulgaris located only on mucous membrane, anti-desmoglein 3 antibodies were detected in 9 patients (81.8%), and one patient had also anti-desmoglein 1 antibodies (9%). Of the 47 patients with both skin and mucous membrane lesions, 32 were positive for anti-desmoglein 1 antibodies (68%) and 42 for anti-desmoglein 3 antibodies (89.3%). For the patients with bullous pemphigoid, the clinical diagnosis were correctly formulated for 30 cases out of 59, meaning a sensitivity of 50.8%. The histologic examination of biopsy specimens taken from bullous pemphigoid lesions, permitted the diagnosis in 31 cases, with a sensitivity of 52,5 %. The detection of anti-BP180 antibodies was positive in 52 cases (89.6%), whereas the anti-BP230 antibodies were present in only 31 cases (52%). In the patients suffering from dermatitis herpetiformis, the sensitivity of clinic diagnosis was 41.6%. Only in 5 patients out of 12 the clinical diagnosis was correctly established. The histologic examination was suggestive in 6 patients, meaning a sensitivity of 50%. ELISA for tissue transglutaminase was positive for 8 patients (72.7%). The time interval between lesions onset and the correct diagnosis was of 5.1 months with intervals between 2 weeks and 36 months for the patients with pemphigus, of 5.8 months with intervals between 2 weeks and 48 months for the patients with bullous pemphigoid, and of 30.3 months with intervals between 3 months and 3 years for the cases with dermatitis herpetiformis.

Discussions

The results obtained for the sensitivity of clinical diagnosis, histologic examination, and ELISA, are close to those reported in literature. Helander et al reported a sensitivity of the clinical and histologic diagnosis in pemphigus of 50%, respectively 66% in a study of 21 cases (5). The direct immunofluoresce and indirect immunofluorescence sensitivity was reported as being of 89%, respectively 86% for the pemphigus cases (5,6). Immunoblotting of the same patients had a lower diagnosis performance (72% sensitivity). Moreover, immunoblotting is a more laborious technique which takes a lot of time, exclusively used in the cases which cannot be solved by using immunofluorescence and ELISA. ELISA

realizate, depășind 90% (7,8). Sensibilitatea ELISA pentru desmogleina 3 și 1 la pacienții cu pemfigus vulgar raportată în literatură este de 94,5% , respectiv 76,7% (9). Autoanticorpii împotriva desmogleinei 3 și 1 determinați prin ELISA se corelează cu fenotipul clinic. Astfel, în pemfigusul foliaceu sunt prezenți autoanticorpi doar împotriva desmogleinei 1, în timp ce pacienții cu pemfigus vulgar cu manifestări clinice doar pe mucoase prezintă de obicei doar autoanticorpi antidesmogleină 3 (10). Într-un studiu recent efectuat am observat această corelație, dar am notat și câteva excepții care sugerează existența și a altor factori importanți în distribuția leziunilor la pacienții cu pemfigus (11).

Evaluând principalele criterii de diagnostic pentru pemfigoidul bulos s-a raportat o sensibilitate de 73% prin combinarea aspectului clinic cu examinarea histopatologică într-un studiu pe 63 de pacienți (12). Separat sensibilitatea criteriilor clinice a fost de 63,5%, în timp ce analiza doar a biopsiilor cutanate a permis un diagnostic caracteristic histopatologic doar la 27 % din cazuri, existând totuși un aspect compatibil până la 81% din specițiile evaluate (12). La pacienții cu pemfigoid bulos, imunofluorescența directă și indirectă pe piele clivată a fost pozitivă la 91%, respectiv 96% din pacienți (12). În același timp, reactivitatea serului cu BP180 evaluată prin imunoblot este pozitivă la 78% din pacienți (12). O investigație rapidă și accesibilă ca preț este ELISA pentru segmentul BP180-NC16A, care reprezintă domeniul imunodominant la pacienții cu pemfigoid bulos. Aceasta are o sensibilitate înaltă de 89-96% (13). Întrucât doar un fragment din molecula de BP180 este utilizată în kit-ul ELISA, există posibilitatea rară de a avea rezultate negative în cazurile în care există autoanticorpi ce recunosc alți epitopi decât fragmentul BP180-NC16A. Spre deosebire de frecvența mare a autoanticorpilor anti-BP180, autoanticorpi anti-BP230 apar într-o proporție mai redusă, fiind evidențiați la jumătate din bolnavii cu pemfigoid bulos. Aceasta poate demonstra un rol mai redus al acestor autoanticorpi în patogeniza pemfigoidului bulos. Ca urmare, se recomandă ca determinarea autoanticorpilor anti-BP230 să nu se facă de rutină, ci numai în cazurile în care nu se decelează anticorpi anti-BP180. Combinarea

