

Paweł Bartkiewicz

**Zagadnienia czynników wyzwalających i chorób współistniejących
w autoimmunizacyjnych dermatozach pęcherzowych**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor: prof. dr hab. n. med. Marian Dmochowski

Promotor pomocniczy: dr hab. n. med. biotechnolog Justyna Gornowicz-Porowska

Pracownia Autoimmunizacyjnych Dermatoz Pęcherzowych
Pracownia Histopatologii i Immunopatologii Skóry
Katedra i Klinika Dermatologii
Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

Poznań 2018

WYKAZ CZĘŚCIEJ UŻYWANYCH OZNACZEŃ

- ADP - autoimmunizacyjne dermatozy pęcherzowe
- BP - pemfigoid pęcherzowy (bullous pemphigoid, ang.)
- BP+ND - grupa pacjentów z BP i współwystępującą ND
- BP-ND - grupa pacjentów z BP bez współwystępującej ND
- BP180 - antygen pemfigoidu pęcherzowego o m.cz. 180 kDa (BPAG2, kolagen typu XVII)
- BP230 - antygen pemfigoidu pęcherzowego o m.cz. 230 kDa (BPAG1; dystonin, ang.)
- CD - celiakia (celiac disease, ang.)
- DEJ - połączenie skórno-naskórkowe (dermal-epidermal junction, ang.)
- DH - opryszczkowate zapalenie skóry (dermatitis herpetiformis, ang.)
- DIF - metoda immunofluorescencyjna bezpośrednia (direct immunofluorescence, ang.)
- DIP - pęcherzyca wywoływana lekowo (drug-induced pemphigus, ang.)
- DSC - desmokolina (desmocollin, ang.)
- DSG - desmogleina (desmoglein, ang.)
- EATL – chłoniak T-komórkowy związany z enteropatią (enteropathy-associated T-cell lymphoma, ang.)
- EB - pęcherzowe oddzielania się naskórka (epidermolysis bullosa, ang.)
- eTG - transglutaminaza naskórkowa (epidermal transglutaminase, ang.)
- GFD - dieta bezglutenowa (gluten free diet, ang.)
- GKS - glikokortykosteroidy
- GSE - gluteno zależna enteropatia (gluten sensitive enteropathy, ang.)
- HD - półdesmosomy (hemidesmosome, ang.)
- HT - nadciśnienie tętnicze (hypertension, ang.)
- IIF - metoda immunofluorescencyjna pośrednia (indirect immunofluorescence, ang.)
- KiKD UMP - Katedra i Klinika Dermatologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
- MMP - pemfigoid błon śluzowych (mucous membrane pemphigoid, ang.)
- MS - stwardnienie rozsiane (multiple sclerosis, ang.)
- NCGS - nieceliakalna nadwrażliwość na gluten (non-celiac gluten sensitivity, ang.)
- ND - choroba neurodegeneracyjna (neurodegenerative disease, ang.)
- NHL - chłoniak nieziarniczny (non-Hodgkin lymphoma, ang.)
- OUN - ośrodkowy układ nerwowy
- ObUN - obwodowy układ nerwowy

PD - choroba Parkinsona (Parkinson's disease, ang.)
PF - pęcherzyca liściasta (pemphigus foliaceus, ang.)
PNS - paranowotworowe zespoły neurologiczne (paraneoplastic neurological syndromes, ang.)
ppn - przeciwciała przeciwneuronalne
Pso - łuszczyca (psoriasis, ang.)
PV - pęcherzyca zwykła (pemphigus vulgaris, ang.)
RA – reumatoidalne zapalenie stawów (rheumatoid arthritis, ang.)
sGKS – systemowe glikokortykosteroidy
TIA - przemijający atak niedokrwienny (transient ischemic attack, ang.)
tTG - transglutaminaza tkankowa (tissue transglutaminase, ang.)
UnsD - nieokreślone zaburzenia neurologiczne przebiegające w obrazie demencji (unspecified dementia, ang.)

LEGENDA

Nazwy genów ludzkich oznaczono kursywą i wielkimi literami (np. *DSG2*), mysich – kursywą i pierwszą wielką literą, dalej małymi literami (*Dsg2*). Nazwy białek ludzkich pisano wielkimi literami (*DSG2*). Białka mysie oznaczono pierwszą wielką literą i dalej małymi literami (*Dsg2*).

Słowa kluczowe: pęcherzyca, pemfigoid, opryszczkowe zapalenie skóry

SPIS TREŚCI

1.WSTĘP	13
1.1 Złożoność patofizjologii chorób kręgu pęcherzycy oraz współczesne tendencje w ich leczeniu	13
1.1.1 Śródskórkowe mechanizmy przylegania komórek	13
1.1.2 Patofizjologia chorób kręgu pęcherzycy	14
1.1.3 Współczesne tendencje w leczeniu chorób kręgu pęcherzycy	22
1.2 Odmiany kliniczno-molekularne pemfigoidu pęcherzowego	29
1.2.1 Znaczenie składowych hemidesmosomu w patofizjologii pemfigoidu pęcherzowego	29
1.2.2. Złożoność budulcowo-czynnościowa połączenia skórno-naskórkowego	31
1.2.3 Polimorficzny obraz kliniczny pemfigoidu pęcherzowego	33
1.3 Opryszczkowate zapalenie skóry a nieceliakalna nadwrażliwość na gluten (non-celiac gluten sensitivity)	35
2.CEL PRACY	40
3. MATERIAŁ I METODY	42
3.1 Materiał	42
3.1.1 Grupy badane w analizie danych laboratoryjno-epidemiologicznych	42
3.1.1.1 Chorzy z pęcherzycą zwykłą i liściastą	43
3.1.1.2 Chorzy z pemfigoidem pęcherzowym i pemfigoidem błon śluzowych	43
3.1.1.3 Chorzy z opryszczkowatym zapaleniem skóry	43
3.1.1.4 Chorzy z łuszczycą pospolitą	44
3.1.2 Grupy badane w analizie danych literaturowych	44
3.1.3 Wycinki skórne	45
3.1.3.1 Mrożone skrawki do badania immunopatologicznego bezpośredniego	45
3.1.3.2 Parafinowe skrawki do badania histopatologicznego	45
3.1.4 Surowice	46
3.2 Metody	46
3.2.1 Metody diagnostyczne	46
3.2.1.1 Badanie immunopatologiczne bezpośrednie	46
3.2.1.2 Badanie immunopatologiczne pośrednie	46
3.2.1.3 Badanie histopatologiczne w barwieniu H+E	47
3.2.1.4 Badanie immunoenzymatyczne ELISA	48
3.2.1.4.1 Test monospecyficzny ELISA anty-DSG1/-DSG3 IgG, anty-BP180/-BP230 IgG, anty-tTG IgA	48

3.2.1.4.2 Test wieloparametryczny ELISA anty-DSG1/-DSG3/-BP180/-BP230, enwoplakina, kolagen typ VII IgG	50
3.2.2 Metody badawcze	51
3.2.2.1 Badanie immunoblotingu w kierunku przeciwciał IgG przeciwn neuronalnych	51
3.2.3 Ocena mikroskopowa wraz z dokumentacją fotograficzną	52
3.2.4 Analiza statystyczna	52
3.2.4.1 Analiza statystyczna występowania przeciwciał IgG wobec BP180/BP230 i przeciwn neuronalnych	52
3.2.4.2 Analiza statystyczna występowania chorób neurodegeneracyjnych w grupach pacjentów z pemfigoidem pęcherzowym i łuszczycą pospolitą	52
4.WYNIKI	54
4.1 Wyniki analizy danych epidemiologicznych	54
4.1.1 Wyniki analizy danych epidemiologicznych w grupie pacjentów z pęcherzycą zwykłą i pęcherzycą liściastą	54
4.1.2 Wyniki analizy danych epidemiologicznych w grupie pacjentów z pemfigoidem pęcherzowym, pemfigoidem błon śluzowych i łuszczycą pospolitą	58
4.1.2.1 Wyniki analizy danych epidemiologicznych w grupie pacjentów z pemfigoidem pęcherzowym i pemfigoidem błon śluzowych	58
4.1.2.2 Wyniki analizy danych epidemiologicznych w grupie pacjentów z pemfigoidem pęcherzowym i łuszczycą pospolitą	60
4.1.2.3 Wyniki analizy danych epidemiologicznych w grupie pacjentów z pemfigoidem pęcherzowym poddanych ocenie występowania przeciwciał przeciwn neuronalnych	61
4.1.3 Wyniki analizy danych epidemiologicznych w grupie pacjentów z opryszczkowatym zapaleniem skóry	62
4.2 Wyniki analizy danych laboratoryjnych	64
4.2.1 Wyniki analizy danych laboratoryjnych w grupie pacjentów z pemfigoidem pęcherzowym z towarzyszącą chorobą neurodegeneracyjną oraz grupie bez takiego współwystępowania	64
4.3 Wyniki analizy danych literaturowych	68
4.3.1 Wyniki analizy danych literaturowych w grupie pacjentów z pęcherzycą zwykłą i liściastą	68
4.3.2 Wyniki analizy danych literaturowych w grupie pacjentów z pemfigoidem pęcherzowym	77
4.3.2.1 Występowanie chorób neurodegeneracyjnych w grupie pacjentów z pemfigoidem pęcherzowym	77
4.3.2.2 Występowanie pemfigoidu pęcherzowego w populacji pacjentów z chorobami neurodegeneracyjnymi	84

4.3.3 Wyniki analizy danych literaturowych w grupie pacjentów z opryszczkowatym zapaleniem skóry	85
4.3.3.1 Choroby współwystępujące z opryszczkowatym zapaleniem skóry	85
4.3.3.2 Leki w opryszczkowatym zapaleniu skóry	93
5.DYSKUSJA	95
5.1 Choroby kręgu pęcherzycy wywoływanej lekowo	95
5.1.1 Znaczenie diagnostyki pęcherzycy wywołanej lekowo	95
5.1.2 Rola przeciwciała w pęcherzycy wywoływanej lekowo	100
5.1.3 Uwarunkowania genetyczne w pęcherzycy wywoływanej lekowo	103
5.1.4 Znaczenie struktury chemicznej leku w patogenezie pęcherzycy wywoływanej lekowo	104
5.1.4.1 Leki tiolowe w patogenezie pęcherzycy wywoływanej lekowo	104
5.1.4.2 Leki nie-tiolowe w patogenezie pęcherzycy wywoływanej lekowo	105
5.1.4.3 Leki wywołujące pęcherzycę w podziale klasyfikacji anatomiczno-terapeutyczno-chemicznej (ATC)	107
5.2 Związek pemfigoid pęcherzowego i pemfigoidu błon śluzowych z chorobami neurologicznymi	123
5.2.1 Rola BPAG1 w patomechanizmie pemfigoidu pęcherzowego i chorób neurodegeneracyjnych	126
5.2.2 Rola BPAG2 w patomechanizmie pemfigoidu pęcherzowego i chorób neurodegeneracyjnych	130
5.2.3 Reakcje krzyżowe pomiędzy antygenami skórnymi i neuronalnymi	132
5.2.4 Rola przeciwciał w patomechanizmie pemfigoidu pęcherzowego i chorób neurodegeneracyjnych	135
5.2.5 Rola autoimmunizacji i (auto)zapalenia	137
5.2.6 Podłoże genetyczne	140
5.3 Opryszczkowane zapalenie skóry a nowotworzenie	142
5.3.1 Choroby współwystępujące z opryszczkowatym zapaleniem skóry	142
5.3.2 Choroby nowotworowe w opryszczkowatym zapaleniu skóry	144
6.WNIOSKI	148
7.STRESZCZENIE	150
8.ABSTRACT	153
9.ZAŁĄCZNIKI – zgoda Komisji Bioetycznej na prowadzenie badań	156
10.PIŚMIENNICTWO	157

Część zagadnień poruszanych w poniższej pracy doktorskiej przedstawiono w następujących doniesieniach:

I. Prace opublikowane:

Gornowicz-Porowska J, Seraszek-Jaros A, Bowszyc-Dmochowska M, Kaczmarek E, Pietkiewicz P, **Bartkiewicz P**, Dmochowski M. A comparative study of Fc receptors in relation to the autoantibody-mediated immune response and neutrophil elastase expression in autoimmune blistering dermatoses. *Pol J Pathol* 2017; 68(2): 109-116.

Pietkiewicz P, Gornowicz-Porowska J, **Bartkiewicz P**, Bowszyc-Dmochowska M, Dmochowski M. Reviewing putative industrial triggering in pemphigus: cluster of pemphigus in the area near the wastewater treatment plant. *Adv Dermatol Allergol* 2017; 34(3): 185-191.

Bartkiewicz P, Gornowicz-Porowska J, Pietkiewicz P, Świrkowicz A, Bowszyc-Dmochowska M, Dmochowski M. Neurodegenerative disorders, bullous pemphigoid and psoriasis: a comparative study in ethnic Poles indicates that Parkinson's disease is more relevant to bullous pemphigoid. *Adv Dermatol Allergol* 2017; 34(1): 42–46.

Gornowicz-Porowska J, Seraszek-Jaros A, Bowszyc-Dmochowska M, Kaczmarek E, Pietkiewicz P, **Bartkiewicz P**, Dmochowski M. Analysis of the autoimmune response against BP180 and BP230 in ethnic Poles with neurodegenerative disorders and bullous pemphigoid. *Centr Eur J Immunol.* 2017; 42(1): 85-90.

Gornowicz-Porowska J, Seraszek-Jaros A, Bowszyc-Dmochowska M, Kaczmarek E, Pietkiewicz P, **Bartkiewicz P**, Dmochowski M. Accuracy of molecular diagnostics in pemphigus and bullous pemphigoid: comparison of commercial and modified mosaic indirect immunofluorescence tests as well as enzyme-linked immunosorbent assays. *Adv Dermatol Allergol* 2017; 34(1): 21–27.

Pietkiewicz P, Gornowicz-Porowska J, Bowszyc-Dmochowska M, **Bartkiewicz P**, Dmochowski M. Bullous pemphigoid and neurodegenerative diseases: a study in a setting of a Central European university dermatology department. *Aging Clin Exp Res.* 2016; 28(4): 659-663.

II. Streszczenia zjazdowe:

Dmochowski M, Gornowicz-Porowska J, **Bartkiewicz P**, Seraszek-Jaros A, Kaczmarek E, Bowszyc-Dmochowska M. Comparative analysis of occurrence of IgG antibodies to BP180/BP230 and so-called IgG anti-neuronal antibodies in bullous pemphigoid coexistent with

neurodegenerative diseases. International Investigative Dermatology (IID) 2018 Meeting, Orlando, Floryda, USA, 16-19 maja 2018. *J Invest Dermatol.* 2018; 138(5S), supplement 1: S44.

Dmochowski M, Gornowicz-Porowska J, **Bartkiewicz P**, Seraszek-Jaros A, Kaczmarek E, Bowszyc-Dmochowska M. Comparative analysis of occurrence of IgG antibodies to BP180/BP230 and so-called IgG anti-neuronal antibodies in bullous pemphigoid coexistent with neurodegenerative diseases: Implications for treatment. International Pemphigus and Pemphigoid Foundation Meeting: A New Era of Translational and Clinical Science, Orlando, Floryda, USA, 15-16 maja 2018.

Bartkiewicz P, Gornowicz-Porowska J, Bowszyc-Dmochowska M, Seraszek-Jaros A, Kaczmarek E, Dmochowski M. Pemfigoid pęcherzowy a choroby neurodegeneracyjne: badanie porównawcze występowania surowicznych przeciwciał wobec BP180, BP230 i przeciwciał przeciwn neuronalnych w warunkach środkowoeuropejskiego uniwersyteckiego oddziału dermatologicznego. Zjazd Sekcji Forum Młodych Polskiego Towarzystwa Dermatologicznego. Łódź, 26-28 października 2017. *Forum Dermatol.* 2017; 3(3): 97.

Bartkiewicz P, Gornowicz-Porowska J, Bowszyc-Dmochowska M, Świrkowicz A, Dmochowski M. No response to rituximab in a case of mucosal-dominant to and fro mucocutaneous shifting pemphigus vulgaris previously treated with a range of more traditional anti-pemphigus therapies: clinical hint relevant to pemphigus pathogenesis. PPP 2016 - Pathogenesis of Pemphigus and Pemphigoid Meeting. Satellite Symposium to the 46th Annual ESDR meeting. Monachium, Niemcy, 5-7 września 2016.

Dmochowski M, Gornowicz-Porowska J, **Bartkiewicz P**, Bowszyc-Dmochowska M. BP180 autoimmunity-related localized blistering dermatoses are intellectually challenging for dermatology clinicians: focal cutaneous phenomena have pathogenic relevance. PPP 2016 - Pathogenesis of Pemphigus and Pemphigoid Meeting. Satellite Symposium to the 46th Annual ESDR meeting. Monachium, Niemcy, 5-7 września 2016.

Bartkiewicz P, Gornowicz-Porowska J, Pietkiewicz P, Świrkowicz A, Bowszyc-Dmochowska M, Dmochowski M. Rich clinical spectrum of bullous pemphigoid: trauma-induced localized dermatosis in a septuagenarian woman after orthopedic injury. 25th EADV Congress. Wiedeń, Austria, 28 września – 2 października 2016.

Bartkiewicz P, Gornowicz-Porowska J, Pietkiewicz P, Świrkowicz A, Bowszyc-Dmochowska M, Dmochowski M. Środkowoeuropejskie a japońskie opryszczkowe zapalenie skóry - podobieństwa i odmierności. 31. Zjazd Polskiego Towarzystwa Dermatologicznego. Wrocław, 11-14 maja 2016. *Prz. Derm.* 2016; 103(1): 81.

Gornowicz-Porowska J, Świrkowicz A, **Bartkiewicz P**, Pietkiewicz P, Bowszyc-Dmochowska M, Dmochowski M. Wstępna ocena użyteczności absorbentu AB w diagnozowaniu pęcherzycy metodą immunofluorescencji pośredniej na przełyku małpim. 31.Zjazd Polskiego Towarzystwa Dermatologicznego. Wrocław, 11-14 maja 2016. Prz. Derm., 2016; 103(1): 220-221.

Bartkiewicz P, Pietkiewicz P, Gornowicz-Porowska J, Bowszyc-Dmochowska M, Dmochowski M. Pemfigoid pęcherzowy, łuszczyca a choroby neurodegeneracyjne: badanie porównawcze w warunkach środkowoeuropejskiego uniwersyteckiego oddziału dermatologicznego. Zjazd Sekcji Forum Młodych Polskiego Towarzystwa Dermatologicznego. Ossa k. Rawy Mazowieckiej, 12-13 listopada 2015. Prz. Derm. 2015; 102(5): 403-404.

Gornowicz-Porowska J, Seraszek-Jaros A, Bowszyc-Dmochowska M, Kaczmarek E, Pietkiewicz P, **Bartkiewicz P**, Dmochowski M. Analiza porównawcza wybranych receptorów Fc w autoimmunizacyjnych dermatozach pęcherzowych. Zjazd Sekcji Forum Młodych Polskiego Towarzystwa Dermatologicznego. Ossa k. Rawy Mazowieckiej, 12-13 listopada 2015. Prz. Derm. 2015; 102(5): 439.

Pietkiewicz P, Gornowicz-Porowska J, Seraszek-Jaros A, Bowszyc-Dmochowska M, Kaczmarek E, **Bartkiewicz P**, Dmochowski M. Porównanie przydatności diagnostycznej multiparametrycznej immunofluorescencji pośredniej (wykrywającej przeciwciała IgG oraz zmodyfikowanej wykrywającej przeciwciała IgG4) i ELISA w pęcherzycy i pemfigoidzie pęcherzowym. Zjazd Sekcji Forum Młodych Polskiego Towarzystwa Dermatologicznego. Ossa k. Rawy Mazowieckiej, 12-13 listopada 2015. Prz. Derm.,2015; 102(5): 414.

Gornowicz-Porowska J, Bowszyc-Dmochowska M, Pietkiewicz P, Seraszek-Jaros A, Kaczmarek E, **Bartkiewicz P**, Dmochowski M. Comparative diagnostic performance of commercial as well as modified mosaic indirect immunofluorescence assay and ELISAs for the serological evaluation of pemphigus and bullous pemphigoid activity. 45th Annual Meeting of the European Society for Dermatological Research. Rotterdam, Holandia, 9-12 września 2015. J. Invest. Dermatol., 2015; 135(2):15.

Gornowicz-Porowska J, **Bartkiewicz P**, Pietkiewicz P, Bowszyc-Dmochowska M, Dmochowski M. Pemfigoid pęcherzowy z wykwitami typu rumienia obrączkowego odśrodkowego w odmianie głębokiej u kobiety w średnim wieku w przebiegu zakażenia *Treponema pallidum*. X Jubileuszowe Sympozjum Naukowo-Szkoleniowe Polskiej Akademii Dermatologii i Wenerologii „Skóra zwierciadłem wnętrza człowieka i jego zdrowia". Karpacz, 14-17 maja 2015. Prz. Derm., 2015; 102(2): 149-150.

Bartkiewicz P, Pietkiewicz P, Gornowicz-Porowska J, Bowszyc-Dmochowska M, Dmochowski M. Bullous pemphigoid showing erythema annulare centrifugum-like features developing in a

middle-aged woman with an apparently asymptomatic syphilis.12th EADV Spring Symposium. Walencja, Hiszpania, 5-8 marca 2015.

III. Doniesienia internetowe:

Gornowicz-Porowska J, Dmochowski M, **Bartkiewicz P**, Bowszyc-Dmochowska M. 2016 SID Annual Meeting: zagadnienia kliniczno-molekularne autoimmunizacyjnych dermatoz pęcherzowych. Termedia - Serwisy: Dermatologia 2016.

Gornowicz-Porowska J, Dmochowski M, Pietkiewicz P, **Bartkiewicz P**, Bowszyc-Dmochowska M. Garść wrażeń ze zjazdu the Society for Investigative Dermatology. Termedia Serwisy: Dermatologia 2015.

Praca doktorska została zrealizowana ze wsparciem finansowym grantu badawczego o numerze rejestracyjnym projektu IP2014 012773 programu Iuventus Plus MNiSW, temat projektu: Ekspresja receptorów dla fragmentu Fc przeciwciał w patogenezie autoimmunizacyjnych dermatoz pęcherzowych; kierownik projektu – dr hab. n. med. Justyna Gornowicz-Porowska, współpomysłodawca projektu – prof. dr hab. n. med. Marian Dmochowski, współwykonawca – lek. Paweł Bartkiewicz oraz z funduszy pozyskanych z międzynarodowego, wielośrodkowego projektu w ramach umowy z Universitätsklinikum Schleswig-Holstein: „A European prospective study on serum antibodies against target antigens of bullous autoimmune diseases and genetic susceptibility“ (projekt w ośrodku poznańskim 504-03-02220355-9/151-06034 kierowany przez prof. dr. hab. n. med. Mariana Dmochowskiego).

W 2017 roku lek. Paweł Bartkiewicz otrzymał wyróżnienie w konkursie na najlepszą pracę eksperymentalną podczas Zjazdu Sekcji Forum Młodych Polskiego Towarzystwa Dermatologicznego. Łódź, 26-28 października 2017.

W 2017 roku lek. Paweł Bartkiewicz otrzymał dyplom nagrody w sesji plakatowej podczas konferencji Interdyscyplinarne Spotkania pod Poznańskimi Koziółkami. Nowoczesne Terapie w Dermatologii, Gastroenterologii, Reumatologii u Dorosłych i Dzieci, Poznań, 8-9 września 2017.

W 2016 roku lek. Paweł Bartkiewicz otrzymał stypendium dla młodych pracowników medycznych przyznane przez Eli Lilly w ramach Europejskiej Akademii Dermatologii i Wenerologii (EADV, European Academy of Dermatology and Venereology).

Za osiągnięcia naukowe uzyskane w latach 2015 i 2017 lek. Paweł Bartkiewicz otrzymał dwa listy gratulacyjne od prof. dr. hab. Andrzeja Tykarskiego, rektora Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu.

1.WSTĘP

1.1 Złożoność patofizjologii chorób kręgu pęcherzycy oraz współczesne tendencje w ich leczeniu

1.1.1 Śródnaskórkowe mechanizmy przylegania komórek

Mechanizmy przylegania pomiędzy komórkami naskórka oraz przylegania komórek naskórka do błony podstawnej w obrębie połączenia skórno-naskórkowego (dermo-epidermal junction, DEJ) warunkują utrzymanie bariery pomiędzy środowiskiem zewnętrznym a organizmem. Ciągłość bariery skórno-naskórkowej zapewnia ochronę przed zewnętrznymi czynnikami fizycznymi, chemicznymi oraz potencjalnie wirulentnymi organizmami. Głównymi strukturami komórkowymi uczestniczącymi w tych mechanizmach na poziomie międzykomórkowym w naskórku są desmosomy, natomiast na poziomie DEJ hemidesmosomy (hemidesmosome, HD) błony podstawnej. Struktury te zbudowane są ze śródkomórkowych i przezłonowych cząstek, na których temat wiedza w ostatnich latach uległa znacznemu rozszerzeniu. Wynika to między innymi z faktu prowadzenia badań nad patofizjologią chorób z kręgu pęcherzycy i pemfigoidu schorzeń, w których białka desmosomalne i hemidesmosolane stanowią docelowe autoantygeny. Wiele cząstek zostało scharakteryzowanych na poziomie mikrostrukturalnym, jako białka, ale również epigenetycznym z uwzględnieniem ich ekspresji, regulacji oraz pełnionej funkcji. Zaowocowało to również odnalezieniem mutacji w przynajmniej 18 odrębnych genach, leżących u podstaw dziedzicznych zaburzeń przylegania komórek naskórka u człowieka i myszy.

Desmosomy nazywane również miejscami przylegania (połączeniami zwierającymi) stanowią główne punkty przylegania komórek w naskórku, występują jednak również w innych tkankach między innymi w mięśniówce serca (miokardium). Poza tworzeniem punktów przylegania uczestniczą również w kotwiczeniu filamentów pośrednich (keratyny w przypadku nabłonka i naskórka) do powierzchni komórki. Rolę tę spełniają tworząc przestrzenną strukturę – rusztowanie z mikrofilamentów pośrednich rozciągających się od błony jądrowej do powierzchni komórki. Struktury te zapewniają stabilizację naskórka, a w razie ich zniszczenia dochodzi do lizy keratynocytów.

Na poziomie molekularnym składowe desmosomów należą do grup białek kodowanych przez trzy główne grupy genów; genów plakiny (np. desmoplakiny), białek armadyłowych (np. plakoglobiny, plakofiliny) oraz kadheryn desmosomalnych (desmogleiny i desmokoliny). U człowieka występują cztery geny kodujące desmogleinę (desmogelin, *DSG*) 1, 2, 3 oraz 4. Gen

desmogleiny 3 został odkryty podczas badań nad autoantygenem w pęcherzycy zwykłej (pemphigus vulgaris, PV). Wszystkie izoformy DSG wykazują tkankowo specyficzną dystrybucję, a w przypadku DSG1 i 3 są to naskórek oraz błony śluzowe. W obrębie poszczególnych tkanek DSG charakteryzuje odrębne ułożenie, co implikuje patogenetyczne podłoże pęcherzycy (teoria kompensacji desmoglein, Mahoney i wsp.1999). Desmokoliny (desmocollins, DSCs) kodowane są przez trzy geny (*DSCI-3*), w których odmienne składanie pierwotnego transkryptu (alternative splicing) umożliwia syntezę wielu różnych wariantów (izoform) białek. DSC podobnie do DSG wykazują tkankowo specyficzną dystrybucję.

Obecnie uważa się, że desmosomy pełnią dużo bardziej złożone funkcje niż tylko zapewnienie adhezji komórek. Odgrywają również rolę w procesach różnicowania się i dojrzewania komórek. Celowana delecja genu dla desmogleiny 2 (*Dsg2*) u myszy prowadzi do śmierci na poziomie embrionalnym i hamuje proliferację komórek macierzystych. Natomiast upośledzona ekspresja desmogleiny 3 (*Dsg3*) w górnych warstwach naskórka wiąże się z zaburzeniami różnicowania komórek, hiperproliferacją oraz defektem bariery naskórkowej. Podobne objawy obserwuje się u myszy z celowaną delecją desmokoliny 1. Ponadto składowe białek armadylowych desmosomu uczestniczą w modulowaniu ścieżki sygnałowej Wnt (Willert i wsp. 1998).

Złożone funkcje składowych desmosomu skutkują różnorodną manifestacją kliniczną u pacjentów z mutacjami genów dla białek desmosomalnych. Dotyczy to również zaburzeń w innych tkankach niż skóra i jej przydatki. Autosomalne recesywne mutacje genów desmoplakin mogą wywoływać między innymi kardiomiopatie komorowe (Williams i wsp. 2011; Norman i wsp. 2005).

