

PERCORSO ASSISTENZIALE PER LA PATOLOGIA RARA DERMATOLOGICA: “DERMATOSI BOLLOSE DEL GRUPPO DEL PEMFIGO (DBGP)”

Premessa

Le dermatosi bollose del gruppo del pemfigo (P) sono un insieme di patologie infiammatorie croniche a prognosi particolarmente severa, caratterizzate dalla formazione di bolle intraepidermiche, acantolitiche per le quali è stata dimostrata una patogenesi autoimmunologica (sono determinate cioè dall'attività di anticorpi e di linfociti T autoreattivi rivolti principalmente nei confronti di auto antigeni desmosomiali definiti col termine di desmogleine). Le intime modalità di induzione della lesione acantolitica che conduce alla perdita di adesione tra cheratinociti contigui (acantolisi) sono ancora in via di completa definizione. Si ritiene tuttavia che siano operanti più meccanismi: gli autoanticorpi anti-desmogleine determinerebbero un ostacolo all'attività adesiva degli specifici auto antigeni, e/o una fosforilazione di alcune proteine intracitoplasmatiche in grado di indurre il collasso di filamenti intermedi di citocheratine e dei filamenti di actina e di conseguenza profonde alterazioni delle strutture desmosomiali.

Come si può rilevare dalla tab. 1 e si riconoscono forme classiche di antica definizione e precisazione e forme di recente acquisizione nosografica come il P erpetiforme, il P a IgA e il P paraneoplastico. Si tratta di patologie estremamente rare con una prevalenza che viene calcolata intorno ad un nuovo caso per milione di abitanti per anno (1,2).

Percorso assistenziale attuale

Nella nostra regione la diagnosi delle DBGP viene eseguita regolarmente in tutti i presidi universitari o ospedalieri della rete attraverso indagini citologiche, istopatologiche e attraverso metodiche di immunofluorescenza (IF) diretta e indiretta.

Solo in alcuni centri il decorso della malattia viene seguito oltre che clinicamente, anche attraverso il dosaggio degli autoanticorpi circolanti anti S.I. (IF indiretta).

Solo presso l'U.O. Dermatologia I della ASL 10 di Firenze vengono eseguiti gli accertamenti necessari per precisare la diagnosi delle nuove entità cliniche di pemfigo (P erpetiforme, P a IgA e P paraneoplastico) oltre che la valutazione degli specifici autoanticorpi rivolti contro le desmogleine 1 e 3 (metodo ELISA) e contro le desmoplachine (I.F.diretta su substrati speciali come la vescica di ratto).

Percorso assistenziale ottimale

Il percorso assistenziale ottimale dovrebbe prevedere, in tutti i pazienti con d. bollose acquisite, prima una indagine citologica e istopatologia su cute lesionale e perilesionale. Accertata la presenza di acantolisi si dovrebbe procedere all'esecuzione di metodiche immunologiche di conferma. Infatti gli accertamenti citologici e istopatologici sono spesso insufficienti in quanto non ci consentono di escludere alcune dermatosi bollose acantolitiche non autoimmuni (m. di Darrier bolloso, pemfigo familiare di Haley-Haley, dermatosi bollosa di Grover) e di precisare le nuove entità nosografiche di pemfigo di recente definizione nelle quali l'acantolisi può non essere presente.

Le metodiche immunologiche di conferma impiegate nelle DBDP sono l'immunofluorescenza, la metodica ELISA, l'immunoprecipitazione e l'immunoblotting, la microscopia ottica a trasmissione e l'immuno-microscopia elettronica. Nella routine diagnostica sono utilizzate solo le prime due metodiche, le altre sono riservate alla ricerca.

L'immunofluorescenza diretta (IFD) rappresenta la metodica di primo livello, poiché presenta una alta sensibilità (superiore al 95%) e altissima specificità (purchè il prelievo bioptico sia eseguito su cute perilesionale).

L' IF indiretta (IFI) anch'essa dotata di elevata specificità e sensibilità purché si utilizzino: 1) adeguati substrati antigenici animali (esofago di scimmia o di cavia, vescica di topo); 2) coniugati anti IgG e anti IgA con rapporti ottimali tra fluorocromo (F) e proteine (P).

