



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
Corso di Laurea Magistrale in Medicina e Chirurgia

Dipartimento di Medicina – DIMED

Direttore: Prof. Roberto Vettor

Clinica Dermatologica

Direttore: Prof Mauro Salvatore Alessandro Alaibac

TESI DI LAUREA

ASSOCIAZIONE TRA PEMFIGOIDE BOLLOSO E ALLELE HLA-CW6

Relatore: Prof. Mauro Salvatore Alessandro Alaibac

Correlatore: Dott. Christian Ciolfi

Laureando: Christian Mansour

Anno Accademico 2022-2023

INDICE

ABSTRACT.....	1
SINOSI.....	2
INTRODUZIONE.....	3
1. Malattie bollose autoimmuni.....	3
1.1. Pemfigo.....	3
1.1.1. Pemfigo volgare	4
1.1.1.1. Epidemiologia.....	4
1.1.1.2. Patogenesi.....	4
1.1.1.3. Clinica	4
1.1.1.4. Diagnosi.....	7
1.1.1.5. Prognosi.....	10
1.1.1.6. Trattamento	10
1.1.2. Pemfigo foliaceo.....	12
1.1.3. Pemfigo da farmaci.....	13
1.1.4. Pemfigo paraneoplastico.....	14
1.1.5. Pemfigo ad IgA.....	16
1.2. Pemfigoide	17
1.2.1. Pemfigoide bolloso.....	18
1.2.1.1. Epidemiologia.....	18
1.2.1.2. Patogenesi.....	18
1.2.1.3. Clinica.....	19
1.2.1.4. Fattori di rischio.....	20
1.2.1.5. Diagnosi.....	21
1.2.1.6. Trattamento	22
1.2.2. Epidermolisi bollosa acquisita.....	23
1.2.3. Pemfigoide delle membrane mucose.....	25

1.2.3.1.	Epidemiologia.....	26
1.2.3.2.	Malattie associate	27
1.2.3.3.	Fisiopatologia.....	27
1.2.3.4.	Clinica.....	29
1.2.3.5.	Sistemi di classificazione.....	33
1.2.3.6.	Diagnosi.....	34
1.2.3.7.	Trattamento.....	35
1.2.4.	Dermatosi a IgA lineari.....	37
1.2.5.	Dermatite erpetiforme.....	39
1.2.6.	Pemfigoide gestazionale.....	40
1.2.7.	Lichen planus-pemfigoide.....	42
1.3.	HLA-Cw6 e autoimmunità.....	43
SCOPO DELLO STUDIO.....		46
MATERIALI E METODI.....		47
1.	Disegno e popolazione oggetto di studio.....	47
2.	Tecniche di laboratorio.....	48
3.	Analisi statistica.....	51
RISULTATI.....		52
DISCUSSIONE.....		55
CONCLUSIONI.....		58
BIBLIOGRAFIA.....		59

Abstract

Background: Bullous pemphigoid (BP) is a rare autoimmune skin disease characterized by the formation of subepidermal blisters. However, it is the most common autoimmune blistering disease, accounting for two-thirds of all subepidermal blistering diseases. BP typically affects older individuals, with an average onset between 66 and 83 years. The pathogenesis involves the production of autoantibodies targeting the BP180 and BP230 proteins in the basement membrane of the epidermis. These autoantibodies cause damage to the connection between the epidermis and the dermis, leading to blister formation. The role of the HLA-Cw6 gene has been extensively studied in the pathogenesis of psoriasis.

Study aim: The aim of this study is to evaluate the HLA-Cw6 gene in patients with bullous pemphigoid. To achieve this aim, the frequency of the HLA-Cw6 gene polymorphism will be assessed in a sample of individuals diagnosed with pemphigoid.

Materials and methods: A sample of 40 patients with bullous pemphigoid was recruited. Molecular biology studies were conducted on whole blood samples to analyze HLA alleles in patients with bullous pemphigoid. The analysis was performed using EUROArray.

Results: The results of the statistical analysis suggest that there is no significant association between the CW6 genotype and the presence of pemphigoid, as the observed differences between the healthy general population and the patients did not reach statistical significance. Additionally, it was found that only 10% of the patients included in the study tested positive for the CW6 genotype.

Conclusion: These results indicate that the CW6 genotype may not be a relevant factor in the susceptibility or progression of pemphigoid in the studied population. However, further investigations and future studies are needed to better understand the specific role of the HLA-Cw6 gene in the pathogenesis of pemphigoid

Sinossi

Background: Il pemfigoide bolloso (PB) è una rara malattia cutanea autoimmune caratterizzata dalla formazione di bolle subepidermiche. Tuttavia, è la più comune malattia bollosa autoimmune, rappresentando i due terzi di tutte le malattie bollose subepidermiche. Il PB è tipicamente una malattia degli anziani, con una presentazione media tra i 66 e gli 83 anni. La patogenesi coinvolge la produzione di autoanticorpi diretti contro le proteine BP180 e BP230 presenti nella membrana basale dell'epidermide. Tali autoanticorpi degradano le proteine emodesmosomali, portando alla formazione delle bolle. Il ruolo dell'allele di istocompatibilità HLA-CW6 è stato molto studiato nella patogenesi della psoriasi. Ad oggi, invece, non è noto il suo ruolo nell'ambito delle patologie bollose autoimmuni e, in particolare, del PB.

Scopo dello studio: Lo scopo del presente studio è la valutazione del gene HLA-CW6 in pazienti affetti da PB. Per raggiungere tale scopo, verrà valutata la frequenza del polimorfismo del gene HLA-CW6 in un campione di individui con diagnosi di PB.

Materiali e metodi: È stato reclutato un campione di 40 pazienti affetti da PB; per analizzare gli alleli HLA in pazienti affetti da PB, sono stati eseguiti studi di biologia molecolare a partire da campioni di sangue intero. L'analisi è stata effettuata tramite EUROArray.

Risultati: È stato riscontrato che il 10% dei pazienti inclusi nello studio risultavano positivi al genotipo CW6. L'analisi statistica condotta non ha evidenziato una correlazione significativa tra il genotipo CW6 e la presenza di PB. Le differenze osservate tra la popolazione generale sana e i pazienti affetti non sono risultate statisticamente significative.

Conclusione: Tali risultati indicano che il genotipo CW6 potrebbe non essere un fattore rilevante nella suscettibilità o nella progressione del pemfigoide nella popolazione studiata. Tuttavia, è necessario condurre ulteriori indagini e studi futuri per comprendere meglio il ruolo specifico del gene HLA-cw6 nella patogenesi del PB.

INTRODUZIONE

1. MALATTIE BOLLOSE AUTOIMMUNI

Le malattie bollose autoimmuni (AIBD) sono malattie autoimmuni prototipiche mediate da autoanticorpi in cui gli effetti degli autoanticorpi sono direttamente visibili sulla pelle e/o sulle mucose. Clinicamente si possono comparire vesciche, pustole, erosioni, escoriazioni ed eritema sulla cute e mucosa. possono essere suddivise in due sottogruppi in base al bersaglio degli autoanticorpi diretti contro strutture proteiche della cute:

- Nelle malattie del pemfigo, gli autoanticorpi sono diretti contro le proteine desmosomiali, che collegano le cellule cheratinocitarie/epiteliali vicine.
- Nelle malattie pemfigoidi, gli autoanticorpi attaccano le proteine della zona della membrana basale, che connettono l'epidermide/epitelio con la derma/lamina propria.^[1]

1.1 Pemfigo

Il pemfigo è un gruppo di malattie autoimmuni potenzialmente pericolose per la vita della pelle e delle membrane mucose, caratterizzate dalla formazione di vesciche ed erosioni della pelle e delle membrane mucose e istologicamente dall'acantolisi. Il processo autoimmune, diretto contro le caderine desmosomiali cheratinocitarie, interferisce con la funzione adesiva di queste molecole. Ciò provoca la separazione dei cheratinociti e la manifestazione clinica di vescicole.

Clinicamente, il pemfigo può essere suddiviso in diverse forme in base alla posizione delle lesioni nell'epidermide. Nelle forme superficiali di pemfigo [foliaceo (PF), fogo selvagem (PF brasiliano) ed eritematoso (PE)], le bolle si formano nell'epidermide appena sotto lo strato corneo, mentre nelle forme profonde di pemfigo [volgare (PV) e vegetante], gli autoanticorpi attaccano le proteine della zona della membrana basale, causando la formazione di bolle in profondità nell'epidermide. In entrambi i casi, il processo autoimmune interferisce con la funzione adesiva delle molecole, causando la formazione di bolle.^[2]

1.1.1 Pemfigo volgare

1.1.1.1 Epidemiologia

Il PV è il tipo più comune tra le malattie del pemfigo e ha un'incidenza di 0,1-0,5/100.000 nella popolazione generale.^[9]

L'incidenza del pemfigo varia geograficamente e tra le diverse popolazioni.^[3]

La maggior parte dei pazienti affetti da PV (80%) sono stati segnalati durante la quinta decade, con un picco di età compreso tra la quarta e la sesta decade di vita, ma può manifestarsi anche negli anziani o nei bambini.^[4]

Il PV è generalmente più comune nelle femmine rispetto ai maschi.^[5]

1.1.1.2 Patogenesi

L'associazione di PV con HLA di classe II, sono trovate in alleli HLA-DR4 (DRB1*0402) DRw14 (DRB1*1041) e DQB1*0503. Questi alleli sono molto importanti per fare ai linfociti T di riconoscere i peptidi di Dsg3. Principalmente gli anticorpi IgG sono depositati a livello intracellulare diretti contro i domini extracellulari Dsg3, e siccome l'epitelio orale esprime in gran parte Dsg3, compaiono lesioni orali in fase iniziale. Lo sviluppo di autoanticorpi contro i peptidi Dsg1 preannuncia coinvolgimento muco-cutaneo che al contrario di Dsg3 (trovato solo a livello orale), i peptidi Dsg1 si trovano anche a livello cutaneo. Gli anticorpi IgG coinvolti nella fase attiva della PV sono prevalentemente gli IgG4.^[6]

1.1.1.3 Clinica

L'evoluzione iniziale di PV comincia prevalentemente con lesioni ulcerative dolorose persistenti a livello della mucosa.^[7]

Le lesioni a livello della mucosa orale è il primo sito nella maggior parte dei casi. La maggioranza dei pazienti nei successivi settimane o mesi svilupperanno lesioni anche a livello cutaneo che a differenza del pemfigoide non causano prurito.^[8]

A livello toracico e dorsale le lesioni sono seborroiche distribuiti e sono più densi a livello superiore e centrale del torace e sul dorso in forma 'V'.

le vesciche intraepidermali sono più flaccide e fragile e molto frequentemente si rompono lasciando erosioni crude che possono incrostarsi. Pertanto, è importante considerare la PV in qualsiasi paziente con pelle erosa, anche se le vesciche intatte non sono evidenti.

Altre aree su cui si possono vedere vesciche sono: faccia, palpebra, cuoio capelluto e membrane mucose. A livello del cuoio capelluto, è più comune trovare lesioni coperte con croste fessurate con cui si può fare diagnosi differenziale con psoriasi.

A livello del cavo orale, il PV può colpire anche la gengive papillare, e molto spesso si vedono macchie bianche di ipercheratosi sulla mucosa (figura 1).^[7]



Fig. 1. Pemfigo Volgare: coinvolgimento mucocutaneo delle lesioni: (a) distribuzione a forma V, (b,c) erosioni crostose su cuoio capelluto, (d) interessamento gengivale, (e) macchie ipercheratosiche. (Tratto da: V. Melchionda, K. E. Harman, Pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus: an overview of the clinical presentation, investigations and management. CED Clinical and Experimental Dermatology 2019 44,pp740-746

Nella fase attiva di PV si possono indurre i segni di Nikolsky:

- Il segno diretto di Nikolsky descrive il fenomeno per cui, sulla pelle perilesionale clinicamente non appariscente, una pressione tangenziale può causare la separazione dell'epidermide dal derma.
- Un segno clinico meno specifico è il segno indiretto di Nikolsky, in cui una bolla intatta può essere spostata lateralmente e ingrandita tramite pressione digitale.

segno di Nikolsky è un segno diagnostico importante nella PV, ma non è specifico solo per questa malattia. Può anche essere presente in altre malattie autoimmuni della pelle, come il pemfigoide bolloso.^[9]

Oltre la forma classica di PV, esistono altre forme specifiche:

- Pemfigo vegetante, è caratterizzato da una predilezione per le sedi intertriginose, nonché per quelle anogenitali e nasolabiali. Si formano vesciche e pustole che nel corso del tempo si trasformano in difetti erosivi estesi. (figura 2)
- Pemfigo erpetico, è una forma rara di PV in cui compaiono vescicole raggruppate su placche arrossate. In parte, queste possono assomigliare all'orticaria e la mucosa del cavo orale è coinvolta più raramente. Questa forma di PV dovrebbe essere inclusa nella diagnosi differenziale con la dermatite erpetiforme per l'assomiglianza clinica.



Fig. 2. Pemfigo vegetante: eritema intertriginoso livido che evolve in placche vegetanti papillomatose.

(Tratto da: 19. Kneisel A, Hertl M. Autoimmune bullous skin diseases. Part 1: Clinical manifestations. JDDG J Dtsch Dermatol Ges. 2011;9(10):844–57

1.1.1.4 Diagnosi

La diagnosi di pemfigo si basa su tre gruppi indipendenti di criteri: caratteristiche cliniche, esiti istologici e analisi immunologiche. Dato che nessun criterio impiegato per diagnosticare il pemfigo è totalmente specifico, affidarsi solamente a uno o due di questi può generare equivoci. Fra gli errori più comuni vi è la confusione tra impetigine e stomatite aftosa con il pemfigo, e viceversa.^[4]

Dal punto di vista istologico il pemfigo si contraddistingue per una cattiva adesione delle cellule epidermiche, le quali perdono i loro legami intercellulari, assumono una forma arrotondata e galleggiano all'interno della cavità intraepidermica così creata (acantolisi). A livello microscopico si vedono formazione di schisi soprabasale intraepidermica e acantolisi, mentre le cellule basali rimangono attaccate alla membrana basale. Inoltre, l'acantolisi e la formazione di schisi sono confinate allo strato granuloso e, quindi, la vescica è più superficiale (figura 3).^[4]

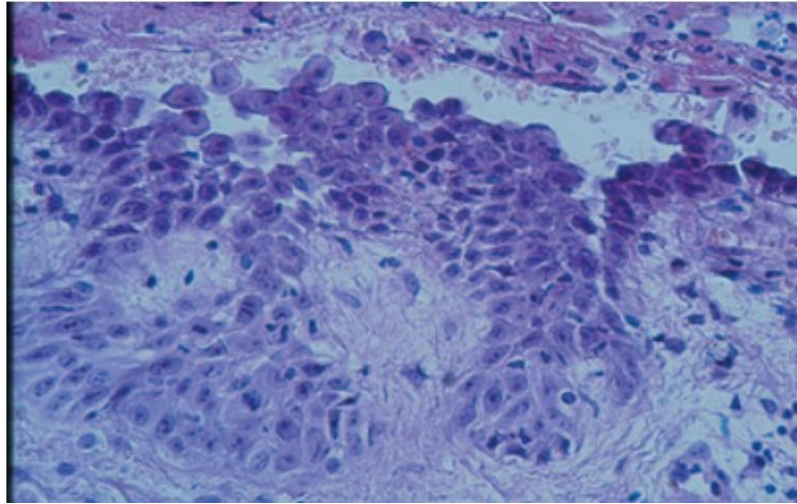


Fig. 3. Esame istologico: colorazione ematosilna ed eosina, acantolisi a livello epidermico.
(Tratto da: 14. Schmidt E, Kasperkiewicz M, Joly P. Pemphigus. The Lancet. 7 settembre 2019;394(10201):882–94)

L'analisi mediante immunofluorescenza diretta verifica la presenza di anticorpi legati ai tessuti. Questo metodo permette di evidenziare la presenza di IgG e C3 depositati sulla membrana citoplasmatica dei cheratinociti, dando luogo a un tipico aspetto a reticolo. (figura 4)

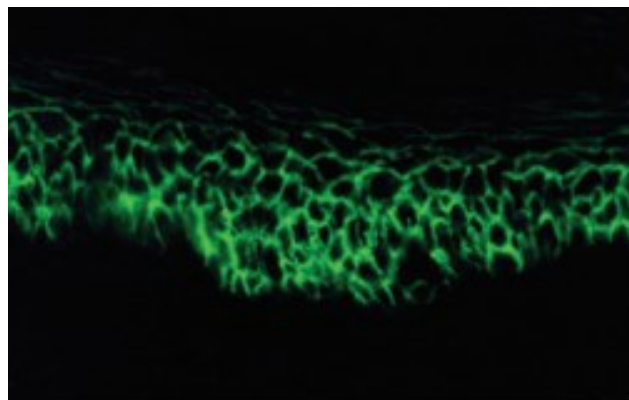


Fig. 4. Immunofluorescenza diretta: deposito di IgG sulla membrana citoplasmatica.
(Tratto da: Ota T., Aoki-Ota M., Tsunoda K., Nishikawa T., Koyasu S., Autoreactive B-cell elimination by pathogenic IgG specific for the same antigen: implications for peripheral tolerance. The Japanese Society for Immunology. 2008 Vol. 20, No. 10, pp. 1351–1360)

L'immunofluorescenza indiretta usata per identificare anticorpi circolanti nel siero identificando la presenza di IgG capaci di legarsi alla membrana plasmatica dei cheratinociti in circa l'80% dei casi con PV in fase attiva. Tuttavia, questi anticorpi potrebbero non essere individuati, specialmente nelle fasi iniziali e/o nelle manifestazioni localizzate. Inoltre, non sono completamente specifici, poiché possono essere riscontrati in alcuni casi di eruzioni cutanee da farmaci o ustioni estese. Gli anticorpi intercellulari circolanti vengono individuati attraverso questo test utilizzando come substrato la pelle umana, l'esofago di scimmia o l'esofago di cavia. Se questo test risulta negativo in un paziente sospettato di avere PV, il test dovrebbe essere ripetuto utilizzando un altro substrato.^[10]

Un altro test disponibile è il test Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) rilevato per accertare anticorpi contro Dsg-1 e Dsg-3. La presenza di anticorpi contro Dsg-3, talvolta insieme a quelli contro Dsg-1, è associata al pemfigo volgare, mentre gli anticorpi contro Dsg-1 da soli sono associati al pemfigoide foliaceo. L'ELISA è più specifico e leggermente più sensibile rispetto all'immunofluorescenza indiretta, sebbene i risultati non siano quantitativi ad alte concentrazioni di anticorpi, poiché le piastre del test si saturano.^[11]

la migliore specificità (100%) è stata mostrata dall'ELISA multiparametrico con anti-DSG1, a fronte della più bassa sensibilità (50%) nella rilevazione dell'antigene rispetto all'ELISA monospecifico. La maggiore affidabilità (87,5%) è stata riscontrata sia nell'ELISA multivariato con BP180 che con BP230.^[12]

La sensibilità dell'ELISA multivariato è del 100% nel pemfigo volgare.^[13]

1.1.1.5 Prognosi

La maggior parte dei pazienti moriva prima dell'introduzione della terapia corticosteroidica, solitamente entro un anno dall'insorgenza della malattia a causa di grave sepsi. Grazie all'impiego dei corticosteroidi sistemici, la mortalità è stata ridotta a meno del 10%, e si presume che sia ancora più vicina al 5%.^[14]

1.1.1.6 Trattamento

L'obiettivo principale del trattamento consiste nell'ottenere la remissione della malattia mediante la riduzione della risposta infiammatoria e della produzione di autoanticorpi.