1.1.2 Patofizjologia chorób kręgu pęcherzycy

Autoimmunizacyjne dermatozy pęcherzowe (ADP) są heterogenną grupą zapalnych chorób skóry charakteryzujących się przewlekłym, nawrotowym przebiegiem, u podłoża których leży powstawanie autoprzeciwciał lub mediowana komórkowo odpowiedź immunologiczna przeciwko antygenom własnym gospodarza. W danych piśmienniczych pojawiają się również informacje, że częstsze populacyjnie dermatozy jak łuszczyca (psoriasis, Pso), atopowe zapalenie skóry oraz liszaj płaski mogą wiązać się z procesami autoimmunizacyjnymi. Według Białej Księgi Europejskiego Forum Dermatologicznego (European Dermatology Forum White Book, edycja IV, Barker i Burgdorf, 2013) autoimmunizacyjne dermatozy są rzadkimi chorobami z częstością występowania od 1 do >10 przypadków na milion. Jednocześnie podkreśla się przynależność niektórych z tych chorób do dermatoz związanych z wiekiem, a ściślej związanych ze starzeniem się populacji

pacjentów. Przykładowo dla grupy pacjentów z pemfigoidem pęcherzowym (bullous pemphigoid, BP) częstość występowania gwałtownie wzrasta w kolejnych dekadach życia (według szacunków od 10 do 50 przypadków na milion). ADP w obrazie klinicznym mogą przebiegać z tworzeniem licznych pęcherzy i ich wykwitów ewolucyjnych zajmujących znaczną powierzchnię skóry, co przyczynia się do wystąpienia problemów spotykanych u pacjentów z rozległymi oparzeniami (Ryc. 1).



Ryc. 1 Nadzěrki pokryte strupem na skórze nosa pacjenta z postacią śluzówkowo-skórną PV, w badaniu DIF stwierdzono pęcherzycowe złogi IgG1(+), IgG4(+) i C3(+) w naskórku, w badaniu techniką ELISA IgG anty-DSG1 36,077RU/ml (punkt odcięcia 20RU/ml), ELISA IgG anty-DSG3 >200RU/ml (punkt odcięcia 20RU/ml), w profilu ADP ELISA (IgG) DSG1 1,2 / DSG3 4,4 (punkt odcięcia 1).

Choroby kręgu pęcherzycy to choroby należące do ADP przebiegające z zajęciem skóry i/lub błon śluzowych. W badaniu histopatologicznym charakteryzuje je tworzenie śródskórnokowych pęcherzy w obrazie akantolizy (utrata ciągłości warstw naskórka wskutek utraty połączeń między keratynocytami). Stwierdzenie w 1964 roku przez Beutnera i Jordona krążących przeciwciał przeciwko powierzchniowym autoantygenom keratynocytów w surowicy pacjentów z PV zapoczątkowało zrozumienie patofizjologii tej choroby. Odkrycie to przyczyniło się również do identyfikacji autoprzeciwciał w innych ADP. Dalsze badania doprowadziły do przyjęcia teorii akantolizy indukowanej przez przeciwciała wiążące się z powierzchniowymi antygenami komórek naskórka (Sitaru i wsp. 2005). Potwierdzeniem koncepcji są stwierdzane w diagnostyce immunopatologicznej przeciwciała tkankowo związane (w przestrzeniach międzykomórkowych naskórka/nabłonka wycinka okołowykwitowego) oraz krążące w surowicy, należące do klas/podklas immunoglobulin cechujących dany typ pęcherzycy. Krąg pęcherzycy może zostać podzielony arbitralnie na cztery główne jednostki chorobowe: pęcherzycę zwykłą (PV), pęcherzycę liściastą (pemphigus foliaceus, PF), pęcherzycę paraneoplastyczną (paraneoplastic pemphigus, PNP) oraz pęcherzycę IgA. W każdej z nich stwierdza się odmienny profil przeciwciał

skierowanych przeciwko różnym antygenom powierzchniowym keratynocytów. W badaniach początkowo stwierdzano przeciwciała w surowicy pacjentów, u których wykonano badania immunofluorescencji pośredniej (indirect immunofluorescence, IIF). Następnym przełomowym odkryciem było wykazanie tych przeciwciał kolokalizujących bezpośrednio w tkankach pacjenta – skórze okołowykwitowej w badaniu immunofluorescencji bezpośredniej (direct immunofluorescence, DIF). U wszystkich pacjentów z PV lub PF w aktywnej fazie choroby stwierdza się przeciwciała związane w skórze okołowykwitowej. W przypadku IIF w zależności od zastosowanego substratu u ponad 80% pacjentów z pęcherzycą można stwierdzić krążące przeciwciała przeciwko powierzchniowym antygenom keratynocytów w klasie IgG. U pacjentów z wczesną lub zlokalizowaną postacią choroby oraz w okresach remisji wynik IIF zazwyczaj jest ujemny (Wolff i wsp. 2008). Zastosowanie w badaniach IIF jako substratu przełyku małpiego zwiększało czułość metody w przypadku pacjentów z PV, natomiast w przypadku pacjentów z PF preferowanym substratem z uwagi na wyższą czułość był przełyk świnki morskiej.

Autoproteiny w PV i PF są patogenne. Potwierdzają to obserwacje PV u noworodków, gdzie dochodzi do przeniesienia matczynej przeciwciał w klasie IgG przez łożysko. Badania eksperymentalne na hodowlach tkankowych, polegające na biernym przeniesieniu przeciwciał od pacjentów z PV lub PF, wykazywały powstawanie akantolizy w warstwie nadpodstawnej lub ziarnistej naskórki. Akantoliza występująca w tym mechanizmie zachodziła bez udziału składowych dopełniacza lub komórek stanu zapalnego (Schiltz i wsp. 1976). Badania nad mysiami noworodkami wykazały, że wiązanie dopełniacza nie jest konieczne do wystąpienia objawów, a warunkiem wystarczającym jest obecność monowalentnych fragmentów Fab immunoglobulin. W badaniach nad myszami immunizowanymi przeciw Dsg3 (myszy z delecją genu kodującego *Dsg3*) uzyskiwano limfocyty, które następnie przeszczepiane do zdrowych osobników, u których wywoływały objawy kliniczne i histopatologiczne typowe dla PV (Wolff i wsp. 2008). Przeciwciała w klasie IgG o powinowactwie do zewnątrzkomórkowej domeny DSG3, wyodrębnione z surowicy pacjenta z PV, mogą wywołać akantolizę, jeśli zostaną podane mysii noworodkowi (Anhalt i wsp. 1982). Powyższe dane sugerują, że autoproteiny w PV i PF skierowane przeciwko DSG3 i warunkują powstawanie pęcherzy. Potwierdzeniem mechanizmu patofizjologicznego choroby jest dodatkowo przykład myszy z celowaną delecją genu dla *Dsg3*. Fenotyp myszy z grupy „knockout” (z wyciszoną ekspresją genu) jest zbliżony do pacjentów z PV, z występowaniem nadpodstawnych pęcherzy na błonach śluzowych i skórze. W odróżnieniu od innych ADP jak BP czy EBA, monowalentne fragmenty przeciwciała są wystarczające do wywoływania akantolizy u zwierząt i człowieka (jak wykazano na odpowiednich modelach skóry), co wskazuje, że zarówno udział Fc- γ receptora jak i aktywacja komplementu nie są konieczne do tworzenia pęcherzy. Potwierdza to

zdolność samych przeciwciał do tworzenia pęcherzy u myszy z niedoborami układu dopełniacza oraz przewagą IgG4 wśród podklas przeciwciał w PV. Podklasa IgG4 nie wykazuje zdolności do aktywacji komplementu i słabo wiąże się z receptorem Fc. W odniesieniu do autoreaktywnych komórek T w PV, DSG3-specyficzne Th2 CD4⁺ limfocyty T które rozpoznają immunodominujące białka DSG3 zostały stwierdzone u pacjentów z PV. Najsilniejszą genetyczną determinantą PV pozostają loci HLA, zależnie od pochodzenia etnicznego pacjentów: HLA-DRB1*04:02 u Żydów, DQB1*05:03 u nie-żydowskich osobników pochodzenia europejskiego, oraz DRB1*14 i DQB1*05:03 u Japończyków. HLA-DRB1*04:02 jak wykazano wiąże się z immunodominującymi białkami DSG3 (aminokwasy 190-204) typowo przez aktywację odpowiedzi T-komórkowej. Co ciekawe DSG3-specyficzne Th1 komórki wykrywane są nie tylko u chorych z PV, ale także u zdrowych osobników. Poziomy DSG3-specyficznych limfocytów T produkujących interleukinę 10 (IL-10) o fenotypie regulatorowym są obniżone u pacjentów z PV w porównaniu z grupą kontrolną zdrowych. Ekspresja limfocytów reaktywnych wobec DSG3 w grasicy kontrolowana jest przez regulator autoimmunizacji (AIRE), co powinno eliminować DSG3-reaktywne komórki T podczas wykształcania ośrodkowej tolerancji. Natomiast nabywanie obwodowej tolerancji może kompensować utratę ośrodkowych mechanizmów tolerancji w zapobieganiu autoreaktywności wobec DSG3 (Ellebrecht i wsp. 2017).

Inną grupą badań potwierdzających rolę inaktywacji desmoglein w powstawaniu pęcherzy jest grupa chorych z liszajcem pęcherzowym oraz gronkowcowym złuszczeniem zapaleniem skóry (Staphylococcal scalded skin syndrome, SSSS). W tych przypadkach toksyny eksfoliatywne uwalniane przez *Staphylococcus aureus* uszkadzają swoiście DSG1. Enzymy proteolityczne trawią DSG1 prowadząc do powstawania pęcherzy podobnych do tych obserwowanych w PF (Amagai i wsp. 2002, 2009).

W testach immunoprecypitacyjnych surowic pacjentów z PV i PF stwierdzono ponad 40 pasm białkowych o różnych masach molekularnych (od 12 do 260-kDa) mogących stanowić grupę docelowych antygenów w pęcherzycy. W istocie każdy z pasków mógł zawierać te same polipeptydy, które uległy nieznacznie różniącemu się rozdziałowi masowemu. Inne natomiast mogły zawierać zbliżone tylko wielkością, ale faktycznie odmienne antygeny. Przykładowo pacjenci z PV poza przeciwciałami rozpoznającymi DSG3 o masie 130-kDa, jednocześnie wykazują przeciwciała reaktywne wobec niezidentyfikowanych białek o tej samej masie 130-kDa. Tym niemniej najczęściej obserwowane białka, zapewne o największym znaczeniu dla patofizjologii pęcherzycy, zawierały się w przedziale masowym 130 i 160-kDa. To właśnie one rozpoznawane są odpowiednio, jako DSG3 i DSG1 (Grando 2011).

W mikroskopii immunoelektronowej zlokalizowano antygeny dla PV i PF na powierzchni keratynocytów w obrębie połączenia desmosomalnego. Badania immunoprecypitacyjne oraz techniką immunoblotingu wykazały na hodowlach keratynocytów, że w przypadku PF (również pęcherzycy endemicznej - fogo selvagem) antygenem jest DSG1, będąca glikoproteiną przezbłonową, o masie 160-kDa, wchodzącą w skład desmosomu. U wszystkich pacjentów z PV stwierdza się przeciwciała przeciw DSG3, odrębnej izoformie desmogleiny, kodowanej przez osobny gen. Część z tych pacjentów wykazuje również obecność przeciwciał przeciw DSG1. Występowanie zmian skórno-śluzówkowych związane jest z obecnością obu typów przeciwciał. Natomiast u chorych z postacią śluzówkowodominującą PV występują zazwyczaj wyłącznie przeciwciała przeciw DSG3. Wprawdzie inne receptory występujące na powierzchni komórkowej, jak na przykład receptory dla acetylocholiny, mogą warunkować adhezję komórek, jednak ich bezpośredni udział w patofizjologii pęcherzycy pozostaje dyskusyjny (Nguyen i wsp. 2004). Ludzkie keratynocyty wykazują ekspresję zarówno receptora muskarynowego, jak i nikotynowego dla acetylocholiny (AChR). Oba receptory działają synergistycznie w zakresie regulacji adhezji komórek. Blokowanie każdego z typów receptora dla acetylocholiny na keratynocytach prowadzi do unieczynnienia desmosomów przez fosforylację kadheryn. Agoniści receptorów AChR przeciwnie zapobiegają rozdzielaniu komórek przez aktywację białkowych fosfataz oraz regulację ekspresji (up-regulation) dla kadheryn. Wpływ przeciwciał pęcherzycowych na receptor nikotynowy $\alpha 3$ ($\alpha 3$ nAChR) został stwierdzony u pacjentów ze współistniejącą PF, miastenią gravis i grasiczakiem (Grando 2011).

Jedno z pierwszych badań potwierdzających patogenną rolę przeciwciał skierowanych przeciwko innym antygenom keratynocytów niż DSG1 i DSG3, zakładało wywołanie nadpodstawnej akantolizy przez bierną immunizację przeciwciałami pacjenta z PV. W tym modelu naskórek gryzoni nie wykazywał ekspresji Dsg3, natomiast biernie podane PV IgG nie zawierały przeciwciał anti-DSG1 (Vu i wsp. 1998). Dotychczas zidentyfikowano ponad 50 ludzkich białek reagujących z PV IgG, które oprócz kadheryn desmosomalnych należą do grupy błonowych receptorów komórkowych, hematologicznych, neuronalnych, onkogennych antygenów oraz tarczycowo-pokarmowych antygenów (Tab.1 Według Di Zenzo i wsp. 2016).

Tab. 1 Autoprzeciwciała przeciw DSG i niezwiązane z DSG (non-DSG) wykazujące patogenną aktywność w pęcherzycy (według Di Zenzo i wsp. 2016).

Antygen	Patogenne przeciwciała
DSG3	2 mysie (AK23, AK19)
DSG3	8 mysich (NAK 1,2,4,7,8,9,10,11)
DSG3	2 ludzkie ((D3)3c/9; (D31)2/28)
DSG3	1 ludzkie (PVMAB786)
DSG3	4 ludzkie (PVE 4-8, PV2 4.2, PV2 3.3, PV2-VH1-69)
DSG3	1 ludzkie (F779)
DSG3	3 ludzkie (PVA224, PVB28, PVB124)
DSG1	2 ludzkie ((D31)2/29, (D1)11/10)
DSG1	2 ludzkie (3-07/1e 3-30/3h)
DSG1	1 ludzkie (F24-9)
DSC3	Poliklonalne autoprzeciwciała i 1 mysie (U114, Progen)
Pemfaksyna	Poliklonalne autoprzeciwciała amplifikujące aktywność autoprzeciwciał anty-DSG
Receptor acetylocholinowy (α -9)	Poliklonalne autoprzeciwciała amplifikujące aktywność autoprzeciwciał anty-DSG
Przeciwciała przeciwmitochondrialne	Poliklonalne autoprzeciwciała amplifikujące aktywność autoprzeciwciał anty-DSG

Inaktywacja poszczególnych desmoglein prowadzi do tworzenia pęcherzy w PV i PF, jednak w tkankowo specyficznych lokalizacjach, na przykład na określonej głębokości naskórka. Ponadto w przypadku PF przeciwciała kolokalizują się zarówno w skórze, jak i błonach śluzowych, jednak pęcherze występują typowo tylko w powierzchniowych warstwach naskórka. Zjawisko to zostało wyjaśnione wspomnianym mechanizmem kompensacyjnym desmoglein (Mahoney i wsp. 1999). Zakłada on między innymi inaktywację przez poszczególne przeciwciała tylko określonych izoform desmoglein. Wówczas współwystępujące w jednej lokalizacji różne izoformy desmoglein mogą przejmować lub kompensować funkcje uszkodzonych składowych desmosomu. Potwierdzeniem tej hipotezy jest rzadkie występowanie PF noworodków, u których koekspresja DSG3 w górnych warstwach naskórka, przypomina układ występujący w dojrzałych błonach śluzowych (błonach śluzowych osób dorosłych) i kompensuje utratę DSG1 wywołaną matczynymi przeciwciałami w klasie IgG anty-DSG1. Ze względu na inną architekturę cytologiczną dojrzałej skóry mechanizm ten nie zabezpiecza dorosłych osobników przed wystąpieniem objawów. Największym ograniczeniem tej hipotezy jest założenie, że ciągłość wielowarstwowego nabłonka rogowaciejącego pokrywającego skórę właściwą i błony śluzowe, zależy wyłącznie od funkcji DSG1 i DSG3. Jak widać na przykładzie pacjentów z PV produkujących przeciwciała przeciw DSG1 i DSG3 nie dochodzi do całkowitego rozdzielenia komórek poszczególnych warstw naskórka. Wynika to między innymi z faktu, że teoria ta nie uwzględnia skomplikowanych zależności siedmiu znanych kadheryn desmosomalnych (DSG1-4 oraz DSC1-3). Przykładem są badania na myszach poddanych wyłączeniu genu dla *Dsc3* (*Dsc*-null mutant), u których *Dsg3* nie

zapewniała kompensacji i ochrony przed akantolizą nadpodstawną oraz tworzeniem pęcherzy (Grando 2011).

Technika ELISA (enzyme linked immunoabsorbent assays) okazała się serologicznie bardziej czułą i swoistą metodą, umożliwiającą również różnicowanie PV od PF, w porównaniu do techniki IIF. Poziomy przeciwciał oznaczane techniką ELISA mogą wykazywać zależność z aktywnością choroby. W większości przypadków uzyskuje się wyniki dodatnie dla DSG3 w PV z zajęciem błon śluzowych, dla DSG1 w PF oraz dla obu autoantygenów w przypadku PV z zajęciem błon śluzowych i skóry (Wolff i wsp. 2008). Pomimo że przeciwciała przeciw DSG1 i DSG3, pojedynczo lub w kombinacji nie stanowią wyłącznych czynników wyzwalających śródnaskórkowe tworzenie pęcherzy, jednak ocena ich poziomów z zastosowaniem techniki ELISA jest prostą i wysoce czułą metodą dla potwierdzenia rozpoznania. Tym niemniej jej zastosowanie w trakcie prowadzonego leczenia lub wartość predykcyjna w konkretnych przypadkach bywa zmienna. Przeciwciała anti-DSG1 i 3 mogą być traktowane jako czuły marker choroby, wydaje się jednak że ich rola jako głównego czynnika patogenetycznego była przesadzona. Teoria „wielokrotnego uderzenia”, w którym uczestniczy szereg przeciwciał skierowanych przeciwko różnym białkom keratynocytów, w tym również AChR oraz DSC3, może być bliższa rzeczywistości (Ahmed i wsp. 2016; Grando 2011).

Wykorzystanie mikroskopii elektronowej pozwoliło na zbadanie desmosomów w obrębie pęcherzy u pacjentów z PV, jako najistotniejszych połączeń pomiędzy komórkami w wielowarstwowym nabłonku rogowaciejącym. W akantolitycznych komórkach obserwowano oddzielenie przeciwnych płytek desmosomalnych, przy czym HD pozostawał z przytwierdzonymi tonofilamentami. Podobny obraz akantolizy bez zniszczenia tonofilamentów w hemidesmosomie był obserwowany również na modelu mysim. W przypadku dodania surowicy pacjenta z PV do hodowli keratynocytów dochodziło do uszkodzenia tonofilamentów w obrębie połączeń desmosomalnych. Biopsja skóry pozornie zdrowej u pacjentów z PV wykazywała uszkodzenie struktur desmosomu oraz spadek ogólnej liczby połączeń tego typu pomiędzy komórkami naskórka. W przypadku PF w badaniu mikroskopii elektronowej stwierdzano nieprawidłowości w strukturze desmosomów w trakcie wczesnej akantolizy, również w obrębie błon śluzowych, na których wiązane są autoprzeciwciała, ale w tym przypadku nie dochodzi do pełnej akantolizy. Najwcześniejsze zmiany mogą dotyczyć wycofania tonofilamentów z desmosomalnej blaszki gęstej. Później może dochodzić do zmniejszenia ich liczby lub zaniku desmosomów (Wolff i wsp. 2008). Szereg obecnych badań klinicznych i eksperymentalnych wykazał rozdzielenie desmosomu dopiero w momencie rozszerzenia przestrzeni międzykomórkowej co oznaczałoby, że desmosom nie ulega podziałowi i zniszczeniu do czasu późnej akantolizy, gdy keratynocyty są niemal

całkowicie rozdzielone. W późnej akantolizie, niektóre hemidesmosomy mogą być tak silnie związane ze swoją przeciwną częścią, że może dojść do ich wyrwania z komórki macierzystej. Klasyczne wyjaśnienie zjawiska akantolizy w przebiegu pęcherzycy zakładało wystąpienie efektu sterycznego z udziałem przeciwciał skierowanych przeciwko DSG1 i DSG3, jako składowych desmosomu będącego jedynym źródłem ewentualnych autoantygenów. Przeciwciała przeciw DSG mogą bezpośrednio uszkadzać DSG3 i DSG1 w desmosomach zaburzając adhezję międzykomórkową, jednak prawdopodobnie są również zdolne do zmniejszenia puli DSG dostępnych na powierzchni komórki jeszcze przed włączeniem ich do desmosomu. W obu przypadkach unieczynnienie DSG miało odbywać się poprzez endocytozę i lizosomalną degradację (Wolff i wsp. 2008). W rzeczywistości, choć występowanie DSG na powierzchni keratynocytów jest głównie ograniczone do desmosomów, to wiązanie przeciwciał pęcherzycowych IgG odbywa się niemal na całej powierzchni komórki. Alternatywna hipoteza zakłada drogę sygnałową „outside-in”, w której przez związanie PV IgG do dysfunkcyjnego bieguna DSG3 poza desmosomem, a następnie poprzez internalizację lub przy udziale błony komórkowej, dochodzi do zaburzenia funkcji DSG3 w desmosomie. Droga sygnałowa „outside-in” działa poprzez równoczesne wiązanie z różnymi typami receptorów na powierzchni keratynocytów szeregu przeciwciał IgG produkowanych przez pacjentów z PV. Wielu badaczy wskazuje odmienne grupy ewentualnych receptorów, między innymi dla szeregu białek: Src, EGF, EGF kinazy, cAMP, białkowej kinazy A i C (PKC), fosfolipazy C, mTOR, p38 MAPK, JNK i kalmoduliny. Każdy z pacjentów wykazuje odmienny profil przeciwciał przeciw keratynocytom, co pośrednio potwierdza odmienny czas aktywacji kinaz zależny od różnych frakcji IgG u poszczególnych pacjentów z PV. Pomimo obecności przeciwciał anty DSG3 i/lub DSG1 we frakcjach IgG produkowanych przez pacjentów z PV dostępne dane literaturowe sugerują, że przeciwciała niezwiązane z DSG (non-DSG) są zaangażowane w pierwsze etapy ścieżki sygnałowej. Wczesna aktywacja Src/EGFRK oraz PKC-zależnej drogi przypuszczalnie prowadzi do akantolizy, natomiast późna aktywacja p38 MAPK jest wtórna do rozdzielania komórek, a aktywacja cAMP/białkowej kinazy A może wykazywać działanie protekcyjne. Zarówno muskarynowi jak i nikotynowi antagoniści AChR mogą prowadzić do poszerzenia przestrzeni międzykomórkowych w naskórku w mechanizmie powstawania i fosforylacji cząstek adhezyjnych keratynocytów. Fosforylacja kadheryn, gamma-katenin, desmoplakin i DSG jest związana z utratą przylegania komórek (Bektas 2010; Grando 2011).

Zarówno zewnętrzna jak i wewnętrzna droga lizy komórki może być wyzwalana w keratynocytach przez przeciwciała IgG PV, co klinicznie manifestuje się obkurczeniem komórek. Stwierdzono również w skórze pacjentów z PV wykładniki apoptozy poprzedzające rozdział

komórek oraz tworzenie pęcherzy. Wyodrębniono dwie grupy pacjentów z PV, jedną produkującą w przeważającej większości autoprzeciwciała aktywujące apoptotyczną oraz drugą onkotyczną drogę śmierci komórki. Przeciwciała przeciw antygenom keratynocytów (desmosomalnym, mitochondrialnym, AChR, PERP), działając synergistycznie z efektorami drogi apoptotycznej FasL (Fas ligand), czynnikiem martwicy nowotworu α (tumor necrosis factor α , TNF- α) oraz czynnikami prozapalnymi/cytotoksycznymi obecnymi w surowicy (jak proteazy serynowe i cytokiny), wspólnie są zdolne do przełamania naturalnej odporności komórkowej prowadząc do lizy komórki (Lanza i wsp. 2006; Grando 2011).

1.1.3 Współczesne tendencje w leczeniu chorób kręgu pęcherzycy

Pomimo rosnącej zapadalności na choroby autoimmunizacyjne (dotyczą one od 5% do 8% populacji zachodniej), w tym na ADP, środki terapeutyczne nadal ograniczają się do stosowanych od lat terapii immunosupresyjnych, które grożą poważnymi i potencjalnie śmiertelnymi powikłaniami. Z tego względu nowe strategie, minimalizujące toksyczność leczenia są nadal potrzebne. Proponowane terapie skierowane byłyby wybiórczo przeciwko autoreaktywnej odpowiedzi chorego z zaoszczędzeniem funkcji większości jego układu odpornościowego. Terapie celowane skierowane wybiórczo przeciwko patogenetycznym przeciwciałom są efektem badań nad mechanizmem chorób autoimmunologicznych, mających na celu wywołanie/odtworzenie u chorych antygenowo-specyficznej tolerancji i celowanej eliminacji autoreaktywnych komórek B u chorych na PV (Ellebrechti wsp. 2017).

Najcięższe postaci PV, w okresie przed wprowadzeniem do terapii systemowych glikokortykosteroidów (sGKS) wykazywały letalny przebieg średnio w ciągu dwóch lat. Szeroko stosowane sGKS w skojarzeniu z klasycznymi lekami immunosupresyjnymi znacznie poprawiły rokowanie u pacjentów z ADP, jednak leczenie to wymaga zachowania szczególnej równowagi pomiędzy spodziewanymi korzyściami z prowadzonej terapii, a jej działaniami ubocznymi. Obecnie obserwuje się tendencję do ograniczenia stosowania sGKS, również według rekomendacji eksperckich, co pośrednio wynika z pojawienia się nowszych opcji terapeutycznych – między innymi leków biologicznych anty-TNF- α , anty-IL1, anty-IL12, anty-IL6, antylimfocytarnych (anty-limfocytom B, na przykład rytuksymab, belimumab) (Barker i wsp. 2013). Nowe celowane terapie umożliwiają efektywniejsze leczenie, z zachowaniem przynajmniej teoretycznie wyższego poziomu bezpieczeństwa. Jednak ich szersze zastosowanie oraz wprowadzenie terapii personalizowanych ograniczane jest czynnikami ekonomicznymi, jak również niedostatecznym zrozumieniem podłoża patofizjologicznego tych dermatoz. Pomimo szerokiej charakterystyki docelowych antygenów i

skierowanych przeciwko nim autoprzeciwciał, czynniki wyzwalające i mechanizmy utraty tolerancji immunologicznej u pacjentów z ADP pozostają nadal słabo wyjaśnione. Jedną z hipotez mimikry molekularnej zakłada wywołanie bądź nasilenie odpowiedzi immunologicznej gospodarza przez homologię strukturalną, serologiczną lub biologiczną między antygenami, przy współistniejącym procesie chorobowym (na przykład związanym z wiekiem, nowotworem) lub przez czynniki środowiskowe (na przykład leki przyjmowane przewlekłe, infekcje).