Deve sempre essere tenuta presente tuttavia la possibilità che in corso di numerose patologie (ustioni estese, eritemi morbilliformi da farmaci, eritema polimorfo, infezioni micetiche croniche) nei politrasfusi e nei familiari dei pazienti con pemfigo, possono essere riscontrati anticorpi definiti "pemfigo-like" capaci di determinare false positività. Si tratta di autoanticorpi non patogeni, incapaci di fissarsi in vivo sulla cute o nelle mucose, riscontrabili solo per limitati periodi di tempo e a titolo abitualmente molto basso.

Infine la metodica ELISA (enzyme-linked-immunosorbent-assay) viene considerata molto affidabile e particolarmente sensibile e specifica. Essa consente il dosaggio semiquantitativo degli anticorpi circolanti anti Desmogleina 1 e 3, i primi caratteristici delle forme di P ad acantolisi "alta" (P foliaceo e P eritematoso) la seconda delle forme di P ad acantolisi "bassa" (P volgare cronico e P vegetante). Questa metodica immunoenzimatica impiega uno spettrofotometro che confrontando l'assorbanza di ciascun campione con quella del controllo positivo, permette di ottenere un valore numerico (espresso in unità relative arbitraria per mL di siero) che rappresenta la quantità di anticorpi presenti nel siero.

Mentre le metodiche immunologiche di routine (IFI e IFD) dovrebbero essere a disposizione di tutti i centri della rete le metodiche più sofisticate destinate alla precisazione diagnostica delle

forme di pemfigo di più recente acquisizione (ELISA; IFD su substrati speciali) oppure a controllare nel tempo l'evoluzione della malattia (ELISA) dovrebbero essere riservate ad un unico centro di riferimento regionale che, sulla base dell'unanime valutazione dei presenti e della lunga esperienza maturata, dovrebbero essere affidati al Centro di Immunopatologia cutanea dell'UO Dermatologica I della ASL 10 di Firenze.

Percorso diagnostico e algoritmo diagnostico

La diagnosi delle diverse varietà di pemfigo sospettata su base clinica e isto-cito-patologica è abitualmente confermata dall'esame in IFD su cute lesionale peribollosa che risulta positivo (depositi intercellulari di IgG) nel 100% dei pazienti.

In alcune forme di pemfigo il deposito intercellulare è rappresentato solo da IgA (P a IgA) oppure il deposito intercellulare di IgG è associato a un deposito giunzionale lineare (P paraneoplastico).

In generale è dimostrabile una "compartimentalizzazione" dei depositi immunologici intercellulari che appaiono limitati agli strati più superficiali dell'epidermide nel P foliaceo, nel P eritematoso e nel P a IgA mentre sono principalmente distribuiti negli strati soprabasali nel P volgare cronico e nel P vegetante (1,2).

Una volta precisata la diagnosi di DBGP con l'IFD, altre metodiche immunologiche come l'IF indiretta e la tecnica ELISA ci consentono:

- a) di confermare i casi dubbi e le nuove varietà cliniche
- b) di precisare la diagnosi nelle forme di Pemfigo Volgare Cronico (PVC) ad esclusiva localizzazione alle mucose non visibili;
- c) di valutare la gravità della malattia e seguire l'efficacia della terapia (correlazione stretta tra titolo autoanticorpale ed evoluzione clinica della malattia)
- d) di formulare indicazioni prognostiche in soggetti clinicamente guariti.

L' IF indiretta risulta altamente sensibile purché si impieghino substrati animali idonei. Dopo decenni di sperimentazioni è ormai ben noto che l'esofago di scimmia è il substrato più idoneo per la dimostrazione degli specifici autoanticorpi presenti nel PVC e nel P Vegetante (PVe), mentre l'esofago di cavia appare il più idoneo per evidenziare gli autoanticorpi presenti nel P Foliaceo (PF) e nel P Eritematoso (PE). Infine la vescica di topo è il substrato più specifico per dimostrare la presenza nel siero di autoanticorpi antidesmoplachine che caratterizzano in modo precipuo il P paraneoplastico (1,2).