La prima linea di trattamento è l'uso di corticosteroidi efficaci a ridurre la concentrazione di autoanticorpi.^[15]

La via di somministrazione preferita è quella orale e il prednisone è il farmaco più utilizzato. Il miglioramento clinico può essere osservato entro pochi giorni dall'inizio del trattamento, ma le nuove vesciche smettono di svilupparsi in 2-3 settimane^[16,17] e la guarigione completa può richiedere 6-8 settimane.^[18]

Una pratica comune è l'utilizzo combinato di farmaci adiuvanti al fine di migliorare l'efficacia della terapia e ridurre la quantità di steroidi necessari per il mantenimento, limitando così gli effetti collaterali dei corticosteroidi sistemici. Tuttavia, uno studio recente ha dimostrato che i pazienti con pemfigo volgare trattati solo con corticosteroidi hanno ottenuto risultati simili rispetto a quelli che hanno utilizzato farmaci adiuvanti.^[19] Sebbene la terapia combinata stia guadagnando popolarità come trattamento iniziale per il pemfigo, l'uso di adiuvanti è generalmente raccomandato solo in caso di effetti collaterali gravi dei corticosteroidi, controindicazioni relative o ripetute esacerbazioni della malattia.^[20]

Per evitare l'esposizione cronica a dosi elevate di glucocorticoidi, si possono utilizzare immunosoppressori noti come "risparmiatori di steroidi", come ad esempio azatioprina (1-3mg/kg/die) e micofenolato mofetile (30mg/kg-45mg/kg/die), sebbene l'azatioprina sia preferito per la sua maggiore efficacia.^[21]

La terapia immunosoppressiva a breve termine con ciclofosfamide ha dimostrato di avere un'efficacia simile ai due agenti citati, ma può ridurre la fertilità.^[22]

il Rituximab è un farmaco approvato come terapia di terza linea da NHS England che agisce come un anticorpo monoclonale chimerico umanizzato anti-CD20. In uno studio controllato randomizzato, è stato dimostrato che il Rituximab è altamente efficace nel trattamento del pemfigo. Dopo 24 mesi di trattamento con Rituximab e prednisolone per via orale, l'89% dei pazienti era libero dalla malattia e aveva interrotto qualsiasi altro trattamento, rispetto al 34% dei pazienti trattati solo con prednisolone. Questa differenza del 55% è stata statisticamente significativa e superiore ai benefici mostrati da immunosoppressori adiuvanti. Inoltre, il Rituximab riduce l'esposizione dei pazienti a dosi cumulative elevate di corticosteroidi.^[23] (Tabella I)

Therapy	
First-line	<p>Corticosteroids:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Oral prednisolone: optimal dose not established but suggest start with prednisolone 1 mg/kg/day (or equivalent) in most cases, 0.5–1 mg/kg in milder cases. • Increase in 50–100% increments every 5–7 days if blistering continues (see 'Treatment failure' for guidance on maximum dose¹) • Consider pulsed intravenous corticosteroids if > 1 mg/kg oral prednisolone required, or as initial treatment in severe disease followed by 1 mg/kg/day oral prednisolone. • Taper dose once remission induced and maintained, with absence of new blisters and healing of the majority of lesions (skin and mucosal). Aim to reduce to 10 mg daily or less <p>Combine corticosteroids with an adjuvant immunosuppressant:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Azathioprine 2–3 mg/kg/day (if TPMT normal) • Mycophenolate mofetil 2–3 g/day • Rituximab[‡] (RA protocol, 1 g × 2 infusions, 2 weeks apart)
Second-line	<p>Consider switching to alternate corticosteroid-sparing agent if treatment failure with first-line adjuvant drug¹ (azathioprine, mycophenolate mofetil or rituximab) or mycophenolic acid 720–1080 mg twice daily if GI symptoms from mycophenolate mofetil.</p>
Third-line	<p>Consider choice of additional treatment options based on assessment of individual patient need.</p> <p>Options include:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cyclophosphamide • Immunoabsorption • IVIG • Methotrexate • Plasmapheresis or plasma exchange

Tab. I. Gestione del pemfigo volgare.

(Trattato da: V. Melchionda, K. E. Harman, Pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus: an overview of the clinical presentation, investigations and management. CED Clinical and Experimental Dermatology 2019 44,pp740–746)

1.1.2 pemfigo foliaceo

Il Pemfigo Foliaceo (PF) è un altro tipo di pemfigo caratterizzato da lesioni soprattutto superficiali, a livello cutaneo, ed è suddiviso clinicamente in fogo selvagem (PF brasiliano) e pemfigo eritematoso (PE) [24]. Il PE, chiamato anche sindrome di Senear-Usher, è localizzato al livello del volto ed è caratterizzato da lesioni eritematose, squamose e ipercheratosiche, spesso con distribuzione a farfalla, somiglianti quindi al lupus eritematoso.^[25]

Il PF si manifesta in tutti i gruppi etnici del mondo, ma una forma endemica (fogo selvagem) è comune nelle regioni rurali e tropicali del Brasile. In queste aree, il rapporto tra i casi di PF e quelli di PV è di circa 20:1. Si stima che ci siano circa 15.000 pazienti affetti da fogo selvagem in Brasile. La prevalenza della malattia raggiunge il 3,4% della popolazione in alcune regioni, come la riserva amerindia di Limao Verde.^[24] Il PF può colpire persone di tutte le età, razze e sessi; tuttavia, si verifica più frequentemente in persone tra i 50 e i 60 anni. La sua incidenza è inferiore rispetto al pemfigo volgare, con solo 2-10 casi per milione di persone all'anno.^[26]

Clinicamente, nel PF le lesioni appaiono come colture ricorrenti di erosioni crostose superficiali sulla pelle a livello della parte superiore del tronco, del viso e del cuoio capelluto. Nella sua forma iniziale, il PF può imitare la dermatite seborroica. La patologia del PF è così superficiale (subcorneale) che raramente si osservano vesciche intatte. Nei casi avanzati, può verificarsi una grave esfoliazione e il quadro clinico può assomigliare all'eritrodermia esfoliativa (figura 5). Le lesioni orali sono molto rare.^[26]



Fig.5. Pemfigo foliaceo: presentazione eritrodermia esfoliativa in paziente giovane (a).

(Tratto da: M. Mehravaran, M. Morvay, K. Molnar et al., “Juvenile pemphigus foliaceus,” *British Journal of Dermatology*, vol. 139, no. 3, pp. 496–499, 1998.)

macule eritematose con erosioni crostose e vesciche sulla parte posteriore del tronco (b).

(Tratto da: Hashimoto T, Kawakami T, Koga H, Ohyama B, Hamada T, Dainichi T, et al. Therapeutic effect of mizoribine on pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus. *Dermatol Ther.* 2012;25:382–5.)

1.1.3 Pemfigo da farmaci

Il pemfigo (vulgare o foliaceo) può talvolta essere causato da alcuni farmaci, tra cui il più comune è la penicillamina. Tuttavia, ci sono molti altri farmaci che possono scatenare questa condizione, suddivisi in farmaci tiolici (captopril, enalapril) e farmaci non tiolici (penicilline, cefalosporine, piroxicam).^[27]

Anche se i sintomi e i test diagnostici sono simili a quelli del pemfigo idiopatico, il trattamento prevede la sospensione del farmaco responsabile, eventualmente associata a una terapia adeguata per il pemfigo.

1.1.4 Pemfigo paraneoplastico (PNP)

Il pemfigo paraneoplastico (PNP) è una malattia autoimmune bollosa associata a certe neoplasie, tra cui il più comune è linfoma non-Hodgkin (38,6%), seguita dalla leucemia linfocitica cronica (18,4%), la malattia di Castleman (18,4%), il timoma (5,5%), la macroglobulinemia di Waldenstrom (1,2%), il linfoma di Hodgkin (0,6%) e la gammopatia monoclonale (0,6%). Inoltre sono stati descritti in associazione i carcinomi da cellule epiteliali (8,6%), i sarcomi da linee mesenchimali (6,2%) e melanoma maligno (0,6%).^[28]

Il PNP è più frequente nell'età compresa tra i 45 e i 70 anni, ma può colpire anche bambini e adolescenti. La malattia è stata segnalata in pazienti di età compresa tra 7 e 83 anni.^[29]

Studi precedenti hanno dimostrato che gli alleli HLA-DR4 e DR14 conferiscono una forte suscettibilità a PV e PF. PNP è associato a tipi di alleli HLA diversi da questi: HLA-DRB1*03 nei pazienti caucasici, e Cw*14 nei pazienti cinesi.^[30,31]

Clinicamente PNP caratterizzata da lesioni dolorosi a livello della mucosa, a livello della cute. Inoltre, questa forma di pemfigo può colpire anche il sistema gastrointestinale e respiratorio.^[32]

1. Tessuto mucoso: Solitamente, le lesioni che colpiscono la mucosa orale sono estremamente gravi e possono portare alla formazione di erosioni e croste sulle labbra (figura 6a), molto simili a quelle riscontrate in pazienti affetti da eritema multiforme o sindrome di Stevens-Johnson. Tali lesioni possono manifestarsi in qualsiasi parte dell'orofaringe, della lingua o delle labbra, ma tendono a colpire maggiormente la lingua laterale e il vermiglio delle labbra (figura 6b). In alcuni casi, possono colpire anche altre superfici

mucose, come quelle del naso, della faringe, della laringe, dell'esofago, della congiuntiva e della regione anogenitale.^[28,32]

2. tessuto cutaneo: Le lesioni della pelle possono manifestarsi in diverse parti del corpo, principalmente sul tronco, sulla testa, sul collo e sulle estremità vicine. L'aspetto delle lesioni può variare notevolmente, il che può rendere difficile distinguere questa forma di pemfigo da altre patologie cutanee, come il pemfigo volgare, l'eritema multiforme, il pemfigoide bolloso e il lichen planus. Le lesioni possono presentarsi come macchie rosse e infiammate, placche squamose (figura 6c).^[34]
3. altri organi: A differenza di altre forme di pemfigo che colpiscono solo l'epitelio squamoso, il PNP può interessare altri tipi di epitelii, come il tratto gastrointestinale e respiratorio. ^[32] a livello polmonare le manifestazioni cliniche sono correlate a malattia polmonare ostruttiva e può evolvere in bronchiolite obliterante e morte. ^[29]



Fig. 6. PNP: erosioni e croste severe sulle labbra (a), sul bordo laterale della lingua (b) manifestazioni cutanei su estremità e dorso (c).

(Tratto da: Yong AA, Tey HL. Paraneoplastic pemphigus. *Australas J Dermatol* 2013;54(4):241-50.)

1.1.5 pemfigo a IgA

L'IgA pemfigo è una rara malattia bollosa autoimmune caratterizzata dalla deposizione di autoanticorpi IgA sulla superficie delle cellule cheratinocitarie. L'IgA pemfigo è diviso in due sottotipi principali sulla base delle caratteristiche cliniche ed istologiche: la dermatosi pustolosa subcorneale (SPD) e la dermatosi intraepidermica neutrofilica (IEN). Nonostante presentino una somiglianza clinica, le due forme differiscono per quanto riguarda gli antigeni bersaglio. Attualmente non si conosce con precisione la sua frequenza, né l'incidenza tra le diverse razze.^[34] Sembra colpire in un'ampia fascia di età inclusa da 1 mese agli 85 anni.^[35]

Il pemfigo ad IgA è una patologia caratterizzata dalla formazione di vesciche e pustole sulla pelle, causate dalla acantolisi. Inizialmente, le lesioni si presentano come bolle tese, traslucide e piene di liquido chiaro. In seguito, a causa dell'accumulo di neutrofili, le bolle si trasformano in pustole che tendono acoalizzarsi e a formare uno schema circolare, con la possibilità di sviluppare croste nella zona centrale.^[36]

1.2 Pemfigoide

Le malattie bollose autoimmuni di tipo pemfigoide si caratterizzano per la presenza di bolle sub-epidermiche e autoanticorpi circolanti diretti contro i componenti della zona della membrana basale. A differenza del pemfigo e le altre patologie correlate, questi disturbi non presentano acantolisi intraepidermica e gli anticorpi non sono diretti contro i componenti desmosomiali (figura 7). La classificazione e la gestione si basano sui reperti clinici, istologici e di immunofluorescenza. Le principali malattie ad oggi includono il pemfigoide bolloso, l'epidermolisi bollosa acquisita, il pemfigoide delle membrane mucose, la malattia lineare dell'IgA, la dermatite erpetiforme, il pemfigoide gestazionale, il pemfigoide del lichen planus e il lupus bolloso.^[37]

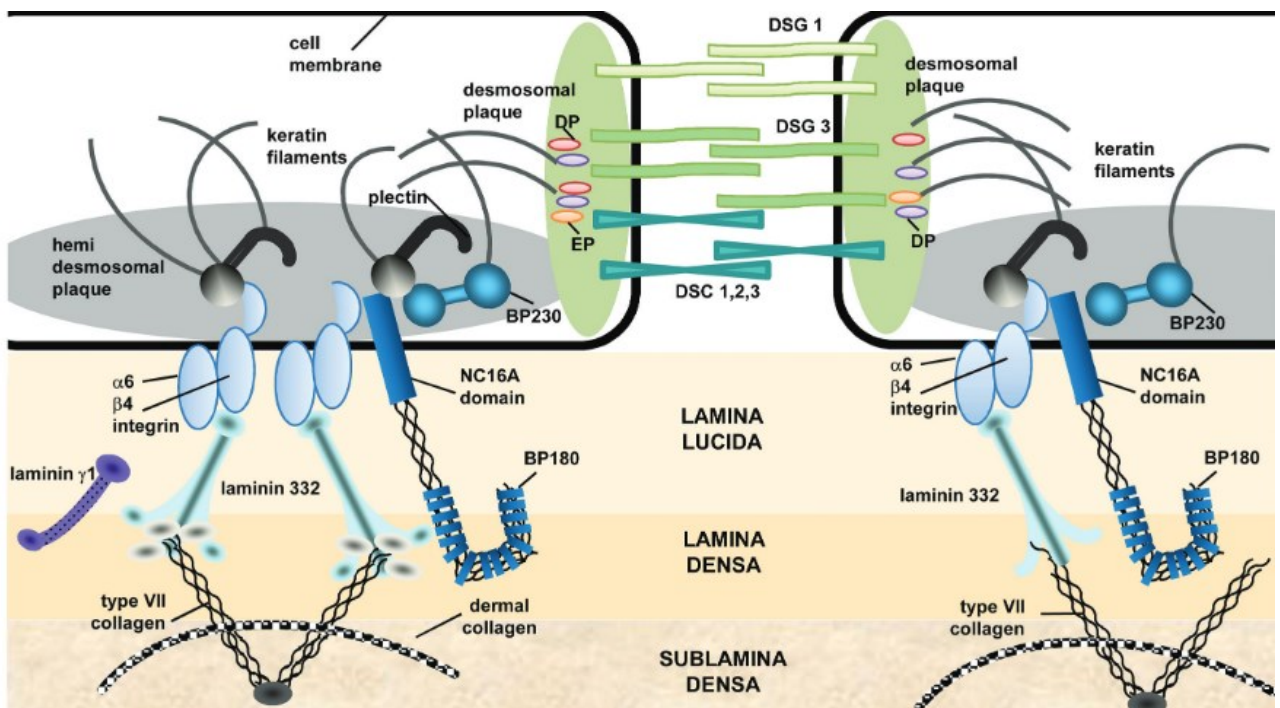


Fig. 7. Diagramma schematico degli antigeni bersaglio nei desmosomi (verde) e nella giunzione dermo-epidermica (blu).
(Tratto da: 37. Schmidt E, Zillikens D. Pemphigoid diseases. Lancet 2013; 381: 320–332)

1.2.1 Pemfigoide bolloso

1.2.1.1 epidemiologia

Il pemfigoide bolloso (PB) è la più comune malattia bollosa autoimmune, rappresentando i due terzi di tutte le malattie bollose subepidermiche.

L'incidenza annuale di pemfigoide bolloso varia da 2.5 a 42.8 per milione. L'aumento dell'incidenza nel tempo potrebbe essere attribuibile all'invecchiamento della popolazione, all'aumento del numero di malattie neurologiche e all'uso di farmaci scatenanti. Il tasso di incidenza annuale di PB in una popolazione di età superiore agli 85 anni è stato segnalato essere fino a 507/milione. PB colpisce più frequentemente le donne che gli uomini, ma questa tendenza si inverte nei pazienti di età superiore agli 80 anni.^[38]

PB è tipicamente una malattia degli anziani, con la massima incidenza dopo i 90 anni e una presentazione media tra i 66 e gli 83 anni. La probabilità di sviluppare BP in un 90enne è 297 volte superiore rispetto a un 60enne. In Germania la prevalenza di BP è stata riportata come 259 per milione di popolazione.^[39]

Esaminando l'incidenza in diversi paesi europei, in Italia si stima che ci siano 10 nuovi casi per milione di abitanti^[40], in Francia 21,7 nuovi casi per milione di abitanti tra il 2000 e il 2005 ^[41], mentre in Germania ci sono 13,4 nuovi casi per milione di abitanti.^[42]

1.2.1.2 Patogenesi

La PB è caratterizzata dalla presenza di autoanticorpi che riconoscono autoantigeni presenti nella zona della membrana basale, noti come PB180 (180 kDa) o PBAG2 e PB230 (230 kDa) o PBAG1. Entrambi gli antigeni sono componenti fondamentali dell'emidesmosoma, che è responsabile dell'adesione tra l'epidermide e la derma. BP230 è un componente intracellulare dell'emidesmosoma che appartiene alla famiglia delle proteine plakin. Gli autoanticorpi IgG reagiscono contro i domini C-terminali globulari di BP230.

