

# DIVERSITATEA MECANISMELOR PATOGENETICE ÎN PEMFIGOIDUL BULOS

VICTORINA MACOVEI, RODICA COSGAREA, A. BAICAN

Cluj-Napoca

## Rezumat

*Pemfigoidul bulos reprezintă un model de afecțiune autoimună caracterizată printr-un răspuns umoral și celular direcționat împotriva BP180 și BP230. Formarea bulelor e inițiată de autoanticorpii anti-BP180 și e mediată de activarea complementului, recrutarea de celule inflamatorii și eliberarea de enzime proteolitice precum și de interferarea directă cu funcția de adeziune a antigenelor. De asemenea, implicarea factorilor exogeni în patogeneza pemfigoidului bulos, presupune expunerea epitopilor, anterior „protejați” și formarea autoanticorpilor. Cunoașterea patogenezei afecțiunii facilitează dezvoltarea unor noi strategii terapeutice pentru pemfigoidul bulos.*

**Cuvinte cheie:** pemfigoid bulos, autoimunitate, BP180, BP230.

## Summary

*Bullous pemphigoid is a bullous autoimmune disease model characterized by humoral and cellular response directed against BP180 and BP230. Blisters formation is initiated by anti-BP180 antibodies and mediated by complement activation, recruitment of inflammatory cells, release of proteolytic enzymes and direct interference with adhesion function of the antigens.*

*The involvement of exogenous factors in the pathogenesis of bullous pemphigoid requires exposure epitopes, previously „protected” and formation of the autoantibodies. Knowledge of the pathogenesis of disease facilitate the development of new therapeutic strategies for bullous pemphigoid.*

**Keywords:** bullous pemphigoid, autoimmunity, BP180, BP230.

DermatoVenerol. (Buc.), 55: 49-53

## Introducere

Pemfigoidul bulos reprezintă un model de afecțiune mediată imun asociată cu un răspuns celular și umoral direcționat împotriva a două antigene majore de 230kDa (BP230, BPAG1) și 180 kDa (BP180, BPAG2, colagen XVII). [1]

### Autoantigenii în pemfigoidul bulos

BP230 și BP180 reprezintă componente ale hemidesmozomilor și sunt produsul unor gene distincte, gena BP230 fiind localizată pe brațul scurt al cromozomului 6, locusul 6p11-12 iar gena BP180 pe brațul lung al cromozomului 10, locusul 10q24.3.

**BP230** (BPAG1) este o plakină ce joacă un rol important în promovarea adeziunii dintre fila-

mentele de keratină și hemidesmozomi. (Fig.1) Prezintă o porțiune centrală, spiralată,  $\alpha$  helioidală; o porțiune terminală, globulară, carboxi ce promovează asocierea cu filamentele intermediare de keratină și o porțiune globulară amino-terminală ce e asociată cu domeniul citoplasmatic al BPAG2 și integrina  $\beta$ 4.

Serul pacienților cu pemfigoid bulos prezintă reactivitate cu BP230, epitopii majori recunoscuți fiind localizați în porțiunea carboxi-terminală. [1,2]

**BP180** (BPAG2) este o proteină transmembranară cu orientare de tip II. Prezintă o regiune amino-terminală localizată la nivelul plăcii hemidesmozomale; o regiune transmembranară și o regiune carboxi-terminală ce se

\* Clinica de Dermatologie, U.M.F. „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca.

