

## Penfigoide de mucosas: anticuerpos IgG e IgA contra el antígeno BP180

Agustín España<sup>a</sup>, Julio del Olmo<sup>a</sup>, Miren Marquina<sup>a</sup> y Cassian Sitaru<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Dermatología. Clínica Universitaria de Navarra. Pamplona. España.

<sup>b</sup>Departamento de Dermatología. Universidad de Lübeck. Alemania.

**Resumen.**—*Introducción.* El penfigoide de mucosas (PM) es un grupo de enfermedades ampollosas autoinmunes, mediada por autoanticuerpos dirigidos contra diferentes proteínas de la unión dermoepidérmica, entre otras el antígeno BP180.

*Pacientes, materiales y métodos.* Se incluyen en este estudio 5 pacientes con PM. Estudiamos la presencia de autoanticuerpos circulantes frente al antígeno BP180 y frente a fragmentos extracelulares recombinantes de esta proteína.

*Resultados.* En todos los pacientes se detectó la presencia de anticuerpos circulantes frente a BP180. Los estudios de inmunofluorescencia indirecta (IFI) fueron positivos en 2 pacientes (20%), así como en también en 2 pacientes mediante la técnica *salt-split*. En 3 pacientes se encontró reactividad frente al fragmento extracelular del BP180 (LAD-1), dos de ellos mediante IgA y uno con IgG. Solamente el suero de 2 pacientes reconoció el fragmento NC16A, y 4 de los 5 pacientes presentaron anticuerpos frente al dominio carboxiterminal BP180 4575.

*Conclusiones.* Las técnicas de biología molecular son de gran importancia para complementar el diagnóstico de PM, en especial cuando los estudios de hematoxilina-eosina o de IF no ofrecen unos resultados satisfactorios para realizar un diagnóstico de PM.

**Palabras clave:** penfigoide de mucosas, autoinmunidad, autoanticuerpos, enfermedades vesiculoampollosas.

### MUCOUS MEMBRANE PEMPHIGOID: IgG AND IgA ANTIBODIES AGAINST THE BP180 ANTIGEN

**Abstract.**—*Introduction.* Mucous membrane pemphigoid is a group of autoimmune bullous diseases, mediated by autoantibodies directed against different proteins in the dermoepidermal junction, including the BP180 antigen.

*Patients, material and methods.* We included five patients with MMP in this study. We studied the presence of circulating autoantibodies against the BP180 antigen and against recombinant extracellular fragments of this protein.

*Results.* We detected the presence of circulating antibodies against BP180 in all of the patients. Indirect immunofluorescence (IIF) studies were positive in 2 patients (20%), as well as in 2 patients via salt-split studies. We found reactivity to the extracellular fragment of BP180 (LAD-1) in 3 patients, 2 of them via IgA and 1 with IgG. The serum of only 2 patients recognized the NC16A fragment, and 4 of the 5 patients had antibodies against the carboxy-terminal domain BP180 4575.

*Conclusions.* Molecular biology techniques are very important to complement the diagnosis of MMP, especially when the results of hematoxylin-eosin or IF studies are not satisfactory for a diagnosis of MMP.

**Key words:** mucous membrane pemphigoid, autoimmunity, autoantibodies, vesiculobullous diseases.

### INTRODUCCIÓN

El penfigoide cicatrizal (PC) es un grupo de enfermedades autoinmunes, mediadas por autoanticuerpos IgG (inmunoglobulina) y/o IgA, que consisten en la aparición de ampollas subepidérmicas, que afectan principalmente a las mucosas, y en menor medida a la piel<sup>1</sup>. En los últimos años, esta enfermedad ha recibido muchas denominaciones, como penfigoide benigno de mucosas, penfigoide oral o penfigoide ocular<sup>2</sup>. No obstante, el curso no siempre es benigno; deja importantes secuelas en el paciente, y en ocasiones pueden observarse lesiones en varias localiza-

ciones. Por este motivo, hoy día es más aceptado el nombre de penfigoide de mucosas (PM) para designar este grupo de enfermedades<sup>3</sup>.

Varias proteínas constitutivas de la membrana basal de la epidermis se han implicado como antígenos en la patogenia del PM, destacando con una frecuencia mayor el antígeno del penfigoide ampoloso 2 (APA-2) o BP180<sup>4-8</sup>. También se ha relacionado el (APA)-1 o BP230<sup>4,8</sup>, la integrina  $\alpha 6\beta 4$ <sup>9,10</sup>, la laminina 5<sup>11-13</sup>, la laminina 6<sup>13</sup> y el colágeno tipo VII<sup>14</sup>. Además, un mismo paciente puede presentar autoanticuerpos dirigidos frente a varios de estos antígenos<sup>13,15,16</sup>. Esta variedad antigénica muestra el gran espectro clínico de esta enfermedad, y la variabilidad clínica en su expresión. El diagnóstico de cada una de estas formas clínicas requiere, además de la presencia de los típicos hallazgos clínicos, de la utilización de técnicas de biología molecular y de inmunofluorescencia especiales, tal y como se ha establecido recientemente<sup>3</sup>.

Se presenta nuestra experiencia en 5 pacientes con PM atendidos en nuestro departamento, en los que

#### Correspondencia:

Agustín España. Departamento de Dermatología. Clínica Universitaria de Navarra. España. Universidad de Navarra. Apto. 4209. 31080 Pamplona. España. aespana@unav.es

Recibido el 20 de diciembre de 2004.

Aceptado el 20 de abril de 2005.

