

PERCORSO ASSISTENZIALE PER LA PATOLOGIA RARA DERMATOLOGICA: “PEMFIGOIDE DELLE MUCOSE”

- a) **PREMESSA:** Il pemfigoide delle mucose (Mucous Membrane Pemphigoid, MMP) è una rara patologia bollosa a decorso cronico, che interessa prevalentemente le mucose, non ereditaria a patogenesi autoimmune.

La reale incidenza della malattia non è attualmente nota, ma il MMP risulta sicuramente più raro del pemfigoide bolloso. Il sesso femminile è colpito con maggior frequenza di quello maschile, con un rapporto tra i 2 sessi di circa 1,5:1. L'età media alla diagnosi è di 65 anni, e non sono documentate predilezioni razziali o geografiche.

Dal punto di vista clinico, la malattia dimostra una spiccata eterogeneità, ma l'elemento accomunante è rappresentato dal coinvolgimento elettivo delle superfici mucose dotate di un epitelio squamoso stratificato (in ordine di frequenza cavo orale, congiuntiva, faringe, mucose delle cavità nasali, laringe, mucose genitali, retto, esofago...) dove le lesioni, inizialmente bollose, evolvono in erosioni che guariscono con la produzione di cicatrici, sinechie e stenosi. L'interessamento esclusivo cutaneo è descritto soltanto nell'1% dei pazienti, per i quali la patologia conserva la denominazione classica di “pemfigoide cicatriziale di Brunsting e Perry”.

Il coinvolgimento oculare è particolarmente temibile, perché la compromissione secondaria della cornea, attraverso la formazione di un panno cicatriziale, può comportare conseguenze funzionali gravi e addirittura la cecità completa.

Il MMP mostra un'evoluzione relativamente benigna nelle forme esclusivamente localizzate al cavo orale, che possono essere controllate con il solo trattamento topico, ma nelle altre sedi può risultare scarsamente sensibile sia ai corticosteroidi che ai farmaci immunosoppressori, conservando perciò una prognosi severa.

Come dimostrabile nei comuni preparati istologici (peraltro non diagnostici) la bolla si forma in sede subepiteliale. La microscopia elettronica permette di localizzare la deiscenza a livello della membrana basale, dove sono situati gli antigeni del MMP, un pool variabile di proteine con funzione di coesione e ancoraggio dell'epitelio.

A livello di queste molecole si fissano in vivo gli anticorpi IgG caratteristici del MMP, che si possono reperire in circolo in una percentuale di pazienti variabile dal 15 al 30%, generalmente ad un titolo basso (1:2-1:20) che non correla con l'attività di malattia. Il

legame antigene-autoanticorpo, attivando la cascata complementare e immuno-infiammatoria (reclutamento di eosinofili e neutrofili, rilascio di mediatori proinfiammatori, insieme all'attività di linfociti T autoreattivi presumibilmente rivolti contro gli stessi autoantigeni) esita nella produzione delle lesioni bollose; la secrezione ed attività di citochine profibrotiche mediano poi l'esito cicatriziale della patologia.