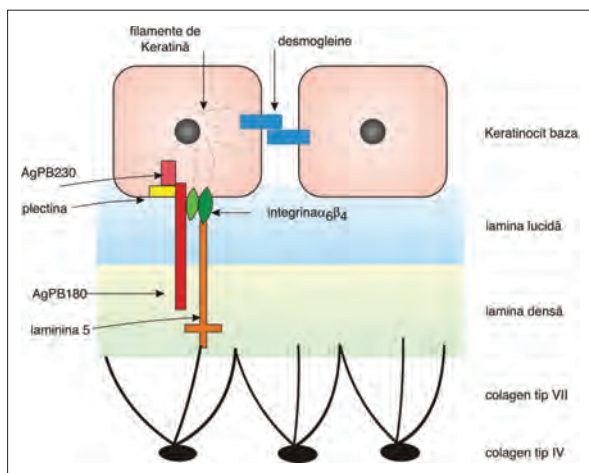


Fig. 1. Localizarea și interacțiunea proteinelor structurale la nivelul joncțiunii dermo-epidermice

extinde în zona extracelulară a membranei bazale. (Fig.1) Regiunea amino- terminală conține mai multe potențiale poziții de fosforilare în porțiunea centrală iar regiunea extracelulară conține 15 domenii colagenice (Col1- Col15) și 16 domenii noncolagenice (NC1-NC16). Domeniul NC16A, localizat la nivelul laminei lucida, reprezintă componenta imunodominantă a BP180, la acest nivel fiind identificate patru poziții antigenice majore (MCW 0-3), dintre acestea NC16A2 (MCW-1) și NC16A2.5 (MCW-2) fiind considerate ca având reactivitate mai crescută. Poziții antigenice adiționale au fost identificate atât la nivelul BP180 cât și BP230, fenomenul de „distribuție a epitopilor” putând explica prezența acestora. Serul pacienților cu pemfigoid bulos s-a dovedit că reacționează inconstant și cu alte antigene, de 280, 200, 120, 97, 77 kDa. [2,3]

#### Răspunsul imun în pemfigoidul bulos

**Răspunsul imun celular:** reactivitatea celulelor B și T împotriva BP180 este aproape constant detectată la pacienții cu pemfigoid bulos iar recunoașterea diferențială a epitopilor BP180 pare să fie asociată cu severitate distinctă clinică: porțiunea amino- terminală a BP180 fiind recunoscută în afecțiunea extinsă clinic, în timp ce porțiunea centrală e mai frecvent recunoscută în pemfigoidul bulos limitat. În contrast, mai puțin de 50% din pacienții cu pemfigoid bulos prezintă reactivitate combinată a celulelor T și B față de domeniile amino și carboxi terminale ale BP230.

Majoritatea pacienților au celule T autoreactive ce recunosc epitopii localizați în regiunea extracelulară a BP180 și în principal domeniul NC16A, a căror responsivitate e restricționată de HLA distincte, HLA-DQB\*0301 la caucazieni iar HLA-DRB1\*1101, HLA-DRB1\*0302 și HLA- DQB1\*0302 la japonezi, diferențele sugerând o susceptibilitate genetică diferită, influențată de etnie. [3,4]

Limfocitele T exprimă CD4+ și prezintă un profil de citokine mixt Th1/Th2 capabile să inducă secreția de IgG1, IgG2, IgG4 și IgE. Formarea inițială a bulelor pare a fi favorizată de implicarea Th1, cu producția de IgG1, în timp ce în faza cronică se evidențiază implicarea Th2 cu producția de IgG4 și IgE. Evidențierea în lichidul din bulă a numeroase citokine ca: IL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IFNγ și TNFα reflectă contribuția atât a limfocitelor Th1 cât și Th2 în pemfigoidul bulos, nivelurile serice crescute ale unor citokine Th1 și Th2 fiind corelate cu activitatea bolii. [5]

**Răspunsul imun umoral:** este direcționat împotriva mai multor epitopi ai antigenilor, majoritatea pacienților cu pemfigoid bulos având autoanticorpi anti BP180NC16A. Studiile recente au identificat prezența celulelor B cu memorie, specifice pentru domeniul NC16A, ce pot fi induse in vitro să sintetizeze autoanticorpi, actualmente investigându-se rolul acestora ca celule prezentatoare de antigen în generarea răspunsului imun. [6]