BP180 è una glicoproteina transmembrana (detta anche collagene di tipo XVII) di quasi 1.500 aminoacidi con un dominio extracellulare - NC16A - il principale epitopo antigenico in PB. Oltre a NC16A, i pazienti con PB sviluppano anche autoanticorpi IgG diretti contro altri epitopi; la reattività contro gli epitopi C-terminali e intracellulari è correlata all'interessamento delle mucose durante le fasi iniziali della malattia. Quando gli autoanticorpi anti-NC16A si legano a BP180, vengono attivate diverse vie, tra cui l'attivazione e il deposito del complemento, la chemiotassi neutrofila con rilascio di proteasi ed elastasi che favoriscono la rottura della BMZ portando alla formazione di vesciche.^[37]

1.2.1.3 Clinica

Pazienti con PB Si presentano con bolle pruriginose e tese che compaiono su pelle normale o su sfondo eritematoso ed edematoso del tronco e degli arti. Queste lesioni interessano principalmente le pieghe ascellari, il basso addome, le aree inguinali e le parti interne delle cosce. Possono essere localizzate o diffuse. L'interessamento delle mucose non viene spesso rilevato ed è riportato nel 10-30% dei casi, con lesioni orali, esofagee e genitali. (figura 8)

Uno dei modi in cui si manifesta la PB è attraverso il lichen planus pemphigoid. I pazienti affetti da questa condizione possono presentare placche e papule pruriginose violacee, simili alle lesioni del lichen planus, di solito agli arti. In seguito, compaiono vesciche e bolle sulle lesioni lichenoidi e sulla pelle normale. La mucosa buccale può presentare lesioni reticolate biancastre, simili a merletti. ^[38]

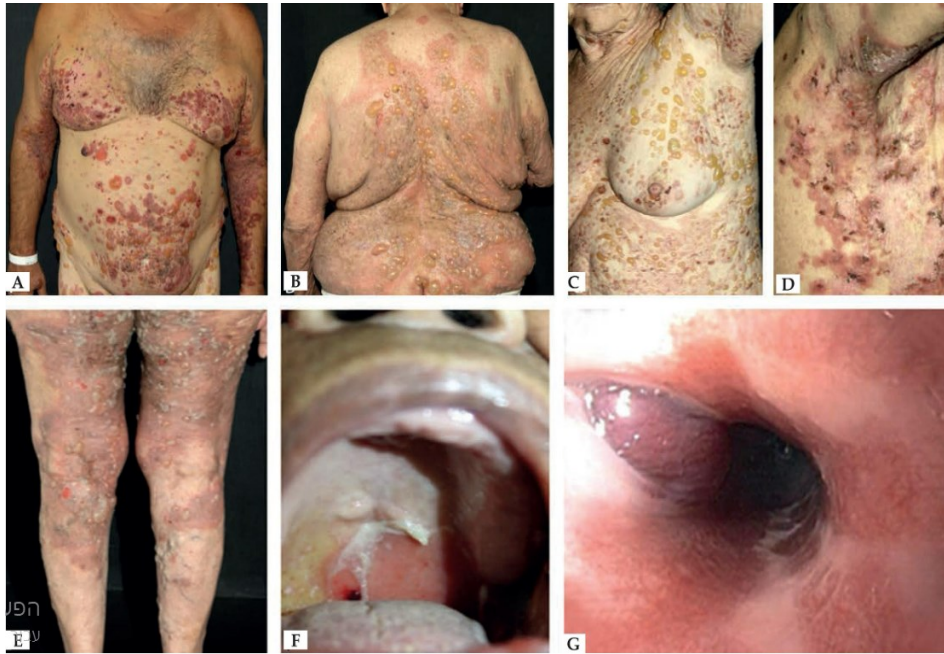


Fig. 8. Bolle tese con contenuto emorragico (A) ed ialinico (B) sul tronco e sugli arti con sfondo eritematoso ed edematoso; bolle ialiniche senza segni infiammatori (C); papule escoriate e bolle con croste nella regione ascellare (D); placche bruno-rossastre ed eritematose con bolle purulente e ialiniche in superficie (E). Coinvolgimento delle mucose - bolle ed erosioni del palato (F); bolle nell'esofago (G).
(Tratto da: Miyamoto D., Santi CG., Aoki V., Maruta CW., Bullous Pemphigoid An Bras Dermatol. 2019;94(2):133-46.)

1.2.1.4 Fattori di rischio

1. Psoriasi: Nella maggior parte dei casi riportati, la psoriasi ha preceduto l'insorgenza della PB di circa 20 anni. Inoltre, Il trattamento della psoriasi con la fototerapia potrebbe anche innescare l'esposizione degli antigeni della PB.^[44]
2. Lichen planus: I pazienti affetti da lichen planus (LP), senza IgG anti-BP 180 NC16A, possono in seguito sviluppare segni clinici e di laboratorio della PB, suggerendo che il danneggiamento delle cellule basali potrebbe esporre antigeni sequestrati, che potrebbero portare allo sviluppo della PB.
[45]

3. PB indotta da farmaci: Diversi farmaci possono indurre la PB, come gli inibitori della dipeptidil peptidasi-IV (DPP-IV), i diuretici, gli antipsicotici e gli inibitori dei checkpoint.

1.2.1.5 Diagnosi

Per giungere alla diagnosi di PB, il medico si basa sull'osservazione delle caratteristiche cliniche presentate dal paziente, come la presenza di bolle e vescicole tese, pruriginose e con contenuto emorragico o trasparente, su un fondale eritematoso ed edematoso. Tuttavia, per confermare la diagnosi, è necessario ricorrere anche alle indagini di laboratorio, che possono includere l'analisi delle lesioni cutanee mediante biopsia, immunofluorescenza diretta e indiretta e test ELISA.

La caratteristica istopatologica delle lesioni a bolle di solito si manifesta con distacco subepidermico contenente eosinofili, neutrofili e fibrina, oltre a un infiltrato infiammatorio dermico (figura 9A e 9B).

La diagnosi di PB può essere confermata tramite immunofluorescenza diretta (DIF) su un campione di pelle prelevato dalla zona peri-lesionale. La presenza di depositi lineari di IgG e/o C3 lungo la zona della membrana basale è consistente con la diagnosi di BP (figura 9C).

Indirect immunofluorescence (IIF) su esofago di scimmia mostra la deposizione lineare di IgG al giunzione dermo-epidermica e, utilizzando la pelle umana divisa con sale come substrato, la deposizione avviene sul lato epidermico della divisione (figura 9D).

È possibile quantificare anche gli autoanticorpi anti-BP180 e anti-BP230 nel siero utilizzando ELISA, l'immunoprecipitazione e l'immunoblotting. Nel caso dell'ELISA, si utilizzano proteine ricombinanti che comprendono il dominio immunodominante del BP180 (NC16A) e le porzioni relative alle due estremità del BP230 (COOH- e NH₂-terminale).^[47]

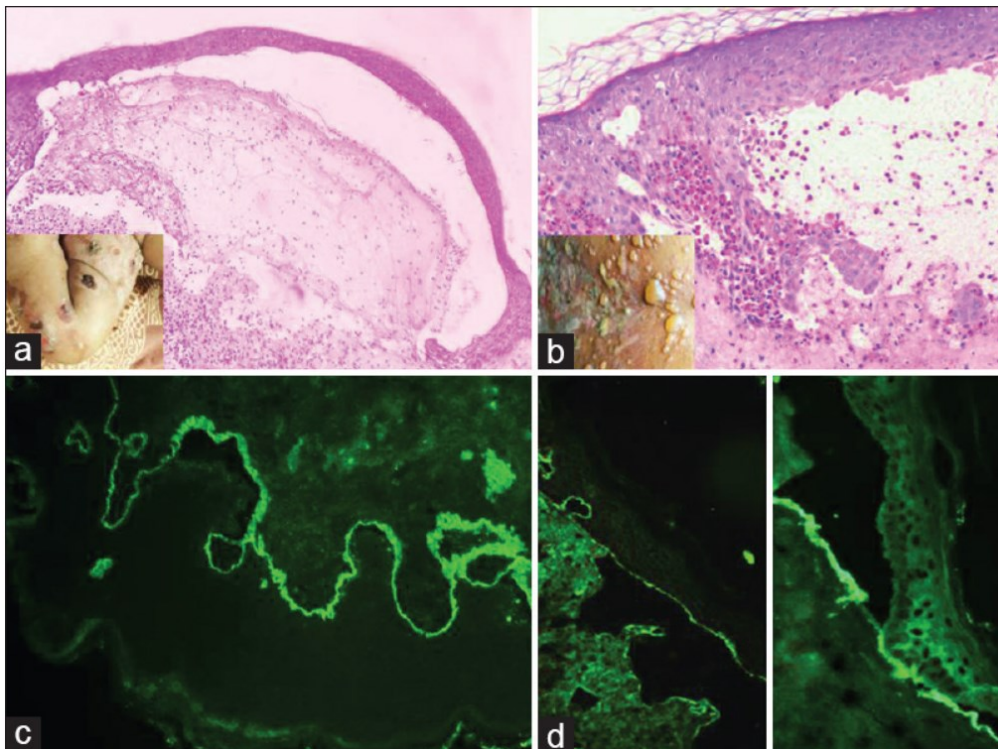


Fig. 9. Caratteristiche istopatologiche del pemfigoide bolloso - A. Spongiosi eosinofila con infiltrato dermico eosinofilo (Ematossilina ed eosina, x20); B. Distacco subepidermico riempito da eosinofili e fibrina (Ematossilina ed eosina, x20). Caratteristiche di immunofluorescenza nel pemfigoide bolloso - C. Deposizione lineare di C3 presso la zona basale della membrana basale; D. IgG legata al lato epidermico del distacco utilizzando la tecnica del salt-split skin. (Tratto da: Karmakar S., Basu K., Sengupta M., Chatterjee G., Sarkar S., Bandopadhyay M., Genetic and acquired blistering disorders of pediatric age group: An experience from Eastern India., Indian J Pathol Microbiol. 2021 Jul-Sep;64(3):509-517.)

1.2.1.6 Trattamento

L'obiettivo del trattamento della PB è di fermare lo sviluppo di nuove lesioni cutanee, favorire la guarigione di quelle esistenti e gestire il prurito. Poiché la PB colpisce principalmente gli anziani, la scelta della terapia deve essere personalizzata

in base alle comorbidità del paziente e alla sua capacità di auto-cura, al fine di evitare potenziali complicanze e un aumento della morbilità e mortalità.

In uno studio condotto su corticosteroidi topici, è stato dimostrato che la crema contenente clobetasolo è stata efficace nel controllare la malattia moderata, indipendentemente dalla quantità di crema utilizzata quotidianamente. Inoltre, è stata associata a una minor incidenza di effetti collaterali gravi e di mortalità rispetto all'utilizzo di steroidi orali.^[47]

Tuttavia, alcune limitazioni legate all'uso di clobetasolo topico includono la difficoltà di applicare autonomamente la crema sull'intero corpo, che potrebbe anche avere effetti collaterali sistemici e indurre un peggioramento dell'atrofia cutanea comunemente osservata nella pelle degli anziani. Per questi motivi, gli steroidi sistemici rimangono il trattamento di prima scelta in alcune linee guida per la gestione della PB, specialmente nei casi gravi.^[48]

La scelta di un farmaco da aggiungere ai corticosteroidi dipende dalle possibili controindicazioni, dalla necessità di ridurre la dose di corticosteroidi e dalle comorbidità del paziente, come il diabete, l'osteoporosi e i problemi cardiovascolari. Tra i farmaci considerati ci sono la tetraciclina, l'azatioprina, il micofenolato, il metotrexato, il dapsons, il clorambucile e la ciclosporina.

Nei pazienti che non rispondono alle terapie convenzionali, possono essere prese in considerazione altre opzioni terapeutiche, come l'immunoglobulina endovena, l'immunoassorbimento, gli anticorpi monoclonali anti-CD20 e anti-IgE, la ciclofosfamide e lo scambio plasmatico.^[49,50]

1.2.2 Epidermolisi bollosa acquisita (EBA)

L'Epidermolisi Bollosa Acquisita (EBA) è una rara dermatosi autoimmune causata da autoanticorpi diretti contro il collagene VII (COLVII), il principale componente delle fibre d'ancoraggio dell'epitelio squamoso stratificato.

L'EBA colpisce circa 0,2 persone su un milione. Può manifestarsi a qualsiasi età, anche se si osserva un picco bimodale nel secondo e settimo decennio di vita.^[51]

L'EBA si presenta in diverse forme, ma i sottotipi più comuni sono la forma classica, conosciuta anche come meccano-bollosa, e la forma infiammatoria, che a sua volta può essere suddivisa in diversi sottotipi, tra cui l'EBA simile al pemfigoide, l'EBA simile al MMP, l'EBA simile alla dermatosi da IgA e la forma simile al pemfigoide di Brunsting Perry.

Clinicamente la presentazione classica dell'EBA si caratterizza per lesioni meccanobollose con fragilità cutanea, bolle emorragiche tese che guariscono con la formazione di milia e cicatrici. Le sedi maggiormente colpite sono quelle suscettibili di traumi, come le mani, i gomiti, le ginocchia e i piedi. Inoltre, spesso sono interessati la mucosa orale, il cuoio capelluto e le unghie. Nella forma di EBA simile al pemfigoide si riscontrano prurito e bolle tese su pelle eritematosa o urticante, con notevole assenza di fragilità cutanea, cicatrici e milia. Nella forma di EBA simile al MMP, invece, il coinvolgimento mucosale è predominante. Nella forma simile al pemfigoide di Brunsting-Perry le lesioni sono localizzate alla testa e al collo. Infine, nella presentazione simile alla dermatosi da IgA bullous, si osservano bolle tense su pelle eritematosa o urticante.^[52]

Per distinguere l'epidermolisi bollosa acquisita dal pemfigoide bolloso, è necessario utilizzare l'immunofluorescenza diretta per valutare i depositi di anticorpi a livello della giunzione dermo-epidermica. Questa tecnica permette di evidenziare la presenza di anticorpi contro il collagene VII nell'epidermolisi bollosa acquisita, mentre nel pemfigoide bolloso si riscontrano anticorpi contro gli antigeni BP180 e BP230 (figura 10).^[38]

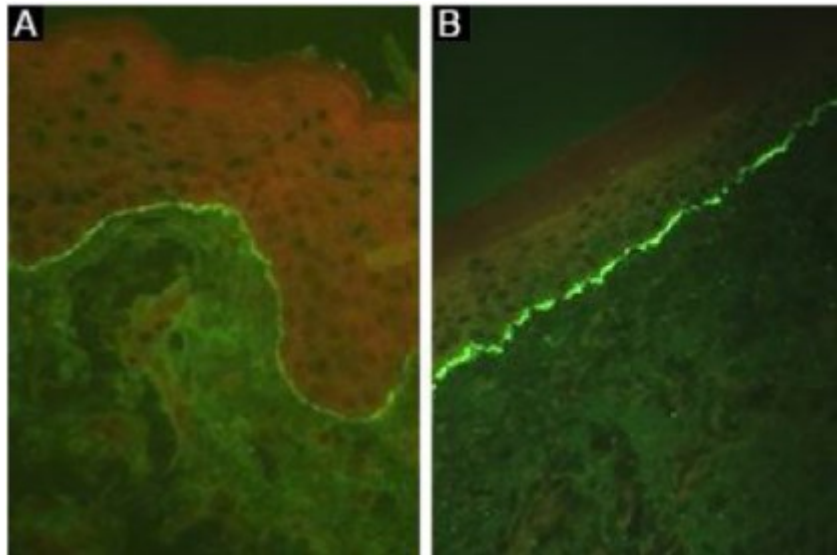


Fig. 10. L'immunofluorescenza diretta nella epidermolisi bollosa acquisita. Forte fluorescenza lineare continua nella zona della membrana basale con (A), anti-IgG e (B), anti-C3 (ingrandimento $\times 400$)
(Tratto da: Miyamoto D., Gordilho JO., Santi CG., Porro AM., Epidermolysis bullosa acquisita. Anais Brasileiros de Dermatologia 2022;97(4):409-423.)