Obecne standardy leczenia chorób kręgu pęcherzycy określone w konsensusie Polskiego Towarzystwa Dermatologicznego (Kowalewski i wsp. 2014) oraz zaleceniach terapeutycznych European Dermatology Forum (EDF, Hertl i wsp. 2013), które jednak mają orientacyjne znaczenie, zakładają leczenie pacjentów w warunkach ambulatoryjnych, natomiast w przypadku ciężkiego przebiegu zalecane jest hospitalizowanie chorego do czasu uzyskania konsolidacji w warunkach oddziału dermatologicznego posiadającego doświadczenie w leczeniu ADP. Ze względu na konieczność wykonywania wysoce specjalistycznych procedur leczenie prowadzone przez dermatologa ambulatoryjnie powinno przebiegać przy ścisłej współpracy z ośrodkiem klinicznym. W obowiązujących wytycznych eksperckich utrzymano zalecenia stosowania sGKS w leczeniu pierwszego rzutu. W grupach pacjentów zagrożonych wystąpieniem działań ubocznych przewlekłej glikokortykosteroidoterapii i/lub w przypadkach ciężkiego przebiegu wskazane jest wczesne kojarzenie takiego leczenia z lekami immunosupresyjnymi. Sugerowana dawka prednizonu lub prednizolonu w PV ograniczonej do błon śluzowych lub w PF wynosi 0,5-1,0 mg/kg m.c., natomiast w PV z zajęciem błon śluzowych i skóry rekomendowana jest dawka wyjściowa 1,0-1,5 mg/kg m.c. Nieuzyskanie poprawy w ciągu dwóch tygodni może uzasadniać zastosowanie wyższych dawek, maksymalnie do 2 mg/kg m.c. Leczenie skojarzone lekami immunosupresyjnymi może zmniejszyć ryzyko wystąpienia działań niepożądanych terapii pierwszego rzutu i/lub umożliwić osiągnięcie konsolidacji stanu klinicznego. Według stanowiska ekspertów pierwszym lekiem immunosupresyjnym zalecanym do łączenia z sGKS jest azatiopryna w dawce 1-3 mg/kg m.c./dobę. Rekomendowane jest jednak rozpoczęcie leczenia od dawki 50 mg/dobę celem oceny jego tolerancji. W razie braku tolerancji azatiopryny alternatywne leczenie można prowadzić mykofenolanem mofetylu w docelowej dawce 2 g/dobę. Zgodnie z obowiązującym konsensusem zastosowanie monoklonalnych przeciwciał anti-CD20 (na przykład rytuksymabu, ofatumumabu) pozostaje nadal leczeniem kolejnego rzutu. Taki stan rzeczy dodatkowo utrudnia wdrażanie leczenia ze względów formalno-administracyjnych, również w ośrodkach akademickich. Według zaleceń panelu eksperckiego jedynym wskazaniem do leczenia rytuksymabem jako lekiem pierwszego rzutu jest rozpoznanie pęcherzycy paraneoplastycznej. Jeden ze schematów leczenia rytuksymabem zakłada podawanie 1 x 1 g i.v. co dwa tygodnie. Leczenie to może być prowadzone

w skojarzeniu z sGKS lub lekami immunosupresyjnymi. W razie nawrotu można rozważyć pojedynczą dawkę 500mg, najwcześniej po upływie 6 miesięcy od ostatniego podania. Uwagę zwracają opisy przypadków (Hammers i wsp. 2015), w których rytuksymab stosowany, jako leczenie pierwszego rzutu umożliwił uzyskanie trwałej remisji. Wskazaniem do leczenia biologicznego u pacjenta bez rozpoznania PNP, jednak nie w terapii pierwszego rzutu, jest występowanie kortykosteroidozależności. Opisywana sytuacja kliniczna dotyczy pacjentów, u których nie można przerwać leczenia sGKS z powodu nawrotów, lub pomimo leczenia skojarzonego z lekiem immunosupresyjnym przy dawce prednizonu przekraczającej 10mg/dobę. Drugą grupę stanowią pacjenci z kortykosterydoopornością definiowaną jako brak poprawy obrazu klinicznego pomimo leczenia pełną dawką sGKS i azatiopryny przez okres dwunastu tygodni.

Badania nad charakterystyką autoimmunologicznej odpowiedzi B-komórkowej u pacjentów z PV wykazały obecność autoreaktywnych linii limfocytów B (non-tolerant) odpowiadających prawdopodobnie za wystąpienie choroby. Zazwyczaj jednak nowe klony linii B-komórkowych nie są zdolne do utraty tolerancji immunologicznej. Co istotne, niektóre terapie, jak na przykład rytuksymabem, skierowane przeciwko patologicznym liniom limfocytarnym wykazują trwałą skuteczność, ze względu na niepowstawanie nowych patogennych linii. Według dostępnych badań klonalne linie IgG+ anti-DSG3 limfocytów B mogą przetrwać latami (nawet ponad 8 lat) po leczeniu rytuksymabem, jednak u pacjentów z nawrotem choroby stwierdza się te same klonalne linie limfocytów B, lub nawet dokładnie te same klony komórek B. Ponadto u pacjentów z PV nowe linie IgG+ anti-DSG3 limfocytów B rzadko wykazują utratę tolerancji immunologicznej. Przeciwnie w przypadku SLE i MS obserwuje się narastającą utratę „obwodowej tolerancji” na poziomie dojrzałych nieimmunizowanych wcześniej komórek B, co w efekcie może prowadzić do IgG zależnej immunizacji. W przypadku PV wczesna ablacja rytuksymabem eliminuje istniejące klony autoreaktywnych IgG+ limfocytów B, co przy braku tendencji do utraty tolerancji immunologicznej nowych komórek B zapewnia długą (lub trwałą) remisję serologiczną i kliniczną. Podstawą takiej terapii, jest założenie eliminacji autoreaktywnych komórek B i odnowa ich puli z prekursorowych komórek B co powinno zapewniać przywrócenie tolerancji immunologicznej (Hammers i wsp. 2015). Leczenie przeciwciałami anti-CD20 – rytuksymabem wykazało skuteczność w indukcji krótko-terminowej remisji u 95-100% pacjentów z PV, w powiązaniu z obniżeniem poziomów krążących autoprzeciwciał anti-DSG, podczas gdy poziomy przeciwciał przeciw toksynie tężcowej i pneumokokowym polisacharydom pozostały stałe. Co może sugerować, że autoprzeciwciała anti-DSG są produkowane przez krótko żyjące obwodowe komórki uzupełniane z puli CD20+ komórek B pamięci immunologicznej. Tym niemniej 81% pacjentów z PV leczonych rytuksymabem doświadcza nawrotów choroby, ponadto oceny bezpieczeństwa

takiego leczenia u pacjentów z PV i innymi ADP wykazały odsetek 1,3% - 1,9% śmiertelnych infekcji po leczeniu, co skłania do dalszego poszukiwania bezpieczniejszych i przynoszących więcej korzyści długofalowych terapii. Wy tłumaczeniem nieskuteczności leczenia rytuksymabem i nawrotów choroby może być niepełna deplecja limfocytów B w szpiku kostnym i drugorzędowych narządach limfatycznych lub produkcja autoprzeciwciał przez długo-żyjące CD20-negatywne komórki obwodowe, które pozostają poza działaniem leków anti-CD20. W przypadku całkowitej deplecji autoreaktywnych limfocytów ze względu na niepowstawanie nowych autoreaktywnych linii komórkowych leki te powinny zapewniać trwałą skuteczność. Wyjątek od tej reguły mogą stanowić pacjenci z nietolerancją DSG3, u których kolejne klony anti-DSG3 autoreaktywnych limfocytów powstają również po pełnej deplecji. Pomimo nawrotów u większości pacjentów z PV leczonych rytuksymabem, przy powtórzonych kursach leczenia większość z nich osiąga w końcu zarówno kliniczną, jak i serologiczną remisję. Oznacza to również, że CD20-negatywne długo żyjące komórki krwi nie odgrywają istotnej roli w produkcji autoprzeciwciał, zwłaszcza u pacjentów leczonych w początkowym okresie choroby (Ellebrecht i wsp. 2017).

Jednocześnie w trakcie badań pozostaje wiele nowych leków biologicznych o mechanizmie anti-CD-20, które mogą stanowić alternatywę terapeutyczną dla pacjentów z ciężkim i opornym na standardowe leczenie PV. Rytuksymab stosowany w terapii chłoniaków B-komórkowych od drugiej połowy lat 90 ubiegłego stulecia, jest chimerycznym ludzko-mysim przeciwciałem. Z tego względu każdorazowe jego zastosowanie wiąże się z ryzykiem rozwoju ewentualnej reakcji anafilaktycznej. Współcześnie opracowywane przeciwciała są związkami humanizowanymi, dlatego zapewniają lepszy profil bezpieczeństwa niż w przypadku rytuksymabu. Należą do nich veltuzumab, obinutuzumab, ofatumumab, ocratumumab, PRO131921 i belimumab. Ostatnio rozpoczęły się pierwsze badania kliniczne ofatumumabu w PV (Adamczyk 2016).

Odzwierciedleniem powyższej idei jest również opracowanie celowanej terapii PV opartej o chimeryczne immunoreceptory. Obecnie rozwinięto technikę wykorzystującą autoantygen DSG3 do niszczenia autoreaktywnych komórek B w PV, przez włączenie DSG3 do chimerycznych immunoreceptorów zdolnych do skierowania własnej odpowiedzi immunologicznej pacjenta zależnej od komórek T na autoantygenowo-specyficzne komórki B. Technika chimerycznych receptorów autoprzeciwciał (CAAR), została zaczerpnięta z terapii przeciwnowotworowej CAR. CAR wykorzystuje antygenowo-swoisty fragment przeciwciała na powierzchni komórki T połączony z cytoplazmatyczną domeną sygnałową CD3 ζ , która kieruje MHC-niezależną T-komórkową cytolizę przeciwko komórkom wykazującym specyficzny (określony) antygen. Skuteczność techniki może zostać zwiększona przez dołączenie kostymulujących domen sygnałowych otrzymywanych z komórek CD28 i CD137. Przewaga techniki CAR-T w porównaniu

z zastosowaniem rozpuszczalnych przeciwciał, wynika z aktywacji CAR-T komórek podczas kontaktu z komórką docelową i 10,000 krotną proliferacją komórek CAR-T *in vivo*, co w sposób swoisty eliminuje wszystkie komórki docelowe. Dodatkowo dołączenie kostymulujących domen CD28 i/lub CD137 zabezpiecza pulę komórek T przed wyczerpaniem i zapewnia przetrwanie komórek pamięci CAR-T, co ogranicza ryzyko wznowy nowotworu. Ponieważ w PV anty-DSG3 BCR swoiście znaczą populację autoreaktywnych komórek B, DSG3 CAAR powinny na trwałe niszczyć antygenowo-swoiste komórki B. W celu oceny możliwości zastosowania terapii CAAR w PV u człowieka wykorzystano fragmenty zewnątrzkomórkowych domen DSG3, składających się z EC1-3, EC1-4, EC1-5, które zostały poddane ekspresji na ludzkich komórkach T, jako receptory chimeryczne sprzężone z domenami sygnałowymi CD137/CD3 ζ . Wszystkie trzy DSG3 CAAR były konformacyjne, ponieważ zostały związane monoklonalnymi autoprzeciwciałami anty-DSG3, które rozpoznają wyłącznie dojrzałe konformacyjne DSG3. Jednak skuteczność w eliminacji ludzkich komórek B i mysich komórek hybrydowych wykazujących ekspresję anty-DSG3 BCR, wykazywały komórki CAAR T DSG3 EC1-3 i EC1-4, natomiast komórki CAAR T DSG3 EC1-5 nie wywoływały istotnej cytolizy komórek docelowych. Co może wynikać z ich zróżnicowanej ekspresji powierzchniowej i/lub niewłaściwej długości EC1-5 CAAR co skutkuje brakiem optymalnej stymulacji komórek T. Na modelach mysich DSG3 CAAR-T komórki eliminowały wszystkie anty-DSG3 BCR+ komórki, co prowadziło do spadku stężeń surowiczych przeciwciał anty-DSG3 oraz zapobiegało tworzeniu pęcherzy naskórkowych. Poza komórkami docelowymi nie stwierdzono toksyczności wobec tkanek wykazujących ekspresję desmosomów lub komórek wykazujących ekspresję receptora Fc γ . Skuteczność potwierdzono w badaniach *in vitro* oraz *in vivo*, również w obecności przeciwciał anty-DSG3, które mogłyby blokować DSG3 CAAR lub nawet eliminować DSG3 CAAR-T komórki. Terapia DSG3 CAAR niesie szereg potencjalnych korzyści i potencjalnie niższą toksyczność w porównaniu do klasycznej opartej na przeciwciałach deplecji komórek B. Terapia CAAR T-komórkowa zapewnia większą skuteczność i trwałość efektu deplecji komórek B. Antygenowo-swoista deplecja komórek B zabezpiecza przed ryzykiem uogólnionej immunosupresji. Obserwowany w przypadku terapii onkologicznej CAR zespół uwolnienia cytokin jest mało prawdopodobny w środowisku choroby autoimmunizacyjnej, gdzie częstość autoreaktywnych anty-DSG komórek B jest wielokrotnie niższa w porównaniu do komórek białaczkowych lub dużej masy guza. Ponadto nie występuje ryzyko ucieczki komórek spotykane w komórkach nowotworowych (między innymi przez utratę ekspresji CD19 lub mutację CD19), ponieważ w PV komórki, które utracą BCR nie mogą dłużej ulegać aktywacji i dojrzewać w kierunku komórek produkujących przeciwciała, a tym samym tracą również znacznie patogenetyczne w samej chorobie (Ellebrecht i wsp. 2017).

Stworzenie chimericznych receptorów dla autoprzeciwciał (CAARs) składających się z zewnątrzkomórkowej domeny DSG3 oraz cytoplazmatycznej domeny sygnałowej komórek T, pozwoliło na zależne od limfocytów T niszczenie IgG⁺ Dsg3 limfocytów B w modelu mysim PV. Dla potwierdzenia bezpieczeństwa metody *in vivo*, podawano CAAR-T-limfocyty myszom z ludzkim ksenogenicznym przeszczepem skóry. Dalsze badania wykazały wysoką specyficzność i skuteczność DSG 3 CAAR-T-limfocytów w eliminacji autoreaktywnych komórek B w PV. Ponadto dla zapewnienia przejściowej, całkowitej ablacji populacji komórek B stworzono chimericzny receptor dla antygenów komórek B wraz z koekspresją genu indukowalnej kaspazy 9 (sCAR). sCAR-T-limfocyty skutecznie eliminują limfocyty B CD19⁺ w modelu *in vivo*. Natomiast aktywacja kaspazy 9 skutkuje unieczynnieniem >99% sCAR-T-limfocytów. Obie metody są przykładem możliwych do zastosowania immunoterapii u pacjentów z PV (Ellebrecht i wsp. 2016).

W grupie leków immunosupresyjnych proponowanych do leczenia skojarzonego znajdują się dożylnie immunoglobuliny (IVIG) w dawce 2 g/kg m.c. podawane w 3-5 dniowych kursach podczas hospitalizacji w odstępach 4 tygodniowych. Opisywany sposób stosowania zmniejsza ryzyko wystąpienia działań ubocznych. Cyklofosfamid może być stosowany doustnie w dawce 1-2 mg/kg m.c./dobę lub dożylnie w dawce 500 mg/miesiąc. W niektórych przypadkach uzupełnienie przewlekłej glikokortykosteroidoterapii doustnej może stanowić podawanie dożylnie metylopredyzolonu w pulsach 0,5-1 g/dobę przez 3 kolejne dni. Opisywano również stosowanie dapsonu w dawce 100 mg/dobę lub < 1,5 mg/kg m.c./dobę.

Inna strategia zakłada wykorzystanie antygenowo-swoistej immunoabsorpcji, która wybiórczo eliminuje patogenetyczne autoprzeciwciała. Taka strategia wydaje się szczególnie korzystana dla pacjenta, ponieważ nie grozi hipo- γ -globulinemią, która jest skutkiem ubocznym klasycznej niespecyficznej immunoabsorpcji, co wiąże się z ryzykiem uogólnionej immunosupresji. Dodatkowo nie obserwuje się wahań poziomu fibrynogenu jak ma to miejsce po wymianie osocza. Nierozstrzygnięta pozostaje kwestia czy uwalnianie autoantygenów z kolumny absorpcyjnej do surowicy może wpływać na odpowiedź immunologiczną pacjenta wobec DSG3. Badania wykazały zarówno możliwą indukcję tolerancji przy braku kostymulatorów, jednak w niektórych przypadkach chorób autoimmunizacyjnych prowadzi również do zaostrzeń. Największe zmniejszenie poziomu przeciwciał w surowicy obserwowano po zastosowaniu pełnej długości DSG3 i DSG1 do immunoabsorpcji, co sugeruje, że epitopy konformacyjne rozpoznawane przez autoprzeciwciała w PV były niedostatecznie reprodukowane przy użyciu skróconych fragmentów DSG. Tym niemniej absorbant złożony, składający się wyłącznie z DSG1 EC1 i EC5 był rozpoznawany przez 12 z 13 surowic pacjentów z PF, co jest zbieżne z obserwacjami, gdzie

skierowane przeciwko EC1 monoklonalne przeciwciała blokowały wiązanie większości poliklonalnych surowic PF.

Kolejną opcję terapeutyczną skierowaną przeciwko rozpuszczalnemu specyficznemu dla DSG3 autoprzeciwciałom stanowi wykorzystanie anty-idiotypowych przeciwciał indukowanych u królików przez immunizację jednołańcuchowymi monoklonalnymi fragmentami anty-DSG klonowanymi od pacjentów z PV. Jak wykazały dalsze badania techniką ELISA i oceny dysocjacji keratynocytów, antyidiopatyczne anty-surowice hamowały wiązanie autoprzeciwciał do DSG3 i akantolizę indukowaną przez autoprzeciwciała IgG z surowic pacjentów, od których przeciwciała były sklonowane, ale nie wykazywały takiego wpływu na IgG z surowic innych pacjentów z PV. Dane te sugerują, że idiotypy limfocytów B w PV prawdopodobnie są zbyt różnorodne, by mogły być skutecznie eliminowane u wszystkich pacjentów poprzez specyficzne anty-idiotypowe lub bardziej uniwersalne przeciwciała. Jednak spersonalizowane podejście przez identyfikację idiotypu komórek B u każdego pacjenta może być skuteczne. Takie reagenty mogą znaleźć zastosowanie w kilku technikach: jako metoda absorpcji przeciwciał anty-DSG, jako monoklonalne przeciwciała, które działałyby podobnie do rytuksymabu i jednocześnie eliminowałyby tylko populacje limfocytów B anty-DSG przez ich receptory powierzchniowe (BCR) lub jako chimeryczne immunoreceptory, które kierują T-komórkową cytolizę przeciwko specyficznym populacjom komórek B. Wadą stosowania tego typu reagentów jako rozpuszczalnych przeciwciał jest potencjalne tworzenie immunokompleksów pomiędzy DSG3-specyficznymi i anty-idiotypowymi przeciwciałami, które mogą zaostrzać autoimmunologiczną odpowiedź lub wręcz wywoływać choroby kompleksów immunologicznych (Ellebrecht i wsp. 2017).

Szeroko stosowana przewlekła glikokortykosteroidoterapia systemowa wiąże się z ryzykiem wystąpienia wielu działań ubocznych, w tym między innymi osteoporozy, choroby wrzodowej przewodu pokarmowego, zaćmy, jaskry, infekcji oportunistycznych oraz epizodów zatorowo-zakrzepowych. W razie planowania systemowej glikokortykosteroidoterapii zalecane jest wykonanie densytometrii (na początku terapii i następnie co 2 lata), suplementacja witaminy D i wapnia, profilaktyczne leczenie inhibitorami pompy protonowej (IPP) oraz flukonazolem (200mg/tydzień). Rekomendowane zalecenia profilaktyczne budzą jednak coraz szersze wątpliwości. O ile profilaktyka u pacjentów rozpoczynających terapię sGKS, która ma trwać ponad 3 miesiące powinna opierać się między innymi na suplementacji wapnia w dawce 1000-1200 mg/dobę, to stosowanie dawek wyższych jest szkodliwe dla pacjenta. Dawki wapnia powyżej 1200 mg/dobę wiążą się z rozwojem ryzyka powikłań naczyniowych w Ośrodkowym Układzie Nerwowym (OUN) do udaru włącznie, ogólnych powikłań sercowo naczyniowych i kamicy nerkowej. Ponadto przyjmowanie IPP w grupie pacjentów leczonych w monoterapii sGKS (bez

stosowania niesteroidowych leków przeciwzapalnych) nie przynosi korzyści. Wykazano bowiem, że sGKS nie zwiększają w sposób istotny ryzyka krwawienia z przewodu pokarmowego. Przewlekłe stosowanie IPP predysponuje do zaburzeń flory jelitowej (między innymi infekcji przewodu pokarmowego Salmonellą, Shigellą czy Clostridium difficile, lub wystąpienia zespołu rozrostu bakteryjnego – SIBO), może powodować biegunkę, polipy dna żołądka oraz zewnątrzszpitalne zapalenie płuc u pacjentów po 65 roku życia (Chlebicki i wsp. 2016). Niezależnie od stosowanej formy terapii zdefiniowano parametry aktywności klinicznej pęcherzycy. Za fazę konsolidacji przejmuje się okres minimum 2 tygodni, w którym przynajmniej 80% zmian skórnych uległo wygojeniu, a nowe wykwity nie pojawiają się. W przypadku systemowej glikokortykosteroidoterapii można rozpocząć zmniejszanie dawek prednizonu o 20% w przedziałach dwutygodniowych. W momencie osiągnięcia poziomu 20 mg/dobę, poniżej którego dalsza redukcja musi przebiegać wolniej. Remisja całkowita może dotyczyć pacjentów otrzymujących leczenie (<10mg/dobę prednizonu) lub po jego zakończeniu, definiowana jest przez niewystępowanie zmian skórnych przynajmniej w okresie 2 miesięcy. Natomiast nawrót to wystąpienie > 3 zmian, które nie ulegają samoistnemu wygojeniu w czasie siedmiu dni.

Monitorowanie stanu klinicznego (zmian skórnych i śluzówkowych) oraz parametrów immunologicznych umożliwia ocenę skuteczności i bezpieczeństwa prowadzonego leczenia. Ocena ta jest również wymagana do ustalenia planu dalszego postępowania terapeutycznego i ewentualnie jego modyfikacji. Według dostępnych danych literaturowych utrzymywanie się wysokiego poziomu przeciwciał skierowanych przeciwko DSG1 w badaniu techniką ELISA sugeruje zwiększone ryzyko nawrotu choroby. W przypadku oznaczenia techniką ELISA poziomu przeciwciał skierowanych przeciwko DSG3 nie zawsze obserwowano związek z nawrotem zmian na błonach śluzowych.

Do oceny klinicznej pacjentów z chorobami kręgu pęcherzycy oraz większości ADP sugeruje się stosowanie ujednoczonych skali oceny aktywności. Jedną z nich jest skala aktywności pęcherzycy (Pemphigus Disease Area Index - PDAI) według Murrell i wsp. (2008).

1.2 Odmiany kliniczno-molekularne pemfigoidu pęcherzowego

1.2.1 Znaczenie składowych hemidesmosomu w patofizjologii pemfigoidu pęcherzowego

BP jest najczęstszą chorobą pęcherzową, której mechanizm patofizjologiczny związany jest z tworzeniem autoprzeciwciał skierowanych głównie przeciwko pozakomórkowej niekolagenowej domenie 16A (NC16A) hemidesmosomalnego kolagenu typu XVII, który zwyczajowo określany

jest również autoantygenem BP180. Kolagen typu XVII jest przezbłonową proteiną rozciągającą się od blaszki gęstej HD do blaszki gęstej błony podstawnej. Składa się z 15 kolagenowych i 16 niekolagenowych domen. Ocenia się, że 80-90% surowic pacjentów z BP jest reaktywna wobec regionu NC16A. Aktywność choroby wykazuje związek z poziomami krążących autooprzeciwciał w klasie IgG skierowanych przeciwko domenie NC16A. Zależność ta wykorzystywana jest do rozpoznawania, a następnie oceny aktywności choroby u pacjentów z BP. Według dostępnej literatury u blisko 10% (7,8-10%) pacjentów z BP autooprzeciwciała reagują z innymi fragmentami kolagenu XVII. Możliwe jest również wykrycie autooprzeciwciał skierowanych przeciwko innym niż NC16A domenom. Jednak ewentualny związek epitopów dla przeciwciał w BP z obrazem klinicznym choroby został dotychczas opisany w stopniu niewystarczającym (Izumi i wsp. 2016).

Drugi główny autoantygen w BP nazywany BP230 jest wewnątrzkomórkowym białkiem należącym do rodziny plakin, które łączy keratynowe filamenty pośrednie z HD w keratynocytach podstawnych. Od czasu zidentyfikowania w 1981r. antygeny BP230, jednego z głównych autoantygenów w BP nasze zrozumienie roli tego białka znacznie wzrosło. Badania inżynierii genetycznej na modelach mysich dostarczyły istotnych informacji dotyczących genu kodującego BP230. Składa się on z ponad 100 eksonów i koduje trzy główne izoformy białek: naskórkowe BPAG1e, neuronalne BPAG1a oraz mięśniowe BPAG1b. Poszczególne izoformy BPAG1 odgrywają rolę w procesach adhezji komórek, tworzenia cytoszkieletu oraz migracji komórek. Defekty genetyczne BPAG1 wykazują swoistość tkankową i leżą u podłoża patogenetycznego chorób dermatologicznych jak pęcherzowego oddzielania się naskórka, ale również chorób degeneracyjnych układu nerwowego. Wyłączenie (knockout) genu kodującego BPAG1e u myszy skutkowało nie tylko zwiększeniem urażalności skóry na skutek upośledzenia funkcji HD, ale także wywoływało objawy dystonii oraz zaburzeń nerwów czuciowych. Objawy neurologiczne były tożsame z występującymi w dystonii mięśniowej. Wykazano, że gen kodujący BP230 poprzez odmienne miejsca inicjacji transkrypcji oraz splicingu koduje kilka wariantów izoform białka, wykazując tkankowo swoisty profil ekspresji. Jednocześnie izoformy są wysoce heterogenne i wykazują jedynie pojedyncze wspólne domeny względem BPAG1e (Kunzli i wsp. 2015).

Podobnie do BPAG1e, BP180 wykazuje ekspresję wzdłuż błony podstawnej naskórka, w badaniu ultrastruktury lokalizuje się w HD. Badania *in vivo* oraz *in vitro* na zwierzętach wykazały patogenetyczną rolę BP180 w rozwoju BP. Przeciwciała IgG anty-BP180 u pacjentów z BP wiążą się z niekolagenową 16A (NC16A) częścią, zlokalizowaną w pozakomórkowej części BP180, w pobliżu przezbłonowej domeny BP180. Natomiast przeciwciała skierowane przeciwko BPAG1e reagują z miejscami antygenowymi na powierzchni całej cząsteczki, pomimo że C-końcowy fragment BPAG1e zawiera immunodominujące epitopy. Ponadto BPAG1e w przeciwieństwie do

BP180 jest wewnątrzkomórkowym białkiem, które nie jest początkowo rozpoznawane w procesach immunologicznych (Kunzli i wsp. 2015).

Izumi i wsp. (2016) podjęli się oceny ewentualnego związku obrazu klinicznego z docelowym epitopem dla auto-przeciwciał w BP. W grupie badanej u 121 pacjentów z BP, 87 pacjentów stanowiły przypadki seropozytywne w kierunku domeny NC16A i prezentujące klasyczny, zapalny fenotyp zmian skórnych. U 14 pacjentów seronegatywnych w kierunku domeny NC16A (obecne auto-przeciwciała skierowane przeciwko innemu fragmentowi kolagenu typu XVII), stwierdzono niezapalny fenotyp. Dotychczas nie określono przyczyny przełamania tolerancji immunologicznej wobec kolagenu typu XVII u pacjentów chorujących na BP. Pomimo, że patomechanizm BP pozostaje nadal niejasny opisywane są liczne czynniki potencjalnie wyzwalające proces autoimmunizacji, w tym między innymi leki stosowane w codziennej praktyce lekarskiej. Oprócz dobrze opisanych przypadków BP indukowanego lekami z grupy diuretyków (furosemid, spironolakton), β -blokerów, antybiotyków i chlorochiny, Izumi i wsp. (2016) sugerują możliwy związek określonego fenotypu kliniczno-serologicznego zależnego od leku potencjalnie wyzwalającego BP. Stosowanie leku z grupy inhibitora dipeptydylo peptytadazy IV (DPP-4, leku przeciwiglikemicznego stosowanego w cukrzycy typu II) może przyczyniać się do istotnie częstszego występowania fenotypu niezapalnego BP (badanie Izumi dotyczyło pacjentów z epitopami w obrębie kolagenu XVII poza domeną NC16A). Badanie to wykazało, że profil auto-przeciwciał w BP determinuje obraz kliniczny choroby, jednak konieczne są dalsze prace w celu lepszego zdefiniowania zależności serologiczno-fenotypowych.