Autoanticorpii specifici BP180NC16A sunt predominant IgE și IgG (subclasele IgG1 și IgG4). Toate subclasele IgG anti BP180 scad în paralel cu reducerea activității afecțiunii, la aproximativ opt săptămâni de la inițierea tratamentului, fiind la limita inferioară sau nedetectabili prin tehnica ELISA. Autoanticorpii direcționați împotriva BP230 sunt predominant IgG4, nu fixează complementul, nu se corelează cu activitatea afecțiunii și sunt considerați secundari fenomenului de distribuție al epitopilor. IgE acționează prin legarea de receptorul Fc de pe suprafața mastocitelor, eozinofilelor și bazofilelor, determinând activarea și degranularea mastocitară și implicit răspunsul inflamator. [5,7]

Etiologia autoimună a pemfigoidului bulos este susținută de o serie de date clinice și experimentale: (1) prezența autoanticorpilor și

celulelor T autoreactive împotriva antigenelor bine definite; (2) injuria tisulară ce apare în prezența complexelor antigen- anticorp; (3) modelele in vitro și in vivo, ce susțin rolul autoanticorpilor în patogeneză a bolii; (4) asocierea cu genotipuri distincte HLA; (5) nivelul seric al anticorpilor anti BP180 NC16A ce se corelează cu severitatea afecțiunii; (6) răspunsul la terapia imunosupresivă.[3,8]

Rolul esențial al anticorpilor anti BP180NC16A în patogeneză a afecțiunii este susținut de: (1) inducerea leziunilor buloase cutanate la șoareci, prin injectarea de anticorpii împotriva omologului murin al NC16A uman; (2) la pacienții cu pemfigoid bulos nivelul seric al anticorpilor circulanți împotriva NC16A se corelează cu activitatea bolii; (3) anticorpii împotriva domeniului NC16A au rol în declanșarea exprimării și secreției mediatorilor inflamației prin incubarea în culturile de keratinocite normale.

De asemenea, anticorpii anti- BP230 reprezintă un eveniment secundar, implicarea acestora fiind susținută de: (1) imunizarea iepurilor cu peptide derivate BP230 ce determină o creștere a răspunsului inflamator local; (2) detectarea acestora la majoritatea pacienților după o durată relativ scurtă de evoluție a bolii (1,5 luni); (3) fragilitate cutanată și răspunsul inflamator obținute prin injectarea la șoarecii nou-născuți de IgG anticorpi de iepure anti BP230. [9]

### **Mecanismele injuriei tisulare și formării bulei**

Legarea autoanticorpilor de antigenele țintă e urmată de formarea bulei subepidermice fiind propuse trei mecanisme:

- activarea complementului, urmată de degranularea mastocitară și apoi recrutarea de eozinofile și neutrofile, urmată de eliberarea de enzime proteolitice;
- interferența directă cu funcția BP180 și BP230 cu perturbarea asamblării hemidesmozomilor ceea ce determină o adeziune deficitară;
- semnalizarea celulară urmată fie de inducerea de citokine proinflamatorii ceea ce determină amplificarea reacției inflamatorii, fie perturbarea asamblării hemidesmozomilor.

Aceste mecanisme posibile de formare a leziunilor buloase au ca și efect atât injuria tisulară cât și a adeziunii dermo-epidermice. [8,9]

**Sistemul complement:** are un rol esențial în dezvoltarea afecțiunii, în special activarea căii clasice a complementului, cea alternativă având un rol secundar. La nivelul tegumentului lezional al pacienților au fost detectate atât componente ale căii clasice cât și alternative ale complementului. C3 este determinat prin imuno-fluorescență directă, de-a lungul membranei bazale, în tegumentul perilezional, în aproape toate cazurile de pemfigoid bulos iar auto-anticorpii fixează complementul in vitro. Studiile efectuate au demonstrat că șoarecii cu deficit genetic al componentelor C1q, C4 sau C5 sunt rezistenți la pemfigoidul bulos experimental iar prin reconstituirea componentei lipsă, animalele devin susceptibile la acțiunea autoanticorpilor. Șoarecii cu deficit al componentei Fc (specifică căii alternative), injectați cu anticorpi, dezvoltă tardiv sau o formă minoră a afecțiunii. [10,11]