1.2.3 Pemfigoide delle membrane mucose (pemfigoide cicatriziale)

Il pemfigoide delle membrane mucose (MMP) è un gruppo eterogeneo di malattie autoimmuni che causano la formazione di vesciche sotto lo strato epiteliale o epidermico delle membrane mucose. Queste malattie colpiscono principalmente le membrane mucose che sono vicine alla superficie del corpo, come quelle della bocca, del naso, della gola, degli occhi e dei genitali. La MMP è considerata una malattia pemfigoide perché coinvolge autoanticorpi che attaccano le proteine nella zona della membrana basale (BMZ) dell'epitelio o dell'epidermide. Il principale bersaglio di questi autoanticorpi nella MMP è la BP180, nota anche come collagene di tipo XVII, che è una proteina strutturale cruciale nella BMZ che aiuta ad attaccare le cellule epiteliali o epidermiche al tessuto connettivo sottostante. ^[33, 53]

I pazienti con MMP che presentano prevalentemente una reattività IgA, che in passato potevano essere classificati come malattia lineare dell'IgA, e quelli con

autoanticorpi contro il tipo VII precedentemente diagnosticati come epidermolisi bollosa acquisita, vengono ora diagnosticati come MMP quando sono presenti lesioni mucose predominanti. Il termine pemfigoide cicatriziale può essere utilizzato per la rara malattia pemfigoide senza lesioni mucose predominanti in cui le lesioni cutanee guariscono con cicatrici. I termini pemfigoide orale e pemfigoide oculare vengono utilizzati per i pazienti con esclusivo coinvolgimento orale e congiuntivale, rispettivamente.^[54, 55]

1.2.3.1 Epidemiologia

La MMP è una malattia rara e le informazioni sulla sua frequenza sono limitate a determinate regioni geografiche. Negli anni '90, la sua incidenza è stata stimata essere di 1,3 e 2,0/milione/anno in Francia e in Germania.^[56,57]

Successivamente, l'incidenza è stata calcolata essere di 2,0/milione/anno in regioni ben definite del Sud e del Nord della Germania.^[58,59]

L'incidenza minima di MMP oculare è stata calcolata essere di 0,8/milione/anno nel Regno Unito e di 0,7/milione/anno in Australia e Nuova Zelanda, rispettivamente.^[60,61]

Solo uno studio ha affrontato la prevalenza della MMP riportando 24,6 pazienti/milione, ovvero circa 2.000 pazienti in Germania nel 2014.^[62]

La MMP colpisce più frequentemente le donne rispetto agli uomini, con un rapporto di circa 1,5-2:1. Si tratta di una malattia che di solito si manifesta in età avanzata, con un'età media di insorgenza intorno ai 60 anni, ma può comparire a qualsiasi età. La MMP è tipicamente una malattia cronica e progressiva, che può rimanere limitata alla prima sede di insorgenza per anni e raramente va in remissione spontanea. Il trattamento di scelta dipende dalla sede e dalla gravità delle lesioni. La cicatrizzazione può essere prevenuta ma non è reversibile.^[63]

Attualmente non sono noti predilezioni razziali o geografiche nella MMP.^[64]

Si ipotizza una predisposizione genetica legata alla presenza del gene HLA-DQ7 (HLA-DQβ1*0301) nella MMP.^[65]

Nell'unico studio di associazione genomica disponibile, il gene della β -galattocerebrosidasi (GALC) è stato identificato come gene di suscettibilità non HLA nei pazienti britannici e tedeschi affetti da MMP.^[66]

1.2.3.2 Malattie associate

Dopo la prima osservazione di tumori solidi in 2 dei 5 pazienti MMP con autoanticorpi sierici contro la laminina 332 ^[67], Egan et al. hanno riportato la presenza di tumori in 10 dei 35 pazienti (29%).^[68]

L'associazione tra tumori maligni, principalmente tumori solidi, e MMP anti-laminina 332 potrebbe essere spiegata dall'aumento dell'espressione non fisiologica della laminina 332 durante la crescita e la metastasi del tumore, che potrebbe innescare una risposta autoimmune contro questa proteina.^[69]

Inoltre, Diversi studi hanno riportato un aumento del rischio di altre patologie autoimmuni, come l'anemia perniciosa, l'artrite reumatoide, la malattia autoimmune della tiroide, il lupus eritematoso sistemico e la malattia mista del tessuto connettivo.^[66,70]

1.2.3.3 Fisiopatologia

Finora, la patogenesi della MMP non è stata sufficientemente chiarita. Tuttavia, le indagini in vitro e in vivo potrebbero fare luce sull'impatto patogenetico degli autoanticorpi nella MMP (figura 11). la risposta infiammatoria nella MMP è causata dalla perdita di tolleranza del sistema immunitario alle proteine presenti nella zona della membrana basale. Questo porta alla produzione di plasmacellule che producono autoanticorpi IgG e/o IgA che circolano nel sangue e attaccano la zona basale della membrana, causando l'infiammazione tipica della MMP.^[71]

In vitro, Gli anticorpi prodotti contro il dominio NC16A di BP180 depletano più efficacemente BP180 nei cheratinociti cutanei coltivati rispetto ai cheratinociti derivati dalla mucosa orale. La deplezione di BP180 è notevolmente migliorata nei cheratinociti della mucosa orale durante l'incubazione con IgG dirette sia contro il dominio NC16A che contro il C-terminale di BP180, mentre gli IgG solo contro il C-terminale di BP180 non sono stati efficaci. L'osservazione di una deplezione

aggiuntiva di BP180 nei cheratinociti orali aggiungendo gli IgG contro il C-terminale di BP180 è stata spiegata dai livelli di espressione più elevati di BP180 nei cheratinociti della mucosa rispetto a quelli cutanei, così come da una capacità di legame compromessa tra il collagene di tipo IV e il C-terminale di BP180. Fino ad oggi, non ci sono prove dirette dell'effetto patogenetico degli anticorpi contro il C-terminale di BP180 in vivo. Poiché la formazione di cicatrici è una caratteristica distintiva della MMP, la fibrosi è stata ben riconosciuta nelle biopsie dei pazienti congiuntivali, così come nei fibroblasti congiuntivali coltivati in vitro.^[72,73]

In vivo, finora, sono stati stabiliti solo modelli animali per la MMP anti-laminina 332. Per generare anticorpi anti-laminina 332, è stato isolato laminina 332 dalla matrice extracellulare dei cheratinociti umani coltivati e somministrato come immunogeno a conigli per generare anticorpi anti-laminina 332. I topi selvatici BALB/c neonati hanno sviluppato vesciche sottocutanee non infiammatorie sull'addome, sui piedi e/o sulle orecchie entro 24 ore dopo il trasferimento di questo IgG anti-laminina 332 di coniglio. L'immunofluorescenza diretta ha rivelato depositi lineari di IgG e C3 sulla zona basale della membrana della pelle.^[94]

In esperimenti successivi su questi modelli, è stato dimostrato che i mastociti, le cellule T e l'attivazione del complemento non sono necessari per la formazione delle lesioni. In linea con ciò, i frammenti Fab di questo IgG anti-laminina 332 erano sufficienti per indurre la malattia. Quando IgG prelevati da pazienti con MMP e purificati per affinità contro la catena $\alpha 3$ della laminina venivano trasferiti sulla pelle umana trapiantata sui topi SCID, si osservavano vesciche sottocutanee non infiammatorie nel trapianto cutaneo.^[75]

L'osservazione che nella maggior parte dei pazienti affetti da MMP, le lesioni mostrano un infiltrato infiammatorio moderato o denso^[76], supporta l'idea che questi modelli non replichino completamente la malattia umana e che i meccanismi mediati dai recettori Fc possano anche essere coinvolti nella fisiopatologia della MMP.

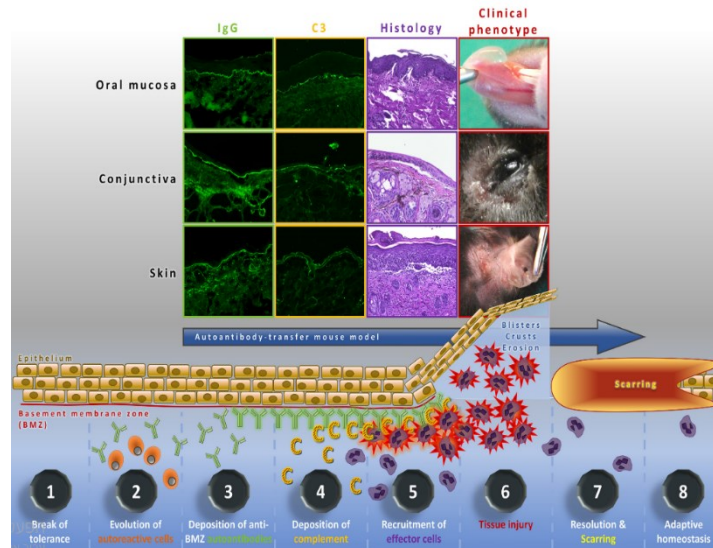


Fig. 11. Patofisiologia del pemfigoide delle mucose (MMP). Dopo meccanismi sconosciuti che portano alla rottura della tolleranza (1), avviene l'evoluzione e l'espansione di cellule autoreattive T e B (2). L'attivazione di T e B cell porta alla produzione di autoanticorpi contro le proteine strutturali della epiteliale/epidermica zona della membrana basale (3). Successivamente, il complemento viene attivato lungo la zona della membrana basale (4) aumentando il reclutamento di cellule infiammatorie come neutrofilii, eosinofili, macrofagi e cellule T (5). Granulociti e macrofagi rilasciano specie reattive dell'ossigeno e specifiche proteasi che mediano la rottura all'interno della zona della membrana basale causando lesioni tissutali con formazione di vesciche, croste ed erosioni (6). Successivamente, l'infiammazione può risolversi raggiungendo infine l'omeostasi, ma la fibrosi e la cicatrizzazione persistono (7,8). Il modello in vivo di trasferimento di autoanticorpi anti-laminina 332 di MMP mimetizza questa sequenza di eventi ad eccezione delle due prime fasi.

(Tratto da: Du G., Patzelt S., Van Beek N., Schmidt E., Mucous membrane pemphigoid. Autoimmun Rev, 21 (2022), Article 103036)

1.2.3.4. Clinica

La MMP può manifestarsi in diverse forme cliniche a seconda della gravità della malattia e delle superfici mucose colpite. Alcuni pazienti possono presentare solo lievi sintomi come arrossamento gengivale o erosioni nasali (figure 3 e 4), mentre altri possono soffrire di erosioni e ulcere orali estese che compromettono l'assunzione di cibo e causano perdita di peso (figura 3). In alcuni casi possono

essere presenti anche gravi erosioni genitali, stenosi esofagee e tracheali che mettono a rischio la vita del paziente, o congiuntiviti cicatriziali che possono causare cecità.^[77]

La mucosa orale è il sito maggiormente colpito (in circa l'85% dei pazienti). La congiuntiva è il secondo sito più frequentemente interessato (nel 65% dei casi), seguita dalla mucosa nasale (nel 20-40%), dalla pelle (nel 20-35%), dall'area anogenitale (nel 20%), dalla faringe (nel 20%), dalla laringe (nel 5-10%) e dall'esofago (nel 5-15%).^[54, 63,78]

Solitamente la mucosa orale è il sito iniziale di coinvolgimento nella MMP e le lesioni gengivali rappresentano l'80% delle manifestazioni orali più comuni. I pazienti spesso si lamentano di dolore, fastidio soprattutto durante l'assunzione di cibo, sanguinamento e sensazione di desquamazione. (figura 12) Le gengive coinvolte possono presentare da lievi, sparse e piccole macchie rosse, fino ad eritemi generalizzati con aspetto liscio e lucido, che causano la perdita della punteggiatura gengivale e l'ispessimento delle gengive lesionali, estendendosi in direzione apicale verso la mucosa alveolare. Inoltre, vescicole e/o bolle possono comparire ovunque sulla mucosa orale, compreso l'orofaringe. Le bolle possono rompersi facilmente, trasformandosi in ulcere di forma irregolare, che sono spesso coperte da una membrana di colore giallastro e circondate da un'area infiammata.
[74]

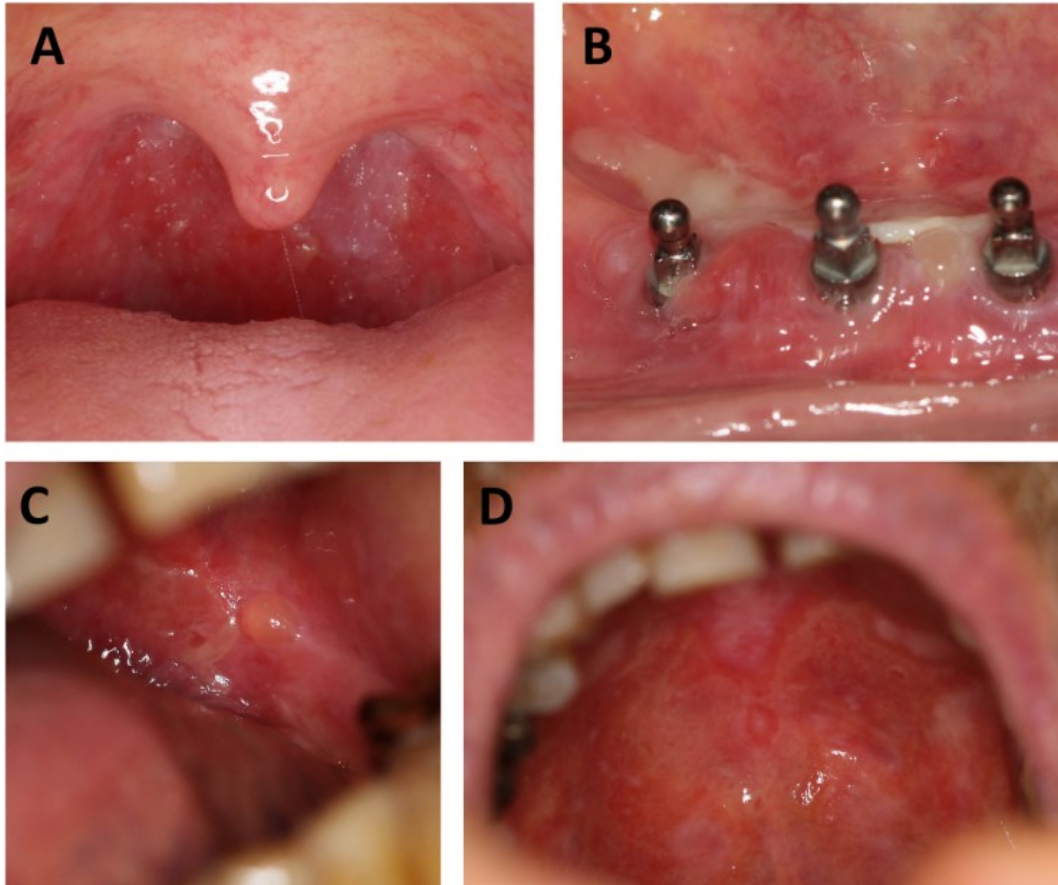


Fig. 12. La diversità delle lesioni orali nella pemfigoide delle mucose. Erosioni nell'orofaringe (A). Vesciche ed erosioni fibrinose nel pavimento della bocca e sulla gengiva (B). Una vescica tesa accanto a un'erosione sulla mucosa buccale (C) e erosioni sul palato duro (D).

(Tratto da: Du G., Patzelt S., Van Beek N., Schmidt E., Mucous membrane pemphigoid. *Autoimmun Rev*, 21 (2022), Article 103036(

Le manifestazioni oculari della MMP di solito iniziano in modo unilaterale, tipicamente con eritema congiuntivale ("red eye"). Il primo sintomo è una sensazione di corpo estraneo nell'occhio. La congiuntivite persistente, che non risponde alla terapia topica o che si ripresenta con entropion cicatriziale e tricosi, sono altri segni della MMP. [79]

La maggior parte dei pazienti mostra sintomi di infiammazione cronica o subacuta e cicatrizzazione graduale. Solitamente il primo segno della MMP è rappresentato da cicatrici nella zona mediale del canto, con perdita della plica e della caruncola.

Nei stadi avanzati, i pazienti manifestano sintomi di simblefaron ed entropion cicatriziale, che sono seguiti da anchiloblefaro e cicatrici dei dotti lacrimali (figura 13).^[80]

In almeno il 35% dei pazienti, la mucosa della cavità nasale viene colpita. I sintomi possono variare dall'eritema appena visibile fino alle erosioni e alle ulcere, che sono spesso coperte da croste emorragiche (figura 13). Con il tempo, le lesioni nasali guariscono formando cicatrici che possono portare alla perforazione del setto nasale. I pazienti possono sperimentare secchezza nasale, sanguinamento dal naso, difficoltà respiratorie nasali e la presenza di sangue quando si soffia il naso.^[54, 81]

Le lesioni cutanee sono riscontrate nel 20-35% dei pazienti e si manifestano principalmente sul tronco superiore e sulla testa, compresi viso, collo, cuoio capelluto, ascelle, spalle e arti inferiori. Le lesioni possono avere un aspetto simile a quelle del pemfigoide bolloso o dell'epidermolisi bollosa acquisita, ma di solito non sono estese e guariscono con cicatrici, con formazione di milia. (figura 13).^[53, 54]

La faringe (20%) il laringe (20%), l'esofago (5-15%) e la regione ano-genitale (20%) sono meno frequentemente colpiti. Le lesioni faringee si manifestano con odinofagia e coinvolgimento iniziale del laringe come raucedine.^[82]

La malattia esofagea diventa sintomatica con disfagia, odinofagia e bruciore di stomaco. Le lesioni ano-genitali di solito si presentano come erosioni dolorose (figura 13).^[83]

La cicatrizzazione può portare alla fusione delle labbra e alla riduzione dell'introito con cicatrici allo stadio avanzato. Le lesioni tracheali possono causare un grave compromissione respiratoria ma sono osservate solo raramente.^[84]

Il coinvolgimento dell'uretra e dell'area perianale è raro ma è una manifestazione ben descritta di MMP.^[83]

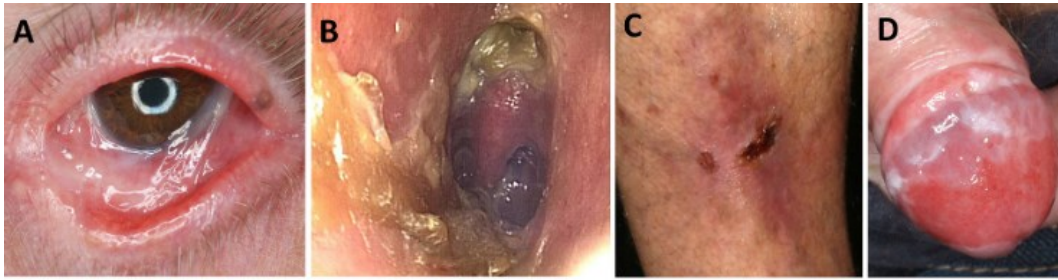


Fig. 13. Manifestazioni extraorali della pemfigoide delle mucose. Cicatrici oculari con sinechia e accorciamento del fornice inferiore (A). Erosioni e ulcerazioni fibrinose coperte di croste nella cavità nasale sinistra (B). Croste e cicatrici sulla gamba inferiore (C) e sul glande del pene (D).

(Tratto da: Du G., Patzelt S., Van Beek N., Schmidt E., Mucous membrane pemphigoid. *Autoimmun Rev*, 21 (2022), Article 103036)

1.2.3.5 Sistemi di classificazione

Un panel di esperti internazionali ha proposto il MMP Disease Area Index (MMPDAI) che permette di valutare la gravità delle lesioni della pelle in 12 siti anatomici, delle lesioni mucose in 10 siti e di entrambi gli occhi. È importante notare che anche i non oftalmologi possono valutare le lesioni congiuntivali tramite questo indice.^[85]

È stato istituito l'Oral Disease Severity Score (ODSS) per la valutazione della gravità delle malattie orali in MMP, lichen planus e pemphigus vulgaris, che si è dimostrato facile da usare, affidabile e riproducibile. L'ODSS comprende 17 siti nella cavità orale; l'attività della malattia di ogni sito e il dolore soggettivo dei pazienti vengono valutati su una scala da 0 a 160.^[86]

Il sistema di classificazione di Foster è relativamente semplice e potrebbe essere utilizzato anche da dermatologi e specialisti in medicina orale. I sistemi di Mondino e Tauber richiedono la misurazione della profondità del fornice e consentono una migliore documentazione della progressione della malattia. Inoltre, è stato

sviluppato uno strumento di valutazione della congiuntivite cicatrizzante, un metodo semi-quantitativo che è stato validato in MMP.^[87]

1.2.3.6 Diagnosi

Il pemfigoide benigno delle mucose può essere confuso con altre patologie come l'epidermolisi bollosa acquisita, il pemfigo volgare (figura 14), la malattia da depositi lineari di IgA, il lupus eritematoso sistemico (LES) e il pemfigoide bolloso. Tuttavia, la diagnosi di pemfigoide cicatrizzale richiede la conferma attraverso esami istologici, immunopatologici e sierologici.