La specificità dell' IF indiretta è molto elevata tuttavia deve essere ricordato che in certe patologie infiammatorie croniche e nelle ustioni estese, nei politrasfusi e nei parenti di pazienti con pemfigo possono essere riscontrati in circolo autoanticorpi antisostanza intercellulare non patogeni (in

quanto incapaci di fissarsi in vivo sulla cute) a basso titolo o di breve persistenza capaci quindi di determinare false positività.

Infine nelle DBGP la metodica ELISA risulta estremamente sensibile e specifica. Confrontando IF indiretta ed ELISA quest'ultima è risultata molto più sensibile dell' IF indiretta e presenta il vantaggio di essere di più rapida esecuzione e meno costosa.

Se il siero viene diluito correttamente la metodica ELISA presenta inoltre la capacità di seguire fedelmente l' evoluzione della malattia e possiede un elevato valore predittivo in caso di nuove recidive.

Deve essere infine sottolineato che con questa metodica possono essere messi in evidenza autoanticorpi rivolti contro la Desmogleina 1 (specificamente ed esclusivamente presenti nel P Foliaceo e nel P Eritematoso ad esclusiva localizzazione cutanea) e contro la Desmogleina 3 (specificamente presenti nei pazienti con PVC con lesioni limitate alle sole mucose). Nei pazienti con PVC con lesioni cutaneo-mucose sono dimostrabili regolarmente sia autoanticorpi anti-Desmogleina 1 che anticorpi anti-Desmogleina 3.

L' algoritmo diagnostico per le DBGP è presentato nella Fig. 2.

Le metodiche diagnostiche da impiegare nel P ad IgA sono l' IF diretta che dimostra depositi di IgA1 a livello intercellulare, l' IF indiretta che dimostrerà in circolo autoanticorpi IgA1 a basso titolo solo in un modesto numero di casi. Con la metodica ELISA si può dimostrare che gli autoanticorpi sono rivolti sia contro la Desmogleina 1 e 3 sia contro altri autoantigeni desmosomiali come le Desmocolline 1, 2, 3 presenti specificamente nelle variante di P ad IgA con aspetto clinico a tipo "subcorneal pustular dermatosis" (1,2).

Nel P Erpetiforme con l' IF diretta sono di regola dimostrabili autoanticorpi IgG a livello intercellulare in uno dei due compartimenti: sottocorneo e/o soprabasale. Con l' IF indiretta autoanticorpi IgG circolanti sono dimostrabili molto raramente e a basso titolo. Con l' ELISA si dimostra che questi autoanticorpi sono principalmente rivolti contro la Desmogleina 1.

Infine nel P Paraneoplastico, l' IF diretta su cute perilesionale dimostra regolarmente depositi intercellulari e giunzionali di IgG, mentre l' IF indiretta su un substrato rappresentato dalla vescica di topo documenta elevate concentrazioni di autoanticorpi intercellulari anti-desmoplachine.

Infine con la metodica ELISA sono dimostrabili sia autoanticorpi anti-Desmogleina 1 e 3, sia autoanticorpi contro antigeni giunzionali come il BPAg1 (230 KD) e BPAg2 (180 KD).

Con altre metodiche immunologiche (IB) possono essere dimostrati autoanticorpi rivolti contro la Desmoplachina 1 (250 KD), la Desmoplachina 2 (230 KD), l' Enveloplachina (210 KD) e la Periplachina (190 KD) (1,2).

PERCORSO TERAPEUTICO

Come per numerose altre patologie rare anche per le DBGP non esistono linee guida approvate dalla comunità dermatologica internazionale che si fondino su studi controllati e randomizzati. Una sistematica review del Cochrane Skin Group del 2009 ha documentato che i pochi studi selezionati con queste caratteristiche appaiono di qualità non elevata e forniscono risultati definiti “inconclusive” (3).