- b) **PERCORSO ASSISTENZIALE ATTUALE:** nella nostra Regione i pazienti con MMP non hanno la possibilità di ottenere una diagnosi di MMP certa ma solo probabile. Infatti le indagini immunopatologiche di routine, l'IFI per l'identificazione degli anticorpi circolanti e l'IFD per la precisazione della sede di fissazione nel contesto della membrana basale, sono insufficienti in quanto positive anche in altre patologie autoimmuni della giunzione dermo-epidermica. Solo attraverso metodiche più indaginose (che vengono riservate a casi selezionati o a protocolli di studio), è possibile accertare l'esatto profilo immunopatologico della malattia, ovvero individuare gli antigeni specifici verso i quali sono diretti gli anticorpi circolanti. Pertanto, solo in un numero limitato di pazienti l'associazione dei reperti clinici e immunologici tradizionali ci consente una diagnosi sicura, negli altri solo una diagnosi di presunzione.
- c) **PERCORSO ASSISTENZIALE OTTIMALE:** non sono attualmente disponibili nella Regione Toscana alcuni accertamenti immunologici (realizzabili esclusivamente in laboratori specializzati), come la immuno-microscopia elettronica oppure test ELISA allestiti *ad hoc*, capaci di identificare la specificità antigenica degli anticorpi circolanti, specificamente rivolti all'accertamento diagnostico di questa patologia.
- d) **PERCORSO DIAGNOSTICO:** La diagnosi di MMP, sospettata sulla base della presentazione clinica e dell'evoluzione sclero-atrofica delle lesioni (caratteristica di tutte le localizzazioni eccetto quella orale), e di un quadro istopatologico compatibile, si può avvalere delle seguenti metodiche:
1. IMMUNOELETTROMICROSCOPIA/MICROSCOPIA CONFOCALE
 2. IMMUNOFLUORESCENZA INDIRETTA (IFI)
 3. IMMUNOFLUORESCENZA DIRETTA (IFD)
 4. IFI o IFD su cute splittata
 5. IMMUNOBLOTTING
 6. ELISA
- 1) L'immuno-elettromicroscopia e la microscopia confocale identificano gli anticorpi fissati in vivo con morfologia lineare a livello della giunzione tra epitelio e mucosa. Tali

metodiche, tuttavia, sono estremamente complesse e costose e presuppongono l'utilizzo di apparecchiature non disponibili nella maggior parte dei laboratori.

- 2) L'IFI, che consiste nel cimentare il siero del paziente con substrati antigenici adeguati (esofago di scimmia) permette di rilevare la presenza degli anticorpi circolanti del MMP. Come premesso, questa metodica è positiva solamente nel 15-30% dei casi ed evidenzia un pattern lineare di fluorescenza a livello subepiteliale.
- 3) L'IFD, condotta su mucosa perilesionale, evidenzia una fluorescenza a morfologia lineare a livello della membrana basale nel 100% dei pazienti. Tale deposito è costituito da IgG e complemento, da solo frammento C3 del complemento, talvolta da IgM e/o IgA. Questa tecnica, ormai utilizzata routinariamente per la sua sensibilità, non è però altrettanto specifica, perché non permette di discriminare tra MMP e altre malattie bollose autoimmuni della giunzione dermo-epidermica (PB, EBA, ...).
- 4) e 5) IFI e IFD possono essere eseguite anche su cute umana splittata, ovvero separata in corrispondenza della lamina lucida in seguito alla sua incubazione con NaCl 1M per 48h. In questo caso la fluorescenza nel MMP potrà localizzarsi sul versante epiteliale (tetto della bolla), sul versante sotto-epiteliale (pavimento di bolla), oppure su entrambi i versanti. Questo reperto è di estrema utilità perché riflette l'eterogeneità immunopatologica della malattia, a sua volta risultato dell'interessamento di diversi possibili *target antigens*. La IFD su cute splittata permette cioè di individuare più subsets di malattia, che differiscono per l'antigene coinvolto (BP180, BP230, laminina 332 -laminina 5 o epilegrina-, α 6integrina, β 4 integrina, ...) e che possiedono differenti caratteristiche in termini di localizzazione delle lesioni, comorbidità, resistenza alla terapia.
- 6) L'immunoblotting su estratti di epidermide umana permette di identificare gli antigeni del MMP attraverso il loro peso molecolare. Per quanto sensibile e specifica, tale metodica è indaginosa e viene riservata alla ricerca o dedicata allo studio di varianti immunologiche rare.
- 7) L'ELISA è una metodica che permette di riconoscere specificamente gli antigeni verso i quali sono rivolti gli anticorpi circolanti, consentendo quindi la diagnosi differenziale tra le diverse dermatosi bollose croniche della giunzione dermo-epidermica. Come detto, ad oggi sono disponibili in commercio kit ELISA capaci di riconoscere solo alcune specificità antigeniche giunzionali (BP180, BP230 e collagene VII).