In particolare, l'analisi istologica di una lesione evidenzia la presenza di un denso infiltrato infiammatorio sottomucoso composto principalmente da linfociti, eosinofili e neutrofili, mentre la cicatrizzazione può essere rilevata tramite la fibrosi sopra le papille. L'immunofluorescenza diretta del tessuto perilesionale mostra la presenza di depositi lineari di IgG e C3 lungo la giunzione dermo-epidermica, mentre le indagini sierologiche tramite immunofluorescenza indiretta e immunoblotting possono essere utilizzate per confermare la diagnosi.^[42]

La diagnosi del pemfigoide cicatrizzale oculare si basa sull'analisi dell'anamnesi e del quadro clinico del paziente, e viene confermata tramite l'uso della tecnica di immunofluorescenza diretta e indiretta. Nel caso in cui ci sia il sospetto di una possibile malattia del tipo OCP, si consiglia di effettuare una biopsia della congiuntiva o della membrana buccale, che verrà poi analizzata tramite un esame immunoistochimico. È preferibile effettuare la biopsia della congiuntiva nella zona superiore del quadrante temporale, in modo da minimizzare il rischio di cicatrici.^[81]

Identificare la presenza di pemfigoide nei primi stadi della malattia può risultare complesso, ma è di fondamentale importanza poiché iniziare una terapia tempestivamente può migliorare notevolmente la prognosi visiva del paziente.^[88]

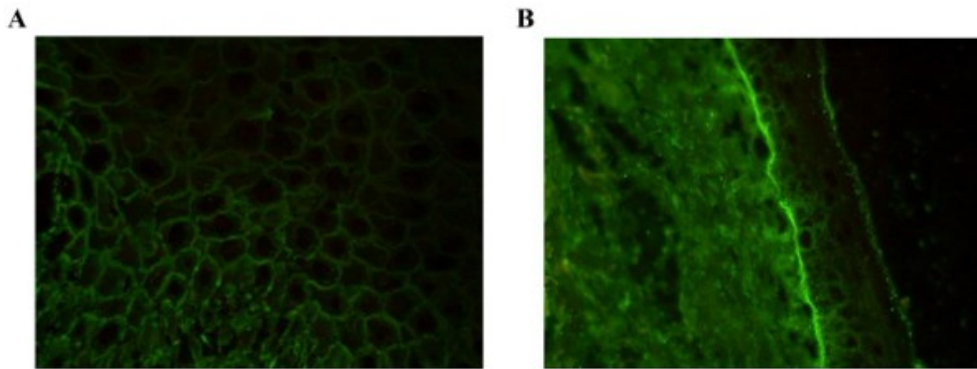


Fig. 14. L'analisi diretta di immunofluorescenza di una biopsia cutanea mostra il legame degli autoanticorpi alla superficie dei cheratinociti, con un aspetto tipico e suggestivo a forma di "rete da pesca" nei pazienti con PV (A) e il legame degli autoanticorpi lungo la membrana basale senza coinvolgimento di cheratinociti soprabasali nei pazienti con MMP (B).

(Tratto da: A Buonavoglia, P Leone, R Dammacco, et al. Pemphigus and mucous membrane pemphigoid: an update from diagnosis to therapy. *Autoimmun Rev*, 18 (4) (2019), pp. 349-358.

1.2.3.7 Trattamento

Per orientare le decisioni terapeutiche nella MMP, si valuta l'estensione della malattia e il rischio di cicatrici. Per la MMP lieve/moderata, definita come MMP con coinvolgimento esclusivo della mucosa orale con o senza lesioni cutanee, il trattamento topico può essere sufficiente, mentre la MMP grave con coinvolgimento della mucosa degli occhi, del naso, della faringe, della laringe, dell'esofago o della trachea con o senza coinvolgimento della mucosa orale e/o della pelle richiede un trattamento sistemico per fermare l'infiammazione e prevenire la formazione di cicatrici (ulteriori).^[55]

Per le forme lievi o moderate, Il trattamento può essere iniziato con corticosteroidi topici super-potenti, come il clobetasolo o il triamcinolone acetinide, applicati una o due volte al giorno. In caso di risposta insufficiente o coinvolgimento orale esteso,

vengono aggiunti immunomodulatori come la dapsonsone (1,0-1,5 mg/kg/die), tetracicline o metotrexato. I pazienti con MMP lieve/moderata e un decorso refrattario della malattia vengono trattati con corticosteroidi orali combinati con dapsonsone, tetracicline o metotrexato, ma sono anche raccomandati azatioprina e in particolare micofenoli, come il micofenolato mofetile (2 g/die) e l'acido micofenolico sodico (1.440 mg/die).^[55]

Per le forme severe invece, il farmaco dapsonsone (1,0-1,5 mg/kg/d) viene combinato con il ciclofosfamide orale (2 mg/kg/d) o corticosteroidi (0,5-1,5 mg/kg/d). Entrambi questi ultimi farmaci possono essere somministrati anche come terapia a impulsi intravenosi (dexametasone 100 mg/d per 3 giorni consecutivi ogni 4 settimane; ciclofosfamide 500 mg ogni 4 settimane). L'uso prolungato di questi farmaci è limitato a causa degli effetti collaterali specifici. Tuttavia, soprattutto nei casi di coinvolgimento oculare, l'uso del ciclofosfamide è stato associato a una rapida risposta e a una remissione prolungata. ^[55, 89]

Anche se non è incluso nelle linee guida S3 come terapia per la MMP grave, i corticosteroidi sistemici con o senza dapsonsone possono essere combinati con azatioprina (1,5-2,0 mg/kg/d) o micofenolo, con il micofenolo che mostra una migliore responsività e profilo di sicurezza rispetto all'azatioprina. ^[89]

In situazioni in cui la MMP grave non risponde alle terapie standard, è stato riportato l'uso del rituximab a dosaggi di 375 mg/m² per quattro settimane consecutive o di 1.000 mg somministrati due volte con un intervallo di 14 giorni. Questo trattamento viene utilizzato principalmente in combinazione con altri farmaci immunosoppressivi e il dapsonsone, ma può essere impiegato anche come monoterapia. ^[55,90]

Come terapia di terza linea per la MMP grave, le immunoglobuline intravenose adjuvanti rappresentano una scelta terapeutica efficace. Queste vengono somministrate in un periodo di 2-5 giorni ogni 4 settimane a dosaggi di 2 g/kg. Le immunoglobuline intravenose adjuvanti mostrano un profilo di sicurezza accettabile e possono essere utilizzate anche nei casi di MMP associata a una neoplasia. ^[55, 91]

Nella malattia oculare associata alla MMP L'uso di lubrificanti è utile per prevenire l'occhio secco e ulteriori irritazioni, mentre l'igiene delle palpebre è importante per raggiungere questo obiettivo. Nel caso di trichiasi, la rimozione delle ciglia può essere necessaria per minimizzare il trauma. Le gocce oculari contenenti corticosteroidi e ciclosporina A sono spesso utilizzate per ridurre l'infiammazione della congiuntiva.^[55,79]

1.2.4 Dermatosi a IgA lineari

La dermatosi bollosa da IgA lineari (LABD) è una malattia autoimmune bollosa rara che può comparire sia in età pediatrica che adulta. Può essere associata a farmaci, infezioni e neoplasie. La forma che colpisce i bambini è chiamata dermatosi bollosa cronica dell'infanzia e solitamente interessa i bambini di età compresa tra i 6 mesi e i 6 anni. In genere, questa forma della malattia si risolve spontaneamente. L'associazione della malattia con i geni HLA B8, Cw7, DR2 o DR3 è stata riscontrata in molti casi.^[92]

La dermatosi bollosa cronica indotta da farmaci presenta caratteristiche cliniche e istologiche simili alla forma idiopatica della malattia, anche se sembra che sia più probabile che assuma l'aspetto della necrolisi epidermica tossica, con la presenza del segno di Nikolsky e di erosioni più estese. Non sono presenti anticorpi anti-BMZ IgA nel sangue. Tra i farmaci che possono causare la dermatosi bollosa cronica indotta da farmaci ci sono la vancomicina, il captopril, la fenitoina, l'amiodarone, gli antibiotici e i farmaci anti-infiammatori non steroidei.^[93]

I sintomi clinici e le caratteristiche istologiche della dermatosi bollosa cronica indotta da farmaci si risolvono rapidamente con la sospensione del farmaco responsabile.^[92]

L'adulto affetto da dermatosi bollosa cronica presenta solitamente sintomi polimorfi come erosioni, escoriazioni e noduli pruriginosi. Le manifestazioni cutanee più comuni sono rappresentate da bolle emorragiche o tese che possono svilupparsi su una base urticata. In alcuni casi, le bolle possono formarsi in modo annulare e disporre in forma di "cluster di gioielli" ("cluster of jewels") o "fila di perle" ("string of pearls") intorno a bolle preesistenti (figura 15a). Nella forma pediatrica,

invece, sono maggiormente interessate le aree anogenitali, perineali, addominali, delle mani e dei piedi. Negli adulti, le zone maggiormente colpite includono le superfici estensorie, le natiche e le aree periorali.

Dal punto di vista istologica, è caratterizzata da una vescicola subepidermica con un infiltrato neutrofilico e deposizione lineare di IgA lungo la zona della membrana basale (BMZ) visibile anche nella immunofluorescenza diretta (DIF). Inoltre, ci sono autoanticorpi circolanti di classe IgA contro la BMZ, e la salt skin split sulla immunofluorescenza indiretta (IIF) mostra legame di IgA sul lato epidermico (figura 15b). Il trattamento consiste in dapsonsone, colchicina o prednisolone.^[92]

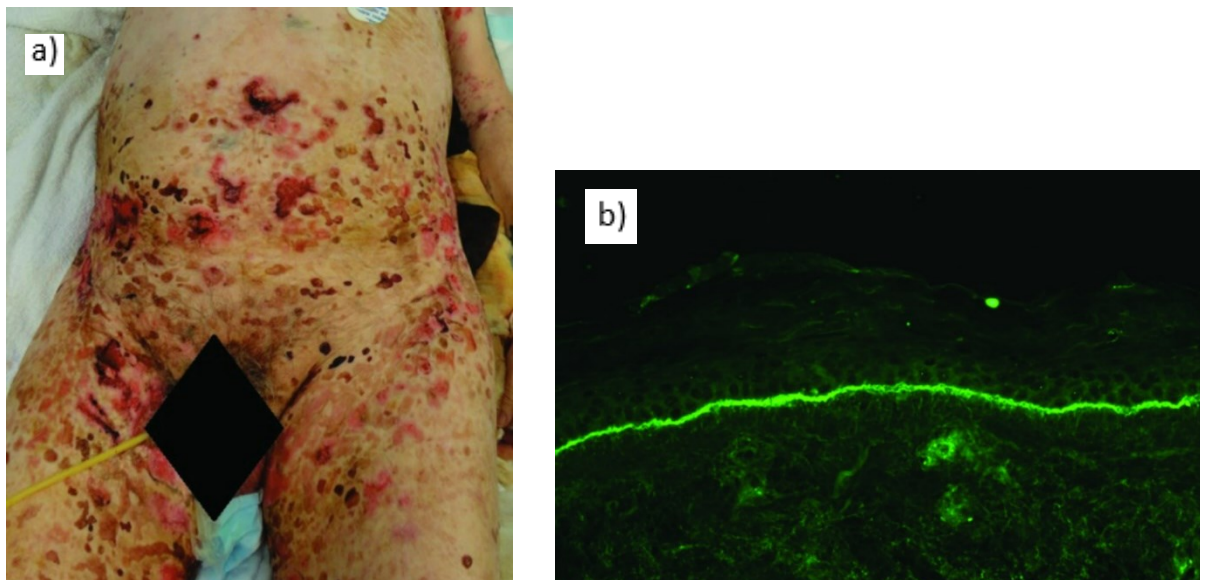


Fig. 15. Bolle tese ed erosive a forma di "fila di gioielle" (a), immunofluorescenza diretta con presentazione di IgA lungo la zona della membrana basale.

(Tratto da: Chen S, Mattei P, Fischer M, Gay JD, Milner SM, Price LA. Linear IgA bullous dermatosis. *Eplasty*. 2013;13:ic49)

1.2.5 Dermatite erpetiforme (DE)

La dermatite erpetiforme (DE) è una malattia cronica che può comparire in qualsiasi momento della vita, ma si verifica più comunemente tra i 25 e i 55 anni, con un rapporto maschi/femmine di 2:1. L'incidenza annuale è di circa 1 nuovo caso per milione di persone.^[42]

La sintomatologia principale della dermatite erpetiforme è spesso un prurito acuto, bruciante o pungente. Spesso compaiono improvvisamente eritemi urticariali pruriginosi, ma anche papule e vescicole raggruppate in modo "erpetiforme". Le caratteristiche cliniche sono in genere polimorfiche, con vescicole, pomfi, papule, erosioni, escoriazioni e cicatrici; raramente si verificano lesioni cutanee eczematose o grandi vesciche. Di solito c'è un coinvolgimento cutaneo disseminato simmetricamente.^[94]

Le modificazioni istopatologiche includono una vescica subepidermale con infiltrato neutrofilico predominante, sebbene possano verificarsi eosinofili. A differenza di altre malattie autoimmuni bollose, nella DE non ci sono autoanticorpi circolanti verso componenti della pelle. Invece, ci sono autoanticorpi di classe IgA contro la transglutaminasi tissutale 2 e 3 trovati anche nella malattia di celiachia.^[95]

La dermatite erpetiforme è considerata una manifestazione cutanea della malattia celiaca, data la presenza di somiglianze genetiche (HLA-DQ2 e DQ8), di alterazioni istopatologiche del intestino tenue e miglioramento con la restrizione del glutine. Tuttavia, le alterazioni del tenue come la presenza di linfociti intraepiteliali e l'atrofia dei villi non sono così marcate come nella malattia celiaca. La DE è associata e preceduta da altre malattie autoimmuni come il diabete mellito di tipo 1, il vitiligio, la tiroidite autoimmune, l'alopecia areata, l'anemia perniziosa e il LES.^[96]

Dapsone e colchicina vengono utilizzati come prima linea di trattamento, spesso con una rapida risposta. È importante sottolineare che solo le manifestazioni

cutanee (e non i sintomi intestinali) migliorano con il dapstone, generalmente con una risoluzione entro 3 giorni.

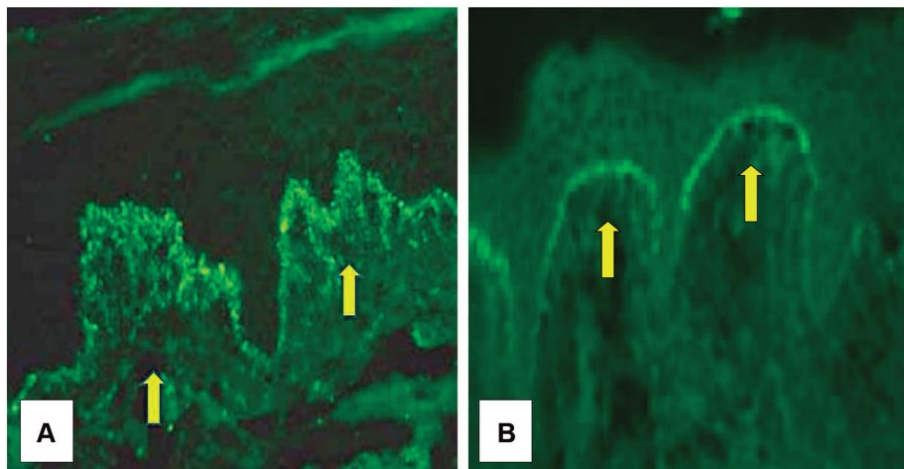


Fig. 17. Immunofluorescenza diretta che mostra la presenza di IgA nella pelle non affetta come deposito granulare di IgA nelle papille dermiche (A) e deposito granulare continuo lungo l'unione dermo-epidermica (B).

(Tratto da: Gracia C., Araya M., Dermatitis herpetiformis and celiac disease Rev Med Chil. 2021 Sep;149(9):1330-1338.

1.2.6 Pemfigoide gestazionale (PG)

Pemfigoide gestazionale (anche chiamato herpes gestazionale) può manifestarsi durante qualsiasi fase della gravidanza, anche se è più comune nel secondo e terzo trimestre. Colpisce circa 1 su 50.000-60.000 gravidanze e di solito si verifica nelle donne intorno ai 30 anni. I pazienti con questa condizione presentano un'incidenza maggiore di HLA DR3, DR4 e HLA-B8.^[97]

Clinicamente simile alla PB (pemfigoide bolloso), i pazienti sviluppano un'eritema pruriginoso che evolve in papule e placche urticariali, progredendo in papulo-vescicole e vescicole tese. (figura 18a e 18b)

Le caratteristiche istologiche sono correlate con la morfologia clinica. Le placche urticariali mostrano infiltrato linfocitico e istiocitico perivascolare con edema dermico, infiltrato eosinofilo e spongiosi. Le vescicole tese mostrano una zona di separazione dell'epidermide con infiltrato eosinofilo e spongiosi.

L'esame di immunofluorescenza diretta mostra una deposizione lineare di C3 e/o IgG lungo la zona della membrana basale (BMZ). La maggior parte dei pazienti presenta autoanticorpi circolanti di classe IgG contro la BMZ mediante il test di immunofluorescenza indiretta (IIF).