1.2.2. Złożoność budulcowo-czynnościowa połączenia skórno-naskórkowego

Błony podstawne leżące pod naskórkiem lub nabłonkiem błon śluzowych oddzielają je od podścieliska (Leivo i wsp. 1996; Gornowicz-Porowska i wsp. 2012). Odmienne typy błony podstawnej otaczają komórki mięśni gładkich lub komórki nerwowe. W zależności od lokalizacji, pełnią również odmienną tkankowo specyficzną rolę. Zapewniają między innymi warunki do różnicowania komórek, regulują architekturę podczas przebudowy (remodelingu) i odnowy tkanki, a w niektórych przypadkach pełnią wysoce wyspecjalizowane funkcje, jak na przykład selektywnej półprzepuszczalnej bariery (błona podstawna kłębuszków nerkowych, bariera krew-mózg). W przypadku DEJ warunkują między innymi jej tkankową funkcję - odporność mechaniczną.

Różne typy błon podstawnych w swojej strukturze zawierają pewne wspólne składowe, konserwatywne ewolucyjnie dla danego gatunku. Podstawowe wspólne struktury stanowią kolagen typu IV, lamininy, nidogeny oraz proteoglikany. Specyficzne makromolekuły uzupełniające

struktury w poszczególnych lokalizacjach determinują wyspecjalizowane funkcje. Funkcja fizycznej bariery stanowiącej przez błony podstawne dotyczy również szerzenia się przerzutów nowotworowych. Komórki niezłośliwych nowotworów w badaniach *in vitro* rzadko zdolne są do przekroczenia bariery błony podstawnej. W przypadku komórek guza zdolnego do tworzenia odległych przerzutów dochodzi początkowo do związania z błoną podstawną, a następnie w miejscu jej uszkodzenia do migracji do podścieliska. Lamininy i integryny mediują adhezję komórek nowotworowych do błony podstawnej. W przypadku guzów mających zdolność przerzutowania zatarcie struktur błony podstawnej w bioptatach jest wskaźnikiem złośliwości (Wolff i wsp. 2008).

DEJ jest przykładem błony podstawnej o wysoce wyspecjalizowanej strukturze przystosowanej do pełnionych funkcji. DEJ wykazuje ciągłość w obrębie naskórka oraz przydatków skóry, w tym gruczołów potowych, mieszków włosowych, gruczołów łojowych. Arbitralnie DEJ może być podzielone na trzy przedziały. Pierwszy z nich zawiera kompleksy złożone z hemidesmosomów oraz filamentów keratynowych komórek podstawnych. Rozpściera się od poziomu blaszki jasnej (lamina lucida) do blaszki gęstej (lamina densa). Drugi przedział stanowi blaszka gęsta, obszar o wysokiej gęstości elektronowej, amorficzny. Blaszka gęsta DEJ przypomina analogiczne struktury błon podstawnych innych narządów. Na poziomie molekularnym główne struktury stanowią kolagen typu IV, nidogen, perlekan i lamininy. Najgłębiej położoną warstwę - blaszkę zakotwiczącą tworzą mikrofibryle, do których zaliczamy włókienka zakotwiczące, będące głównie agregatami kolagenu typu VII oraz mikrofibryle tubularne. Te ostatnie w swoim składzie zawierają włókna elastyczne. Obserwacja struktury DEJ wskazuje na jego zróżnicowane funkcje; tj. miejsca zakotwiczenia komórek warstwy podstawnej naskórka z zachowaniem ich polaryzacji, funkcję barierową pomiędzy naskórkiem a skórą właściwą oraz funkcję stałego połączenia naskórka do skóry właściwej. Błona podstawna zawiera kolagenowe i niekolagenowe glikoproteiny oraz proteoglikany. Kolagen typu VII i XVII występują nie tylko w nabłonku wielowarstwowym płaskim, a kolagen typu IV spotykany jest we wszystkich typach błon podstawnych. Do specyficznych dla DEJ składowych zaliczamy HD, filamety kotwiczące oraz włókienka kotwiczące. HD ultrastrukturalnie przypominają połowę desmosomów z połączeń występujących pomiędzy komórkami naskórka. Pomimo podobieństw morfologicznych budowa tych struktur jest odmienna. Pełną charakterystykę białek hemidesmosomalnych przyniosły badania nad patofizjologią i autoantygenami docelowymi w BP. Wyodrębniono trzy antygeny o masach cząsteczkowych 230-kDa, 180-kDa i 120-kDa. Zostały one później sklasyfikowane odpowiednio jako BPAG1 (bullous pemphigoid antygen 1 lub BP230), BPAG2 (BP180) tj. główny antygen w BP (faktycznie będący przezbłonowym kolagenem typu XVII). Ostatni z nich o masie 120-kDa

stanowi ektodomenę kolagenu typu XVII. Ponadto istotną składową HD stanowią integryny α -6- β -4, o wysokim powinowactwie do lamininy 332, co warunkuje przyleganie HD do znajdującej się poniżej błony podstawnej i podścieliska (Wolff i wsp. 2008).

Pochodzenie DEJ zostało zbadane na modelach *in vitro*, gdzie dowiedziono występowania składowych naskórkowych, jak również mezenchymalnych. Ze znanych składowych błony podstawnej tylko lamininy 332 (-5) oraz 311A (-6) produkowane są wyłącznie w naskórku. Komórki nabłonkowe syntetyzują również większość kolagenu typu VII, podczas gdy kolagen typu IV, nidogeny, perlekan oraz łańcuchy α -2-laminin produkowane są głównie przez komórki mezenchymalne. Ponieważ składowe pochodzenia mezenchymalnego muszą ulec przeniesieniu do miejsca kondensacji, wymagają do tego procesu ścieżek sygnałowych, w które zaangażowane są prawdopodobnie integryny α -6- β -4 oraz α -3- β -1 i kolagen typu XVII (Wolff i wsp. 2008).

1.2.3 Polimorficzny obraz kliniczny pemfigoidu pęcherzowego

BP z definicji jest przewlekłą, ADP przebiegającą z tworzeniem podnaskórkowo ciągłej szczeliny podziału wzdłuż DEJ. Na poziomie molekularnym jest związany z autoimmunizacją wobec fragmentu NC16A hemidesmosomalnego antygeny o masie cząsteczkowej 180-kDa, kolagenu typu XVII. Istotność problemu podnosi fakt starzenia się obecnej populacji, a początek choroby w przeważającej mierze przypadków przypada na szóstą dekadę życia. BP uznawany jest za najczęstszą ADP w Europie, ze średnią częstością występowania 6-7 nowych przypadków na milion mieszkańców na rok. Zachorowalność zwiększa się z wiekiem i u starszych osób, powyżej 60 roku życia, wynosi aż >20 nowych przypadków na milion mieszkańców na rok, a największa jest u osób powyżej 90 roku życia. Przykładowo, całkowita szacowana liczba chorych na ADP w 2014 roku w Niemczech wynosiła 40,400 pacjentów (0,05% populacji 80 925 000 mieszkańców) (Hubner i wsp. 2016). Z najwyższą chorobowością BP 259,3/mln mieszkańców oraz chorobowością porównywalną dla pacjentów z pemfigoidem błon śluzowych (mucous membrane pemphigoid, MMP) i PV wynoszącą 24,56/mln mieszkańców (Schmidt i wsp. 2017).

Objawy mogą wystąpić stopniowo lub w sposób gwałtowny, zazwyczaj w obrazie rozsianych zmian polimorficznych. W pojęciu tym znajdują się zarówno wykwity rumieniowo-obrzękowe, pokrzywkowate, aż do klasycznych stereotypowo dobrze napiętych pęcherzy (Ryc. 2). ADP, w tym BP wykazują ewolucyjny przebieg rozumiany jako czasowo-przestrzenne zróżnicowanie objawów. Dotyczy to również kardynalnego, jak mogłoby wydawać się objawu, którym jest tworzenie podnaskórkowych pęcherzy u pacjentów z BP. W istocie w przypadku pacjentów z BP uzasadnione wydaje się stosowanie określenia polimorficznego obrazu klinicznego,

gdyż spektrum możliwych wykwitów skórnych jest bardzo szerokie. Wykwity pęcherzowe, jeśli nawet występują, są objawem nieswoistym i mogą towarzyszyć wielu dermatozom niezwiązanym z ADP. Okazuje się również, że leżące u podłoża tworzenia się pęcherzy u pacjentów z BP procesy etiopatogenetyczne wykazują znaczne zróżnicowanie, choć we wszystkich odmianach klinicznych właściwego BP obserwuje się autoimmunizację wobec tych samych antygenów. Klasyfikacja zaproponowana przez Dmochowskiego (2006) w kręgu pemfigoidu wyróżnia BP w licznych odmianach klinicznych (klasyczny, zlokalizowany/przedpyszczelowy, pęcherzykowy/opryszczkowaty, paraneoplastyczny, potnicowy, z wydrapania (excoriée), polekowy, pokrzywkowy, łojotokowy, erytrodermiczny, bujający, pourazowy, guzkowy/przypominający świerzbiczkę guzkową), lichen planus pemphigoides, pemphigoid gestationis, linią IgA dermatozę pęcherzową u dorosłych i dzieci /LABD/ typu lamina lucida. W osobnej grupie znajduje się MMP oraz pemfigoid anti-p200. Istnieją zapewne również przypadki nakładania się klinicznych odmian BP. Proponowany podział oprócz znaczenia ściśle dydaktycznego odnosi się również do odmiennych mechanizmów patogenetycznych w poszczególnych jednostkach chorobowych należących do podnaskórkowych ADP.



Ryc. 2 Pęcherze i nadżerki na skórze przedramienia pacjenta z BP, w badaniu DIF stwierdzono linijne złogi IgG1 (+) i C3 (++) wzdłuż połączenia skórno-naskórkowego, brak złogów IgA, IgM, IgG, IgG4, w badaniu IIF stwierdzono przeciwciała w klasie IgG i IgG4 w mianach >1/80 wykonanym na przelyku małpy, w badaniu techniką ELISA IgG anti-BP180 >200Ru/ml (punkt odcięcia 20RU/ml), ELISA IgG anti-BP230 >200RU/ml (punkt odcięcia 20Ru/ml).

W klasycznym obrazie BP miejscami predylekcyjnymi są boczne powierzchnie szyi, pachy, pachwiny, przyśrodkowe bliższe powierzchnie ud i brzuch. Stereotypowo pęcherze są dobrze napięte, sporadycznie wiotkie i lokalizują się na podłożu pokrzywkowatym, bądź niezmienionym chorobowo (Ryc. 2). Zajęcie błon śluzowych dotyczy około 20% dorosłych pacjentów, typowo w obszarze jamy ustnej.

Pokrzywkowy BP, wyróżniany jest przez niektórych autorów, jako oddzielna odmiana, a przez innych traktowany jest, jako etap prodromalny (wstępny, przedpęcherzowy), co jednak nie odzwierciedla czasu trwania choroby, która w tej postaci może przebiegać latami.

Pęcherzykowy BP klinicznie odpowiadający opryszczkowatemu zapaleniu skóry z drobnymi, licznymi pęcherzykami, bez typowych dużych pęcherzy.

Potnicowy BP cechuje się dobrze napiętymi małymi pęcherzami umiejscowionymi na dłoniach i stopach. Rozpoznawany, jako wyprysk potnicowy i leczony głównie miejscowymi GKS do czasu wystąpienia pęcherzy w innych okolicach ciała, co może nasunąć podejrzenie prawidłowego rozpoznania BP.

Łojotokowy BP jest odmianą przypominającą toczeń rumieniowaty lub pęcherzycę łojotokową.

Bujający BP rozwija się w okolicach wyprzeniowych. Sporadycznie mogą wystąpić wykwyty brodawkujące lub ziarniniakowe przypominające pęcherzycę bujającą.

Zlokalizowany BP to odmiana, w której wykwyty pęcherzowe występują w jednej okolicy ciała lub w miejscach narażonych na uraz fizyczny lub mechaniczny. Dotyczy to zwłaszcza pacjentów po lokalnej radioterapii stosowanej w leczeniu onkologicznym. Zmiany pęcherzowe rozwijające się w mechanizmie autoimmunizacji wobec białek DEJ obserwowaliśmy w miejscu złamania kończyny zaopatrzonej opatrunkiem gipsowym również u pacjentki leczonej w naszym ośrodku (Katedrze i Klinice Dermatologii Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu, KiKD UMP). U innej pacjentki wykwyty typowe dla BP wystąpiły w okolicy blizny pooperacyjnej.

Erytrodermiczny BP dotyczy uogólnionego zapalenia skóry bez występowania pęcherzy. Może występować jako proces rozwijający się de novo lub w przebiegu wcześniejszych zmian pęcherzowych.

Pemfigoid ciężarnych (pemphigoid gestationis, PG) jest świadomą dermatozą pęcherzową występującą w drugiej połowie ciąży (zwykle trzecim tryestrze) lub krótko po porodzie. W obrazie klinicznym oraz na poziomie badań laboratoryjnych (autoimmunizacja wobec antygeny pemfigoidu pęcherzowego o masie 180-kDa, BP180) występuje wiele podobieństw do BP.

1.3. Opryszczkowate zapalenie skóry a nieceliakalna nadwrażliwość na gluten (non-celiac gluten sensitivity)

W kontekście docelowych autoantygenów w opryszczkowatym zapaleniu skóry (dermatitis herpetiformis, DH; choroba Duhringa) pojawiają się doniesienia literaturowe dotyczące

występowania nieceliakalnej nadwrażliwości na gluten (Non-Celiac Gluten Sensitivity, NCGS) lub nieceliakalnej nadwrażliwości na pszenicę. Nowe badania nad patofizjologią kręgu chorób wyzwalanych lub tych, w których zaostrzenie stanu klinicznego następuje w związku przyczynowym ze spożyciem przez pacjenta produktów zawierających pszenicę, nakazują postawić również pytania dotyczące patofizjologii DH.

Celiakia (Coeliac disease, CD) jest jedną z najlepiej zdefiniowanych chorób autoimmunologicznych pod względem patofizjologii, zarówno w odniesieniu do mechanizmów środowiskowych, genetycznych i immunologicznych. Jest ona postrzegana jako schorzenie wynikające z nadreaktywności układu odpornościowego wobec glutenu. Alergia na pszenicę jest natomiast IgE mediowaną chorobą dającą zróżnicowany obraz kliniczny. Jednocześnie występuje grupa pacjentów niespełniająca kryteriów rozpoznania dwóch powyższych jednostek, jednak dobrze odpowiadająca na zastosowanie diety bezglutenowej (gluten free diet, GFD) (Mooney i wsp. 2013). GFD pozostaje nadal podstawą leczenia pacjentów z CD. Jednak CD nie jest jedynym schorzeniem odpowiadającym na leczenie GFD. Zarówno w DH jak i CD wykazano istnienie wspólnego podłoża genetycznego obu chorób. U części pacjentów z objawami ze strony układu pokarmowego (lub również z objawami poza pokarmowymi) nasuwającymi podejrzenie choroby trzewnej, w trakcie prowadzonej diagnostyki wyklucza się CD lub alergię pokarmową na gluten. Ponadto rozróżnienie nieceliakalnej nietolerancji glutenu od nieceliakalnej nietolerancji pszenicy podkreśla fakt braku pewności w odniesieniu do głównej białkowej składowej pszenicy jako czynnika odpowiedzialnego za występowanie objawów klinicznych.

Obecnie uwagę badaczy zwracają coraz powszechniej opisywane przypadki występowania objawów gastroenterologicznych, które dobrze opowiadają na stosowanie GFD u pacjentów z wykluczoną CD. Kabbani i wsp. (2014) w grupie 238 pacjentów, którzy wykazywali objawy kliniczne zależne od stosowania GFD potwierdzili w badaniach dodatkowych u 101 z nich (42,4%) CD, podczas gdy u 125 (52,5%) postawiono rozpoznanie NCGS (u 9 pacjentów rozpoznano nieceliakalną entropatię, u 3 nie zdefiniowano rozpoznania). Eksperci oceniają, że występowanie NCGS w populacji Stanów Zjednoczonych może być częstsze niż CD. W badanej grupie pacjenci z CD wykazywali objawy deficytów żywieniowych (niedożywienia) w 67,3% przypadków w porównaniu do 24,8% w grupie z NCGS. Stwierdzono również większe prawdopodobieństwo występowania dodatniego wywiadu rodzinnego u pacjentów z CD, chorób autoimmunologicznych lub niedoborów żywieniowych w wywiadzie osobniczym.

Rozpoznanie NCGS jest trudne ze względu na brak zdefiniowanych serologicznych markerów i swoistych kryteriów diagnostycznych. Rozpoznanie opiera się głównie na wykluczeniu CD i alergii na pszenicę (wheat allergy, WA) oraz wykazaniu związku objawów ze spożyciem

glutenu. Przeciwciała przeciwgliadynowe w klasie IgG (AGA IgG) nie wydają się być wystarczająco dobrym markerem NCGS, jednak mogą być użyteczne w całościowej ocenie pacjenta. Geny kodujące *DQ2* i *DQ8* są obecne u 95% pacjentów z CD (negatywna wartość predykcyjna, NPV >95%). Jednocześnie zdrowe osobniki wykazują również ekspresję w 30% przypadków, jednak rzadziej niż w NCGS (50%). Pomimo wyższego odsetka pacjentów NCGS z obecnym haplotypem HLA-DQ2/-DQ8 (niż w populacji ogólnej), nie obserwowano statystycznie istotnej różnicy w częstości występowania przeciwciał przeciwgliadynowych w klasie IgG (AGA IgG) (Infantino i wsp. 2015).

Na podstawie zgromadzonego materiału Kabbani i wsp. (2014) zaproponowali schemat diagnostyczny, który zakłada, że rozpoznanie CD u pacjenta z negatywnymi badaniami serologicznymi w kierunku CD (przeciwciał przeciw transglutaminazie tkankowej w klasie IgA (IgA anty-tTG) lub przeciwciał przeciw deaminowanej gliadynie w klasach IgA/IgG (IgA/IgG anty-DGP)) niestosującego GFD jest mało prawdopodobne. Dodatkowo w grupie pacjentów z ujemnymi wynikami badań serologicznych w kierunku CD, którzy nie prezentują objawów niedożywienia lub czynników ryzyka wystąpienia CD najbardziej prawdopodobnym rozpoznaniem pozostaje NCGS. W wątpliwych przypadkach (graniczne wartości badań serologicznych) wskazane jest dodatkowe wykonanie typowania HLA (wykluczenie haplotypów HLA-DQ2/-DQ8) w celu kwalifikacji do ewentualnej biopsji. Pomimo, że CD i NCGS dobrze odpowiadają na GFD, obie jednostki prezentują nieco odmienny fenotyp, a objawy kliniczne występują nieco wcześniej niż w CD. Choć wielu badaczy precyzuje cechy obrazu klinicznego typowego dla NCGS, jednocześnie podkreśla się istotną trudność w rozróżnieniu na poziomie klinicznym CD i NCGS (Infantino i wsp. 2015). Wartość diagnostyczna badań serologicznych w kierunku CD pozostaje wysoka w populacji ogólnej, zwłaszcza ich swoistość. W przypadku pacjentów stosujących GFD (u których uzyskano poprawę kliniczną) lub pacjentów, którzy bez postawionego rozpoznania wdrożyli dietę wartość testów serologicznych jest ograniczona. W wielu przypadkach genotypowanie HLA i ocena ewentualnych czynników ryzyka (wywiad rodzinny i osobniczy) są pomijane i w następnym kroku diagnostycznym od razu wykonuje się biopsję błony śluzowej przewodu pokarmowego. Częstość występowania genotypu HLA związanego z CD szacowana jest w populacji ogólnej na 40%, w badaniu prowadzonym przez Kabbaniego (2014) odsetek ten w grupie NCGS był jeszcze wyższy (53%) – fakt ten może wynikać z doboru grupy badawczej. Ponadto sugeruje się, że pacjenci ci lepiej odpowiadali na leczenie GFD.

Bucci i wsp. (2013) wykazali, że w przeciwieństwie do pacjentów z CD, błona śluzowa pobrana w biopsji dwunastnicy od pacjentów z NCGS po inkubacji z gliadyną nie wykazywała ekspresji markerów stanu zapalnego. Ponadto w oparciu o poziomy CD203c, CD63, CD45

oceniano aktywację bazofilów obwodowych w surowicy pacjentów z NCGS - po inkubacji z gliadyną wyniki pozostawały jednak w granicy normy.

Pozostaje nadal nierozstrzygniętym zagadaniem czy nieglutenowe składowe pszenicy mogą być dodatkowymi poszukiwanymi czynnikami patogenetycznymi. W badaniach prowadzonych nad dojrzałym ziarnem pszenicy poza glutenem stanowiącym główną składową białkową (80% z 10-12% całego białka zawartego w ziarnie) stwierdzono około 1125 osobnych składowych. Białkowa składowa ziarna pszenicy zawiera białka glutenowe: gliadyny, gluteniny, które po obróbce enzymatycznej w procesie trawienia w przewodzie pokarmowym mogą wywoływać CD4+ T-komórkowo zależną odpowiedź immunologiczną u predysponowanych osobników (haplotypy HLA-DQ2 i -DQ8). Jednocześnie nieantygenowe białka glutenowe mogą stymulować wrodzoną odpowiedź immunologiczną, niezależną od genotypu HLA i przez to uczestniczyć w wyzwalaniu nieceliakalnej reakcji na gluten. Ponadto szereg białek nieglutenowych obecnych w pszenicy może wyzwać reakcje immunologiczne. W skład tych białek wchodzi między innymi serpiny, tioredoksyny, aglutyniny oraz inhibitory α -amylazy i trypsyny (ATIs). Te ostatnie mogą wzbudzać wrodzoną odpowiedź przez receptory Toll-podobne typu 4 (TLR-4). Prawdopodobnie w reakcjach nadwrażliwości na pszenicę rola tych białek może być niezależna lub również synergistyczna z glutenem. Próba oceny ewentualnej aktywacji układu odpornościowego pacjentów z nieceliakalną nadwrażliwością na pszenicę wykazała podwyższone poziomy przeciwciał IgG AGA w surowicy tych pacjentów (podobnie do pacjentów z aktywną postacią CD), jednocześnie stwierdzono wyższe poziomy przeciwciał IgA AGA u pacjentów z CD. Przeciwciała AGA w klasie IgM były podwyższone tylko w grupie pacjentów z nieceliakalną nadwrażliwością na pszenicę. Jednocześnie zastosowanie przez 6 miesięcy GFD u tych pacjentów skutkowało poprawą stanu klinicznego oraz normalizacją poziomu przeciwciał AGA. Pomimo braku specyficzności AGA sugeruje się, że u pacjentów z negatywnymi wynikami badań serologicznych dla tTG/TG2 i obrazem klinicznym odpowiadającym nieceliakalnej nietolerancji glutenu/pszenicy mogą one służyć jako marker diagnostyczny (zwłaszcza przy wysokich poziomach). Jedną z hipotez wzmożonej odpowiedzi immunologicznej na glutenowe białka pszenicy zakłada występowanie defektu bariery jelitowej, ekspozycji na ewentualne antygeny i w konsekwencji aktywacji obwodowej odpowiedzi układu odpornościowego. Potwierdzeniem tego mechanizmu mogą być podwyższone poziomy surowiczych rozpuszczalnych protein CD14 i LBP, oraz autoreaktywność wobec bakteryjnych liposacharydów i flagelin (w porównaniu do pacjentów z CD oraz zdrowych osobników w grupie kontrolnej). Podobnie do pacjentów z CD stwierdzono podwyższone poziomy FABP2, markera uszkodzenia komórek nabłonka jelita. Kliniczna ocena wzmożonej przepuszczalności bariery jelitowej pozostaje nadal wyzwaniem i w niektórych badaniach nie została potwierdzona. Jednak

pośrednim potwierdzeniem może być wpływ GFD stosowanej przez 6 miesięcy skutkujący oprócz obniżenia poziomu AGA, również normalizacją poziomów przeciwciał wobec bakteryjnych antygenów, CD14, LBP i FAB2. Wykorzystanie obserwacji zmian stanu klinicznego po wprowadzeniu GFD lub obciążeniu glutenem w formułowaniu wniosków wymaga jednak dużej ostrożności. W takiej sytuacji pacjent może odpowiadać na więcej niż jeden czynnik wywołający, co dodatkowo podnosi rolę markerów biologicznych w ustaleniu patomechanizmów oraz w późniejszych zastosowaniach diagnostycznych (Pinto-Sánchez i wsp. 2016).

Wielu pacjentów z rozpoznaną NCGS prezentuje klinicznie również zmiany skórne, które wymagają szczegółowej oceny w kontekście DH (Ryc. 3).



Ryc.3 Na skórze okolic wyprostnych, w jednej trzeciej bliższej przedramion grudki z nadżerkami u pacjenta z DH, w badaniu DIF stwierdzono drobnoziarniste złoży IgA (+++) w szczytach brodawek skórnych, w badaniu techniką ELISA IgA przeciwko tTG >200RU/ml (punkt odcięcia 20RU/ml).

Bonciolini i wsp. (2015) opisali 17 pacjentów chorujących na NCGS z towarzyszącymi niespecyficznymi zmianami skórnymi, które ulegały znacznej poprawie po włączeniu GFD. Najczęstszym miejscem występowania opisywanych zmian były powierzchnie wyprostne kończyn górnych i dolnych, o morfologii wypryskowej, łuszczycopodobnej lub opryszczkowej. Zmianom towarzyszył uporeczywy świąd.

Badanie immunopatologiczne wykazało występowanie złogów C3 wzdłuż DEJ o drobnoziarnistym/ziarnistym wzorze. W badaniu histopatologicznym nie stwierdzono specyficznego wzoru mogącego odpowiadać zmianom typowym dla DH. Ponadto wszyscy pacjenci wykazywali podobny, krótki (wynoszący około 1 miesiąca) czas ustępowania zmian skórnych po włączeniu GFD. Pomimo znacznych ograniczeń badania wynikających z niewielkiej grupy badanych, wyniki uzasadniają konieczność dalszej oceny zależności skórno-pokarmowych w grupie chorych z nietolerancją / nadwrażliwością na gluten.

2.CEL PRACY

Autoimmunizacyjne dermatozy pęcherzowe są heterogenną grupą chorób skóry, w której potencjalne czynniki wyzwalające oraz patogenetyczny związek z zaburzeniami towarzyszącymi pozostaje niewystarczająco scharakteryzowany. Jest to przesłanką podjęcia tematyki niniejszej rozprawy doktorskiej, zważywszy na często rozbieżne dane literaturowe. Spośród śródskórkowych autoimmunizacyjnych dermatoz pęcherzowych grupy pęcherzycy zwykłej i liściastej to dermatozy o potencjalnie śmiertelnym przebiegu, w których do najczęstszych czynników wyzwalających zaliczane są leki. Fakt ten nie znajduje jednak nadal przełożenia na wykorzystywane schematy diagnostyczno-terapeutyczne. Pemfigoid pęcherzowy jest najczęstszą autoimmunizacyjną dermatozą pęcherzową wśród osób dorosłych, o stale wzrastającej zachorowalności związanej m.in. ze starzeniem się populacji krajów wysoko rozwiniętych. Schorzenia neurodegeneracyjne i pemfigoid pęcherzowy zdają się wykazywać zarówno związek epidemiologiczny, jak i wspólne podłoże patogenetyczne. Brakuje jednak szczegółowych danych piśmienniczych dotyczących ewentualnych wspólnych szlaków rozwoju tych chorób. W zupełnie odmiennej klinicznie i wiekowo grupie pacjentów z opryszczkowatym zapaleniem skóry, sugerowano powiązanie tej autoimmunizacyjnej dermatozy pęcherzowej z nowotworzeniem, również przez analogię do choroby trzewnej. Jednak dane te zdają się nie odzwierciedlać stanu faktycznego w populacji rodzimej. W związku z powyższym, podjęto badania, których celem była:

1. Retrospektywna analiza danych epidemiologicznych pacjentów z autoimmunizacyjnymi dermatozami pęcherzowymi z Kliniki i Katedry Dermatologii Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu z lat 2006 – 2016 oraz danych literaturowych (metaanaliza) w celu ustalenia najczęstszych chorób współistniejących, ze szczególnym uwzględnieniem procesu nowotworzenia.
2. Retrospektywna analiza danych epidemiologicznych pacjentów z pęcherzycą zwykłą i liściastą z Kliniki i Katedry Dermatologii Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu z lat 2006 -2016 oraz danych literaturowych w celu oceny wpływu przyjmowanych leków na wzbudzenie patologicznej autoimmunizacji skórnej w autoimmunizacyjnych dermatozach pęcherzowych.
3. Porównawcza analiza występowania zaburzeń neurodegeneracyjnych w grupie pacjentów z pemfigoidem pęcherzowym i pozytywnej grupie kontrolnej pacjentów z łuszczycą pospolitą w celu

oceny procesu neuropatologicznego, jako elementu wywołującego pemfigoid pęcherzowy oraz wytypowania zjawiska neurodegeneracyjnego najbardziej swoiście zaangażowanego w jego rozwój.