sensitivității de detectare a anti-desmoglein 1 circulante în pacienții cu pemfigus foliaceus este foarte înaltă (peste 90%) atât în studiul nostru cât și în altele (7,8). Sensibilitatea ELISA pentru desmoglein 3 și 1 la pacienții cu pemfigus vulgaris raportată în literatură este 94.5%, respectiv 76.7% (9). Anticorpii împotriva desmoglein 3 și 1 detectați prin ELISA corelează cu fenotipul clinic. Astfel, în pemfigus foliaceus doar anticorpii împotriva desmoglein 1 sunt detectați, în timp ce pacienții cu pemfigus vulgaris cu mucoasă implicată prezintă anticorpii împotriva desmoglein 3 doar (10). Am observat această corelație în studiul nostru și am găsit și unele excepții care sugerează existența și a altor factori importanți în distribuția leziunilor la pacienții cu pemfigus (11).

Evaluând principalele criterii de diagnostic pentru pemfigoidul bulos, o sensibilitate de 73% a fost raportată prin combinarea aspectului clinic cu examinarea histopatologică într-un studiu pe 63 de pacienți (12). Sensibilitatea criteriilor clinice a fost de 63,5%, în timp ce analiza doar a biopsiilor cutanate a permis un diagnostic caracteristic histopatologic doar la 27% din cazuri, existând totuși un aspect compatibil până la 81% din specițiile evaluate (12). La pacienții cu pemfigoid bulos, imunofluorescența directă și indirectă pe piele clivată a fost pozitivă la 91%, respectiv 96% din pacienți (12). În același timp, reactivitatea serului cu BP180 evaluată prin imunoblot este pozitivă la 78% din pacienți (12). O investigație rapidă și accesibilă ca preț este ELISA pentru segmentul BP180-NC16A, care reprezintă domeniul imunodominant la pacienții cu pemfigoid bulos. Aceasta are o sensibilitate înaltă de 89-96% (13). Întrucât doar un fragment din molecula de BP180 este utilizată în kit-ul ELISA, există posibilitatea rară de a avea rezultate negative în cazurile în care există autoanticorpi ce recunosc alți epitopi decât fragmentul BP180-NC16A. Spre deosebire de frecvența mare a autoanticorpilor anti-BP180, autoanticorpi anti-BP230 apar într-o proporție mai redusă, fiind evidențiați la jumătate din bolnavii cu pemfigoid bulos. Aceasta poate demonstra un rol mai redus al acestor autoanticorpi în patogeniza pemfigoidului bulos. Ca urmare, se recomandă ca determinarea autoanticorpilor anti-BP230 să nu se facă de rutină, ci numai în cazurile în care nu se decelează anticorpi anti-BP180. Combinarea

aspectului clinic cu un test imunopatologic poate oferi o sensibilitate de până la 98% în pemfigoidul bulos (14). În plus, nivelele serice de anticorpi determinate prin ELISA se corelează cu activitatea și severitatea bolii, fiind un ghid util de urmărire a tratamentului atât la pacienții cu pemfigus, cât și la cei cu pemfigoid bulos (9, 15, 16).

Într-un studiu recent pe 159 de cazuri cu dermatită hepetiformă, aspectul histologic a fost consistent în proporție de 38,4% și sugestiv la 39,5% cu diagnosticul stabilit (17). Sensibilitatea ELISA pentru transglutaminaza tisulară variază între 45 și 98,7% (18).

Intervalul de timp mediu între debutul leziunilor și diagnosticul corect al bolii a fost între 5 și 6 luni la pacienții cu pemfigus și pemfigoid bulos. Această perioadă lungă poate fi explicată pe de o parte prin limitele examenului clinic și histopatologic, iar pe de altă parte prin accesul limitat la laboratoare de imunologie în care se fac imunofluorescență directă și indirectă, imunoblot și ELISA.

Concluzii

Examenul clinic și histopatologic la bolnavii cu dermatoze buloase autoimune sunt evaluări importante dar au o sensibilitate nesatisfăcătoare, erorile de diagnostic fiind frecvente. În plus, intervalul de timp de la debutul leziunilor până la stabilirea diagnosticului este prea lung, ceea ce implică condiționarea precoce a unui tratament specific eficient. În consecință, aceste examinări trebuie completate cu investigații mai sofisticate cum ar fi imunofluorescența directă și indirectă, imunoblot și ELISA. Întrucât acest grup de boli este rar întâlnit, ar fi suficiente la noi în țară 3-4 centre naționale de referință care să asigure realizarea unui diagnostic performant.

Intrat în redacție: 15.11.2010

have detectable BP180 autoantibodies. Clinical aspects in combination with an immunopathological test provide a sensitivity up to 98% in bullous pemphigoid (14). Moreover, serum levels of autoantibodies detected by ELISA correlate with disease severity and activity, being a helpful guide for the therapeutic management of patients with bullous pemphigoid and pemphigus (9,15,16).