**TABLA 1. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES**

Caso n.º	Sexo/ edad	Localizaciones de las lesiones							IFD			IFI (EM)	IFI (salt-split)		IB BP180 (LAD-1)		IB BP180 (NC16A)		ELISA BP180 (NC16A)	IB BP180 (4575)	
		P	Oc	Or	N	F	A	G	IgG	IgA	C3	IgG	IgG	IgA	IgG	IgA	IgG	IgA		IgG	IgA
1	M/60	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	1:320	-	-	-	-	+	-	NR	-	+
2	V/41	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	NR	NR	-	+	-	+	NR	+	+
3	V/46	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	NR	+	-	
4	V/63	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	1:80	+1:80(E)	-	-	-	NR	NR	-	+	-
5	M/69	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+1:640(E)	+1:160(E)	+	-	NR	NR	-	-	-

M: mujer; V: varón; P: piel; Oc: mucosa ocular; Or: mucosa oral; N: mucosa nasal; F: mucosa faríngea; A: mucosa anal; G: mucosa genital; IFD: inmunofluorescencia directa; EM: esófago de mono; IFI: inmunofluorescencia indirecta; NR: no realizada; E: epidermis.

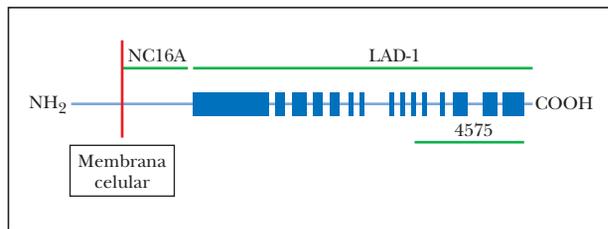


Fig. 1.—Diagrama que representa de forma esquemática el antígeno 2 del penfigoide ampuloso (BP180), con sus tres partes: porción intracelular, porción transmembrana y región extracelular. En este estudio se utilizan tres fragmentos recombinantes del BP180: fragmento extracelular LAD-1 (no es conocido exactamente el inicio de este fragmento, pero su extremo distal se extiende hasta el aminoácido 1497); el fragmento NC16A (desde el aminoácido 490 hasta el 565); y el fragmento carboxiterminal del ectodominio extracelular BP180 4575 (desde el aminoácido 1365 hasta el 1413).

se realizaron diferentes técnicas de biología molecular y de inmunofluorescencia que ayudaron a realizar un diagnóstico correcto.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Pacientes y caracterización de los sueros

Nuestro estudio incluye 5 pacientes, 2 mujeres y 3 varones, diagnosticados de PM en el Departamento de Dermatología de la Clínica Universitaria de Navarra. Las características clínicas e inmunológicas de cada uno de los pacientes están incluidas en la tabla 1. La edad estuvo comprendida entre los 41 y los 69 años. Todos los pacientes presentaron afectación de mucosa oral, y solamente en 2 casos se observaron lesiones en la piel. En todos los casos se realizó biopsia de las lesiones, siguiendo las directrices indicadas<sup>3</sup>. Los hallazgos histológicos de hematoxilina-eosina fueron compatibles con enfermedad ampulosa subepidérmica. Se realizaron estudios de inmunofluorescencia directa (IFD) e indirecta (IFI), incluyendo la técnica de *salt-split* mediante el empleo de piel humana incubada en una solución de cloruro sódico 1M.

### Inmunofluorescencia y técnica de *salt-split*

Las técnicas de IFD e IFI se realizaron según se ha descrito en la literatura médica<sup>17</sup>. Para llevar a cabo la técnica de *salt-split* se siguieron las directrices de Zillikens et al<sup>18</sup>. Se incubó piel humana en una solución de cloruro sódico 1M. Los cortes obtenidos por congelación se pusieron en contacto con suero de los pacientes a una dilución 1:10 durante 30 min a una temperatura de 37 °C. Posteriormente, se lavó la muestra suero salino, y se incubaron con anticuerpos anti-IgA a anti-IgG humana marcados con fluoresceína (FITC), a una dilución de 1:100.

### Técnicas de *immunoblot* y proteínas de fusión

Estas técnicas se llevaron a cabo en colaboración con el Departamento de Dermatología de la Universidad de Lübeck de Alemania (Dr. Cassian Sitaru), tal y como se ha descrito en la literatura médica<sup>18</sup>. Las proteínas de fusión utilizadas se muestran en la figura 1, siguiendo la técnica propuesta por Georgi et al<sup>19</sup> y basándose en la secuenciación descrita por Giudice et al<sup>20</sup>. La región soluble del ectodominio del BP180 (LAD-1) se aisló de un cultivo de células Ha CaT<sup>21</sup>, creciendo en un medio para queratinocitos en condiciones de calcio bajo (Clonetics, La Jolla, CA, EE.UU.) hasta llegar a una confluencia del 70-80 %<sup>21</sup>. El concentrado del cultivo de queratinocitos se separó con geles de electroforesis de poliacrilamida-sulfato dodecil-sódico (SDS-PAGE) al 8 % y electrotransferidos a papeles de nitrocelulosa. Se realizaron tiras de este papel, incubándose con sueros, a una dilución de 1:100 durante 4 h a temperatura ambiente. Posteriormente, se lavaron con suero con albúmina bovina al 1 % en solución tampón salino-TRIS, y se incubaron con anticuerpos específicos frente a IgG a IgA humanas, marcados con peroxidasa del rábano picante<sup>21</sup>.

Los fragmentos BP180 NC16 (desde los aminoácidos 490 a 562) y BP180 4575 (desde los aminoácidos

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/9222878>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/9222878>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)