4. Ocena profilu przeciwciał przeciwneuralnych w grupach pacjentów z pemfigoidem pęcherzowym i towarzyszącą chorobą neurodegeneracyjną oraz bez takiego współwystępowania w celu określenia antygeny neuronalnego mogącego być swoistym wczesnym biomarkerem pemfigoidu pęcherzowego u osób z zaburzeniami neurodegeneracyjnymi.

5. Ustalenie serologicznych profili (anty-BP180 IgG, anty-BP230 IgG) u pacjentów z pemfigoidem pęcherzowym z towarzyszącą chorobą neurodegeneracyjną oraz bez takiego współwystępowania, wraz z oceną korelacji pomiędzy występowaniem surowicznych przeciwciał IgG anty-BP180 i anty-BP230 a przeciwciałami przeciwneuralnymi w badanych grupach.

6. Analiza literaturowa obrazu opryszczkowatego zapalenia skóry, ze szczególnym uwzględnieniem procesów nowotworzenia i czynników egzogennych jako potencjalnych wyzwalaczy, w różnych populacjach etnicznych, również w powiązaniu z celiakią.

3.MATERIAŁ I METODY

3.1 Material

3.1.1 Grupy badane w analizie danych laboratoryjno-epidemiologicznych

Grupy badane stanowili pacjenci KiKD UMP z lat 2006-2016 z potwierdzonym w badaniu DIF rozpoznaniem ADP oraz pacjenci z łuszczycą (psoriasis, Pso) leczeni w latach 2002-2016. Retrospektywna analiza przypadków została przeprowadzona w oparciu o dostępną bazę danych medycznych pacjentów z ADP leczonych w okresie od grudnia 2006 roku do grudnia 2016 roku oraz pacjentów z Pso powyżej 70 roku życia hospitalizowanych w okresie od stycznia 2002 roku do maja 2015 roku, w Oddziale Klinicznym i Poradni Dermatologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Ponieważ przeważająca większość pacjentów z ADP w Polsce kierowana jest do ośrodków klinicznych celem diagnostyki i/lub dalszego leczenia, zdecydowano o wykorzystaniu dokumentacji z leczenia zamkniętego ze względu na zawarte w niej szersze informacje dotyczące chorób współtowarzyszących oraz leków stosowanych przewlekłe z innych wskazań niż dermatologiczne. W wymagających tego przypadkach wykorzystano również dokumentację z leczenia otwartego w Poradni Dermatologicznej tutejszej Kliniki.

Do analizy zostali włączeni wszyscy pacjenci hospitalizowani w przyjętym okresie z uwzględnieniem informacji z kolejnych pobytów, jeśli takie miały miejsce. Większość przypadków dotyczyła pacjentów, u których rozpoznanie ADP postawiono w trakcie hospitalizacji lub w ciągu 6 miesięcy przed przyjęciem na oddział dermatologiczny. Ze względu na retrospektywny charakter analizy niepełne dane w dokumentacji uniemożliwiły w niektórych przypadkach określenie czasu trwania choroby. Rozpoznanie ADP stawiano na podstawie typowych objawów klinicznych oraz badań DIF, IIF i techniką ELISA.

Zgromadzono informacje dotyczące schorzeń dermatologicznych oraz pozadermatologicznych ze szczególnym uwzględnieniem: zaburzeń neurologicznych (przebyty udar, demencja, choroba Parkinsona (Parkinson's disease, PD), padaczka, stwardnienie rozsiane (multiple sclerosis, MS), inne objawy ze strony układu nerwowego), chorób sercowo-naczyniowych (nadciśnienie tętnicze (hypertension, HT), choroba niedokrwienna serca z przebyłym lub bez przebytego zawału serca, zaburzenia rytmu serca, hiperlipidemie), chorób endokrynologicznych (cukrzyca, chorób tarczycy), chorób reumatologicznych, zaburzeń psychiatrycznych oraz osobniczego wywiadu onkologicznego. Ocenie podlegały również informacje dotyczące leków przyjmowanych przez pacjenta do czasu hospitalizacji (przewlekłe), z wykluczeniem leczenia włączonego po wystąpieniu objawów

dermatologicznych (jeśli taka informacja była dostępna). Leki zostały następnie uszeregowane zgodnie z aktualnie obowiązującą klasyfikacją anatomiczno-terapeutyczno-chemiczną (ATC).

Ze względu na retrospektywny charakter analizy i ograniczenia wynikające z dostępnej dokumentacji medycznej, w prezentowanych wynikach przyjęto następujące założenia. Pacjenci z nieokreślonymi zaburzeniami neurologicznymi manifestującymi się klinicznie, jako demencja zostali zakwalifikowani do grupy UnsD (unspecified conditions manifesting as dementia). Pacjenci ze stwierdzoną chorobą niedokrwienną serca obejmują również przypadki z wywiadem obciążonym w kierunku przebytego zawału serca. Pacjentów leczonych na cukrzycę podzielono na grupę przyjmującą insulinę (cukrzyca insulino-zależna) oraz stosujących wyłącznie leczenie doustne (cukrzyca insulino-niezależna), bez różnicowania na typy cukrzycy (typ 1, typ 2, LADA). W świetle najnowszych opinii ekspertów poszczególne typy cukrzycy mogą ulegać nakładaniu u każdego pacjenta (Schwartz i wsp. 2016).

W razie wielokrotnych pobytów rozpoznania i ewentualny przebieg choroby podlegały dalszej ewaluacji. Punktem końcowym oceny był 31 grudzień 2016r.

3.1.1.1 Chorzy z pęcherzycą zwykłą i liściastą

Do analizy włączono pacjentów z rozpoznaniem PV i PF, w sumie 111 pacjentów, w tym 64 kobiety (57,7%) i 47 mężczyzn (42,3%). W grupie badanej średni wiek wynosił 58,61 lat.

3.1.1.2 Chorzy z pemfigoidem pęcherzowym i pemfigoidem błon śluzowych

Do analizy włączono pacjentów z rozpoznaniem BP oraz MMP, w sumie 189 pacjentów, w tym 116 kobiet (61,4%) i 73 mężczyzn (38,6%). Średni wiek badanych wynosił 73,57 lat.

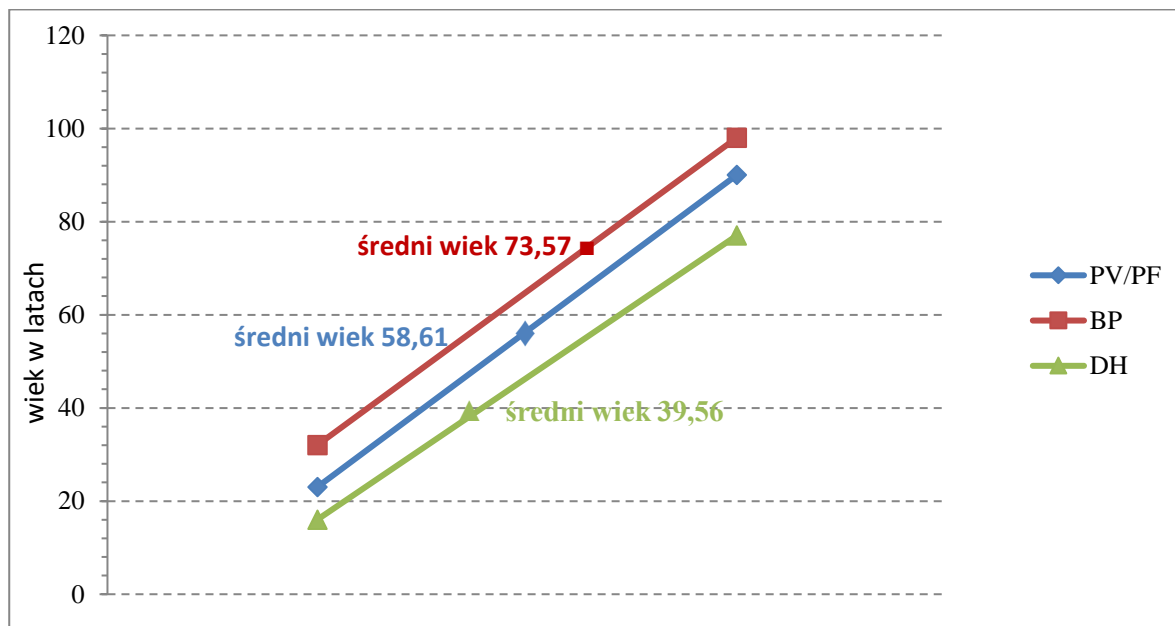
W badanej grupie wyodrębniono pacjentów wyłącznie z rozpoznaniem BP hospitalizowanych od grudnia 2006 do lipca 2015 roku, w sumie 96 pacjentów, w tym 59 kobiet (61,5%) i 37 mężczyzn (38,5%), których włączono do analizy porównawczej występowania ND w grupach z BP i Ps.

3.1.1.3 Chorzy z opryszczkowatym zapaleniem skóry

Do analizy włączono pacjentów hospitalizowanych z rozpoznaniem DH, w sumie 41 przypadków w tym: 7 kobiet (17,1%) i 43 mężczyzn (82,9%). W grupie badanej średni wiek wynosił 39,56 lat. Rozpoznanie DH opierało się na stwierdzeniu drobnoziarnistych złogów w klasie IgA w szczytach brodawek skóry i/lub wzdłuż DEJ w biopsji skóry okołowykładowej oraz jeśli

wykonywano – badania techniką ELISA w kierunku przeciwciał w klasie IgA przeciwko tTG, ewentualnie badania histopatologicznego. W przypadkach wątpliwych wykonywano haplotypowanie w kierunku obecności alleli *DQ2/DQ8*. Choroba nowotworowa była identyfikowana podobnie do pozostałych chorób współtowarzyszących, to jest na podstawie rozpoznań i wpisów w dokumentacji leczenia szpitalnego.

Strukturę wiekową grup chorych z PV/PF, BP i DH przedstawia rycina 4.



Ryc. 4 Struktura wiekowa w grupach chorych z PV/PF, BP i DH poddanych analizie retrospektywnej.

3.1.1.4 Chorzy z łuszczycą pospolitą

Do analizy włączono pacjentów hospitalizowanych z rozpoznaniem Pso, w sumie 149 pacjentów, w tym 76 kobiet (51%) i 73 mężczyzn (49%). Wszyscy pacjenci spełniali kryterium włączenia do badania, którym było ukończenie 70 roku życia.

3.1.2 Grupy badane w analizie danych literaturowych

Wykonano analizę danych literaturowych w oparciu o bazę danych PubMed w ramach Narodowego Centrum Informacji Biotechnologicznych (NCBI, National Center for Biotechnology Information), będącą narzędziem dostarczonym przez Narodową Bibliotekę Medyczną Stanów Zjednoczonych (US National Library of Medicine) oraz Narodowy Instytut Zdrowia (National Institutes of Health), dostępną pod adresem internetowym <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>. Większość publikacji uzyskano poprzez linki zewnętrzne w bazie PubMed, bezpośrednio na

stronach internetowych wydawnictw medycznych lub portali internetowych udostępniających na zasadach otwartego, powszechnego wykorzystania, kontent o charakterze publikacji medycznych. Dostępne dane przeanalizowano w odniesieniu do zagadnień chorób współtowarzyszących oraz leków potencjalnie wyzwalających w wybranych autoimmunizacyjnych dermatozach pęcherzowych (PV, BP, MMP, DH).

3.1.3 Wycinki skórne

Materiał badany stanowiły mrożone (kriostatowe) i parafinowe (po utrwaleniu w formalinie) wycinki skóry pobierane w KiKD UMP z lat 2006-2016. Wycinki pochodziły z rutynowych biopsji do badań diagnostycznych.

3.1.3.1 Mrożone skrawki do badania immunopatologicznego bezpośredniego

Wycinki skóry pobrane z miejsc okołowykwitowych, niezmienionych chorobowo do badania DIF transportowano w 0,9% roztworze NaCl do Pracowni Autoimmunizacyjnych Dermatoz Pęcherzowych KiKD UMP, po zatopieniu w ochronnym medium do mrożenia tkanek, były mrożone i krojone przy użyciu kriostatu (Leica CM1850UV). Do badań wykorzystywano skrawki mrożone o grubości 4 μm umieszczone na szkiełkach podstawnych pokrytych poli-L-lizyną w celu poprawienia przyczepności.

3.1.3.2 Parafinowe skrawki do badania histopatologicznego

Wycinki skóry pobrane z miejsc zmienionych chorobowo do badania histopatologicznego utrwalano w 10% buforowanej neutralnej formalinie i transportowano do Pracowni Histopatologii i Immunopatologii Skóry KiKD UMP, gdzie były zatapiane w kostki parafinowe i cięte seryjnie mikrotomem (Leica Biosystems Nussloch GmbH, Nussloch, Niemcy) na skrawki o grubości 4 μm . W wyjątkowych przypadkach powyższa procedura wykonywana była w Zakładzie Patomorfologii Klinicznej Szpitala Klinicznego im. H. Święcickiego Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Skrawki parafinowe rutynowo zabarwiano hematoksyliną i eozyną (H+E).

3.1.4 Surowice

Krew obwodowa wykorzystana do badań serologicznych, została uzyskana od każdego z pacjentów podczas przyjęcia do szpitala lub podczas wizyty w przyklinicznej poradni dermatologicznej. Od osób chorych pobierano 5 ml krwi na skrzep, próbki zostały poddane odwirowaniu przez 10 min. (3500rpm) i odpipetowano surowice, którą podzielono na alikwoty stabilizowane dodatkiem 0,1% azydku sodu w proporcji 1:100. Następnie do czasu wykonania badania techniką ELISA oraz immunoblotingu przechowywane były w temperaturze -20°C.

3.2 Metody

3.2.1 Metody diagnostyczne

Przedstawione poniżej metody diagnostyczne wykorzystywane są rutynowo w procesie diagnostycznym ADP i stanowią podstawę ich rozpoznania. Ze względu na cel pracy nie są prezentowane szczegółowe wyniki uzyskane w toku przeprowadzonej diagnostyki.

3.2.1.1 Badanie immunopatologiczne bezpośrednie

Badaniom poddano wycinki błony śluzowej / skóry pobrane z okolicy zmian pęcherzowych (okołowykwitowo) chorych na PV, BP i DH. Mrożone skrawki zadano sprzężonymi z izotiocyanianem fluoresceiny (FITC) poliklonalnymi przeciwciałami króliczymi przeciwko ludzkim IgA, IgM, IgG, C3 (Dako, Dania) oraz podklasom IgG1, IgG4 (Sigma Life Science) w rozcieńczeniu 1:100 w PBS o pH 7,2 i inkubowano w wilgotnej komorze w temperaturze pokojowej przez 60 min. Następnie preparaty płukano przez 15 min. na wytrząsarce w PBS o pH 7,2 i po nałożeniu kropli 10% roztworu gliceryny w PBS o pH 8,4 pokryto szkiełkiem nakrywkowym (rutynowa procedura Pracowni Autoimmunizacyjnych Dermatyz Pęcherzowych KiKD UMP, wg Bowszyc-Dmochowska 2002).

3.2.1.2 Badanie immunopatologiczne pośrednie

Badaniom poddano surowice od chorych z BP i PV (we wszystkich surowicach oznaczano przeciwciała krążące w klasie IgG, w niektórych przypadkach w podklasach IgG4 i IgG1). Reakcję wykonano przy użyciu komercyjnie dostępnego zestawu do IIF zawierającego płytki mikroskopowe

opłaszczone zamrożonymi skrawkami przelyku małpy jako substrat zwierzęcy (Euroimmun, Niemcy). W celu ustalenia miana surowice rozcieńczano tworząc gradient stężeń (1:20, 1:80, 1:160 i 1:320) w PBS-Tween o pH 7,2, a następnie наносono na pole płytki mikroskopowej 30 µl analizowanej próbki. Inkubacja odbywała się w temperaturze pokojowej przez 30 min. Następnie płytkę płukano przez 5 min. w PBS-Tween o pH 7,2, наносono na pola reakcyjne po 25 µl znakowanych fluoresceiną kozich przeciwciał przeciwko ludzkim IgG (zawarte w zestawie i gotowe do użycia) lub mysich przeciwciał przeciwko ludzkim IgG1 i IgG4 (Sigma) w rozcieńczeniu 1:100 i inkubowano przez 30 min. w temperaturze pokojowej. Po ponownym płukaniu w PBS-Tween o pH 7,2 nakładano kroplę 10% roztworu gliceryny w PBS o pH 8,4 i pokrywano szkiełkiem nakrywkowym. Każde badanie przeprowadzano z użyciem pozytywnej surowicy kontrolnej załączonej w zestawie. W badaniu oceniano, dające charakterystyczny obraz świecenia, wiązanie się przeciwciał wobec desmosomów warstwy kolczystej nabłonka w przypadku pęcherzycy oraz przeciwciał przeciwko błonie podstawnej nabłonka w przypadku BP.

3.2.1.3 Badanie histopatologiczne w barwieniu H+E

Wycinki skórne pobrane od chorych na PV, BP i DH zatopiono w parafinie i rutynowo zabarwiono hematoksyliną i eozyną (H+E). W obrazie histologicznym poszukiwano następujących cech:

- pęcherzycy - ciągłej szczeliny między warstwą podstawną a kolczystą (PV) lub w górnej części warstwy kolczystej i/lub warstwie ziarnistej (PF) w naskórku i nabłonkowych strukturach przydatków z okrągłymi, luźnymi, akantolitycznymi keratynocytami oraz zmienną liczbą eozynofilów i neutrofilów; obrazu określanego jako rząd nagrobków (row of tombstones) (PV) (Dańczak-Pazdrowska 2005);
- BP – podnaskórkowych pęcherzy i nacieku zapalnego w okolicy DEJ, w którym dominują eozynofile;
- DH - obecności mikroropni ze znaczną przewagą liczbową neutrofilów i domieszką eozynofilów na szczytach warstwy brodawkowatej skóry właściwej oraz podnaskórkowych szczelin zlokalizowanych ponad mikroropniami (Wolnik-Trzeciak 2005).

3.2.1.4 Badania immunoenzymatyczne ELISA

3.2.1.4.1 Testy monospecyficzne ELISA

Anty-DSG1 /-DSG3 IgG

Poziomy przeciwciał IgG przeciwko DSG1 i DSG3 badano w surowicach pacjentów z PV, PF. Badanie wykonano gotowymi zestawami MESACUP Desmoglein TEST DSG1 i MESACUP Desmoglein TEST DSG3 (Medical & Biological Laboratories, MBL, Japonia), przeznaczonymi do oceny krążących IgG przeciwko DSG1 i DSG3, zgodnie z podaną przez producenta metodyką. Surowice rozcieńczano w stosunku 1:101 w roztworze rozcieńczającym (assaydilluent) i nakrapiano po 100 µl na studzienki reakcyjne opłaszczone rekombinowanym zewnątrzkomórkowym fragmentem DSG1/DSG3. Każdorazowo wykonywano obecne w zestawie kontrole ujemne i dodatnie. Próby inkubowano przez 60 min. w temperaturze pokojowej, po czym przeprowadzono czterokrotne płukanie w roztworze płuczającym (washsolution) i dodawano 100 µl sprzężonego z peroksydazą chrzanową monoklonalnego przeciwciała przeciwko ludzkim IgG (conjugatesolution) i ponownie inkubowano przez 60 min. w tych samych warunkach. Po kolejnym etapie płukania dodawano 100 µl substratu dla peroksydazy chrzanowej i inkubowano przez 30 min. w tych samych warunkach. Celem przerwania reakcji dodawano 100 µl roztworu zatrzymującego (stopsolution). Wyniki oceniano fotometrycznie przy długości fali 450 nm czytnikiem do ELISA (Metertech). Wartość indeksu (WI), odzwierciedlającego poziom krążących IgG, obliczano według wzoru podanego przez producenta. W przypadku uzyskania zbyt intensywnej reakcji, aby mogła być oceniona numerycznie kontynuowano rozcieńczenie surowicy w stosunku 1:500 i 1:1000.

W zestawach omawianych testów immunoenzymatycznych przeznaczonych do celów diagnostycznych producent zaleca przedstawianie wyników w jednostkach U/ml (units/ml), podając przy tym zakres testu obejmujący wartości pomiędzy 5 a 150 U/ml. Dla WI osiągających wartości powyżej 150 U/ml sugeruje podawanie wyniku jako „>150”. W niniejszej pracy, w części przypadków, uzyskiwano wartości absorbancji próbek poniżej wartości absorbancji dla negatywnej kontroli. Dla wyników tych przyjęto WI 0. Producent podaje interpretację wyników dla poziomu anty-DSG1 IgG <14 jako ujemne, 14-20 pośrednie i >20 U/ml pozytywne. Producent podaje interpretację wyników dla poziomu anty-DSG3 IgG <17 jako ujemne, 17-20 pośrednie i >20 U/ml pozytywne. Zgodnie z badaniami wykorzystującymi analizę krzywych ROC i przeprowadzonymi w 2005 roku (Dańczak-Pazdrowska 2005), mającymi na celu ustalenie punktu odcięcia właściwego dla Pracowni Histopatologii i Immunopatologii Skóry KiKD UMP, za najbardziej optymalne

punkty odcięcia przyjęto 41 U/ml dla MESACUP Desmoglein TEST DSG1 i 40U/ml dla MESACUP Desmoglein TEST DSG3 i takie też stosowano w niniejszej pracy.

Anty-BP180/-BP230 IgG

Poziomy przeciwciał IgG przeciwko BP180 i BP230 badano łącznie w surowicach BP. Badanie wykonano gotowymi zestawami MESACUP TEST BP180 i MESACUP TEST BP230 (Medical & Biological Laboratories, MBL, Japonia), przeznaczonymi do oceny krążących IgG przeciwko BP180 i BP230, zgodnie z podaną przez producenta metodyką. Surowice rozcieńczano w stosunku 1:101 w roztworze rozcieńczającym (assaydilluent) i nakrapiano po 100 µl na studzienki reakcyjne opłaszczone w przypadku MESACUP TEST BP180 rekombinowaną domeną BP180NC16A, uznawaną za najbardziej immunogenną w patogenezie BP, lub w przypadku MESACUP TEST BP230 rekombinowanym białkiem zawierającym zarówno część N-terminalną i C-terminalną BP230. Każdorazowo wykonywano kontrolę ujemną i dodatnią (załączone do zestawu). Próby inkubowano przez 60 min. w temperaturze pokojowej, po czym przeprowadzono czterokrotne płukanie w roztworze płuczającym (washsolution) i dodawano 100 µl sprzężonego z peroksydazą chrzanową monoklonalnego przeciwciała przeciwko ludzkim IgG (conjugatesolution) i ponownie inkubowano przez 60 min. w tych samych warunkach. Po kolejnym etapie płukania dodawano 100 µl substratu dla peroksydazy chrzanowej i inkubowano przez 30 min. w tych samych warunkach. Celem przerwania reakcji dodawano 100 µl roztworu zatrzymującego (stopsolution). Wyniki oceniano fotometrycznie przy długości fali 450 nm czytnikiem do ELISA (Metertech). Wartość indeksu (WI) obliczano według wzoru podanego przez producenta.

Producent w zestawach do celów diagnostycznych zaleca przedstawianie wyników w jednostkach U/ml (units/ml). Jak podaje producent zakres testu obejmuje wartości pomiędzy 5 a 150 U/ml. Powyżej 150 U/ml sugeruje podawanie wyniku jako „>150”. W niniejszej pracy, w części przypadków, uzyskiwano wartości absorbancji próbek poniżej wartości absorbancji dla negatywnej kontroli. Dla wyników tych przyjęto WI 0. Zgodnie z zaleceniami producenta za punkty odcięcia w obu testach przyjęto 9 U/ml.

Ponadto specyficzne przeciwciała krążące w surowicy pacjentów wobec BP180 i BP230 wykrywane były dostępnym komercyjnie testem ELISA (Euroimmun, Niemcy). Wykorzystano do oznaczeń monoanalityczne zestawy z rekombinowanymi białkami BP180 (cztery kopie domeny NC16A), BP230 (zawiera powielony fragment C-końcowej domeny globularnej) z punktami odcięcia na poziomie 20 RU/ml. Wszystkie pomiary wykonano czytnikiem płytek ELISA (Asys Expert 96) wyposażonym w oprogramowanie MikroWin 2000 przez jednego wykwalifikowanego

technika laboratoryjnego zgodnie z zaleceniami producenta.

Anty-tTG IgA

Poziomy przeciwciał IgA przeciwko tTG badano wyłącznie w surowicach DH. Badania wykonano gotowymi zestawami „Anty-Transglutaminaza tkankowa ELISA (IgA)” (Euroimmun, Niemcy), przeznaczonymi do oceny krążących IgA przeciwko tTG, zgodnie z podanymi przez producenta metodami. Surowice rozcieńczano w stosunku 1:201 w buforze do rozcieńczania i wymieszano przez worteksowanie. Każdorazowo stosowano surowice kalibracyjne oraz pozytywną i negatywną kontrolę, zawarte w zestawie. Studzienki reakcyjne zostały opłaszczane rekombinowaną tTG, gdzie ekspresję odpowiedniego ludzkiego cDNA uzyskano stosując wektor ekspresyjny oparty na systemie bakulowirusy-komórki owadzie. Do studzienek reakcyjnych nakrapiano po 100 µl próbek, kalibratorów i kontrole. Inkubowano 30 min. w temp. pokojowej. Następnie trzykrotnie płukano w 300 µl buforu płuczającego, po czym dodawano po 100 µl roztworu koniugatu enzymatycznego i inkubowano 30 min. w tych samych warunkach. Po kolejnym procesie płukania nakropiono 100 µl roztworu substratu, inkubowano 15 min. chroniąc przed nasłonecznieniem i dodawano po 100 µl roztworu przerywającego reakcję. Intensywność reakcji oceniano fotometrycznie przy długości fali 450 nm przy użyciu czytnika wyposażonego w oprogramowanie MikroWin 2000. Punkt odcięcia dla tego testu podawany przez producenta wynosi 20 RU/ml i taki też stosowano w niniejszej pracy.

3.2.1.4.2 Test wieloparametryczny ELISA anty-DSG1/-DSG3/-BP180/-BP230, enwoplakina, kolagen typ VII IgG

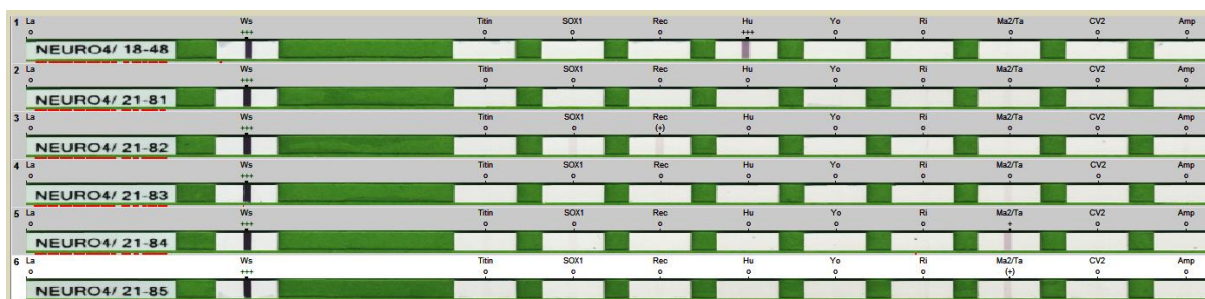
W celu oceny ilościowej ludzkich przeciwciał klasy IgG w surowicy pacjentów z PV, PF i BP przeciwko różnym antygenom (DSG1, DSG3, BP180, BP230, enwoplakinie i kolagenowi typu VII) wykorzystano test Profil Dermatologiczny ELISA IgG (Euroimmun, Niemcy). Test składa się z płytki z paskami mikropróbówek, każdy z ośmioma osobno odłamywanymi studzienkami reakcyjnymi opłaszczonymi antygenami docelowymi. Po inkubacji z rozcieńczonymi próbkami surowic pacjentów, w pozytywnych przypadkach przeciwciała w klasie IgG (również IgA, IgM) ulegają związaniu z obecnymi na powierzchni studzienek antygenami. Związane przeciwciała wykrywa się w drugim etapie podczas inkubacji z przeciwciałami skierowanymi przeciwko ludzkiej IgG znakowanymi enzymem (koniugat enzymatyczny), który katalizuje reakcję barwną. Ocena

półilościowa odbywała się w oparciu o rekomendowany przez producenta współczynnik ratio < 1.0 negatywny, ratio > 1.0 pozytywny.