Recently, in a study of 150 dermatitis herpetiformis cases, the histologic aspects were consistent in 38.4% and suggestive in 39.5% with the established diagnosis (17). ELISA sensitivity for tissue transglutaminase is 45 to 98.7% (18).

The mean time interval between lesions onset and the correct diagnosis was 5 to 6 months in patients with pemphigus and bullous pemphigoid. This long period can be explained by the limits of clinical and histologic diagnosis, and the difficult access to autoimmune laboratories which perform direct and indirect immunofluorescence, immunoblotting analysis and ELISA.

Conclusions

Clinical and histologic examinations in patients with autoimmune bullous skin disorders are important diagnosis tools but they have an unsatisfactory sensitivity, diagnosis errors being frequent. Moreover, the time interval between lesions onset and the correct diagnosis is too long and delays an early and efficient treatment. Consequently, these examinations must be followed by specialized procedures as direct and indirect immunofluorescence, immunoblotting analysis and ELISA. Because this group of diseases is infrequent, 3-4 national reference centers should be enough to increase the diagnosis performance.

Received: 15.11.2010

Bibliografie/Bibliography:

1. Mihai S., Sitaru C. Immunopathology and molecular diagnosis of autoimmune bullous diseases. *J Cell Mol Med* 2007; 11: 462-81.
2. Kitajima Y., Aoyama Y. A perspective of pemphigus from bedside and laboratory-bench. *Clinic Rev Allerg Immunol* 2007; 33: 57-66.
3. Labib R.S., Anhalt G.J., Patel H.P. et al. Molecular heterogeneity of the bullous pemphigoid antigens as detected by immunoblotting. *J Immunol* 1986; 136: 1231-5.
4. Chan L.S. Dermatitis herpetiformis in Blistering skin diseases. 2009, ed Manson publishinh ltd, 106-8.

5. Helander S.D., Rogers R.S. The sensitivity and specificity of direct immunofluorescence testing in disorders of mucous membranes. *J Am Acad Dermatol* 1994;30:65-75.
6. Jiao D., Bystrin J.C. Sensitivity of indirect immunofluorescence, substrat specificity, and immunoblotting in the diagnosis of pemphigus. *J Am Acad Dermatol* 1997;37:211-6.
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. Huang C.H., Chen C.C., Wang C.J. et al. Using desmoglein 1 and 3 enzyme-linked immunosorbent assay as an adjunct diagnostic tool for pemphigus. *J Chin Med Assoc* 2007;70(2):65-70.
9. 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. *JEADV* 2007;21:1319-24.
10. Amagai M., Tsunoda K., Zillikens D. et al. The clinical phenotype of pemphigus is defined by the anti-desmoglein autoantibody profile. *J Am Acad Dermatol* 1999;40:167-70.
11. Baican A., Baican C., Chiriac G. et al. Pemphigus vulgaris is the most common autoimmune bullous disease in Northwestern Romania. *Int J Dermatol* 2010;49:768-74.
12. Chan Y.C., Sun Y.J., Ng P.P.-L et al. Comparison of immunofluorescence microscopy, immunoblotting and enzyme-linked immunosorbent assay methods in the laboratory diagnosis of bullous pemphigoid. *Clin Exp Dermatol* 2003;28:651-6.
13. Sakuma-Oyama Y., Powell A.M., Oyama N. et al. Evaluation of a BP180-NC16a enzyme-linked immunosorbent assay in the initial diagnosis of bullous pemphigoid. *Br J Dermatol* 2004;151:126-131.
14. Chaidemenos G.C., Maltezos E., Chrysomallis F. et al. Value of routine diagnostic criteria of bullous pemphigoid. *Int J Dermatol* 1998;37:206-10.
15. Harman K.E., Seed P.T., Gratian M.J. et al. The severity of cutaneous and oral pemphigus is related to desmoglein 1 and 3 antibody levels. *Br J Dermatol* 2001;144:775-80.
16. Schmidt E., Obe K., Bröcker E.B. et al. Serum levels of autoantibodies to BP180 correlate with disease activity in patients with bullous pemphigoid. *Arch Dermatol* 2000;136:174-8.
17. Alonso-Llamazares J., Gibson L.E., Rogers R.S. Clinical, pathologic and immunopathologic features of dermatitis herpetiformis: a review of the Mayo Clinic experience. *Int J Dermatol* 2007;46(9): 910-9.
18. Baican A., Baican C., Maier N. Dermatita herpetiformă-mecanisme patogenice-diagnostic și tratament. *Dermatovenerologie* 2010; 55: 35-42.

Adresă de corespondență:
Correspondence adress:

Adrian Baican
Clinica de Dermatologie
Str. Clinicilor 3-5
400006 Cluj-Napoca
E-mail: adrianbaican@yahoo.com