**Celulele inflamatorii:** mastocitele, neutrofilele și eozinofilele par să joace un rol important în medierea injuriei tisulare. Numeroase studii au evidențiat prezența și degranularea mastocitelor la nivel lezional, în pemfigoidul bulos. Șoarecii cu deficit de mastocite sunt rezistenți la pemfigoidul bulos experimental iar reconstituirea acestora restabilește activitatea anticorpilor. Mastocitele produc o varietate de mediatori ce sunt în relație cu influxul de neutrofile, reflectate prin nivelurile crescute de histamine, leukotriene B<sub>4</sub>, IL-1, IL-2, IL-5, IL-6 și TNF- $\alpha$  în lichidul din bulă. Aceste date susțin rolul mastocitelor, ce prin degranulare joacă un rol esențial în recrutarea neutrofilelor către țesutul țintă. [11,12]

Neutrofilele joacă un rol important în formarea bulelor în pemfigoidul bulos experimental și uman, existând o corelație directă între numărul de neutrofile și severitatea clinică a afecțiunii. Șoarecii la care s-a efectuat depleția de neutrofile sau întreruperea evenimentelor ce duc la acumularea acestora sunt rezistenți la pemfigoidul bulos experimental iar reducerea influxului de neutrofile cu 30% împiedică formarea bulelor. Prin incubarea tegumentului normal cu ser de pemfigoid bulos, complement și leucocite din sângele periferic, neutrofilele se dispun de-a lungul membranei bazale și ulterior

determină pierderea coeziunii dermo-epidermice fiind esențiale în detașarea dermo-epidermică la nivelul criosecțiunilor. [13,14]

Eozinofilele sunt implicate atât în inițierea cât și în progresia afecțiunii. Pemfigoidul bulos este caracterizat histopatologic printr-un infiltrat inflamator predominant de eozinofile iar o treime din pacienți prezintă eozinofile în număr crescut în sângele periferic. În lichidul din bulă au fost determinate niveluri crescute de IL-5, eotaxină, ECP, IL-3 cu rol în stimularea funcțiilor biochimice ale eozinofilelor și a eozinofiloipoziei. [9,14]

**Enzimele proteolitice:** proteinazele și radicalii liberi reactivi, proveniți din celulele inflamatorii infiltrate, au fost implicate ca molecule efectoare ce contribuie la formarea bulelor în pemfigoidul bulos. Enzimele proteolitice, incluzând: elastaza neutrofilică (NE), metaloproteinazele matriceale MMP-2, MMP-9 și MMP-13, catepsina G, colagenaza; au fost detectate în lichidul din bulă precum și în tegumentul perilezional și lezional. Un rol important îl au MMP-9 și NE, șoarecii cu deficit genetic al acestora fiind rezistenți la pemfigoidul bulos experimental. [3,15]

Se presupune că MMP-9 promovează formarea bulelor fie prin clivarea proteinelor structurale de la nivelul joncțiunii dermo-epidermice fie prin inactivarea inhibitorului fiziologic al NE, determinând nerestricționarea activității acesteia, în timp ce NE induce bulele subepidermice direct, prin clivarea BP180. [8,16]

#### **Rolul mecanismelor directe**

În pemfigoidul bulos, asociat evenimentelor umorale și celulare, sunt implicate și mecanisme directe. Legarea anticorpilor de BP180 poate declanșa formarea bulei prin competiție cu liganzii naturali și prin blocarea pozițiilor de legare alterând funcția acestor molecule. Autoanticorpul IgG de la pacienții cu pemfigoid bulos determină la nivelul culturilor de keratinocite depleția BP180 dar nu și a integrinei  $\alpha 6\beta 4$  și reduce adeziunea keratinocitelor, sugerându-se un mecanism alternativ, non-inflamator, de formare a bulelor. Recent s-a demonstrat că IgG4 și IgG1 de la pacienții cu pemfigoid recrutează și activează leucocitele la nivelul membranei bazale și induc clivarea dermo-epidermică în criosecțiunile de tegument normal.