3.2.2 Metody badawcze

3.2.2.1 Badanie immunoblotingu w kierunku przeciwciał IgG przeciweuronalnych

Zbadano 60 surowic – pacjentów z BP i ND (BP+ND, 30 osób) i pacjentów z BP bez ND (BP-ND, 30 osób). Półilościową ocenę *in vitro* ludzkich autoprzeciwciał klasy IgG przeciwko kombinacji antygenów neuronalnych (amfifizynie (Amp), CV2 (CRMP-5), PNMA2 (Ma2/Ta)), onkoneuronalnych (Ri, Yo, Hu) oraz rekowerynie (Rec), SOX1 i tytynie w surowicy pacjentów wykonano testem EuroLine Antygeny Neuronalne Profil Plus RST (IgG) (Euroimmun, Niemcy). Paski testowe z naniesionymi w postaci równoległych linii wysoce oczyszczonymi antygenami oraz fragmentami antygenów w pierwszym etapie reakcji inkubowano z rozcieńczonymi próbkami surowic pacjentów. W pozytywnych przypadkach specyficzne przeciwciała klasy IgG (również IgA i IgM) uległy związaniu z odpowiednimi antygenami. W drugim etapie inkubacji podano sprzężone z enzymem przeciwciała skierowane przeciwko ludzkim immunoglobulinom klasy IgG (koniugat enzymatyczny – znakowana fosfatazą alkaliczną surowica antyludzka IgG (kozia), która katalizuje reakcję barwną). Ocenę pasków testowych przeprowadzono stosując oprogramowanie EuroLineScan (Euroimmun, Niemcy). Przykładowy pasek testowy przedstawia rycina 5.



Ryc. 5 Paski testowe dla antygenów neuronalnych (Profil Plus RST IgG Euroimmun, Niemcy)

Odstąpiono od wykonywania punkcji lędźwiowej celem pozyskania płynu mózgowo-rdzeniowego (CSF) do badania immunoblotingu w kierunku ppn z uwagi na schorzenia towarzyszące pacjentów w grupie badanej i ewentualne ryzyko powikłań związanych z wykonaniem zabiegu.

3.2.3 Ocena mikroskopowa wraz z dokumentacją fotograficzną

Do badań histopatologicznych i immunopatologicznych wykorzystano mikroskop świetlny BX 40 (Olympus) z przystawką fluorescencyjną oraz kamerę cyfrową Camedia C-4000 Zoom (Olympus).

3.2.4 Analiza statystyczna

3.2.4.1 Analiza statystyczna występowania przeciwciał IgG wobec BP180/BP230 i przeciwciał przeciwneuronalnych

Opracowanie statystyczne zostało wykonane przy użyciu oprogramowania (Statistica PL 10.0, StatSoft Inc.) w Zakładzie Bioinformatyki i Biologii Obliczeniowej Katedry Patomorfologii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Ocenę korelacji pomiędzy występowaniem autoprzeciwciał w klasie IgG wobec BP180 i BP230, a ppn w grupach pacjentów: 1) z BP i z towarzyszącą ND oraz 2) z BP bez towarzyszącej ND, przeprowadzono z użyciem testu Spearmana. Porównanie różnic występowania ppn w grupach pacjentów: 1) z BP z towarzyszącą ND oraz 2) z BP bez towarzyszącej ND, wykonano za pomocą testu różnic między dwoma wskaźnikami struktury. Ocenę związku pomiędzy reaktywnością jakichkolwiek antygenów obecnych w badaniu immunoblotingu w ocenianych grupach pacjentów: 1) z BP z towarzyszącą ND oraz 2) z BP bez towarzyszącej ND, przeprowadzono dokładnym testem Fishera. Wyniki uznano za istotne statystycznie przy $p < 0,05$.

3.2.4.2 Analiza statystyczna występowania chorób neurodegeneracyjnych w grupach pacjentów z pemfigoidem pęcherzowym i łuszczycą pospolitą

Opracowanie statystyczne zostało wykonane przy użyciu oprogramowania (Statistica PL 10.0, StatSoft Inc.). Ocenę różnic płci, różnic chorobowości ND i udaru mózgu pomiędzy grupami przeprowadzono testem chi-kwadrat Pearsona. Ocenę różnicę chorobowości PD, UnsD oraz liczby pacjentów chorujących na więcej niż jedną ND oceniano testem dokładnym Fishera dwustronnym. Wyniki uznano za istotne statystycznie przy $p < 0,05$.

Opisane badania wykonywano w Pracowni Autoimmunizacyjnych Dermatoz Pęcherzowych (kierownik: prof. dr hab. n. med. Marian Dmochowski); Pracowni Histopatologii i Immunopatologii Skóry (kierownik: dr hab. n. med. Monika Bowszyc-Dmochowska) KiKD UMP oraz Zakładzie Bioinformatyki i Biologii Obliczeniowej (kierownik: prof. dr hab. n. med. Elżbieta Kaczmarek) Katedry Patomorfologii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.

4. WYNIKI

4.1 Wyniki analizy danych epidemiologicznych

4.1.1 Wyniki analizy danych epidemiologicznych w grupie pacjentów z pęcherzycą zwykłą i liściastą

Średni wiek w badanej grupie wynosił 58,61 lat, stosunek kobiet do mężczyzn wynosił 1,4/1. Strukturę chorób współtowarzyszących w grupie pacjentów z pęcherzycą, objętych badaniem retrospektywnym przedstawia tabela 2.

Tab. 2 Choroby towarzyszące w grupie pacjentów z pęcherzycą zwykłą i liściastą, objętych badaniem retrospektywnym.

	Liczba przypadków ¹
Choroby układu sercowo-naczyniowego	
Nadciśnienie tętnicze	46
Choroba niedokrwienna serca*	12
Zaburzenia rytmu serca	8
Hiperlipidemia	11
Choroby endokrynologiczne	
Cukrzyca insulinoniezależna	14
Cukrzyca insulinozależna	5
Niedoczynność tarczycy	3
Nadczynność tarczycy	2
Wole tarczycowe	1
Zaburzenia neurologiczne	
Udar	1
Demencja	2
Inne zaburzenia neurologiczne**	1
Autoimmunizacyjne choroby tkanki łącznej	
Reumatoidalne zapalenie stawów	5
Inne choroby towarzyszące	
Astma oskrzelowa	4
Przewlekła obturacyjna choroba płuc	3
Przebyta gruźlica	1
Osteoporoza	1
Gruźlica	1
Nowotwory złośliwe	
Rak płuca	1
Rak sutka	1
Rak kolczystokomórkowy skóry	1

* - choroba niedokrwienna serca z przebyłym lub bez przebytego zawału serca

** - zawroty głowy – 1 pacjent

¹ - wartości liczbowe dotyczą liczby pacjentów z rozpoznaną jednostką chorobową, możliwe współwystępowanie kilku rozpoznań u danego pacjenta

Najczęściej występującymi chorobami współtowarzyszącymi u pacjentów z PV/PF były schorzenia układu sercowo-naczyniowego. HT stwierdzono u 46 pacjentów co stanowi 41,44% badanej grupy. Populacyjna częstość występowania HT wynosi około 30–45% u osób dorosłych (\geq 18 roku życia) i gwałtownie wzrasta wraz ze starzeniem się wg danych prezentowanych w wytycznych Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego z 2016 roku. Choroba niedokrwienna serca z przebyłym zawałem lub bez przebytego zawału mięśnia sercowego rozpoznana była u 12 chorych (10,81%), zaburzenia rytmu serca u 8 chorych (7,20%), natomiast zaburzenia przemiany lipidów u 11 pacjentów (9,91%). W drugiej najczęściej występującej grupie chorób znalazły się zaburzenia endokrynologiczne. Cukrzyca insulinozależna występowała u 14 pacjentów (12,61%), insulinozależna u 5 pacjentów (4,50%). Chorobę tarczycy rozpoznano u 11 pacjentów (9,91%), z czego u 5 pacjentów (4,5%) zdiagnozowano autoimmunologiczne zapalenie tarczycy, u 3 pacjentów niedoczynność tarczycy bez określenia podłoża choroby. Z zaburzeń również o etiologii autoimmunologicznej stwierdzono u 5 pacjentów (4,5%) współwystępowanie reumatoidalnego zapalenie stawów (rheumatoid arthritis, RA). Wywiad onkologiczny u 3 pacjentów (2,70%) obciążony był w kierunku litych nowotworów złośliwych (raka płuca, raka sutka, raka kolczystokomórkowego skóry), u jednego pacjenta stwierdzono guz migdałka o niepewnym znaczeniu rokowniczym. Jednak nowotwory te występowały bez związku czasowego z chorobą zasadniczą lub w wieloletnim wywiadzie osobniczym (stan po przebyciu, obecnie w remisji). Ponadto w badaniach obrazowych u 3 pacjentów (2,70%) wykazano zmiany o charakterze „incydentaloma”, łagodne lub wymagające dalszej diagnostyki (guzy nerki, wątroby, płuca).

Najpowszechniej stosowaną przewlekle grupę leków stanowiły leki kardiologiczne, przeciwcukrzycowe oraz stosowane w leczeniu zastępczym niedoczynności tarczycy. W grupie leków kardiologicznych najczęściej stosowane były leki blokujące receptory β -adrenergiczne (w kolejności od największej częstości stosowania: bisoprolol, metoprolol, sotalol, karwedilol), leki działające na układ renina-angiotensyna z grupy inhibitorów konwertazy angiotensyny (angiotensin-converting-enzyme, ACE) – inhibitory ACE (peryndopryl, enalapryl, ramipryl, kaptopryl), antagoniści receptora angiotensyny II (angiotensin receptor blockers) - ARB (losartan, walsartan), spośród antagonistów wapnia – głównie pochodne dihydropirydyny (amlodypina), leki moczopędne sulfonamidowe (furosemid, torsemid, indapamid) i tiazydowe (hydrochlorotiazyd), antagoniści aldosteronu (spironolakton), leki nasercowe (digoksyna), statyny (atorwastatyna, simwastatyna).

Spośród leków hamujących agregację płytek najczęściej stosowany był kwas acetylosalicylowy (aspiryna). Z leków przeciwkrzepliwych należących do grupy antagonistów witaminy K pacjenci najczęściej pobierali pochodne hydroksykumaryny – acenokumarol.

W leczeniu cukrzycy pacjenci głównie stosowali biguanidy (metforminę) i pochodne sulfonylomocznika (glimepiryd, gliklazyd).

Z leków o działaniu psychostymulującym i nootropowym dominowały pirolidony – piracetam, a spośród leków psycholeptycznych pacjenci stosowali pochodne benzodiazepiny o działaniu anksjolitycznym – alprazolam, oraz nasennym – estazolam.

Udokumentowane przewlekłe stosowanie niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ) dotyczyło diklofenaku i meloksykamu, jednak uwzględniając dane liczbowe wydają się one znacznie niedoszacowane. Taki stan rzeczy może wynikać z faktu nieinformowania przez pacjentów lekarzy o stosowanym leczeniu oraz pomijaniu przez samych lekarzy tego faktu w dokumentacji medycznej.

Leki stosowane przewlekłe z podziałem wg klasyfikacji ATC w grupie pacjentów z pęcherzycą, objętych badaniem retrospektywnym przedstawia tabela 3a i 3b.

Tab. 3a Leki stosowane przewlekle z podziałem wg klasyfikacji ATC w grupie pacjentów z pęcherzycą zwykłą i liściastą, objętych badaniem retrospektywnym.

Grupa leku wg klasyfikacji ATC	Liczba pacjentów
Leki blokujące receptory β-adrenoergiczne; nieselektywne (C 07 AA)	
- sotalol	3
Leki blokujące receptory β-adrenoergiczne; selektywne (C 07 AB)	
- bisoprolol	11
- metoprolol	6
- betaksolol	1
Leki blokujące receptory β-adrenoergiczne; niesklasyfikowane (C 07 AG)	
- karwedilol	3
Leki działające na układ renina-angiotensyna; Inhibitory ACE (C 09 AA)	
- enalapryl	6
- ramipryl	9
- kaptopryl	3
- peryndopryl	7
Leki działające na układ renina-angiotensyna; Antagoniści rec. angiotensyny II (C 09 CA)	
- losartan	6
- walsartan	3
Antagoniści wapnia; Pochodne dihydropirydyny (C 08 CA)	
- amlodypina	11
Antagoniści wapnia; Pochodne fenyloalkiloaminy (C 08 DA)	
- werapamil	3
Leki moczopędne; Tiazydy, leki proste (C 03 AA)	
- hydrochlorotiazyd	5
Leki moczopędne; Sulfonamidy, leki proste (C 03 BA)	
- indapamid	10
Antagoniści aldosteronu (C 03 DA)	
- spironoloakton	7
Inne leki moczopędne oszczędzające potas (C 03 DB)	
- amiloryd	3
Leki moczopędne; Sulfonamidy, leki proste (C 03 CA)	
- furosemid	6
- torasemid	2
Leki nasercowe; Glikozydy naparstnicy (C 01 AA)	
- digoksyna	7
Leki zmniejszające stężenie cholesterolu i triglicerydów w surowicy;	
- atorwastatyna	7
- simwastatyna	4
- rosuwastatyna	1

Tab. 3b Leki stosowane przewlekłe z podziałem wg klasyfikacji ATC w grupie pacjentów z pęcherzycą zwykłą i liściastą, objętych badaniem retrospektywnym (ciąg dalszy).

Grupa leku wg klasyfikacji ATC:	Liczba pacjentów
Leki przeciwzakrzepowe; Leki hamujące agregację płytek z wyłączeniem heparyny (B 01 AC)	
- kwas acetylosalicylowy	12
Leki przeciwzakrzepowe; Antagoniści witaminy K (B 01 AA)	
- acenokumarol (hydroksykumaryna)	3
Inne leki psychostymulujące i nootropowe (N 06 BX)	
- piracetam (pirolidony)	4
Leki hipoglikemizujące; Pochodne biguanidu (A 10 BA)	
- metformina	8
Leki hipoglikemizujące; Pochodne sulfonilomocznika (A 10 BB)	
- glimepiryd	3
- gliklazyd	2
Leki przeciwcukrzycowe; Insulina i analogi insulin (A 10A)	
- neutralna biosyntetyczna insulina ludzka	2
- ludzka insulina izofanowa	2
- insulina dwufazowa	2
Leki psycholeptyczne; Anksjolityki; Pochodne benzodiazepiny (N 05 BA)	
- alprazolam	1
Leki psycholeptyczne; Leki nasenne i uspokajające; Pochodne benzodiazepiny (N 05 CD)	
- estazolam	1
NLPZ (M 01A)	
- diklofenak	1
- meloksykam	1
Leki obniżające ciśnienie tętnicze; Alkaloidy rauwolfii (C 02 AA)	
- rezerpina	1
Bifosfoniany (M 05 BA)	
- kwas alendronowy	1

4.1.2 Wyniki analizy danych epidemiologicznych w grupie pacjentów z pemfigoidem pęcherzowym i pemfigoidem błon śluzowych oraz łuszczycą pospolitą

4.1.2.1 Wyniki analizy danych epidemiologicznych w grupie pacjentów z pemfigoidem pęcherzowym i pemfigoidem błon śluzowych

Średni wiek w badanej grupie wynosił 73,57 lata, stosunek kobiet do mężczyzn wynosił 1,6/1. Choroby towarzyszące w grupie pacjentów z BP i MMP, objętych badaniem retrospektywnym przedstawia tabela 4.

Najczęściej występującymi chorobami współtowarzyszącymi u pacjentów z BP i MMP były choroby układu sercowo-naczyniowego. U 117 pacjentów (61,9%) występowało HT, u 45 pacjentów (23,81%) choroba niedokrwienna serca z przebyłym lub bez przebytego zawału serca, zaburzenia rytmu serca występowały u 18 pacjentów (9,52%). Rozpoznane zaburzenia gospodarki lipidowej stwierdzono u 13 pacjentów (6,88%).

Tab. 4 Choroby towarzyszące w grupie pacjentów z BP i MMP, objętych badaniem retrospektywnym.

Liczba przypadków¹	
Choroby układu sercowo-naczyniowego	
Nadciśnienie tętnicze	117
Choroba niedokrwienna serca*	45
Zaburzenia rytmu serca	18
Hiperlipidemia	13
Choroby endokrynologiczne	
Cukrzyca insulinoniezależna	23
Cukrzyca insulinozależna	11
Niedoczynność tarczycy	20
Nadczynność tarczycy	1
Wole tarczycowe	2
Zaburzenia neurologiczne	
Udar mózgu	15
UnsD	8
Choroba Parkinsona	8
Stwardnienie rozsiane	3
Padaczka	1
Inne zaburzenia neurologiczne**	14
Autoimmunizacje choroby tkanki łącznej	
Reumatoidalne zapalenie stawów	4
Łuszczycowe zapalenie stawów	1
Inne choroby towarzyszące	
Łuszczycyca pospolita	9
Depresja	6
Astma oskrzelowa	7
Przewlekła obturacyjna choroba płuc	5
Przebyta gruźlica	4
Osteoporoza	5
Kiła	1
Zakażenie HCV	1
Nowotwory złośliwe	
Rak płuca	4
Rak nerki	2
Rak narządów płciowych żeńskich	5
Rak tarczycy	1
Rak prostaty	1
Rak jelita grubego	1
Ziarnica złośliwa	1

¹ - wartości liczbowe dotyczą liczby pacjentów z rozpoznaną jednostką chorobową, możliwe współwystępowanie kilku rozpoznań u danego pacjenta

* - choroba niedokrwienna serca z przebyłym lub bez przebytego zawału serca

** - TIA – 5 pacjentów; zawroty głowy – 4 pacjentów; niedosłuch – 3 pacjentów; niedowład piramidowy – 1 pacjent; polineuropatia – 1 pacjent

UnsD – nieokreślone zaburzenia neurologiczne przebiegające w obrazie demencji

Drugą najczęstszą grupę schorzeń stanowiły zaburzenia endokrynologiczne. U 23 pacjentów (12,17%) współwystępowała cukrzyca insulinoniezależna, natomiast 11 pacjentów (5,82%) stosowało insulinoterapię. Wśród zaburzeń endokrynologicznych drugą najczęstszą grupę stanowiły choroby tarczycy, 20 pacjentów (10,58%) leczonych było z powodu niedoczynności tarczycy, w

tym 4 pacjentów (2,12%) z potwierdzonym (określonym) tłem autoimmunologicznym choroby, u 2 pacjentów występowało wole tarczycowe oraz u 1 nadczynność tarczycy. Kolejną grupę najczęściej rozpoznawanych chorób stanowiły zaburzenia neurologiczne. Wywiad w kierunku przebytego udaru mózgu (w tym wielokrotnych epizodów) obciążony był u 15 pacjentów (7,94%), u 8 pacjentów (4,23%) rozpoznawano UnsD, PD rozpoznana była u 8 pacjentów (4,23%). Trzech pacjentów (1,59%) leczonych było z powodu MS. Ponadto w grupie 14 (7,4%) pacjentów stwierdzono tzw. inne zaburzenia neurologiczne; u pięciu z nich występowały epizody TIA, zawroty głowy u 4 pacjentów, niedosłuch u 3 pacjentów oraz polineuropatia i niedowład piramidowy. Chorobę towarzyszącą na podłożu autoimmunizacyjnym stwierdzono u 10 pacjentów (5,29%), z czego 4 pacjentów chorowało na RA, 4 pacjentów na autoimmunologiczne zapalenie tarczycy, jeden pacjent na łuszczycowe zapalenie stawów oraz jeden pacjent na łysienie plackowate. Wywiad dermatologiczny poza BP u 9 pacjentów (4,76%) obciążony był w kierunku Pso, a u jednego pacjenta występowało łysienie plackowate. Z chorób towarzyszących niekwalifikujących się do wymienionych wcześniej grup, u 6 pacjentów (3,17%) stwierdzono depresję, 7 pacjentów (3,70%) chorowało na astmę oskrzelową, 5 pacjentów (2,64%) na przewlekłą obturacyjną chorobę płucną, 4 pacjentów (2,12%) przebyło gruźlicę (w tym postać pozapłucną z zajęciem kości), jeden pacjent chorował na wirusowe zapalenie wątroby typu C, jedna pacjentka na kiłę późną.

Wywiad onkologiczny u 15 pacjentów (7,94%) obciążony był w kierunku nowotworów złośliwych: raka płuca (4 pacjentów), raka nerki (2 pacjentów), raka macicy (2 pacjentki), raka tarczycy, prostaty, esicy, sutka, sromu, jajnika oraz ziarnicy złośliwej. W większości przypadków stwierdzenie nowotworu dotyczyło obciążenia wywiadu osobniczego pacjenta, jedynie w pojedynczych przypadkach wystąpienie nowotworu wykazywało związek czasowy z rozwojem ADP (pemfigoid paraneoplastyczny związany ewentualnym procesem rewelatorowym).

4.1.2.2 Wyniki analizy danych epidemiologicznych w grupie pacjentów z pemfigoidem pęcherzowym i łuszczycą pospolitą.

W grupie badanych z BP u 27 pacjentów występowała ND (BP+ND), u pozostałych 69 pacjentów nie stwierdzono ND (BP-ND). W grupie kontrolnej 149 pacjentów z Pso u 42 pacjentów stwierdzono ND (Pso+ND) oraz u pozostałych 107 pacjentów nie wykazano współtowarzyszącej ND (Pso-ND). Szczegółowe wyniki występowania ND w grupie pacjentów z BP i Pso przedstawia tabela 5.

Tab. 5 Struktura towarzyszących chorób neurodegeneracyjnych w badanych grupach z BP i Pso.

	Grupa BP	Grupa Pso
Liczba pacjentów	96	149
Płeć	59 kobiet / 37 mężczyzn	76 kobiet / 73 mężczyzn
Pacjenci bez ND	69	107
Pacjenci z ND	27	42
UnsD	5	14
Udar mózgu	12	15
Choroba Parkinsona	5	1
Inna ND	5	12
Więcej niż jedna towarzysząca ND	3	1

BP – pemfigoid pęcherzowy, Pso – łuszczyca pospolita, ND – choroby neurodegeneracyjne, UnsD – nieokreślone zaburzenia neurologiczne przebiegające w obrazie demencji, Inna ND : utrata słuchu / utrata wzroku / zawroty głowy / padaczka / stwardnienie rozsiane / kiła OUN

Stwierdzono istotną statystycznie różnicę w chorobowości PD (BP vs Pso: 5,21% vs 0,67%; $p = 0,031$). Analiza statystyczna wykazała brak istotnej statystycznie różnicy w chorobowości ND (bez określania typu ND) (BP vs. Pso: 28,13% vs. 28,19; $p = 0,992$), udaru mózgu (BP vs. Pso: 12,5% vs. 10,07%; $p = 0,637$), UnsD (BP vs. Pso: 5,21% vs. 9,40%; $p = 0,181$) oraz liczby pacjentów z więcej niż jedną ND (BP vs. Pso: 3,13% vs. 0,67%; $p = 0,292$) pomiędzy grupami. Nie stwierdzono również istotnej statystycznie różnicy płci pomiędzy grupami ($p = 0,108$).

4.1.2.3 Wyniki analizy danych epidemiologicznych w grupie pacjentów z pemfigoidem pęcherzowym poddanych ocenie występowania przeciwciał przeciwneuronalnych

Retrospektywnie przeanalizowano dostępną dokumentację medyczną 60 pacjentów z BP. W badanej grupie połowę pacjentów ($n = 30$) stanowili chorujący na BP z towarzyszącą chorobą neurologiczną (BP+ND) oraz drugą połowę pacjenci chorujący na BP bez współtowarzyszącej choroby neurologicznej (BP-ND). Strukturę wiekową oraz płciową przedstawia tabela 6.

Tab. 6 Struktura demograficzna i nowotworzenie w grupach pacjentów z BP z towarzyszącą lub bez ND, poddanych ocenie występowania ppn.

BP+ND (n = 30)	BP-ND (n = 30)
Średni wiek 80,47 lat (52-98 lat)	Średni wiek 77,13 lat (48-95 lat)
K: 18, średnia wieku 77,67 lat (52-98 lat)	K: 20, średnia wieku 79.5 lat (66-95 lat)
M: 12, średnia wieku 84,58 lat (78-92 lat)	M: 10, średnia wieku 72,4 lat (48-87 lat)
Brak nowotworów złośliwych	Rak jajnika, rak jasnokomórkowy nerki

Towarzyszące zaburzenia neurologiczne i psychiatryczne w podgrupie BP+ND przedstawiono w tabeli 7. U pięciu spośród badanych stwierdzono przynajmniej dwie różne ND. Ponadto na podstawie dostępnej dokumentacji medycznej oceniano współwystępowanie ewentualnego nowotworzenia w obu podgrupach. W podgrupie BP+ND nie stwierdzano współwystępujących nowotworów złośliwych. W grupie BP-ND u dwóch pacjentów stwierdzono w wywiadzie osobniczym (bez związku czasowego z BP) występowanie nowotworów złośliwych (raka jajnika, raka jasnokomórkowego nerki).

Tab. 7 Towarzyszące zaburzenia neurologiczne i psychiatryczne w podgrupie pacjentów z BP z towarzyszącą ND, poddanych ocenie występowania ppn.

ND towarzysząca BP	Liczba przypadków
Udar mózgu	12
Choroba Parkinsona	6
UnsD	6
Stwardnienie rozsiane (MS)	2
TIA	3
Padaczka	1
Polineuropatia demielinizacyjna aksonalna	1
Inne (zawroty głowy, szumy uszne, niedosłuch)	3
Upośledzenie umysłowe	1
Schizofrenia	1
Choroba Parkinsona + UnsD	1
Choroba Parkinsona + udar mózgu	1
Choroba Parkinsona + niedowład piramidowy	1
UnsD + udar mózgu	2

BP – pemfigoid pęcherzowy, ND – choroby neurodegeneracyjne, UnsD – niesprecyzowane zaburzenia neurologiczne o typie demencji

4.1.3 Wyniki analizy danych epidemiologicznych w grupie pacjentów z opryszczkowatym zapaleniem skóry

Średni wiek w badanej grupie wynosił 39,56 lat, stosunek kobiet do mężczyzn wynosił 1 / 4,9. Najczęściej występującymi chorobami współtowarzyszącymi u pacjentów z DH były choroby układu sercowo-naczyniowego, choroby narządów wydzielania dokrewnego oraz zaburzenia z kręgu chorób autoimmunizacyjnych. U 7 pacjentów (17,07%) rozpoznawano HT, u 3 pacjentów

(7,32%) chorobę niedokrwienną serca z przebyłym lub bez przebytego zawału serca. Spośród 5 pacjentów leczonych z powodu cukrzycy 4 (9,76%) stosowało insulinoterapię. U 3 pacjentów (3,72%) występowały choroby tarczycy, w tym u dwóch w przebiegu niedoczynności (u jednego z pacjentów o potwierdzonym podłożu autoimmunologicznym) oraz u jednego w przebiegu nadczynności o nieokreślonej etiologii. W kręgu chorób o podłożu autoimmunizacyjnym oprócz wspomnianego autoimmunologicznego zapalenia tarczycy, stwierdzono współwystępowanie RA u jednego pacjenta oraz bielactwa nabytego u jednego pacjenta. Jedynie 2 pacjentów (4,88%) pozostawało pod opieką gastroenterologiczną z powodu objawów ze strony układu pokarmowego (rozpoznana CD). U 2 pacjentów (4,88%) występowało w wywiadzie zakażenie wirusem HCV (w jednym przypadku z towarzyszącą infekcją HBV). Nowotwory stwierdzono u 4 pacjentów (9,76%), z czego w dwóch przypadkach o charakterze łagodnym (u jednego pacjenta angioliopoma nerki z towarzyszącą zmianą prawdopodobnie o charakterze incydentaloma oraz u drugiego pacjenta gruczolaka nadnercza). U jednej pacjentki stwierdzono guza sutka o niepewnym znaczeniu diagnostycznym do dalszej oceny. U jednego pacjenta wywiad osobniczy obciążony był w kierunku nowotworu złośliwego (ostra białaczka limfoblastyczna przebyta w okresie dorastania). W okresie objętym analizą nie stwierdzono złośliwego nowotworzenia u żadnego spośród pacjentów.

Najczęściej stosowane leki należały do grupy leków selektywnie blokujących receptory β -adrenergiczne (bisoprolol, metoprolol), leków działających na układ renina-angiotensyna - inhibitorów ACE (ramipryl, perindopryl) oraz ARB (walsartan). Spośród leków moczopędnych najczęściej pobierane były sulfonamidy (indapamid, torasemid). W leczeniu hipolipemizującym stosowano inhibitory reduktazy HMG-CoA - statyny (atorwastatyna, simvastatyna). Z leków hamujących agregację płytek najczęściej stosowano kwas acetylosalicylowy i w jednym przypadku kłopidogrel. Z leków anty-hiperglikemicznych stosowano leki z grupy biguanidów (metforminę). Z leków psychostymulujących (nootropowych) pacjenci pobierali piracetam. Ponadto pacjenci chorujący na wirusowe zapalenie wątroby (WZW typu C / B) w wywiadzie stosowali interferon- α (IFN- α).