Era comunque rilevabile:

1. una significativa attività dell' Azatioprina per os e della Ciclofosfamide per via e.v. come “steroid sparing agents”;
2. una superiorità del Micofenolato di mofetile sull' Azatioprina nel controllare l' evoluzione della malattia;
3. che l' associazione agli immunosoppressori per via generale di EGF per via topica accelerava il tempo di guarigione delle lesioni cutanee.

Nelle Tabelle 3 e 4 viene riportata la terapia classica (4,5,6) delle DBGP distinguibile in due fasi:

1. Fase di attacco (rivolto al controllo della malattia così da bloccare la comparsa di nuove bolle);
2. Fase di mantenimento (progressiva riduzione del dosaggio dei farmaci immunosoppressivi così da prevenirne gli effetti collaterali).

Di recente risultati particolarmente promettenti sono stati ottenuti nelle forme più gravi di Pemfigo con anticorpi monoclonali anti-CD20 (RITUXIMAB) che determinando una selettiva citotossicità sui linfociti B (CD20+) sono in grado di condizionare una rapida scomparsa degli autoanticorpi anti-Desmogleine (4-6).

Nella Tabella 5 sulla base delle linee guida di recente formulate dal gruppo tedesco di immunopatologia cutanea, sono indicati i criteri elettivi per l' impiego del RITUXIMAB nelle DBGP, mentre nella Tabella 6 i criteri di esclusione e nella Tabella 7 il protocollo per l' impiego pratico di questo farmaco biologico (4-6).

TRADUZIONE DEI PERCORSI NELLA RETE DEI PRESIDI

Come già rilevato, i dati fin qui esaminati sui percorsi diagnostico-terapeutici relativi alle DBGP ci consentono di affermare che in tutti i pazienti della rete è possibile effettuare la diagnosi delle forme

classiche di P. Per le forme di più recente acquisizione, per le forme localizzate alle mucose non visibili, per i casi resistenti al trattamento classico con immunosoppressori, i partecipanti alla conferenza esprimono un parere favorevole per la creazione nella nostra regione di un centro per la diagnosi e la terapia di queste rare dermatosi.

Per le competenze acquisite questa struttura di riferimento per l'intera regione dovrebbe essere individuata nella U.O. di Dermatologia I dell'Università di Firenze (con l'annesso laboratorio di Immunopatologia Cutanea).

A questo centro dovrebbero essere inviati, dalle U.U.O.O. della rete, i campioni sierici e tissutali (cutanei e mucosi) per indagini selettive di conferma o di precisazione per le forme di recente acquisizione nosologica, e i pazienti non responsivi ai trattamenti immunosoppressori abituali.

RIFERIMENTI ALLE ASSOCIAZIONI LEGATE ALLE PATOLOGIE

- Esiste attualmente una associazione italiana dei pazienti con Pemfigo e Pemfigoidi alla quale i pazienti con queste patologie possono fare riferimento (www.orpha.net).
- E' in fase di costituzione una sezione Regionale Toscana che può fare affidamento sulla disponibilità al Coordinamento Regionale Toscano per le malattie rare.

INFORMAZIONI UTILI DA COMUNICARE AI PAZIENTI

Tutti i centri universitari e ospedalieri di dermatologia facenti parte della Rete Regionale Toscana per le malattie rare sono in grado di eseguire la diagnosi ed il trattamento delle DBGP.

Per le forme più rare e di recente acquisizione e per i pazienti che mostrano resistenza ai trattamenti immunosoppressivi comuni, i referenti dei centri della Rete Toscana possono utilizzare le strutture laboratoristiche e i reparti di degenza dell' U.O. Dermatologica I della ASL 10 di Firenze.

LINEE GUIDA / PROTOCOLLI DI RIFERIMENTO

Abbiamo già evidenziato le modalità con cui eseguire la diagnosi delle DBGP (Tabella 2: algoritmo diagnostico) e le proposte operative per le forme di pemfigo più rare di recente inquadramento oppure per i pazienti che non rispondono ai trattamenti più comuni. In assenza di linee guida a livello internazionale si consiglia di utilizzare i protocolli terapeutici esposti nelle Tabelle 3, 4, 5 e di affidare i pazienti ai presidi della Rete Regionale con esperienza nella gestione delle DBGP.