Un alt mecanism direct îl reprezintă implicarea autoanticorpilor în activarea căilor de semnalizare intracelulară determinând inducerea de citokine proinflamatorii. Recent s-a demonstrat că autoanticorpul anti-BP180 modulează direct exprimarea IL-6 și IL-8 în culturile de keratinocite, secreția acestora putând contribui la recrutarea și activarea celulelor inflamatorii și în final la formarea bulelor. [13,16]

#### **Factori declanșatori exogeni**

**Radiațiile UV:** au fost asociate atât cu debutul afecțiunii cât și cu agravarea leziunilor preexistente și inducerea apariției de noi leziuni (mai ales la pacienții ce asociază psoriazis vulgar, în timpul efectuării fototerapiei). Mecanismul de acțiune este neclar, presupunându-se că radiațiile UV induc formarea de dimeri în ADN-ul celular determinând transcrierea mRNA-lui antigenului pemfigoidului bulos (BP-mARN). Implicarea în agravarea leziunilor preexistente presupune fie o creștere a ratei de sinteză a antigenilor pemfigoidului bulos fie o modificare a nivelurilor IgG și a complementului în zona iradiată. [17]

**Radiațiile ionizante:** reprezintă unul dintre factorii de inducere a pemfigoidului bulos. S-a sugerat faptul că radiațiile ionizante afectează constituenții membranei bazale sau „demască” structuri antigenice ce anterior erau inaccesibile sistemului imun. O alternativă o constituie existența anterioară a anticorpilor anti-membrană bazală în titruri reduse iar creșterea permeabilității vasculare, cauzată de radioterapie, amplifică depozitele de anticorpi de la nivelul membranei bazale. [18]

**Medicamentele:** în special Amoxicilina, Captoprilul, Furosemidul, Ibuprofenul, Omeprazolul, Penicilamina și Penicilina, au fost raportate ca fiind implicate în apariția pemfigoidului bulos deși rolul medicamentelor e mai puțin clar decât în pemfigusul vulgar. Se presupune implicarea unui mecanism biochimic, prin inducerea clivării dermo-epidermice la nivelul laminei lucida sau a unui mecanism imunologic, medicamentul acționând ca haptent și alterând antigenitatea laminei lucida. Afecțiunea poate asocia absența elementelor histopatologice specifice precum și a anticorpilor IgG atât în imunofluorescența directă cât și în cea indirectă. [19]

**Alți factori posibil implicați:** arsură termică sau intervenții chirurgicale, asociază apariția leziunilor buloase inițial pe zona de injurie, confirmarea diagnosticului făcându-se pe baza imunofluorescenței directe. Stimulul inițial pentru producția de anticorpi este considerat lezarea epitelului iar anticorpii produși au specificitate pentru zona traumatizată, sugerându-se că factorii locali joacă un rol important în inducția leziunilor pe zonele de injurie, la indivizii susceptibili imunologic. [16,19]

## Concluzii

În ultimii ani s-au făcut progrese considerabile în cunoașterea patogenezei pemfigoidului bulos. Înțelegerea atât a mecanismelor imunologice cât și a celor noninflamatorii de inducere a formării bulelor în pemfigoidul bulos sunt etape importante în dezvoltarea strategiilor terapeutice ale acestei afecțiuni autoimune.