Choroby towarzyszące w grupie pacjentów z DH, objętych badaniem retrospektywnym przedstawia tabela 8.

Tab. 8 Choroby towarzyszące w grupie pacjentów z DH, objętych badaniem retrospektywnym.

	Liczba przypadków ¹
Choroby układu sercowo-naczyniowego	
Nadciśnienie tętnicze	7
Choroba niedokrwienna serca*	3
Zaburzenia rytmu serca	1
Hiperlipidemia	1
Choroby endokrynologiczne	
Cukrzyca insulinoniezależna	1
Cukrzyca insulinozależna	4
Niedoczynność tarczycy	3
Nadczynność tarczycy	1
Zaburzenia neurologiczne	
Udar mózgu	1
Autoimmunizacyjne choroby tkanki łącznej	
Reumatoidalne zapalenie stawów	1
Inne choroby towarzyszące	
Łuszczyca pospolita	1
Celiakia	2
Depresja	1
Zakażenie HBV	1
Zakażenie HCV	2
Nowotwory niezłośliwe	
Angioliopoma nerki	1
Gruczolak nadnercza	1

* - choroba niedokrwienna serca z przebyłym lub bez przebytego zawału serca

¹ - wartości liczbowe dotyczą liczby pacjentów z rozpoznaną jednostką chorobową, możliwe współwystępowanie kilku rozpoznań u danego pacjenta

4.2 Wyniki analizy danych laboratoryjnych

4.2.1 Wyniki analizy danych laboratoryjnych w grupie pacjentów z pemfigoidem pęcherzowym z towarzyszącą chorobą neurodegeneracyjną oraz grupie bez takiego współwystępowania

W wykonanych badaniach porównaliśmy występowanie przeciwciał anti-BP180 i anti-BP230 w klasie IgG oraz ppn w klasie IgG u pacjentów z BP w odniesieniu do występującego w niektórych przypadkach ND i/lub nowotworzenia. Analizie poddano łącznie 60 surowic pacjentów, w tym 30 pochodzących od pacjentów ze współwystępującym BP z ND (BP+ND) oraz 30 pacjentów bez współtowarzyszącej ND (BP-ND). W ocenie wykorzystano panele ELISA dla przeciwciał anti-BP180 i anti-BP230 w klasie IgG oraz badanie immunoblotingu dla ppn w klasie IgG. Przykładowe wyniki u pacjentów z obu podgrup przedstawiają ryciny 6 i 7.

Największy odsetek występowania ppn w grupie BP+ND (13%) i BP-ND (3%) stwierdzono

dla anty-PNMA2 (Ma2/Ta), jednak bez różnicy istotnej statystycznie.

W dokładnym teście Fishera wykazano brak związku pomiędzy reaktywnością jakichkolwiek antygenów obecnych w badaniu immunoblotingu w ocenianych grupach BP+ND i BP-ND ($p = 1,000$).

Nie stwierdzono obecności przeciwciał przeciwko wewnątrzkomórkowym onkoneuronalm antygenom (Hu i Ri) w obu grupach BP+ND i BP-ND. Nie stwierdzono również obecności przeciwciał przeciwko wewnątrzkomórkowym synaptycznym antygenom – amfizynie (Amp) w surowicy pacjentów z grupy BP-ND. Występowanie ppn w badanych grupach przedstawia tabela 9.

Jednocześnie żaden seropozytywny pacjent (z obecnymi ppn) z grupy BP+ND nie wykazywał klinicznie jawnej obecności nowotworu (w momencie wykonania analizy dostępnej dokumentacji).

Tab. 9 Występowanie przeciwciał przeciwneuronalnych IgG u pacjentów BP+ND i BP-ND w teście różnic między dwoma wskaźnikami struktury.

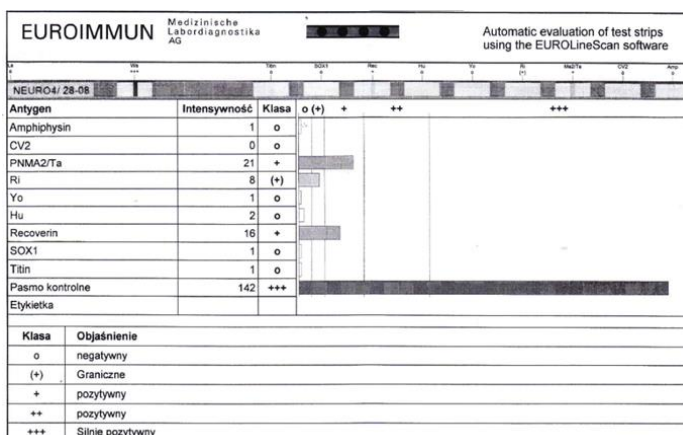
	wynik pozytywny		p testu różnic
	BP+ND (N=30)	BP-ND (N=30)	
Titin	7%	10%	0,6770
SOX1	3%	0%	0,3391
Rec	3%	0%	0,3391
Hu	0%	0%	1,0000
Yo	0%	0%	1,0000
Ri	0%	0%	1,0000
Ma2/Ta	13%	3%	0,1534
CV2	0%	3%	0,3391
Amp	3%	0%	0,3391

W grupie pacjentów z BP+ND stwierdzono istotną statystycznie korelację pomiędzy poziomem przeciwciał anti-BP180 w klasie IgG oraz ppn anti-Yo ($r = -0,430$, $p = 0,0318$). Zależność występowania ppn i przeciwciał anti-BP180 / BP230 w grupie BP+ND przedstawia tabela 10.

Tab. 10 Współczynnik korelacji pomiędzy obecnością przeciwciał anti-BP180 / BP230 i ppn u pacjentów z BP+ND.

grupa BP+ND	N	współczynnik korelacji	p
BP 180 & Titin	25	-0,026	0,9021
BP 180 & SOX1	25	0,199	0,3411
BP 180 & Rec	25	0,093	0,6579
BP 180 & Hu	25	-0,047	0,8223
BP 180 & Yo	25	-0,430	0,0318
BP 180 & Ri	25	-0,092	0,6628
BP 180 & Ma2/Ta	25	-0,107	0,6095
BP 180 & CV2	25	0,071	0,7346
BP 180 & Amp	25	-0,056	0,7920
BP 230 & Titin	24	0,055	0,7977
BP 230 & SOX1	24	-0,144	0,5017
BP 230 & Rec	24	-0,288	0,1718
BP 230 & Hu	24	-0,102	0,6356
BP 230 & Yo	24	0,175	0,4137
BP 230 & Ri	24	0,114	0,5959
BP 230 & Ma2/Ta	24	-0,218	0,3071
BP 230 & CV2	24	0,009	0,9656
BP 230 & Amp	24	-0,038	0,8589

N – liczba przypadków



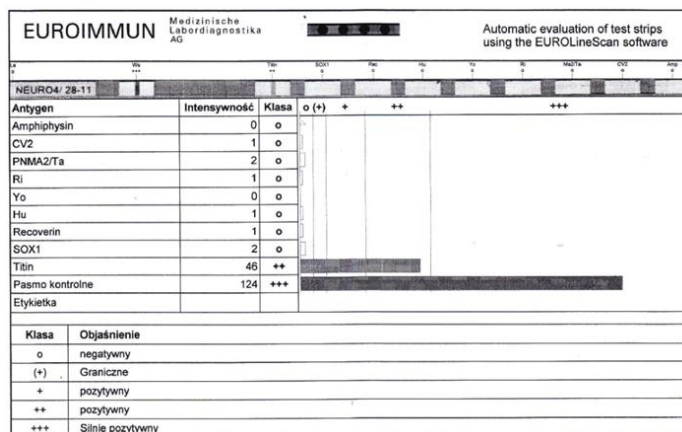
Ryc. 6 Przykładowy wynik badania immunoblotingu ppn w klasie IgG u pacjenta z grupy BP+ND.

W grupie pacjentów BP-ND stwierdzono istotną statystycznie korelację pomiędzy poziomem przeciwciał anti-BP180 w klasie IgG oraz ppn anti-CRMP-5 ($r = -0,402$, $p = 0,0308$). Zależność występowania ppn i przeciwciał anti-BP180 / BP230 w grupie BP-ND przedstawia tabela 11.

Tab. 11 Współczynnik korelacji pomiędzy obecnością przeciwciał anti-BP180 / BP230 i ppn u pacjentów z BP-ND.

grupa BP-ND	N	współczynnik korelacji	p
BP 180 & Titin	29	0,288	0,1298
BP 180 & SOX1	29	0,071	0,7125
BP 180 & Rec	29	0,332	0,0787
BP 180 & Hu	29	-0,284	0,1352
BP 180 & Yo	29	-0,297	0,1181
BP 180 & Ri	29	-0,222	0,2465
BP 180 & Ma2/Ta	29	-0,239	0,2128
BP 180 & CV2	29	-0,402	0,0308
BP 180 & Amp	29	-0,181	0,3471
BP 230 & Titin	28	0,101	0,6081
BP 230 & SOX1	28	-0,015	0,9409
BP 230 & Rec	28	0,173	0,3797
BP 230 & Hu	28	-0,122	0,5352
BP 230 & Yo	28	-0,028	0,8860
BP 230 & Ri	28	-0,089	0,6527
BP 230 & Ma2/Ta	28	-0,096	0,6282
BP 230 & CV2	28	-0,016	0,9367
BP 230 & Amp	28	-0,050	0,8022

N – liczba przypadków



Antygen	Intensywność	Klasa	o	(+)	+	++	+++
Amphiphysin	0	o					
CV2	1	o					
PNMA2/Ta	2	o					
Ri	1	o					
Yo	0	o					
Hu	1	o					
Recoverin	1	o					
SOX1	2	o					
Titin	46	++					
Pasma kontrolne	124	+++					
Etykieta							

Klasa	Objaśnienie
o	negatywny
(+)	Graniczne
+	pozytywny
++	pozytywny
+++	Silnie pozytywny

Ryc. 7 Przykładowy wynik badania immunoblotingu ppn w klasie IgG u pacjenta z grupy BP-ND.

4.3 Wyniki analizy danych literaturowych

4.3.1 Wyniki analizy danych literaturowych w grupie pacjentów z pęcherzycą zwykłą i liściastą

Szacuje się, że u większości pacjentów z pęcherzycą nie występują żadne czynniki indukujące chorobę, a proces rozpoczyna się w sposób spontaniczny (idiopatyczny) (Ruocco i wsp. 2013). Jednak u niewielkiej grupy pacjentów można odnaleźć w przebiegu choroby prawdopodobny czynnik wyzwalający. Przy całkowicie egzogennym podłożu choroby, wyeliminowanie takiego czynnika powinno prowadzić do pełnej remisji bez dodatkowego leczenia. W tym aspekcie istotne wydaje się zaproponowane między innymi przez Wolfa i wsp. (1991) rozróżnienie pęcherzycy indukowanej lekowo od pęcherzycy wyzwalanej lekowo. W pierwszej grupie w przeważającej mierze choroba zależna jest od obecności leku indukującego i zaprzestanie jego stosowania może prowadzić do poprawy. W grupie badanej 112 pacjentów, u których zaprzestano stosowania podejrzanego leku największy odsetek spontanicznych remisji osiągnięto u leczonych penicylaminą lub innymi lekami tiolowymi (zawierającymi grupy sulfhydrylowe, -SH), odpowiednio 39,4% i 52,6%. U pacjentów, u których przerwano leczenie podejrzanymi lekami innymi niż penicylamina lub lekami nietiolowymi, wykazano odsetek spontanicznych remisji na poziomie jedynie 15%. Drugi przypadek dotyczy pęcherzycy wyzwalanej przez lek u pacjentów odpowiednio predysponowanych genetycznie, w którym dalszy udział leku w patogenezie choroby jest ograniczony. W takiej sytuacji rola leku organiczna się do wyzwalania procesu, bez konieczności jego dalszego udziału w podtrzymaniu choroby, a zaprzestanie jego stosowania ma niewielki wpływ na jej aktywność.

W dalszej części pracy również stasowane jest powyższe rozróżnienie na pęcherzycę indukowaną i wyzwalaną lekowo. Jednocześnie w przytaczanych danych piśmienniczych autorzy nie zawsze precyzowali występujący patomechanizm, wówczas stosowane jest określenie pęcherzycy wywołanej lekiem lub DIP (drug-induced pemphigus).

Na podstawie analizy danych klinicznych i laboratoryjnych, zarówno z KiKD UMP, jak również danych literaturowych zaproponowano podział pęcherzycy indukowanej lekami na kategorie uwzględniające potencjalną etiopatogenezę oraz przebieg kliniczny. Powyższy podział uwzględnia autoimmunizację o typie: pęcherzycy indukowanej lekami podejrzanymi o wywoływanie pęcherzycy bez jawnej choroby, pęcherzycy indukowanej wyłącznie lekami podejrzanymi o jej wywoływanie, pęcherzycy indukowanej wieloczynnikowo w tym lekami podejrzanymi o jej wywoływanie, pęcherzycy indukowanej lekami niepodjezwanymi o jej

wywoływanie, lecz modyfikowanej lekami podejrzewanymi o jej wywoływanie, pęcherzycy idiopatycznej modyfikowanej lekami podejrzewanymi o jej wywoływanie (Dmochowski i wsp. 2014).

W praktyce klinicznej, według dostępnego piśmiennictwa obserwuje się zazwyczaj przebieg odpowiadający mechanizmowi pęcherzycy wywołanej lekowo, co oznacza dodatkową rolę predyspozycji genetycznych, a sam lek prawdopodobnie nie odgrywa głównej roli w patogenezie choroby. Tym niemniej przyjmowanie leków uznawane jest za najczęstszy zewnętrzny czynnik uczestniczący w procesie autoimmunizacji (Ruocco i wsp. 2013). Arbitralnie przyjęty w literaturze podział leków potencjalnie wywołujących pęcherzycę, uwzględniający ich strukturę chemiczną, wyróżnia leki tiolowe, fenolowe i inne (nietiolowe i niefenolowe). Do najczęstszych leków wywołujących DIP o budowie tiolowej należą penicylamina, kaptopryl, penicylina wraz z pochodnymi (zwłaszcza aminopenicyliny), piroksykam, sole złota i tiamazol. Uwzględniając budowę chemiczną do kolejnej grupy należą leki fenolowe między innymi szeroko stosowane antybiotyki z grupy cefalosporyn (zwłaszcza stosowane w podaniach parenteralnych np. ceftriakson) oraz kwas acetylosalicylowy. W grupie związków o innej budowie chemicznej (nietiolowej/niefenolowej) znajdują się nietiolowe inhibitory ACE (np. enalapryl), większość NLPZ, nifedypina, leki modyfikujące odpowiedź immunologiczną jak szczepionki (opisy przypadków po szczepieniu przeciwko grypie, tężcowi i błonicy) oraz interferony (stwierdzano obecność przeciwciał pęcherzycowych u pacjentów nieprezentujących objawów skórno-słuzówkowych po podaniach IFN- α) (Ruocco i wsp. 2013). Tabela 12 przedstawia leki najczęściej uczestniczące w wywoływaniu pęcherzycy, z uwzględnieniem podziału na leki tiolowe i fenolowe (Rocco i wsp. 2001).

Tab. 12 Leki najczęściej uczestniczące w wywoływaniu pęcherzycy z uwzględnieniem podziału na leki tiolowe i fenolowe (wg Rocco i wsp. 2001).

Leki tiolowe	Leki fenolowe
penicylamina	aspiryna (kwas
penicylina i jej pochodne	tiopirydoksyna***, pyritinol**
kaptopryl*	cefalosporyny***
tiopronin	ryfampicyna
tiopirydoksyna**, pyritinol**	lewodopa
piroksykam	heroina
tiamazol	fenobarbital
sole złota	pentachlorofenol
cefalosporyny**	

*- należy również do ACE inhibitorów

** - należy również do grupy leków fenolowych

***- należy również do grupy leków tiolowych

Proponowany jest także patomechanizmu o kontaktowy charakterze, jak w opisywanym przypadku śluzówkowo-dominującej pęcherzycy występującej u kobiety pobierającej kaptopryl (Gornowicz i wsp. 2015). Potwierdzenie rozpoznania pęcherzycy na poziomie kliniczno-molekularnym nie budzi obecnie już większych kontrowersji. Dysponując DIF, IIF (również z mozaiką substratów) oraz badaniem techniką ELISA w kierunku przeciwciał anty-DSG3/-DSG1 można w większości przypadków jednoznacznie określić rozpoznanie. Niepewna pozostaje jednak rola etiopatogenetyczna leków w procesie autoimmunizacyjnym. Patogenetyczna rola kaptoprylu, jako ewentualnego wyzwalacza, może być tłumaczona przytaczaną przez Gornowicz i wsp. (2015) teorią Brenner i wsp. zakładającą uwrażliwienie pacjenta podobnie jak ma to miejsce w kontaktowym zapaleniu skóry, przy zachowaniu podobnej sekwencji zdarzeń (faza indukcji, faza efektorowa). Przewlekła niskodawkowa ekspozycja pacjenta na kaptopryl mogłaby zainicjować produkcję autoprzeciwciała anty-DSG. Aktualnie rekomenduje się testy *ex vivo* z lekami potencjalnie wyzwalającymi zamiast doustnych testów prowokacyjnych, które obarczone są dodatkowym ryzykiem dla pacjenta. W celu identyfikacji związku leku z wystąpieniem pęcherzycy zalecane jest wykonanie *ex vivo* testu transformacji limfocytów, testu uwolnienia interferonu- γ lub immuno-znakowania desmoglein (Pietkiewicz i wsp. 2015). Leki najczęściej wywołujące pęcherzycę uszeregowane alfabetycznie przedstawia tabela 13 (Baroni i wsp. 2012).

Tab. 13 Leki najczęściej wywołujące pęcherzycę uszeregowane alfabetycznie (wg Baroni i wsp. 2012).

acenokumarol	IFN- α -2, IFN- β , IL-2	pentachlorofenikol
acetylosalicylan	imikwimod	piroksykam
aminofenazon	izoniazyd	progesteron
aminopiryna	izotretynoina	propranolol
azapropazon	kaptopryl	pyritinol
cefalosporyny	lewodopa	tiamazol
etambutol	merkaptopropionylglicyn	tiopronina
fenobarbital	normidopryn	tiopirydoksyna
fenylbutazon	optalidon	triazotan izosorbidu
heroina	oksyfenylbutazon	sole złota
hydantoina	penicylamina	

W tabelach 14a i 14b przedstawiono szczegółowo dostępne literaturowo opisy przypadków i badań dotyczących występowania DIP dla określonych grup lekowych. W dalszej części pracy w uzupełnieniu dla niektórych grup leków zamieszczono dodatkowe informacje.

Tab. 14a Występowanie pęcherzycy wywołanej lekowo (drug-induced pemphigus, DIP) dla określonych grup lekowych.

Badanie	Rok	Lek wywołujący	Stwierdzona postać DIP/ADP	Uwagi
Leki blokujące receptory β-adrenergiczne				
Pietkiewicz i wsp.	2015	bisoprolol	PF / PV	
Peterson i wsp.	2007	bisoprolol	PF erythrodermiczna	lek złożony z hydrochlorotiazylem
Godard i wsp.	1980	propranolol	PV	lek złożony z meprobamatem
Leki działające na układ renina-angiotensyna; Inhibitory ACE				
Pietkiewicz i wsp.	2015	enalapryl	PF / (PV)	DIP częściej o przebiegu klinicznym PF
Adriano i wsp.	2011	enalapryl	pęcherzyca bujająca	
Stavropoulos i wsp.	2003	enalapryl	PF	
Shelton	1991	enalapryl	PF	
Pietkiewicz i wsp.	2015	kaptopryl	PV / PF	
Pinto i wsp.	1992	kaptopryl	pęcherzyca bujająca	remisja po przerwaniu stosowania
Pietkiewicz i wsp.	2015	ramipryl	PV / (PF)	DIP częściej o przebiegu klinicznym PV
Vignes i wsp.	1996	ramipryl	PV skórno dominująca	częściowa remisja po przerwaniu stosowania
Baričević i wsp.	2013	lisinopryl	PV słówkowo-skórna	badanie IIF i DIF negatywne
Buzoń i wsp.	1998	cilazapryl	PF	
Parodi i wsp.	2002	fosinopryl	PV	zaostrenie PV po włączeniu leku, częściowa remisja po przerwaniu stosowania
Pietkiewicz i wsp.	2015	perindopryl	PV / (PF)	DIP częściej o przebiegu klinicznym PV
Leki działające na układ renina-angiotensyna; Antagoniści receptora angiotensyny II				
Pietkiewicz i wsp.	2015	kandesartan	PV	
Bae i wsp.	2008	kandesartan	PF	remisja po leczeniu sGKS
Bae i wsp.	2008	telmisartan	PF	wznowa po rozpoczęciu stosowania
Giménez-García i wsp.	2016	walsartan	PF	lek złożony z hydrochlorotiazylem
Pietkiewicz i wsp.	2015	walsartan	PV / PF	
Pietkiewicz i wsp.	2015	losartan	PV / (PF)	DIP częściej o przebiegu klinicznym PV
Antagoniści wapnia				
Kim i wsp.	1993	nifedypina	PF	remisja po zaprzestaniu stosowania
Brenner i wsp.	1999	nifedypina		śródnaskórkowy rozszczep typu pęcherzycowego w badaniu <i>in vitro</i>
Pietkiewicz i wsp.	2015	amlodypina	PV / PF	
Leki moczopędne; Tiazydy				
Pietkiewicz i wsp.	2015	hydrochlorotiazyd	PF	lek złożony z β -blokerem
Diuretyki pętłowe; Pochodne sulfonamidowe				
Pietkiewicz i wsp.	2015	furosemid	PF / (PV)	DIP częściej o przebiegu klinicznym PF
Pietkiewicz i wsp.	2015	torasemid	PV / PF	
Sulfonamidy				
Pietkiewicz i wsp.	2015	indapamid	PV / PF	
Bayramgürler i wsp.	2001	indapamid	PF	
Schmutz i wsp.	2002	indapamid	PF	
La Schiavo i wsp.	2009	acetazolamid	PV	nawrót po zastosowaniu leku
Inhibitory reduktazy HMG-CoA – Statyny				
Lo Schiavo i wsp.	2014	atorwastatyna	pęcherzyca rumieniowata	nawrót po zastosowaniu leku
Leki hipoglikemizujące; Pochodne sulfonylomocznika				
Goldberg i wsp.	2005	glibenklamid	PV	stosowany w skojarzeniu z cilazaprylem
Goldberg i wsp.	2005	glibenklamid		indukcja nadpodstawnej akantolizy <i>in vitro</i>
Paterson i wsp.	1993	glibenklamid	PV słówkowo dominująca	
Leki hipoglikemizujące; Pochodne biguanidu				
Goldberg i wsp.	2008	metformina		dodatni wynik testu uwolnienia IFN- γ

Tab. 14b Występowanie pęcherzycy wywołanej lekowo (drug-induced pemphigus, DIP) dla określonych grup lekowych (ciąg dalszy).

Badanie	Rok	Lek wywołujący	Stwierdzona postać DIP/ADP	Uwagi
Niesteroidowe leki przeciwzapalne				
Matz i wsp.	1997	diklofenak	PV	w wykonanym haplotypowaniu stwierdzono <i>HLA A24, A30, B18, B35, Cw4, Cw5, DR3, DR5, DQ2, DQ1, DRw52</i> , test hamowania migracji limfocytów (MIF) – dodatni
Pellicano i wsp.	1996	diklofenak	PV	w wykonanym haplotypowaniu stwierdzono <i>HLA B55, DR6 i DQ1</i>
Pellicano i wsp.	1996	piroksykam	PV	w wykonanym haplotypowaniu stwierdzono antygeny <i>HLA B55, DR6 i DQ1</i>
Leki przeciwbakteryjne; Antybiotyki β-laktamowe, Chinolony				
Baroni i wsp.	2012	amoksycylina z kwasem klawulonowym	PV śluzówkowo-skórna	badania IIF i ELISA negatywne
Baroni i wsp.	2008	cefuroksym	pęcherzycza rumieniowata	
Anadolu i wsp.	2002	ciprofloksacyna	PV śluzówkowo dominująca	konieczność leczenia sGKS + azatiopryna
Anadolu i wsp.	2002	norfloksacyna	PV śluzówkowo dominująca	wznowa po zastosowaniu leku
Antagoniści receptorów leukotrienowych				
Cetkovska i Pizinger	2003	montelukast	PF	konieczność leczenia sGKS + dapson
Leki cholinolityczne i przeciwpsychotyczne				
Botelho-Nogueira i wsp.	2011	biperyden i rysperydon	PF	nasilenie objawów dermatologicznych po zastosowaniu leków
Leki przeciwpadaczkowe; Pochodne karboksamidu				
Patterson i Davies	2003	karbamazepina	PV/PF	przebieg oporny na leczenie sGKS + azatiopryną, trwała remisja po zaprzestaniu stosowania leku
Chemioterapeutyki do stosowania miejscowego				
Bauza i wsp.	2009	imikwimod		w miejscu aplikacji i miejscach odległych zmiany pęcherzyczo-podobne (pemphigus-like)
Leki immunosupresyjne; Inhibitory TNF-α				
Boussemart i wsp.	2010	infliksymab	PF	trwała remisja po zaprzestaniu stosowania leku i leczeniu miejscowymi GKS, z uwagi na rozpoznanie reumatoidalnego zapalenia stawów pacjent został zakwalifikowany do leczenia przeciwciałami anti-CD20 (rytuksymabem)
Leki przeciwreumatyczne				
Yanagishita i wsp.	2015	bucylamina	PV / PF / podrogowa krostkowa pęcherzycza IgA	trwała remisja po zaprzestaniu stosowania leku i leczeniu sGKS
Hur i wsp.	2006	bucylamina	PV	
La Schiavo i wsp.	2004	auranofina (sole złota)	PV	trwała remisja po zaprzestaniu stosowania leku i leczeniu miejscowymi GKS
Antymetabolity; Analogi puryn				
Gooptu i wsp.	2001	fludarabina	pęcherzycza paraneoplastyczna (PNP)	związek czasowy ze stosowaniem leku i przebiegiem choroby
Powell i wsp.	2004	fludarabina	pęcherzycza paraneoplastyczna (PNP)	

Leki blokujące receptory β -adrenergiczne

W literaturze anglojęzycznej odnaleźć można niewiele doniesień dotyczących DIP wywołanej lekami blokującymi receptory β -adrenergiczne (β -blokerami). Opisywane przypadki dotyczą pacjentów stosujących leki złożone zawierające między innymi substancję czynną z grupy β -blokerów – w połączeniu z hydrochlorotiazydem (Peterson i wsp. 2007). Jednocześnie leki tiazydo-podobne, jak na przykład indapamid również uznawane są za potencjalnie wywołujące DIP (Bayramgürler i wsp. 2001). Peterson i wsp. (2007) zauważają, że w literaturze nie stwierdza się innych opisów przypadków PF wywołanej β -blokerami poza propranololem. Inny opisywany przypadek DIP wywołanej leczeniem skojarzonym propranololem i meprobamatem dotyczył postaci klinicznej odpowiadającej PV (Godard i wsp. 1980).

Leki działające na układ renina-angiotensyna; Inhibitory ACE

Leki należące do grupy inhibitorów ACE wpływając na układ renina-angiotensyna, obniżają wewnątrznaczyniowe ciśnienie przez rozszerzenie naczyń żylnych. Często stosowane w leczeniu HT, okazały się również grupą leków hipotensyjnych najczęściej wywołującą DIP (Pietkiewicz i wsp. 2015). Wykazano związek występowania DIP ze stosowaniem inhibitorów ACE dla wielu różnych leków z tej grupy, o odmiennej budowie chemicznej. Część inhibitorów ACE zawiera w swojej cząsteczce aktywne grupy tiolowe, lub mogące ulegać w nie przekształceniu (tiole maskowane). Jednocześnie wszystkie inhibitory ACE zawierają aktywne grupy amidowe. Heterogenność strukturalna może też mieć swoje odzwierciedlenie w zróżnicowanym obrazie klinicznym DIP. W literaturze opisano wiele przypadków pęcherzycy (PV, PF, pęcherzycy bujającej), w których stwierdzono dobrze udokumentowany związek ze stosowanym leczeniem (Adriano i wsp. 2011; Stavropoulos i wsp. 2003; Shelton 1991). W analizie danych piśmienniczych najczęstszym wyzwalaczem w tej grupie leków u chorych z PV były w kolejności: kaptopryl, enalapryl, fosinopryl, cilazapryl, quinapryl, benazepryl oraz ramipryl, a u chorych z PF: kaptopryl, enalapryl, fosinopryl, cilazapryl, lisinopryl i ramipryl (Pietkiewicz i wsp. 2015).