TABELLA 1

DERMATOSI BOLLOSE DEL GRUPPO DEL PEMFIGO (DBGP)

1) Varietà classiche	a) Pemfigo volgare cronico (PVC) b) Pemfigo vegetante (PVe) c) Pemfigo foliaceo (PF) d) Pemfigo eritematoso (PE)
2) Forme cliniche di recente acquisizione	a) Pemfigo erpetiforme b) Pemfigo a IgA c) Pemfigo paraneoplastico

TABELLA 2

ALGORITMO DIAGNOSTICO per le dermatosi bollose del gruppo del pemfigo.

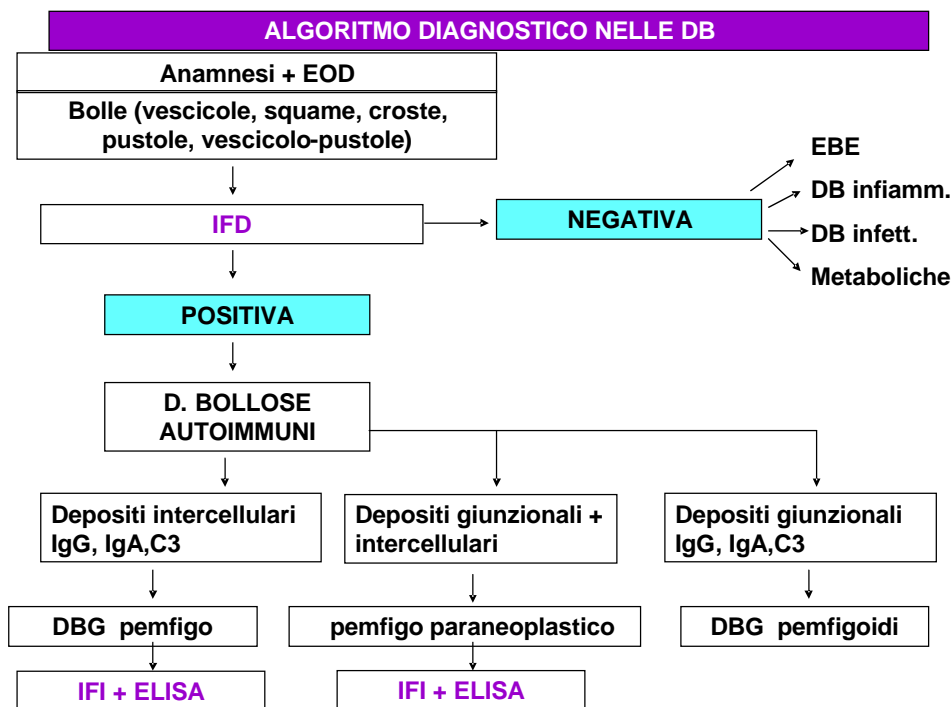


TABELLA 3

TERAPIA CLASSICA DELLE DBGP

- a) **Fase di attacco** (controllo dell'attività di malattia)
- **CCS** sistemici (1-1,5 mg/kg/ die)
 - **CCS in pulse therapy** (Prednisone 1g e.v. per 3 gg consecutivi)
 - Se non si è ottenuta risposta in 3 mesi **Micofenolato di Mofetile** (1gr/die)
 - Se non si è ottenuta risposta dopo 3 mesi **Ig e.v.** 400 mg/kg/ die per 3 giorni consecutivi ogni 4 settimane.