Intrat în redacție: 2.11.2009

## Bibliografie

- Braun-Falco O, Burgdorf WHC, Plewig G. Braun – Falco's *Dermatology*, Third Edition, 2009, 652-656.
- Kasperkiewicz M, Zillikens D. – The pathophysiology of bullous pemphigoid. *Clinic Rev Allerg Immunol* 2007; 33: 67-77.
- Sitaru C. Bullous Pemphigoid – A Prototypical Antibody-Mediated Organ-Specific Autoimmune Disease. *J Invest Dermatol* 2009; 129: 822-824.
- Gao XH, Winsey S, Zhu X.-J. – HLA-DR and DQ polymorphisms in bullous pemphigoid from northern China. *Clin Exp Dermatol* 2002; 27: 319-321.
- Eming R, Riechers R, Christensen O. – Frequency analysis of autoreactive T-helper 1 and 2 cells in bullous pemphigoid and pemphigus vulgaris by enzyme-linked immunospot assay. *Br J Dermatol* 2000; 143: 1279-1282.
- Leyendeckers H, Tasanen K, Bruckner-Tuderman L. – Memory B Cells Specific for the NC16A Domain of the 180 kDa Bullous Pemphigoid Autoantigen Can Be Detected in Peripheral Blood of Bullous Pemphigoid Patients and Induced In Vitro to Synthesize Autoantibodies. *J Invest Dermatol* 2003; 120 (3): 1-7.
- Dopp R, Schmidt E, Chimanovitch I. – IgG4 and IgE are the major immunoglobulins targeting the NC16A domain of BP180 in bullous pemphigoid: Serum levels of these immunoglobulins reflect disease activity. *J Am Acad Dermatol* 2000; 42 (4): 577-583.
- Sitaru C, Zillikens D. – Mechanisms of blister induction by autoantibodies. *Exp Dermatol* 2005; 14: 861-875.
- Mihai S, Sitaru C. – Immunopathology and molecular diagnostic of autoimmune bullous diseases. *J Cell Mol Med* 2007; 11 (3): 462-481.
- Nelson K, Zhao M, Schroeder P, Li N. – Role of different pathways of the complement cascade in experimental bullous pemphigoid. *J Clin Invest* 2006; 116 (11): 2892-2900.
- Yancey K. – The pathophysiology of autoimmune blistering diseases. *J Clin Invest* 2005; 115 (4): 825-828.
- Schmidt E, Zillikens D. – Autoimmune and inherited subepidermal blistering disease: advances in the clinic and the laboratory. *Adv Dermatol* 2005; 16: 113-153.
- Sitaru C, Schmidt E, Petermann S. – Autoantibodies to Bullous Pemphigoid Antigen 180 Induce Dermal-Epidermal Separation in Cryosections of Human Skin. *J Invest Dermatol* 2002; 118 (4): 664-671.
- Leighty L, Li N, Liu Z. – Experimental models for the autoimmune and inflammatory blistering disease, bullous pemphigoid. *Arch Dermatol Res* 2007; 299: 417-422.
- Niimi Y, Pawankar R, Kawana S. – The role of matrix metalloproteinase (MMP)-2, MMP-9, and MMP-13 in bullous pemphigoid. *Immunol* 2004; 113 (1): S58.
- Walsh S, Hogg D. – Bullous pemphigoid - from bench to bedside. *Drugs* 2005; 65 (7): 905-926.
- Kayashima K, Koji T, Nozawa M. – Activation of Bullous Pemphigoid Antigen Gene in Mouse Ear Epidermis by Ultraviolet Radiation. *Cell Biochem Funct* 1998; 16: 107-116.
- Sheerin N, Bourke JF, Holder J. – Bullous pemphigoid following radiotherapy. *Clin Exp Dermatol* 1995; 20: 80-82.
- Baz K, Ikizoglu G, Kaya Ti, Koca A. – Furosemide-induced bullous pemphigoid. *JEADV* 2002; 16 (1): 81-82.

Adresă de corespondență:

Victorina Macovei  
Clinica de Dermatologie, Str. Clinicilor nr. 3-5, Cluj-Napoca  
E-mail: macovei\_victorina@yahoo.com