Il BP180 è l'autoantigene maggiormente coinvolto nell'ELISA e nell'immunoblotting, anche se a volte è coinvolto il BP230. Il BP180 è presente sia nella pelle che nella placenta. L'eosinofilia periferica può essere utilizzata anche per correlare l'attività della malattia. (figura 18c-f)

A causa del trasferimento placentare di autoanticorpi, il PG neonatale si verifica nel 2,8%-15% dei casi e si presenta con placche urticariali o vescicole che tendono a risolversi spontaneamente entro un mese.^[97, 98]

Dopo la gravidanza, il PG si risolve spontaneamente, ma è comune un peggioramento immediatamente dopo il parto. Le vescicole e le placche urticariali richiedono in media 4 e 14 settimane, rispettivamente, per risolversi senza lasciare cicatrici.^[97]

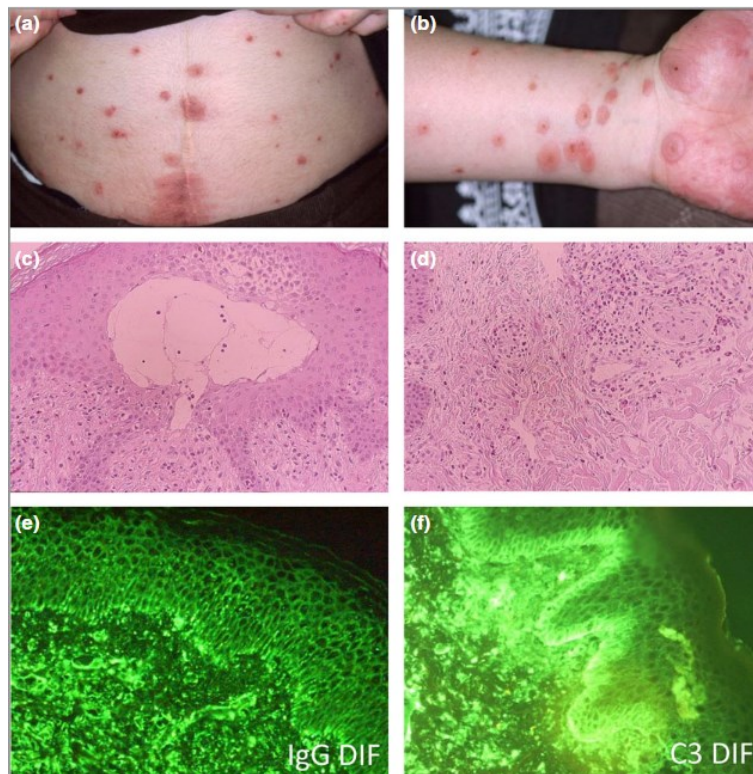


Fig. 18. (a, b) Caratteristiche cliniche. (c, d) Caratteristiche istopatologiche (colorazione con ematossilina ed eosina). (c) Vescica subepidermica. (d) Infiltrato eosinofilo e linfocitico nel derma. Immunofluorescenza diretta (DIF) per (e) IgG e (f) C3.

(Tratto da: Tani N, Kimura Y, Koga H et al. Clinical and immunological profiles of 25 patients with pemphigoid gestationis. *Br J Dermatol* 2015; 172: 120–129.)

1.2.7 Lichen planus pemfigoide

Il lichen planus pemfigoide (LPP) è una rara forma di malattia bollosa autoimmune che si manifesta come una combinazione di lichen planus e bolle. È caratterizzato da bolle tese che si sviluppano su un sfondo di lichen planus, di solito sulle estremità. Questa patologia può essere confusa con la dermatite bollosa pruriginosa o la dermatite erpetiforme, ma il coinvolgimento del lichen planus distingue il pemfigoide del lichen planus. Inoltre, questa malattia si verifica in un gruppo di età più giovane rispetto alla BP.^[37]

1.3 HLA-Cw6 e autoimmunità

Per la maggior parte delle malattie correlate all'autoimmunità, sono stati identificati e approfonditamente investigati i fattori di rischio genetici, indicando che l'antigene leucocitario umano (HLA) ha di gran lunga la maggiore influenza nello sviluppo dell'autoimmunità.^[99]

La frequenza dell'allele HLA-Cw6 varia notevolmente in tutto il mondo e può oscillare tra il 14,1% e il 59,1%. Nella popolazione affetta da psoriasi, la percentuale di pazienti con la presenza di HLA-Cw6 varia dal 10,5% al 77,2%. La presenza di HLA-Cw6 nei pazienti con psoriasi è più frequentemente riscontrata nei pazienti caucasici che in quelli asiatici.^[102, 103]

La psoriasi è una malattia cutanea cronica, caratterizzata da infiammazione e iperproliferazione, la cui diffusione varia in tutto il mondo, con una prevalenza che varia da 0.1% a 11.4%.^[100]

Negli anni '80 del secolo scorso Henseler e Christophers condussero uno studio su 2147 pazienti affetti da psoriasi volgare, osservando una distribuzione bimodale dell'età di insorgenza della malattia: un primo picco all'età di 16 anni nelle femmine e di 22 anni nei maschi (psoriasi early-onset), e un secondo picco all'età di 57 anni nelle femmine e di 60 anni nei maschi (psoriasi late-onset). Gli stessi autori osservarono che le forme di psoriasi early-onset, rispetto a quelle late-onset, erano forme più spesso familiari, maggiormente associate all'allele HLA-Cw6 (85,3% dei casi nelle forme early-onset vs 14,7% dei casi nelle forme late-onset) e con una maggior tendenza a evolvere in una forma clinica generalizzata. Da ciò è nata la distinzione della psoriasi in placche in due forme: tipo 1 - che corrisponde alle forme early-onset - e tipo 2 - che corrisponde alle forme late-onset.^[101]

Non è ancora chiaro quali geni svolgano un ruolo cruciale nella patogenesi psoriasi. La diversità genetica può portare ad una presentazione clinica diversa nei pazienti. I primi studi genetici tramite analisi di linkage hanno permesso di evidenziare almeno 9 loci di suscettibilità per la psoriasi, denominati PSORS (PSORiasis Susceptibility) 1-9. PSORS1 è situato all'interno della regione del Complesso

Maggiore di Istocompatibilità (MHC), sul braccio corto del cromosoma 6. Il locus PSORS1 da solo rende ragione del 35-50% della suscettibilità genetica per la malattia psoriasica e comprende 3 geni causativi: HLA-C, CCHCR1 e CDSN. HLA-C codifica per una proteina MHC di classe I coinvolta nella presentazione antigenica ai linfociti T CD8+; in particolare, l'allele di suscettibilità alla psoriasi risulta essere HLA-Cw6. Quest'ultimo si legherebbe ad autoantigeni innescando una reazione cellule T-mediata; [102]

Dal punto di vista fenotipico, è stato dimostrato che HLA-Cw6 è associato anche alla psoriasi guttata. HLA-Cw6 è stato riscontrato nel 73% della popolazione finlandese con psoriasi guttata, nel 100% della popolazione britannica con fenotipo guttato e nell'86% della popolazione irlandese con psoriasi guttata. Si è osservata una prevalenza maggiore di HLA-Cw6 nei pazienti con psoriasi guttata anche nella popolazione asiatica. [103, 104]

È stata inoltre osservata un'associazione con l'infezione da streptococco nel 48,5% dei pazienti studiati. Nel gruppo con un'associazione con l'infezione da streptococco, l'allele HLA-Cw6 è stato rilevato nel 79% dei pazienti affetti da psoriasi. Nei volontari sani, la presenza di HLA-Cw6 è stata riscontrata nel 30% dei casi. [105]

Altri studi hanno dimostrato che nei pazienti con psoriasi negativi per l'allele HLA-Cw6, sono più frequenti le lesioni alle unghie e l'artrite psoriasica (PsA). Inoltre, è stato osservato un maggiore coinvolgimento del cuoio capelluto in questi pazienti. Ciò è importante poiché tali aree sono predittive di una maggiore incidenza di PsA. [103]

Le donne HLA-Cw6-positive hanno sperimentato significativamente più frequentemente remissioni durante la gravidanza. [106]

Inoltre, ci sono dati emergenti che indicano una relazione tra lo sviluppo della psoriasi negli individui HLA-Cw6-positivi e fattori ambientali. È stata riscontrata un'associazione tra fumo e obesità nei pazienti HLA-Cw6-positivi. L'associazione tra HLA-Cw6 e obesità potrebbe essere legata all'eccessiva espressione di citochine pro-infiammatorie circolanti in questi pazienti, che potrebbero aumentare il rischio

di psoriasi. Eventi stressanti della vita sono stati dimostrati aumentare questo rischio di quasi 20 volte. I dati suggeriscono inoltre che i pazienti HLA-Cw6 positivi possono avere una prevalenza più alta di malattie cardiovascolari.^[103, 107]

In una meta-analisi, è stato dimostrato che il rischio di malattia celiaca è aumentato nei pazienti con psoriasi.^[108] Tuttavia, HLA-Cw6 non è stato associato ad anticorpi associati alla malattia celiaca nei pazienti con psoriasi.^[109]

Scopo dello studio

Le evidenze delle alterazioni dell'HLA-Cw6 nella patogenesi delle malattie autoimmuni, come per esempio la psoriasi, hanno suscitato l'interesse per valutare l'associazione tra HLA-Cw6 e il pemfigoide. Pertanto, l'obiettivo di questo studio è la valutazione del polimorfismo del gene HLA-CW6 in soggetti affetti da PB. Per raggiungere tale scopo, verrà valutata la frequenza del polimorfismo del gene HLA-CW6 in un campione di 40 individui con diagnosi di PB. Inoltre, si valuterà l'associazione tra la presenza del polimorfismo del gene HLA-CW6 e la suscettibilità alla malattia confrontando la frequenza osservata con la prevalenza del polimorfismo in una popolazione sana di riferimento.

Materiali e metodi

1. Disegno e popolazione oggetto di studio

In questo studio sperimentale in vitro, sono stati selezionati 40 pazienti che soddisfano i seguenti criteri di inclusione: diagnosi clinicamente sospettata e successivamente confermata istologicamente mediante immunofluorescenza diretta di PB; disponibilità di una quantità adeguata di campione ematico; consenso informato alla partecipazione allo studio; maggiore età. I campioni biologici di sangue venoso sono stati utilizzati, oltre che per la analisi oggetto di questo studio, per la diagnostica sierologica della patologia tramite studi di immunofluorescenza indiretta ed ELISA.

I pazienti che presentavano una diagnosi di malattie bollose autoimmuni cutanee diverse dal PB sono stati esclusi dallo studio.

Il campione reclutato consta di 40 pazienti di cui 19 maschi e 21 femmine con diagnosi di PB effettuata presso la Clinica Dermatologica dell'Azienda Ospedaliera di Padova. Il gruppo in esame possedeva un'età compresa tra i 50 e i 96 anni (Tabella 1).

La ridotta numerosità del campione in esame è legata anzitutto alla rarità della patologia oggetto di studio e, in secondo luogo, al numero di pazienti afferenti presso la Clinica Dermatologica di Padova.

CAMPIONE	SESSO		Età MEDIANA [MIN;MAX]
	F	M	
40 SOGGETTI	52.5% (21/40)	47.5% (19/40)	67.5 [50;96] ANNI

Tabella 1. Caratteristiche demografiche del campione oggetto di studio

2. Tecniche di laboratorio

Per analizzare gli alleli HLA in pazienti affetti da PB, sono stati eseguiti studi di biologia molecolare a partire da campioni di sangue intero. L'analisi è stata effettuata tramite EUROArray, una tecnica di analisi multiparametrica che consente di analizzare diversi alleli contemporaneamente oppure diversi campioni contemporaneamente. Tale metodo di analisi è stato scelto per la sua capacità di fornire dati accurati e dettagliati sulle caratteristiche genetiche dei pazienti oggetto di studio.

L'allele genotipizzato nel presente studio è CW*06

In breve, l'iter laboratoristico si articola nei seguenti passaggi:

- Estrazione del DNA (metodo diretto) o preparazione dei campioni (DNA genomico)
- Amplificazione del DNA tramite PCR
- Incubazione con i vetrini EUROArray (ibridazione)
- Scansione e valutazione dei vetrini EUROArray

Istruzione operativi dettagliate:

1. Estrazione del DNA (metodo diretto) e preparazione del campione:
 - a. Estrazione del DNA: i campioni di sangue EDTA (metodo diretto) o il controllo negativo di DNA 2 vengono miscelate con la soluzione per l'estrazione 1; incubazione a temperatura ambiente (tra +18°C e +25°C) per 1 minuto; Aggiungere la soluzione per l'estrazione 2.
 - b. Preparazione dei campioni: se necessario, scongelare i campioni di DNA, miscelare e centrifugare.
2. Amplificazione del DNA da PCR:

Preparare la PCR master mix utilizzando le PCR Mix A e B; Aggiungere la master mix alle provette PCR (per ciascun campione e per il controllo negativo); Aggiungere il campione o il controllo negativo a ciascuna provetta; amplificare i campioni nel termociclatore.
3. Incubazione (ibridazione) con i vetrini EUROArray:

Aggiungere il tampone di ibridazione a ciascuna provetta PCR e miscelare; depositare la miscela in ciascun pozzetto della vaschetta porta reagenti; posizionare il vetrino su una vaschetta porta reagenti e incubare per 1 ora a +45°C; lavare e asciugare i vetrini.

4. Scansione e valutazione dei vetrini EUROArray:

Avviare la scansione e la valutazione con il software EUROArrayScan; inserire il vetrino nel microarray scanner seguendo le istruzioni fornite; verificare i risultati; stampare l'elenco dei risultati o il singolo risultato.

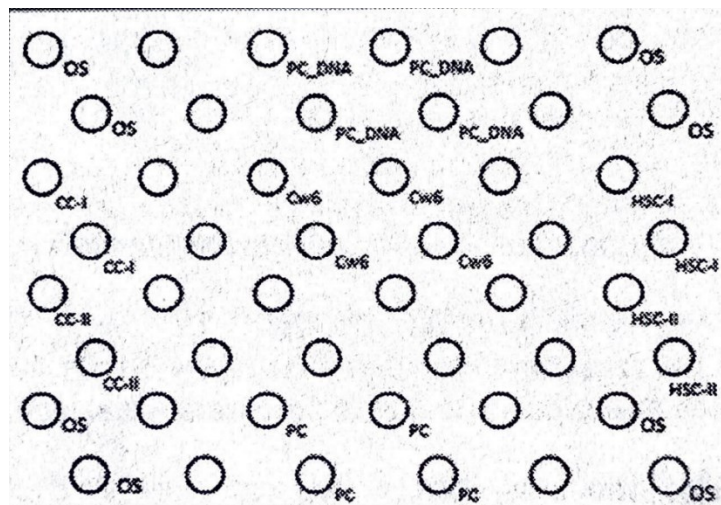


Fig. 1. Spot presenti sul microarray del test HLA-CW6 in determinazione diretta.

Cw6: HLA-CW6

PC_DNA: Controllo positivo di DNA

CC-I e CC-II: controllo della cross-contaminazione

HSC-I e -II: controllo della specificità di ibridazione

PC: controllo positivo di HLA-C*06

OS: spot di orientamento

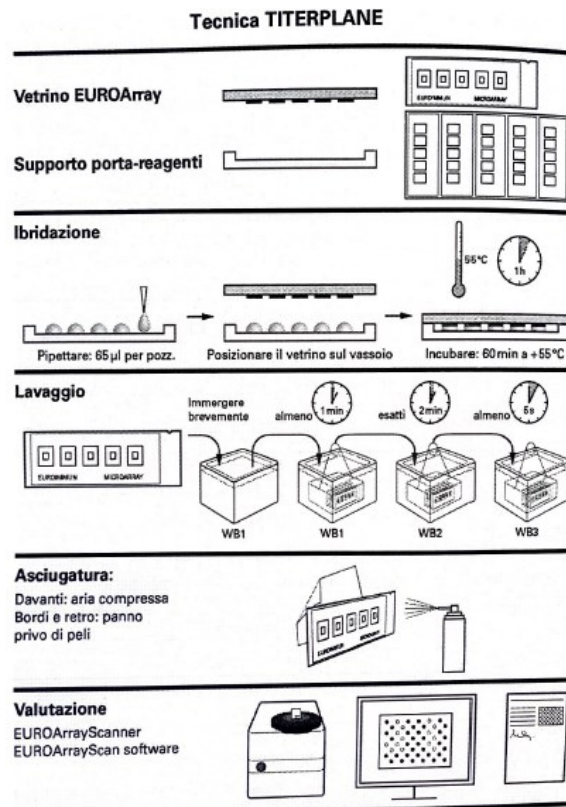


Fig. 2 Riassunto delle fasi di incubazione dei vetrini EUROArray e la scansione e valutazione dei risultati.

Le fasi 1 e 2 (estrazione DNA e amplificazione) eseguite nell'area pre-PCR, stanza dedicata alla preparazione dei campioni. Le fasi 3 e 4 (incubazione e scansione e valutazione dei risultati) eseguiti nell'area post-PCR.

Area pre-PCR prevede:

- Mini centrifuga per provette da 0,2ml e da 1,5ml
- Agitatore da laboratorio per provette (vortex)
- Rack di raffreddamento PCR per provette da 0,2ml e per provette da 1,5ml
- Pipette e relativi puntali dotati di filtro
- Provette da 0,2ml e da 1,5ml per termociclatore DNA-free e DNase-free

Area post-PCR contiene:

- EUROArrayScanner
- Stazione per l'ibridazione
- Supporto TITERPLANE per vetrini EUROArray
- Supporto per conservazione dei vetrini incubati

- Termociclatore

Il microarray (Fig 1) prevede la presenza di sonde di DNA a catena singola, immobilizzate come spot su BIOCHIP nei campi di reazione dei vetrini. Ad ogni possibile prodotto di PCR corrispondono una o più sonde sotto forma di coppie di spot sul microarray. Il microarray contiene inoltre spot di controllo ibridizzati con oligonucleotidi di controllo fluorescinati che contribuiscono ad identificare eventuali errori (risultato non valido).

3. Metodi statistici

Per poter effettuare un confronto statistico tra il campione in esame (con numerosità limitata) e la popolazione italiana, è stato utilizzato il test Z fissando un livello di significatività statistica alfa 5%.

Risultati

All'interno del campione di 40 individui affetti da PB, è stata osservata la presenza del genotipo CW6 in un totale di 4 pazienti, corrispondenti al 10% dell'intero gruppo di studio. La frequenza del genotipo CW6 nella popolazione italiana è stata stimata intorno all'8,6%. ^[103]

I risultati del test statistico ha mostrato che il valore di p ottenuto (0.62) supera il livello di significatività ($\alpha = 0,05$) predefinito indicando che il risultato non è statisticamente significativo.