TABELLA 4

TERAPIA CLASSICA DELLE DBGP

- b) **Fase di mantenimento (riduzione dosaggio CCS), con l'aggiunta di farmaci adiuvanti** così da prevenire la comparsa di nuove bolle (per dosaggi sup. a 40 mg/ die ridurre 10 mg ogni settimana; per dosaggi inf. a 40 mg ridurre 5 mg ogni 2 settimane)
- Aggiunta di immunosoppressori:
 - **azatioprina** (1-3 mg/kg/ die)
 - **ciclofosfamide** (in assoc. Ig e.v. plasmaferesi)
 - **methotrexate** (2,5-5 mg ogni 12 h/sett.)
 - **micofenolato mofetile** (1 gr/die)
 - Oro, Dapsone, antibiotici (tetracicline, minociclina)

TABELLA 5

ALGORITMO PER L'IMPIEGO DEL RITUXIMAB NELLE DBGP

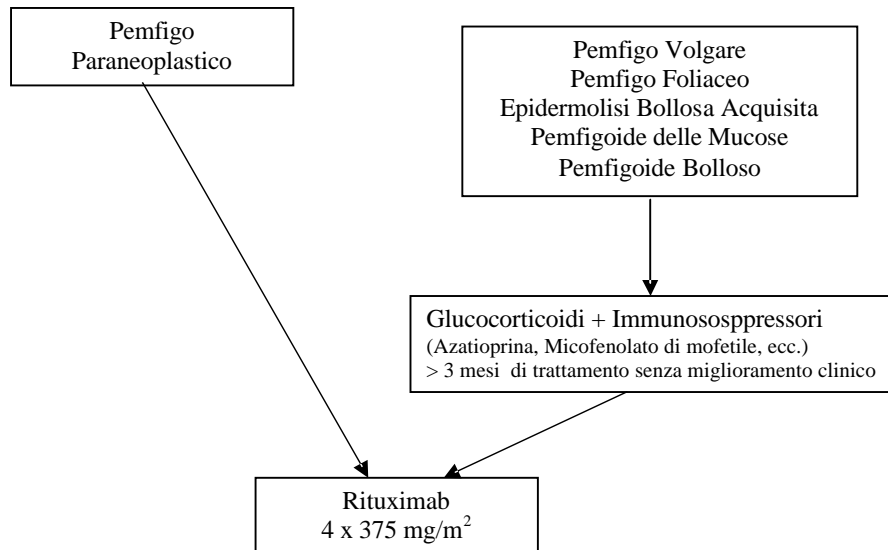


TABELLA 6

CRITERI DI ESCLUSIONE PER L'IMPIEGO DEL RITUXIMAB NELLE DBGP

Gravidanza, allattamento
Età <18 anni (vista la limitata esperienza clinica in età pediatrica)
Sensibilizzazione nota verso proteine murine
Epatite B e/o C attiva
Infezione da HIV (linfociti CD4 < 250/•L)
Grave insufficienza cardiaca
Infezioni non controllate con terapie specifiche

TABELLA 7

PROTOCOLLO PER IL TRATTAMENTO DELLE DBGP COL RITUXIMAB

Premedicazione: 1000 mg paracetamolo per os <ul style="list-style-type: none">- anti H1, per es: clemastina 4 mg ev in 500 mL NaCl allo 0,9%;- -100 mg di prednisone ev o per os (facoltativo)
Rituximab 375 mg/m ² (ai giorni: 0, 7, 14, 21) ev in 500 mL di NaCl allo 0,9% (1-4 mg/mL)
Prima infusione: 50 mg/ora, dopo 30 minuti aumentare di 50 mg/ora fino ad una velocità di infusione massima di 400 mg/ora; durata totale dell' infusione: 5-6 ore
Infusioni successive: 100 mg/ora, dopo 30 minuti aumentare di 100 mg/ora fino ad una velocità massima di infusione di 400 mg/ora

BIBLIOGRAFIA

- 1) Fabbri P: Dermatosi bollose del gruppo del Pemfigo. Monografia It Gen Rew Derm 199
- 2) Chan LC: Blistering Skin Disease. Mamson Publ, Washington DC, 2009
- 3) Martin LK, Werth V Villanueva E et al Intervention for pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus Cochrane Date Syst. Rev. 1, CD006263, 2009
- 4) Mutassim DF: management of autoimmune bullous disease J Am Acad Derm 51, 859-77, 2004
- 5) Sebaratnam D, Murrell D.F Treatment of pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus Exp Review Dermatology 4, 469-480, 2009
- 6) Daniel RS, Murrell DF: The actual management of pemphigus. G It Derm Venereol 145, 689-702-2010