PERCORSO TERAPEUTICO

Al momento attuale, data la rarità della malattia, non è possibile usufruire di linee guida per il trattamento del MMP. Tuttavia, i più recenti dati della letteratura sembrano suggerire un percorso terapeutico che distingue i casi di malattia localizzata esclusivamente al cavo orale, responsiva ai corticosteroidi topici potenti (clobetasolo propionato) o agli inibitori della calcineurina, dai casi di malattia severa polidistrettuale, nei quali è necessario introdurre un trattamento sistemico. Il farmaco di prima scelta in questi casi è il prednisone (alla dose di 1 mg/Kg/die). Nei casi in cui non si ottenga risposta terapeutica, o in pazienti nei quali sia opportuno uno “steroid sparing” possono essere introdotti in associazione agli steroidi altri farmaci (antibiotici, dapsonsone, azatioprina, ciclofosfamide, micofenolato di mofetile, farmaci biologici...) in rapporto all’esperienza clinica del prescrittore e alla risposta terapeutica.

TRADUZIONE DEI PERCORSI NELLA RETE DEI PRESIDI

I dati fin qui esaminati sul percorso diagnostico-terapeutico del MMP ci consentono di affermare che nei presidi universitario-ospedalieri della rete operanti nella nostra regione allo stato attuale è possibile effettuare una diagnosi di certezza solo in un numero limitato di pazienti. Alcune indagini non sono eseguibili in Italia (immuno-elettromicroscopia), altre (immunoblotting) sono eseguibili in altre sedi. Le indagini di laboratorio necessarie, ed in particolare l’IF su cute slittata, l’ELISA, l’IF con microscopia confocale sono ad oggi disponibili solo presso la Clinica Dermatologica della ASL 10 di Firenze.

I partecipanti alla conferenza esprimono pertanto un parere favorevole alla individuazione del laboratorio di immunopatologia cutanea della U.O. Clinica Dermatologica I della ASL 10 di Firenze come struttura di riferimento per l’intera regione Toscana.

A questo centro dovrebbero essere inviati i campioni sierici dei pazienti da parte di tutte le UU.OO. della rete per le indagini del caso.

RIFERIMENTI AD ASSOCIAZIONI LEGATE ALLA PATOLOGIA

In Italia è operativa un’associazione di pazienti affetti da pemfigo e pemfigoidi, cui possono adeguatamente far riferimento i pazienti affetti da MMP, alcuni dei quali hanno peraltro assistito alla conferenza in oggetto.

INFORMAZIONI UTILI DA COMUNICARE AI PAZIENTI

Allo stato attuale, in Toscana, il centro maggiormente attrezzato per la diagnosi di MMP è la I Clinica Dermatologica della ASL 10 di Firenze. Tutti i presidi della rete toscana possono indirizzare i loro pazienti a questo centro per approfondire e confermare la diagnosi in caso di sospetto MMP.

LINEE GUIDA / PROTOCOLLI DI RIFERIMENTO

In questa relazione abbiamo evidenziato le modalità con cui eseguire la diagnosi di MMP, le carenze attualmente presenti nella nostra Regione, le proposte operative per colmare le lacune presenti sul piano diagnostico. Dal punto di vista terapeutico, non esistendo a livello internazionale linee guida data anche la rarità della malattia, si consiglia di affidare i pazienti ai presidi della rete regionale con esperienza nella gestione delle malattie bollose autoimmuni.

BIBLIOGRAFIA

Mutasim DF. Autoimmune Bullous Dermatoses in the Elderly: an Update on Pathophysiology, Diagnosis and Management. *Drugs Aging* 2010; 27(1): 1-19.

Schmidt E, Zillikens D. Research in practice: diagnosis of subepidermal autoimmune bullous disorders. *JDDG* 2009; 7:296-300.

Mihai S, Sitaru C. Immunopathology and molecular diagnosis of autoimmune bullous diseases. *J Cell Mol Med* 2007; 11(3): 462-481.

Scully C, Lo Muzio L. Oral mucosal diseases: Mucous membrane Pemphigoid. *Br J Oral Max Surg* 2008; 46: 358-66.

Laforest C, Huilgol SC, Casson R et al. Autoimmune Bullous Diseases. Ocular Manifestations and Management. *Drugs* 2005; 65: 1767-79.