I risultati dell'analisi statistica suggeriscono che non vi sia una significativa associazione tra il genotipo CW6 e la presenza di PB, poiché le differenze osservate tra la popolazione generale sana e i pazienti non sono risultate statisticamente significative.

$$\pi = 8.6 = 0.086 \quad n = 80 \quad \rho = \frac{8}{80} = 10\% \quad \alpha = 0.05$$

$$z = \frac{0.1 - 0.086}{\sqrt{\frac{0.086(1 - 0.086)}{80}}} = \frac{0.014}{\sqrt{\frac{0.079}{80}}} = \frac{0.014}{0.044} = 0.32$$

$$IC_{\rho s} = \rho \pm 1.96 \sqrt{\frac{\rho(1 - \rho)}{n}} = 0.10 \pm 1.96 \sqrt{\frac{0.1(0.9)}{80}} = 0.1 \pm 0.242$$

$$IC_{\rho s} = [-0.142; 0.342]$$

Pz n.	Sesso	Età	Età della diagnosi	Localizzazione alla mucosa	Esami diagnostici sierologici	Terapia	Comobidità
1	F	95	-	NO	-	Deltacortene	Morbo di Basedow-Graves e ipertensione
2	F	65	64	Sì, Mucosa e cute	BP180	Deltacortene	Tiroidite di Hashimoto
3	M	58	57	Sì	BP180	Deltacortene	Asma
4	M	61	-	No	-	Deltacortene	-

Tab. 2 Campione di pazienti positivi al polimorfismo HLA-CW6.

N. PAZIENTE	SESSO	Età	Età ALLA DIAGNOSI	COMORBIDITÀ
1	M	55	54	/
2	M	51	50	/
3	F	67	66	/
4	F	54	53	/
5	M	81	80	LINFOMA
6	M	86	85	/
7	M	81	80	/
8	F	59	58	/
9	F	63	62	SCLEROSI MULTIPLA, IPERCOLESTEROLEMIA, IPERTENSIONE
10	M	77	76	DIABETE, IPERTENSIONE, IPERCOLESTEROLEMIA
11	F	49	41	/
12	F	80	79	IPERCOLESTEROLEMIA, DM II, GLAUCOMA
13	M	57	55	REAZIONE AVVERSA AD ANESTETICO
14	F	49	48	/
15	M	79	78	/
16	M	51	50	/
17	F	90	89	/
18	F	70	68	IPERTENSIONE, DM
19	F	68	63	TIROIDITE DI HASHIMOTO, DM
20	F	73	71	DM II, IPERTRIGLICERIDEMIA, SDR DI SJORGEN
21	M	61	59	/
22	F	59	56	STEATOSI EPATICA
23	F	85	84	/
24	M	92	91	IPERTENSIONE, DM
25	M	85	84	/
26	M	87	87	CARCINOMA BASOCELLULARE, ULCERE PERFORATA, CISTECTOMIA, NEFRECTOMIA, IRC STADIO G, IPERTENSIONE
27	M	86	85	/
28	F	67	66	/
29	F	70	67	VITILIGINE, BASEDOW, PREGRESSA TIA, HTA
30	F	60	58	/
31	M	74	73	/
32	M	62	59	MALATTIA DI CROHN, DM II, IPERTENSIONE
33	F	76	73	MELANOMA
34	F	85	82	AR, BPCO, IPA, ICTUS ISCHEMICO, INSUFFICIENZA CARDIACA CONGESTIZIA
35	M	55	51	/
36	M	54	52	/

Tab. 2 Campione di pazienti negativi al polimorfismo HLA-CW6.

Discussione

L'HLA (antigene leucocitario umano) svolge un ruolo chiave nella suscettibilità alle malattie autoimmuni. Il polimorfismo genetico CW6 è stato associato a un aumentato rischio di sviluppare patologie autoimmuni in ragione della sua funzione di presentazione antigenica. Tra le patologie immuno-mediate dermatologiche, la psoriasi ha mostrato la maggior correlazione con il polimorfismo CW6 secondo la letteratura scientifica. Questa associazione suggerisce un ruolo del sistema immunitario nella patogenesi della psoriasi.

Studi condotti su popolazioni affette da psoriasi hanno dimostrato che la presenza del CW6 sembra correlare con un inizio più precoce e una forma più grave di malattia.

I meccanismi attraverso i quali il CW6 potrebbe influenzare la suscettibilità alla psoriasi non sono ancora completamente compresi. Si ipotizza che il CW6 possa interagire con il sistema immunitario e stimolare una risposta infiammatoria inappropriata nella pelle. Si ritiene che il CW6 possa influenzare l'espressione di geni coinvolti nella risposta immunitaria e nella regolazione dell'infiammazione.

Oltre al ruolo del CW6 nella psoriasi, vi sono evidenze di somiglianze immunopatologiche tra la psoriasi e le malattie bollose, come il PB e il PV. Sebbene classicamente le malattie bollose autoimmuni cutanee siano considerate patologie anticorpo-mediate, è noto ad oggi anche il ruolo della risposta cellulo-mediata nella patogenesi delle stesse.

Sia la psoriasi che le malattie bollose autoimmuni sono caratterizzate da una risposta infiammatoria cronica a livello cutaneo. Nella psoriasi, si osserva un'iperproliferazione dei cheratinociti e una risposta immunitaria di tipo Th1/Th17. Le cellule T helper di tipo 1 (Th1) e di tipo 17 (Th17) producono citochine pro-infiammatorie come l'interleuchina-17 (IL-17) e il fattore di necrosi tumorale-alfa (TNF- α), che contribuiscono all'infiammazione e all'iperproliferazione dei cheratinociti nella psoriasi.^[109]

Nel PB si verifica un'inflammatione autoimmune a carico della giunzione dermo-epidermica. Nelle fasi precoci della malattia, si osserva l'accumulo di cellule infiammatorie, come i linfociti T e i neutrofili, attorno alla giunzione dermo-epidermica. Queste cellule infiammatorie rilasciano citochine pro-infiammatorie, come IL-17 e TNF- α , che possono contribuire alla distruzione delle giunzioni cellulari tra i cheratinociti e alla formazione di lesioni bollose.

I pazienti con PB sviluppano una risposta autoimmune dei linfociti T a BP180 e BP230, ed è probabilmente cruciale per stimolare i linfociti B a produrre autoanticorpi. La risposta dei linfociti T autoreattivi anti-BP180 è limitata da determinati alleli HLA di classe II (ad esempio HLA-DQB1*0301), che sono prevalenti nei pazienti con BP. Questi linfociti T, il cui epitopo principale sembra essere contenuto nel dominio NC16, hanno un fenotipo CD4⁺ e producono citochine sia di tipo Th1 (come l'interferone-gamma) che di tipo Th2 (come le interleuchina IL-4, IL-5 e IL-13).^[110] Le citochine di tipo Th2, così come le citochine di tipo Th17 identificate più recentemente, possono essere particolarmente rilevanti per la fisiopatologia della PB; esse predominano in sede lesionale e nei sieri dei pazienti. Inoltre, la sottoclasse IgG4, la cui secrezione è regolata dalle citochine di tipo Th2, è una dei principali isotipi degli autoanticorpi anti-BP180.^[110,111]

Questa somiglianza nella risposta cellulo-mediata, caratterizzata dalla presenza di cellule T attivate e dalla produzione di citochine infiammatorie come IL-17 e TNF- α , suggerisce una sovrapposizione nel processo patogenetico tra la psoriasi e le malattie bollose autoimmuni.

Tuttavia, è importante sottolineare che esistono anche differenze significative nella patogenesi e nei meccanismi immunopatologici specifici tra la psoriasi e le malattie bollose. Ad esempio, nel pemfigoide, si osserva una risposta autoimmunitaria diretta contro proteine specifiche della giunzione dermo-epidermica, come i desmosomi. Invece, nella psoriasi, la risposta immunitaria sembra essere diretta principalmente contro componenti cutanee autoantigeniche (tra cui peptidi antimicrobici come LL37).

Il presente lavoro della tesi presenta alcune limitazioni importanti da considerare. In primo luogo, la dimensione limitata del campione dovuta alla rarità del PB potrebbe limitare la generalizzabilità dei risultati ottenuti. Inoltre, il disegno retrospettivo dello studio potrebbe limitare l'analisi dettagliata della risposta ai trattamenti e della progressione della malattia nel tempo. Queste limitazioni sottolineano l'importanza di ulteriori studi per una comprensione più approfondita, in considerazione del fatto che i polimorfismi nei geni associati alla presentazione antigenica possono predire il rischio di sviluppare patologie autoimmuni, e sono potenziali fattori predittivi di risposta terapeutica.

Conclusioni

In conclusione, la presente tesi ha indagato l'associazione tra il genotipo CW6 e il PB, una malattia autoimmune bollosa. I risultati ottenuti non hanno mostrato un'associazione significativa tra il genotipo CW6 e il PB. Questo indica che il genotipo CW6 potrebbe non essere un fattore rilevante nella suscettibilità o nella progressione del PB nella popolazione studiata. È importante considerare che altri fattori genetici e ambientali potrebbero contribuire alla complessità della malattia e richiedono ulteriori ricerche per una migliore comprensione dei meccanismi sottostanti. Si ipotizza che i pazienti affetti da comorbidità di malattie autoimmuni con il gene HLA-cw6 possano avere una maggiore suscettibilità allo sviluppo della PB. Tuttavia, è necessario condurre ulteriori indagini e studi futuri per confermare questa ipotesi e comprendere meglio il ruolo specifico del gene HLA-cw6 nella patogenesi del pemfigoide. Inoltre, è importante di approfondire gli studi sul pemfigoide, esplorando altre possibili influenze genetiche e fattori di rischio per migliorare la nostra conoscenza e la gestione di questa malattia autoimmune cutanea.

Bibliografia

1. Beek NV., Zillikens D., Schmidt E. Bullous Autoimmune Dermatoses. *Dtsch Arztebl Int* 2021 Jun 18;118(24):413-420.
2. Ioannides D., Lazaridou E., Rigopoulos D. Pemphigus. *JEADV* 2008, 22, 1478–1496 Journal compilation © 2008 European Academy of Dermatology and Venereology.
3. Young BL., Ji HL, Soo Young L., Jin-Wou K., Dong Soo Y., Kyung Do H., Yong Gyu P., Incidence and death rate of pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus in Korea: A nationwide, population-based study (2006–2015). *Journal of Dermatology* 2018;45: 1396–1402
4. Schmidt E, Kasperkiewicz M, Joly P. Pemphigus. *The Lancet*. 7 settembre 2019;394(10201):882–94.
5. Xiaoling Z., Jisheng P., Zhiming Y., Yanhua W., Limin C., Shutun Z., Epidemiology of pemphigus vulgaris in the Northeast China: A 10-year retrospective study. *Journal of Dermatology* 2014;41: 70–75
6. Black M., Mignoga MD., Scully C., Number II Pemphigus vulgaris. *Oral Diseases* (2005) 11, 119–130
7. V. Melchionda, K. E. Harman, Pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus: an overview of the clinical presentation, investigations and management. *CED Clinical and Experimental Dermatology* 2019 44, pp740–746
8. Harman KE, Brown D, Exton LS, et al. British Association of Dermatologists' guidelines for the management of pemphigus vulgaris. *Br J Dermatol* 2017; 177: 1170–1201.
9. Kneisel A, Hertl M. Autoimmune bullous skin diseases. Part 1: Clinical manifestations. *JDDG J Dtsch Dermatol Ges.* 2011;9(10):844–57.
10. Bystryń JC. Interpretation of immunofluorescence tests in dermatology. *Prog Dermatol* 1985; 19: 1–8.
11. Akman A, Jiao D, Bystryń JC. Limitations in ELISA assays for antibodies against Dsg 1 and Dsg 2 in patients with pemphigus. *Arch Dermatol* 2002; 138: 1252–1253.
12. Gornowicz-Porowska J, Seraszek-Jaros A, Bowszyc-Dmochowska M, Bartkiewicz P, Kaczmarek E, Dmochowski M. Clinical evaluation of a multiparametric ELISA as a rapid tool for routinely diagnosing IgG-mediated autoimmune blistering dermatoses in ethnic Slavs. *J Clin Lab Anal.* 2018;32:e22336
13. van Beek N, Dähnrich C, Johannsen N, et al. Prospective studies on the routine use of a novel multivariant enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of autoimmune bullous diseases. *J Am Acad Dermatol.* 2017;76:889-894. e5
14. Bystryń J-C. Adjuvant therapy of pemphigus. *Arch Dermatol* 1984; 120: 941–951.
15. Anhalt GJ, Patel HP, Labib RS, Diaz LA, Proud D. Dexamethasone inhibits plasminogen activator activity in experimental pemphigus in vivo but does not block acantholysis. *J Immunol* 1986; 136: 113–117.
16. Lever WF, Schaumburg-Lever G. Treatment of pemphigus vulgaris. Results obtained in 84 patients between 1961 and 1982. *Arch Dermatol* 1984; 120: 44–47.

17. Ratnam KV, Phay KL, Tan CK. Pemphigus therapy with oral prednisolone regimens. *Int J Dermatol* 1990; 29: 363–367
18. Lever WF, White H. Treatment of pemphigus with corticosteroids. Results obtained in 46 patients over a period of 11 years. *Arch Dermatol* 1963; 87: 12–26.
19. Ioannides D, Chrysomallis F, Bystryn JC. Ineffectiveness of cyclosporine as an adjuvant to corticosteroids in the treatment of pemphigus. *Arch Dermatol* 2000; 136: 868–872.
20. Bystryn JC, Steinman NM. The adjuvant therapy of pemphigus. An update. *Arch Dermatol* 1996; 132: 203–212.
21. Pollmann R, Schmidt T, Eming R, Hertl M. Pemphigus: a Comprehensive Review on Pathogenesis, Clinical Presentation and Novel Therapeutic Approaches. *Clin Rev Allergy Immunol*. 1 febbraio 2018;54(1):1–25.
22. Scully C, Challacombe SJ. Pemphigus vulgaris: update on etiopathogenesis, oral manifestations, and management. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2002;13(5):397-408
23. oly P, Maho-Vaillant M, Prost-Squarcioni C, et al. First-line rituximab combined with short-term prednisone versus prednisone alone for the treatment of pemphigus (Ritux 3): a prospective, multicentre, parallel-group, open-label randomised trial. *Lancet* 2017;389:2031–40
24. Warren SJP, Lin MS, Giudice G et al. for the cooperative group of fogo selvagem research. The prevalence of antibodies against desmoglein 1 in endemic pemphigus foliaceus in Brazil. *N Engl J Med* 2000; 343: 23–30.
25. Senear FE, Usher B. An unusual type of pemphigus combining features of lupus erythematosus. *Arch Dermatol* 1926; 13: 761–781.
26. Blauvelt A, Hwang ST, Udey MC. Allergic and immunologic diseases of the skin. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;111(2):S560-70.
27. Brenner S, Bialy-Golan A, Ruocco V. Drug-induced pemphigus. *Clin Dermatol* 1998; 16: 393–397.
28. Sehgal VN, Srivastava G. Paraneoplastic pemphigus/paraneoplastic autoimmune multiorgan syndrome. *Int. J. Dermatol*. 2009; 48: 162–169.
29. Cervini AB, Tosi V, Kim SH et al. Paraneoplastic pemphigus or paraneoplastic autoimmune multiorgan syndrome. Report of 2 cases in children and a review of the literature. *Actas Dermosifiliogr*. 2010; 101: 879–886.
30. Martel P, Loiseau P, Joly P et al. Paraneoplastic pemphigus is associated with the DRB1*03 allele. *J. Autoimmun*. 2003; 20: 91–95.
31. Liu Q, Bu DF, Li D et al. Genotyping of HLA-I and HLA-II alleles in Chinese patients with paraneoplastic pemphigus. *Br. J. Dermatol*. 2008; 158: 587–591.
32. Nguyen VT, Ndoye A, Bassler KD et al. Classification, clinical manifestations, and immunopathological mechanisms of the epithelial variant of paraneoplastic autoimmune multiorgan syndrome: a reappraisal of paraneoplastic pemphigus. *Arch. Dermatol*. 2001; 137: 193–206.
33. Broussard KC, Leung TG, Moradi A, Thorne JE and Fine JD. Autoimmune bullous diseases with skin and eye involvement: cicatricial pemphigoid, pemphigus vulgaris, and pemphigus paraneoplastica. *Clin Dermatol* 2016;34:205-213.
34. Porro AM, Caetano Lde V, Maehara Lde S, Enokihara MM. Non-classical forms of pemphigus: pemphigus herpetiformis, IgA pemphigus,

- paraneoplastic pemphigus and IgG/IgA pemphigus. *An Bras Dermatol* 2014;89:96-106
35. Robinson ND, Hashimoto T, Amagai M, Chan LS. The new pemphigus variants. *J Am Acad Dermatol* 1999;40:649-71.
 36. Tsuruta D, Ishii N, Hamada T et al. IgA pemphigus. *Clin Dermatol* 2011;29:437-442.
 37. Schmidt E, Zillikens D. Pemphigoid diseases. *Lancet* 2013; 381: 320–332.
 38. Alpsoy E, Akman-Karakas A, Uzun S. Geographic variations in epidemiology of two autoimmune bullous diseases: pemphigus and bullous pemphigoid. *Arch Dermatol Res* 2015; 307: 291–298.
 39. Kridin K, Ludwig RJ. The growing incidence of bullous pemphigoid: overview and potential explanations. *Front Med (Lausanne)* 2018; 5: 220.
 40. Chan LS. Mucous membrane pemphigoid. *Clin Dermatol.* 2001;19(6):703-11
 41. Thorne JE, Anhalt GJ, Jabs DA. Mucous membrane pemphigoid and pseudopemphigoid. *Ophthalmology.* 2004;111(1):45-52
 42. Yeh SW, Ahmed B, Sami N, Razzaque Ahmed A. Blistering disorders: diagnosis and treatment. *Dermatol Ther.* 2003;16(3):214-23
 43. Washio K, Nakamura A, Fukuda S, Hashimoto T, Horikawa T. A case of lichen planus pemphigoides successfully treated with a combination of cyclosporine a and prednisolone. *Case Rep Dermatol.* 2013 Mar 20;5(1):84-7.
 44. Wilczek A, Sticherling M.. Concomitant psoriasis and bullous pemphigoid: coincidence or pathogenic relationship? *Int J Dermatol.* 2006;45:1353-7.
 45. Sekiya A, Kodera M, Yamaoka T, Iwata Y, Usuda T, Ohzono A, et al. A case of lichen planus pemphigoides with autoantibodies to the NC16a and C-terminal domains of BP180 and to desmoglein-1. *Br J Dermatol.* 2014;171:1230-5.
 46. Lamberts A, Meijer JM, Jonkman MF. Nonbullous pemphigoid: A systematic review. *J Am Acad Dermatol.* 2018;78:989-995.e2.
 47. Joly P, Roujeau JC, Benichou J, Delaporte E, D'Incan M, Dreno B, et al. A comparison of two regimens of topical corticosteroids in the treatment of patients with bullous pemphigoid: a multicenter randomized study. *J Invest Dermatol.* 2009;129:1681-7.
 48. enning VA, Taghipour K, Mohd Mustapa MF, Highet AS, Kirtschig G.. British Association of Dermatologists' guidelines for the management of bullous pemphigoid 2012. *Br J Dermatol.* 2012;167:1200-14
 49. Joly P, Roujeau JC, Benichou J, et al. A comparison of oral and topical corticosteroids in patients with bullous pemphigoid. *N Engl J Med* 2002; 346:321.
 50. Di Zenzo et al, 2008; Yayli et al, 2011; Moriuchi et al, 2015.
 51. Koga H, Prost-Squarcioni C, Iwata H, Jonkman MF, Ludwig RJ, Bieber K. Epidermolysis Bullosa Acquisita: the 2019 Update. *Front Med (Lausanne)* 2018; 5: 362.
 52. hen M, Kim GH, Prakash L, Woodley DT. Epidermolysis bullosa acquisita: autoimmunity to anchoring fibril collagen. *Autoimmunity* 2012; 45: 91–101.
 53. K.T. Amber, D.F. Murrell, E. Schmidt, P. Joly, L. Borradori. Autoimmune subepidermal bullous diseases of the skin and mucosae: clinical features, diagnosis, and management. *Clin Rev Allergy Immunol*, 54 (2018), pp. 26-51.

54. H. Rashid, A. Lamberts, L. Borradori, S. Alberti-Violetti, R.J. Barry, M. Caproni, et al. European guidelines (S3) on diagnosis and management of mucous membrane pemphigoid, initiated by the European Academy of Dermatology and Venereology - Part I. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 35(9) (2021), pp. 1750-1764.
55. E. Schmidt, H. Rashid, A.V. Marzano, A. Lamberts, G. Di Zenzo, G.F.H. Diercks, et al. European Guidelines (S3) on diagnosis and management of mucous membrane pemphigoid, initiated by the European Academy of Dermatology and Venereology - Part II. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 35 (10) (2021), pp. 1926-1948.
56. P. Bernard, L. Vaillant, B. Labeille, C. Bedane, B. Arbeille, J.P. Denoeux, et al. Incidence and distribution of subepidermal autoimmune bullous skin diseases in three French regions. Bullous diseases French study group. *Arch Dermatol*, 131 (1995), pp. 48-52.
57. D. Zillikens, S. Wever, A. Roth, B. Weidenthaler-Barth, T. Hashimoto, E.B. Brocker. Incidence of autoimmune subepidermal blistering dermatoses in a region of central Germany. *Arch Dermatol*, 131 (1995), pp. 957-958.
58. F. Bertram, E.B. Brocker, D. Zillikens, E. Schmidt. Prospective analysis of the incidence of autoimmune bullous disorders in Lower Franconia, Germany. *J Dtsch Dermatol Ges*, 7 (2009), pp. 434-440.
59. N. van Beek, A. Weidinger, S.W. Schneider, A. Kleinheinz, R. Glaser, M.M. Holtsche, et al. Incidence of pemphigoid diseases in Northern Germany in 2016 - first data from the Schleswig-Holstein Registry of Autoimmune Bullous Diseases. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 35 (2021), pp. 1197-1202.
60. C.F. Radford, S. Rauz, G.P. Williams, V.P. Saw, J.K. Dart. Incidence, presenting features, and diagnosis of cicatrizing conjunctivitis in the United Kingdom. *Eye (Lond)*, 26 (2012), pp. 1199-1208.
61. S. Bobba, C. Devlin, N. Di Girolamo, D. Wakefield, P. McCluskey, E. Chan, et al. Incidence, clinical features and diagnosis of cicatrizing conjunctivitis in Australia and New Zealand. *Eye (Lond)*, 32 (2018), pp. 1636-1643.
62. F. Hubner, A. Recke, D. Zillikens, R. Linder, E. Schmidt. Prevalence and age distribution of pemphigus and pemphigoid diseases in Germany. *J Invest Dermatol*, 136 (2016), pp. 2495-2498.
63. Yancey KB. Cicatricial Pemphigoid. In: Fitzpatrick's, *Dermatology in General Medicine*, Fifth Edition, 1999:674-79.
64. J. Bagan, L. Lo Muzio, C. Scully. Mucosal disease series. Number III. Mucous membrane pemphigoid. *Oral Dis*, 11 (2005), pp. 197-218.
65. Trimarchi M1, Bellini C, Fabiano B, et al.: Multiple mucosal involvement in cicatricial pemphigoid. *Acta Otorhinolaryngol Ital*, 2009 Aug; 29(4): 222-5.
66. M. Malik, H.M. Gürcan, A.R. Ahmed. Coexistence of mucous membrane pemphigoid and connective-tissue disease. *Clin Exp Dermatol*, 35 (2010), pp. 156-159.
67. M. Leverkus, E. Schmidt, Z. Lazarova, E.B. Brocker, K.B. Yancey, D. Zillikens. Antiepiligrin cicatricial pemphigoid: an underdiagnosed entity within the spectrum of scarring autoimmune subepidermal bullous diseases?. *Arch Dermatol*, 135 (1999), pp. 1091-1098.

68. C.A. Egan, Z. Lazarova, T.N. Darling, C. Yee, T. Cote, K.B. Yancey. Anti-epiligrin cicatricial pemphigoid and relative risk for cancer. *Lancet*, 357 (2001), pp. 1850-1851.
69. P. Rousselle, J.Y. Scoazec Laminin 332 in cancer: when the extracellular matrix turns signals from cell anchorage to cell movement. *Semin Cancer Biol*, 62 (2020), pp. 149-165.
70. M. Nayar, F. Wojnarowska, V. Venning, C.J. Taylor. Association of autoimmunity and cicatricial pemphigoid: is there an immunogenetic basis?. *J Am Acad Dermatol*, 25 (1991), pp. 1011-1015.
71. E. Schmidt, C. Skrobek, A. Kromminga, T. Hashimoto, G. Messer, E.B. Brocker, et al. Cicatricial pemphigoid: IgA and IgG autoantibodies target epitopes on both intra- and extracellular domains of bullous pemphigoid antigen 180. *Br J Dermatol*, 145 (2001), pp. 778-783.
72. A.P. Black, S.L. Seneviratne, L. Jones, A.S. King, S. Winsey, G. Arsecularatne, et al. Rapid effector function of circulating NC16A-specific T cells in individuals with mucous membrane pemphigoid. *Br J Dermatol*, 151 (2004), pp. 1160-1164.
73. V.P. Saw, I. Offiah, R.J. Dart, G. Galatowicz, J.K. Dart, J.T. Daniels, et al. Conjunctival Interleukin-13 expression in mucous membrane pemphigoid and functional effects of Interleukin-13 on conjunctival fibroblasts in vitro. *Am J Pathol*, 175 (6) (2009), pp. 2406-2415.
74. Z. Lazarova, R. Hsu, R.A. Briggaman, K.B. Yancey. Fab fragments directed against laminin 5 induce subepidermal blisters in neonatal mice. *Clin Immunol*, 95 (2000), pp. 26-32.
75. Z. Lazarova, R. Hsu, C. Yee, K.B. Yancey. Human anti-laminin 5 autoantibodies induce subepidermal blisters in an experimental human skin graft model. *J Invest Dermatol*, 114 (2000), pp. 178-184.
76. C. Rose, E. Schmidt, A. Kerstan, S. Thoma-Uszynski, U. Wesselmann, U. Kasbohrer, et al. Histopathology of anti-laminin 5 mucous membrane pemphigoid. *J Am Acad Dermatol*, 61 (2009), pp. 433-440.
77. E. Schmidt, R. Groves. Immunobullous disorders C. Griffith, J. Barker, Bleiker T. Chalmers, D. Creamer (Eds.), *Rook's Textbook of Dermatology*, part 3, chapter 50 (10th ed.), Wiley-Blackwell, Chichester (2022).
78. E. Schmidt, V. Spindler, R. Eming, M. Amagai, F. Antonicelli, J.F. Baines, et al. Meeting report of the pathogenesis of pemphigus and pemphigoid meeting in Munich, September 2016. *J Invest Dermatol*, 137 (2017), pp. 1199-1203.
79. S. Taurone, M. Spoletini, M. Ralli, P. Gobbi, M. Artico, L. Imre, et al. Ocular mucous membrane pemphigoid: a review. *Immunol Res*, 67 (2019), pp. 280-289.
80. Buonavoglia, P. Leone, R. Dammacco, G. Di Lernia, M. Petruzzi, D. Bonamonte, et al. Pemphigus and mucous membrane pemphigoid: an update from diagnosis to therapy. *Autoimmun Rev*, 18 (2019), pp. 349-358.
81. H.H. Xu, V.P. Werth, E. Parisi, T.P. Sollecito. Mucous membrane pemphigoid. *Dent Clin N Am*, 57 (2013), pp. 611-630.
82. O. Madgar, A. Baniel, N. Yarom, E. Glikson, T. Zeeli, E. Sprecher, et al. Mucous membrane pemphigoid–otorhinolaryngological manifestations: a retrospective cohort study. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 277 (2020), pp. 939-945.

83. B.C. Chapman, A.L. Goddard, C.M. Schmitt, M.R. Mohr, T.M. Dozier, E.C. Nelson. Mucous membrane pemphigoid of the anal canal resulting in anal stricture. *Am Surg* (2020), 10.1177/0003134820952382
84. B.A. Jalil, Y.G. Abdou, S.A. Rosen, T. Dammad. Mucous membrane pemphigoid causing central airway obstruction. *J Bronchol Intervent Pulmonol*, 24 (2017), pp. 334-338.
85. D.F. Murrell, B. Marinovic, F. Caux, C. Prost, R. Ahmed, K. Wozniak, et al. Definitions and outcome measures for mucous membrane pemphigoid: recommendations of an international panel of experts. *J Am Acad Dermatol*, 72 (2015), pp. 168-174.
86. M. Ormond, H. McParland, A.N.A. Donaldson, M. Andiappan, R.J. Cook, M. Escudier, et al. An oral disease severity score validated for use in oral pemphigus vulgaris. *Br J Dermatol*, 179 (2018), pp. 872-881.
87. H.S. Ong, D. Minassian, S. Rauz, J.S. Mehta, J.K. Dart. Validation of a clinical assessment tool for cicatrizing conjunctivitis. *Ocul Surf*, 18 (2020), pp. 121-129.
88. Ophthalmic Pathology and Intraocular Tumors. Basic and Clinical Science Course (BCSC). American Academy of Ophthalmology, 2014; pp54-56.
89. J.E. Thorne, F.A. Woreta, D.A. Jabs, G.J. Anhalt. Treatment of ocular mucous membrane pemphigoid with immunosuppressive drug therapy. *Ophthalmology*, 115 (2008), pp. 2146-2152.
90. A. Maley, M. Warren, I. Haberman, R. Swerlick, B. Kharod-Dholakia, R. Feldman., Rituximab combined with conventional therapy versus conventional therapy alone for the treatment of mucous membrane pemphigoid (MMP). *J Am Acad Dermatol*, 74 (2016), pp. 835-840.
91. N. Sami, E. Letko, S. Androudi, Y. Daoud, C.S. Foster, A.R. Ahmed. Intravenous immunoglobulin therapy in patients with ocular-cicatricial pemphigoid: a long-term follow-up. *Ophthalmology*, 111 (2004), pp. 1380-1382.
92. Fortuna G, Marinkovich MP. Linear immunoglobulin A bullous dermatosis. *Clin Dermatol* 2012; 30: 38–50.
93. Chanal J, Ingen-Housz-Oro S, Ortonne N et al. Linear IgA bullous dermatosis: comparison between the drug-induced and spontaneous forms. *Br J Dermatol* 2013; 169: 1041–1048.
94. Bolotin D, Petronic-Rosic V. Dermatitis herpetiformis part I. Epidemiology, pathogen-esis, and clinical presentation. *J Am Acad Dermatol* 2011; 64: 1017–24.
95. Karpati S. Dermatitis herpetiformis. *Clin Dermatol* 2012; 30: 56–59
96. Collin P, Salmi TT, Hervonen K, Kaukinen K, Reunala T. Dermatitis herpetiformis: a cutaneous manifestation of coeliac disease. *Ann Med* 2016; 1–9.
97. Lipozencic J, Ljubojevic S, Bukvic-Mokos Z. Pemphigoid gestationis. *Clin Dermatol* 2012; 30: 51–55.
98. Jenkins RE, Hern S, Black MM. Clinical features and management of 87 patients with pemphigoid gestationis. *Clin Exp Dermatol* 1999; 24: 255–259.
99. Marson A, Housley WJ, Hafler DA. Genetic basis of autoimmunity. *J Clin Invest* 2015; 125:2234–41
100. World Health Organization (WHO). Global Report on Psoriasis. Geneva: WHO, 2016.

101. Henseler T., Christophers E. Psoriasis of early and late onset: characterisation of two types of psoriasis vulgaris. *J Am Acad Dermatol*. 1985;13(3):450–456.
102. Ogawa K, Okada Y. The current landscape of psoriasis genetics in 2020. *J Dermatol Sci* 2020; 99: 2–8, DOI: 10.1016/j.jdermsci.2020.05.008.
103. Chen L, Tsai TF. HLA-Cw6 and psoriasis. *Br J Dermatol* 2018; 178: 854–862, DOI: 10.1111/bjd.16083.
104. Szczerkowska-Dobosz A, Rębała K. Genetics of psoriasis– from serological studies of human leukocyte antigens to whole genome association studies. *Przegl Dermatol* 2011; 98: 377–383
105. Maciejewska-Radomska A, Szczerkowska-Dobosz A, Rębała K, et al. Frequency of streptococcal upper respiratory tract infections and HLA-Cw*06 allele in 70 patients with guttate psoriasis from northern Poland. *Postepy Dermatol Alergol* 2015; 32: 455–458, DOI: 10.5114/pdia.2014.40982
106. Gudjónsson JE, Kárasón A, Runarsdóttir EH, et al. Distinct clinical differences between HLA-Cw*0602 positive and negative psoriasis patients – an analysis of 1019 HLA-C- and HLA-Btyped patients. *J Invest Dermatol* 2006; 126: 740–745, DOI: 10.1038/sj.jid.5700118.
107. Eder L, Abji F, Rosen CF, et al. The Association of HLA-class I Genes and the Extent of Atherosclerotic Plaques in Patients with Psoriatic Disease. *J Rheumatol* 2016; 43: 1844–1851, DOI: 10.3899/jrheum.151469.
108. Ungprasert P, Wijarnpreecha K, Kittanamongkolchai W. Psoriasis and risk of celiac disease: a systematic review and meta-analysis. *Indian J Dermatol* 2017; 62:41–6
109. Singh S, Sonkar GK, Usha et al. Celiac disease-associated antibodies in patients with psoriasis and correlation with HLA Cw6. *J Clin Lab Anal* 2010; 24:269–72.
110. Maronese, C.A.; Cassano, N.; Genovese, G.; Foti, C.; Vena, G.A.; Marzano, A.V. The Intriguing Links between Psoriasis and Bullous Pemphigoid. *J. Clin. Med.* 2023, 12, 328.
111. Thoma-Uszynski S, Uter W, Schwietzke S, et al Autoreactive T and B cells from bullous pemphigoid (BP) patients recognize epitopes clustered in distinct regions of BP180 and BP230 *J Immunol* 2006;176:2015–23.
112. Le Jan S, Plée J, Vallerand D, et al Innate immune cell-produced IL-17 sustains inflammation in bullous pemphigoid *J Invest Dermatol* 2014;134:2908–17

Ringraziamenti

In questa ultima pagina vorrei dedicare un sentito pensiero a tutte le persone che hanno reso questo percorso così unico e hanno reso possibile il raggiungimento di questo importante traguardo.

Innanzitutto, vorrei ringraziare il mio supervisore, il Prof. Mauro Alaibac, per la sua guida, il supporto, le sue osservazioni ed i consigli durante il percorso della ricerca.

Desidero ringraziare di cuore la clinica dermatologica e i suoi specializzandi, in particolare il Dott. Christian Cioffi e il Dott. Alvise Sernicola, per essermi stati vicini e avermi seguito attentamente durante lo svolgimento della mia tesi. La vostra guida, consulenza e supporto sono stati fondamentali per il successo di questo lavoro di ricerca. Sono grato per il vostro impegno e la vostra disponibilità nel rispondere alle mie domande, discutere le idee e fornire preziosi consigli lungo tutto il percorso.

Un ringraziamento speciale va alla mia famiglia che mi ha sempre creduto in me, che ha sostenuto e incoraggiato il mio percorso di studio in ogni momento. Il vostro amore incondizionato, i vostri sacrifici e il vostro sostegno morale mi hanno dato la forza e la determinazione per perseguire i miei obiettivi con passione e successo. Grazie per essere stati al mio fianco, per avermi spronato quando necessario, senza di voi, questo traguardo non sarebbe stato possibile.

Desidero ringraziare la mia amata Daria per il suo amore, sostegno e comprensione durante questi ultimi 2 anni. La tua presenza è stata una fonte di ispirazione costante e mi ha dato la forza di affrontare ogni sfida. Grazie per essere al mio fianco e per rendere la mia vita più ricca e significativa. Ti amo profondamente.

Desidero ringraziare i miei cari amici, compresi quelli che ho conosciuto durante l'esperienza di Erasmus. La vostra amicizia è stata un prezioso sostegno lungo il mio percorso di studio. Grazie per i momenti indimenticabili, le risate condivise e il supporto. Grazie di cuore a tutti voi.

Grazie di cuore a tutte le persone che hanno reso questo percorso speciale e raggiungibile. Il vostro sostegno e affetto sono stati fondamentali per il mio successo. Sono profondamente grato a ognuno di voi.