Leki działające na układ renina-angiotensyna; Antagoniści receptora angiotensyny II

Grupą leków przeciwnadciśnieniowych stosowanych alternatywnie do inhibitorów ACE są ARB. Pomimo powszechnego stosowania, doniesienia piśmiennicze o DIP związanej z ARB pojawiają się znacznie rzadziej.

Antagoniści wapnia; Pochodne dihydropirydyny

Leki z grupy antagonistów wapnia (Ca-blokery) działają poprzez porażenie przedkapilarnych zwieraczy, wywołując rozszerzenie tętniczek (Chaudhry i wsp. 2012). Prawdopodobnie pierwszy przypadek PF wywołanej nifedypiną opisali Kim i wsp.(1993). W badaniu *in vitro* wykazano zdolność nifedypiny do indukowania zmian typowych dla pęcherzycy lub pemfigoidu pęcherzowego obserwowanych w badaniu histopatologicznym (Brenner i wsp. 1999). W pięciu na siedem badanych przypadków stwierdzono morfologiczne zmiany o charakterze śródnaskórkowego rozszczepu (typ pęcherzycowego) lub podnaskórkowego rozszczepu (typ pemfigoidu). Wyniki potwierdziły, że u genetycznie predysponowanych osobników nifedypina może wywoływać zaburzenia adhezji międzykomórkowej naskórka lub połączenia skórno-naskórkowego.

Leki moczopędne; Tiazydy

Leki tiazydowe charakteryzuje obecność atomu siarki oraz reszty amidowej. Jednak w doniesieniach literaturowych opisano zaledwie kilka przypadków PF indukowanej leczeniem hydrochlorotiazdem w połączeniu z innymi lekami (Pietkiewicz i wsp. 2015; Giménez-García i wsp. 2016).

Sulfonamidy

Leki moczopędne z grupy indolin, nietiazydowe pochodne sulfonamidowe, podobnie jak leki tiazydowe działają w korze nerek, powodując zwiększone wydalanie sodu i chlorków oraz w mniejszym stopniu potasu i magnezu, zwiększając w ten sposób objętość wydalanego moczu. U pacjentów z HT zmniejszą opór obwodowy, wywierając bezpośrednie działanie rozszerzające na tętniczki oraz w tej grupie leków są klasycznym przykładem związków uczestniczących w wywoływaniu DIP (Bayramgürler i wsp. 2001; Schmutz i wsp. 2002). Do sulfonamidów wykorzystywanych w leczeniu jaskry należą inhibitory anhidrazy węglanowej, zazwyczaj w postaci kropli do oczu, a w szczególnych przypadkach stosowane także doustnie lub dożylnie. W postaci ogólnoustrojowej stosowany jest acetazolamid hamujący produkcję cieczy wodnistej w nabłonku ciała rzęskowego. Równocześnie wykazuje słabe działanie hipotensyjne, działając w obrębie kanalik bliższego nerek. Zwiększa wydalanie między innymi wodorowęglanów, silnie alkalizując mocz i doprowadza do kwasicy metabolicznej w tkankach. Acetazolamid w swojej cząsteczce zawiera grupę amidową mogącą potencjalnie wywoływać DIP. Opisano przypadek, w którym stwierdzono związek czasowy pomiędzy pobieraniem acetazolamidu z nawrotem PV (La Schiavo i wsp. 2009).

Leki zmniejszające stężenie cholesterolu i triglicerydów w surowicy; Inhibitory reduktazy HMG-CoA – Statyny

Leki zmniejszające stężenie cholesterolu i trójglicerydów należące do grupy inhibitorów reduktazy HMG-CoA (statyn) opisywane są, jako wyzwalacze reakcji autoimmunizacyjnych. Prawdopodobnie pierwszy opisany przypadek pęcherzycy wywołanej statynami dotyczył nawrotu pęcherzycy rumieniowatej po 10 latach remisji. Do nawrotu doszło po włączeniu atorwastatyny (Lo Schiavo i wsp. 2014).

Leki hipoglikemizujące; Pochodne sulfonilomocznika

Z leków hipoglikemizujących glibenklamid - pochodna sulfonilomocznika II generacji, silnie stymuluje wydzielanie insuliny z komórek trzustki oraz zwiększa wrażliwość na nią tkanek, podejrzewany jest o wywoływanie DIP. Zdolność glibenklamidu do indukowania nadpodstawnej akantolizy została wykazana w warunkach *in vitro* na hodowli tkankowej ludzkiej skóry (cultured human skin explants). Opisano również przypadek PV wywołanej glibenklamidem oraz cilazaprylem, stosowanymi równocześnie u tego samego pacjenta (Goldberg i wsp. 2005). Oba leki znane są z innych doniesień literaturowych jako możliwe wyzwalacze pęcherzycy. W niektórych krajach po dopuszczeniu do stosowania glimepirydu wykazującego mniej działań niepożądanych, glibenklamid został wycofany (Paterson i wsp. 1993).

Leki hipoglikemizujące; Pochodne biguanidu

Z pośród leków przeciwcukrzycowych z grupy pochodnych biguanidu metformina wykazuje potencjalną zdolność do wpływania na odpowiedź autoimmunologiczną organizmu. W badaniu oceniającym zastosowanie testu uwolnienia IFN- γ z limfocytów pacjenta po inkubacji z lekiem podejrzewanym o wywoływanie pęcherzycy, stwierdzono również dodatnie wyniki dla metforminy (Goldberg i wsp. 2008). Jednocześnie nie są opisywane inne przypadki kliniczne takiego występowania.

Niesteroidowe leki przeciwzapalne

NLPZ ze względu na dużą dostępność dla pacjenta, są jedną z grup leków najszerzej stosowanych w całej populacji. Nie znajduje to jednak odzwierciedlenia w liczbie doniesień literaturowych dotyczących DIP wywołanej NLPZ.

Leki przeciwbakteryjne; Antybiotyki β -laktamowe, Chinolony

Wiele antybiotyków β -laktamowych podejrzewanych jest o wywoływanie DIP. Ze względu na budowę chemiczną część z nich należy do klasycznych przykładów leków nietiolowych, znanych z akantolitycznych właściwości wobec komórek naskórka oraz indukcji produkcji przeciwciał (Baroni i wsp. 2012). Antybiotyki o odmiennej budowie chemicznej, z grupy chinolonów również mogą wywoływać DIP o ciężkim i opornym na leczenie przebiegu (Anadolu i wsp. 2002).

Antagoniści receptorów leukotrienowych

Montelukast jest kompetencyjnym selektywnym antagonistą receptora D4 dla leukotrienów, wykorzystywanym w leczeniu chorób o podłożu alergicznym i autoimmunologicznym. W swojej cząsteczce zawiera siarkę podobnie do innych nietiolowych leków podejrzewanych o wywoływanie pęcherzycy, jak penicyliny, cefalosporyny i piroksykam (Cetkovska i Pizinger 2003). Inne opisywane w literaturze działania uboczne montelukastu dotyczyły wstąpienia zespołu Churga i Strauss, również z towarzyszącą eozynofilią.

Leki cholinolityczne i przeciwpsychotyczne

Rola receptorów cholinergicznym w patogenezie pęcherzycy i ewentualne zastosowanie leków wpływających na przewodnictwo acetylocholinergiczne jako terapii oszczędzających GKS rozpatrywana jest literaturowo. Przypadek współwystępowania PF i choroby afektywnej dwubiegunowej typu I, w którym obserwowano znaczne pogorszenie stanu dermatologicznego (trudne również do kontrolowania leczeniem skojarzonym sGKS z azatiopryną) po włączeniu leczenia biperydenem i rysperydonem, lekami o działaniu antycholinergicznym, jest klinicznym potwierdzeniem postulowanych mechanizmów (Botelho-Nogueira i wsp. 2011).

Chemioterapeutyki do stosowania miejscowego

Imikwimod jest lekiem immunomodulującym zarejestrowanym do leczenia powierzchownego raka podstawnkomórkowego (sBCC). Znanych jest wiele działań ubocznych preparatu, jednak większość dotyczy reakcji miejscowych. Opisano przypadek, w którym po zastosowaniu imikwimodu wystąpiły w miejscu aplikacji i miejscach odległych zmiany pęcherzyco-podobne (pemphigus-like) (Bauza i wsp. 2009).

Leki immunosupresyjne; Inhibitory TNF- α

Przypadki systemowych terapii immunomodulujących powikłanych wystąpieniem pęcherzycy u pacjentów z już istniejącym procesem autoimmunizacyjnym nie należą do rzadkości. Wraz ze wzrostem dostępności nowoczesnych terapii przeciwcytokinowych, powiększa się również grupa pacjentów z DIP i innymi ADP wywołanymi przez leki z tej grupy (Boussemart i wsp. 2010).

Leki przeciwreumatyczne

Spośród leków modyfikujących przebieg choroby (disease-modifying antirheumatic drug, DMARD), w niektórych krajach u pacjentów z RA, powszechnie stosowana jest terapia bucylaminą (Yanagishita i wsp. 2015). Bucylamina posiada budowę strukturalną zbliżoną do D-penicylaminy. Jednak jak stwierdzono w przeciwieństwie do tej ostatniej, stosunkowo rzadko opisywane są przypadki towarzyszącej pęcherzycy (Hur i wsp. 2006). Również sole złota stosowane w leczeniu RA mogą wywoływać DIP (La Schiavo i wsp. 2004).

Antymetabolity; Analogi puryn

Fludarabina jest syntetycznym analogiem nukleozydów, stosowanym coraz powszechniej w schematach terapeutycznych przewlekłej białaczki limfocytowej (CLL) i niektórych chłoniaków nieziarniczych (non-Hodgkin lymphoma). Opisywano przypadki pęcherzycy paraneoplastycznej (PNP) wywołanej fludarabiną stosowaną w leczeniu CLL, w których wykazywano związek czasowy ze stosowaniem leku i przebiegiem choroby (Gooptu i wsp. 2001; Powell i wsp. 2004).

4.3.2 Wyniki analizy danych literaturowych w grupie pacjentów z pemfigoidem pęcherzowym

4.3.2.1 Występowanie chorób neurodegeneracyjnych w grupie pacjentów z pemfigoidem pęcherzowym

W badaniach populacyjnych wykazano związek BP z chorobami neurologicznymi i psychiatrycznymi. Chorobowość zaburzeń neurologicznych jest znacznie zwiększona w grupie pacjentów z BP w porównaniu do populacji kontrolnej i szacuje się ją na 28-56% zależnie od badania. Stwierdzono specyficzny związek BP z PD, demencją, padaczką, udarem mózgu i MS. W kontekście zaburzeń psychiatrycznych BP współwystępowało ze schizofrenią i chorobą dwubiegunową. Opisywany związek wykazuje dodatkowe znaczenie kliniczne, ponieważ jak zaobserwowano pacjenci z BP i współistniejącą chorobą (rozpoznaniem towarzyszącym) mieli zwiększone ryzyko zgonu w trakcie hospitalizacji, w porównaniu z pacjentami o izolowanym

przebiegu BP. Dane dotyczące czasowej zależności wystąpienia objawów neurologicznych i skórnych są ograniczone (Amber i wsp. 2017). Związek pomiędzy BP a określoną ND przedstawia tabela 15.

Mediana wieku występowania BP w populacji pochodzenia europejskiego wynosi 80 lat (20-103 lat). Szacuje się, że rozkład płci w grupie pacjentów z BP dla Europy bliski jest podziałowi 1:1. Tym niemniej w analizowanych badaniach stosunek ten był nieco wyższy, z przewagą kobiet i mieścił się w przedziale od 1:1,6 do 1:2,7. Wyższa chorobowość w populacji kobiecej może wynikać z większej przewidywanej długości życia dla kobiet i związanego z tym wyższego ryzyka wystąpienia BP (Gambichler i wsp. 2015; Langan i wsp. 2011).

W populacji azjatyckiej mediana wieku pacjentów z BP wynosi 74 lata, a szacowana 12-letnia chorobowość dla BP wynosi 0,013%, przy średniej rocznej chorobowości 0,0027%. U połowy (50,3%) pacjentów z BP stwierdza się występowanie przynajmniej jednej choroby neurologicznej poprzedzającej rozpoznanie BP, co jest wynikiem porównywalnym z wynikiem dla populacji europejskiej. W dobranej pod względem wieku i płci grupie kontrolnej takie rozpoznanie występuje jedynie w 24,2%. Pacjenci z BP mają 3,62 krotnie zwiększone ryzyko wystąpienia poprzedzającej choroby neurologicznej w porównaniu do populacji ogólnej (Chen i wsp. 2011).

Tab. 15 Związek pomiędzy BP a określoną ND (wyniki szczegółowe).

Badanie	Typ	Rok	Kraj	Grupa badana	Grupa kontrolna	Oceniana zależność	Występująca ND	Stwierdzone zależności (95% PU)
Langan i wsp.	KK	2011	Wielka Brytania	868	3453	OR	Udar	1,80 (1,30-2,40)
							PD	2,90 (1,70-4,90)
							Demencja	3,30 (2,30-4,60)
							Padaczka	1,70 (1,00-2,90)
Chen i wsp.	KK	2011	Taiwan	3485	17425	OR	Udar	3,30 (3,03-3,60)
							PD	3,49 (3,05-3,98)
							Demencja	4,81 (4,26-5,42)
							Padaczka	3,97 (3,28-4,81)
Lai i wsp.	MA	2016	-	23369	128697	RR	Udar	2,68 (2,07-3,46)
							PD	3,42 (3,01-3,87)
							Demencja	4,46 (3,23-6,16)
							Padaczka	2,98 (1,42-6,28)
							MS	12,40 (6,64-23,17)
							dowolna ND	4,93 (3,62-6,70)
Milani-Nejad i wsp.	MA	2017	-	-	-	OR	Udar	4,43 (2,69-7,28)
							Demencja	5,48 (3,26-9,23)
							PD	3,06 (1,97-4,77)
							Padaczka	22,88 (2,64-198,21)
Försti i wsp.	KK	2016	Finlandia	4524	66138	OR wystąpienia BP w ND	MS	5,9 (3,9-8,5)
							AD	2,64 (2,33-2,99)
							Demencja	3,84 (3,37-4,37)
							PD	2,40 (2,00-2,87)
							Padaczka	2,33 (1,95-2,77)
							Schizofrenia	2,7 (2,0-3,5)
							Zaburzenia osobowości	2,2 (1,3-3,3)
Cordel i wsp.	P	2007	Francja	341 (123 BP+ND; 218 BP-ND)		chorobowość ND w BP	Demencja	20% (16-25%)
							Udar	15% (11-19%)
							PD	9% (3-13%)
Stinco i wsp.	KK	2005	Włochy	238	57380	chorobowość BP / 10000 hospitalizacji	ND (MS+PD)	21,79 (9,96-41,37)
							uraz mechaniczny	0,35 (0,04-1,26)
Kibsgaard i wsp.	KK	2017	Dania	3281	32213	OR	MS	9,7 (6,0-15,6)
							PD	4,2 (3,1-5,8)
							AD	2,6 (1,8-3,5)
							Udar	2,7 (2,4-2,9)

KK – kliniczno-kontrolne; MA – meta-analiza; P – prospektywne, tylko samych przypadków; OR (odds ratio) – stosunek szans; RR (relative risk, risk ratio) – ryzyko względne; PU – przedział ufności; AD – choroba Alzheimera

ND również typowo częściej występują w starszym wieku, z wiekowo-specyficzną zapadalnością osiągającą maksimum w 85 roku życia i później. Obecnie chorobowość demencji szacowana jest na 1% w populacji osób w wieku 55-65 lat, aż do 40% u osób starszych niż 90 lat. Dla udaru chorobowość wzrasta z 1% u osób w wieku 55-65 lat do prawie 10% dla osób starszych niż 90 lat. W odróżnieniu od występowania nowotworów złośliwych u pacjentów z BP, związek BP z ND pozostaje istotny również po dostosowaniu wieku, co sugeruje, że nie jest to fałszywa zależność wynikająca z doboru wiekowego (Lai i wsp. 2016).

Według danych dla Niemiec, około 7,2% populacji po 65 roku życia choruje na demencję. Dla obu płci chorobowość udaru mózgu wzrasta w sposób stały z wiekiem do 6,3% dla kobiet i 8,1% dla mężczyzn w wieku 70-79 lat. Chorobowość PD dla populacji niemieckiej wynosi 1% powyżej 65 roku życia (Gambichler i wsp. 2015).

W dużej metaanalizie opartej na czternastu badaniach dotyczących współwystępowania BP z ND, na populacji łącznie 23369 pacjentów z BP i 128697 osób w grupie kontrolnej stwierdzono, że pacjenci z BP mają większe łączne ryzyko względne (RR, relative risk) wystąpienia udaru (RR 2,68; 95% przedział ufności (PU) 2,07–3,46), PD (RR 3,42; 95% PU 3,01–3,87), demencji (RR 4,46; 95% PU 3,23–6,16), padaczki (RR 2,98; 95% PU 1,42–6,28), MS (RR 12,40; 95% PU 6,64–23,17) oraz którejkolwiek z wymienionych chorób neurologicznych (RR 4,93; 95% PU 3,62–6,70) w porównaniu do grupy kontrolnej. Stwierdzono znaczną heterogenność wyników analizowanych badań, z wyjątkiem dość zbieżnych wyników dla PD i MS. Metaanaliza potwierdziła istotny związek populacyjny pomiędzy BP i ND (Lai i wsp. 2016).

W innej metaanalizie opartej na 53 artykułach dostępnych w literaturze anglojęzycznej dotyczącej współwystępowania ND u pacjentów z BP uzyskano podobne wyniki. Pacjenci z BP mieli zwiększone ryzyko wyrażone ilorazem szans (OR, odds ratio) wystąpienia; udaru (OR 4,43; 95% PU 2,69-7,28 $p < 0,001$), demencji (OR 5,48; 95% PU 3,26-9,23 $p < 0,001$), PD (OR 3,06; 95% PU 1,97-4,77 $p < 0,001$) i padaczki (OR 22,88; 95% PU 2,64-198,21 $p = 0,0045$). ND poprzedzały BP w większości opisywanych przypadków średnio o 6,7 roku (średni interwał czasowy) (Milani-Nejad i wsp. 2017). W innym badaniu ND poprzedzały rozpoznanie BP odpowiednio o 3 lata w przypadku demencji, o 12 lat w przypadku stwardnienia rozsianego, a zaburzenia psychiatryczne o 7-11 lat (Försti i wsp. 2016). W jednym z badań na 90 pacjentach z BP (w populacji Wielkiej Brytanii) stwierdzono, że w 72% przypadków objawy skórne występowały po ujawnieniu choroby neurologicznej w podobnym średnim interwale czasowym 5,5 roku (Amber i wsp. 2017). W dużym badaniu populacyjnym (na Tajwanie) we wszystkich przypadkach ND poprzedzało wystąpienie BP, a średni interwał wynosił 5,7 +/- 2,6 (2-12 lat) (Chen i wsp. 2011).

W wielośrodkowym badaniu Francuskiej Grupy Badawczej Pemfigoidu Pęcherzowego na 341 przypadkach BP oceniano występowanie ND. Prospektywnie oceniono pacjentów w skali Karnofsky'ego w celu ewaluacji stanu ogólnego pacjentów. Stwierdzono przynajmniej jedną ND u 36% pacjentów z BP. Do ND należały demencja (20% przypadków, 95% PU 16–25%), udar mózgu (15% przypadków, 95% PU 4–19%) i PD lub parkinsonizm (9% pacjentów, 95% PU 7–13%). We wszystkich przypadkach ND poprzedzało wystąpienie BP, średni interwał czasowy wynosił 5,5 +/- 1,3 roku, co jest wynikiem porównywalnym do nowszych badań (Cordel i wsp. 2007). Podobne wyniki uzyskano w badaniu na obszarze Niemiec gdzie najczęściej współwystępującą ND u pacjentów z BP była demencja (48,2%), udar mózgu (17,6%), PD (14,1%) (Gambichler i wsp. 2015).

W populacji azjatyckiej udar mózgu był najczęstszą towarzyszącą chorobą neurologiczną u pacjentów z BP (36,8%), następnie kolejno demencja (17,7%), PD (11,9%) i padaczka (5,8%). Tylko jeden pacjent chorował na stwardnienie zanikowe boczne (amyotrophic lateral sclerosis, ALS), natomiast nie stwierdzono żadnego przypadku MS (Chen i wsp. 2011).

Chorobowość demencji (20%) i choroby Alzheimera (9%) u pacjentów z BP w badaniach europejskich jest aż dwa do trzy razy wyższa niż w populacji kontrolnej osób powyżej 75 roku życia. W badaniach tych w grupie kontrolnej chorobowość dla demencji wynosi 4,3 – 9,2%, a choroby Alzheimera 3,1 – 5,5% (Cordel i wsp. 2007).

W jednym z badań kohortowych największy związek między BP i ND stwierdzono u pacjentów w przedziale wiekowym 80 do 89 lat. Badanie to przeprowadzono na populacji brazylijskiej pacjentów z BP, u których również stwierdzono istotnie zwiększoną chorobowość neurologicznych i/lub psychiatrycznych zaburzeń, zwłaszcza incydentów mózgowo-naczyniowych i demencji. Grupę badaną stanowili pacjenci hospitalizowani, a średni wiek pacjentów wynosił 73,9 lat. Choć dla populacji ogólnej nie stwierdzano dotychczas dominacji BP u określonej rasy lub płci, w tym badaniu również większość stanowiły kobiety (72%). Przynajmniej jedną ND lub chorobę psychiatryczną stwierdzono u 36% pacjentów z BP, co jest wynikiem porównywalnym z populacją europejską, w 36% przypadków nie stwierdzono ND, w pozostałych 28% rozpoznania towarzyszącego nie można było wykluczyć lub potwierdzić. W grupie z ND, odmiennie do populacji europejskiej w kolejności malejącej występowały incydenty mózgowo-naczyniowe i udar (44,4%), demencja (22,2%), zespół lękowy (11,1%), depresja (11,1%) i padaczka (11,1%) (Tarazona i wsp. 2015).

Spośród zaburzeń psychiatrycznych oprócz choroby jedno i dwubiegunowej, wykazano zwiększoną chorobowość dla schizofrenii u kobiet chorujących na BP. Wieloczynnikowa analiza

potwierdziła również, że schizofrenia w tej grupie badanych jest niezależną chorobą towarzyszącą BP (Chen i wsp. 2011).

W jednym z badań wykazano, że pacjenci z BP i ND byli starsi niż pacjenci bez współtowarzyszącej ND (83,8 +/- 7,5 lat vs. 79,3 +/- 10,3 lat). BP stwierdzany w młodszym wieku niż u stereotypowego pacjenta z tą chorobą dotyczył jedynie przypadków z towarzyszącym MS oraz ALS (Cordel i wsp. 2007). Pacjenci z BP z towarzyszącą demencją także byli starsi i mieli niższy indeks Karnofsky'ego (Chevalier i wsp. 2016). W dużym badaniu populacyjnym (na Tajwanie) stwierdzono również późne wystąpienie BP w powiązaniu z ND, a pierwsze objawy BP obserwowano średnio w wieku 77,7 +/- 7,9 lat (Chen i wsp. 2011).

Wyniki badań pozostają jednak rozbieżne, w innym badaniu na dużej populacji pacjentów hospitalizowanych (dane z pobytów szpitalnych ponad 900 tys. pacjentów) ND poprzedzały wprawdzie wystąpienie BP w interwale czasowym od kilku miesięcy do 4 lat, stwierdzono również istotny statystycznie związek między BP a MS i PD, jednak w grupie pacjentów z MS, BP występował wcześniej niż u stereotypowego pacjenta z tą ADP, średnia wieku wynosiła zaledwie 53 lata. Wszyscy pacjenci prezentowali fenotyp o ciężkim przebiegu neurologicznym i nasilonych zaburzeniach neurodegeneracyjnych. Obraz dermatologiczny i wyniki badań laboratoryjnych były typowe dla rozpoznania BP (Stinco i wsp. 2005).

Występowanie zarówno BP jak i BP w powiązaniu z ND w populacji irańskiej dotyczy osób młodszych niż wykazywały to inne dotychczasowe badania dla odmiennych obszarów geograficznych i zapewne etnicznych. W badaniu na 87 pacjentach z BP stwierdzono przynajmniej jedną ND w 19,5% przypadków, co jest również wynikiem odmiennym względem populacji europejskiej. W badaniu tym najczęściej występującymi ND były demencja, która dotyczyła 16,8% pacjentów z BP i 1,0% pacjentów z grupy kontrolnej, różnica istotna statystycznie ($p=0,008$) oraz incydenty mózgowo-naczyniowe stwierdzone w 8,0% przypadków i tylko 2,1% pacjentów z grupy kontrolnej. Zapalność na zaburzenia naczyniowo-mózgowe była statystycznie wyższa w grupie z BP ($p=0,022$) (Khosravani i wsp. 2017). Przyjmuje się obecnie, że BP jest dużo powszechniejszy w krajach rozwiniętych, jednak w populacjach krajów rozwijających się w tym m.in. Iranu zapadalność stale wzrasta.

Jak stwierdzono BP dotyczy zazwyczaj pacjentów w wieku podeszłym, powyżej 65 roku życia. W badaniu na 74 pacjentach z BP poniżej 60 roku życia (średni wiek wystąpienia choroby 46 lat +/- 11,6 lat) w porównaniu do typowej grupy pacjentów z BP, wykazano częstsze występowanie ciężkich postaci klinicznych (75%) oraz nadekspresję przeciwciał anti-BP180 (48%). U 17,6% pacjentów wykazano zaburzenia neurologiczne, co mogłoby sugerować, że wczesny wiek wstąpienia BP może mieć związek z ND. U 24,3% pacjentów stwierdzono towarzyszącą chorobę z

patologią DEJ (Pso, atopowe zapalenie skóry, liszaja płaskiego). Młodszy wiek wystąpienia BP wiąże się z cięższym przebiegiem choroby i większą aktywnością procesu. Może wynikać to z wyższej ekspresji przeciwciał anti-BP180, które uważane są za niekorzystny prognostycznie wskaźnik. Stwierdzono także większą częstość potencjalnych czynników wyzwalających, w tym chorób i czynników zewnętrznych (przypadki leczenia PUVA i radioterapią), które mogą wiązać się z autoimmunizacją przeciwko składowym HD (Bourdon-Lanoy i wsp. 2005).

Współwystępowanie ND nie wiąże się natomiast z częstszym występowaniem nawrotów BP ($p=0,55$), ale może wiązać się z cięższym fenotypem w momencie wystąpienia choroby ($p=0,008$). Występowanie ND wiąże się także z większą śmiertelnością ($p=0,03$), ale nie wpływa na intensywność leczenia (Chevalier i wsp. 2016). Spośród innych wskaźników predykcyjnych poziomy przeciwciał wobec BP180 ($p=0,018$), eozynofilia ($p=0,043$) oraz zamieszkiwanie w domu opieki ($p<0,0001$) pozostają w modelu logicznej regresji istotnymi, niezależnymi czynnikami rokowniczymi dla wystąpienia ND u pacjentów z BP. W ocenie retrospektywnej pacjentów z BP zamieszkujących domy opieki społecznej w 52,8% przypadków stwierdzono przynajmniej jedną towarzyszącą ND, co jest wynikiem zbieżnym z danymi pojawiającymi się w innych pracach dla populacji europejskiej. Dla porównania w tym samym badaniu w podgrupie pacjentów z BP żyjących samodzielnie (poza domami opieki) ND występowała w 26,9% przypadków. W tej podgrupie obecność ND również wykazywała zależność z poziomami przeciwciał anti-BP180 ($r=0,26$; $p=0,0003$) oraz eozynofilią ($r=0,19$; $p=0,0087$) (Gambichler i wsp. 2015).

Stwierdzany już we wcześniejszych badaniach słaby stan ogólny pacjentów z BP, jest jeszcze gorszy w grupie BP z towarzyszącą ND, w której wynik w skali Karnofsky'ego wynosi średnio 43%, co świadczy o znacznym ograniczeniu zdolności do samoobsługi. Wyniki w skali Karnofsky'ego dla grupy BP z ND w porównaniu do BP bez ND wynoszą odpowiednio $47 \pm 19\%$ i $74 \pm 20\%$. Skala Karnofsky'ego pozwala określić ogólny stan pacjenta i jego zdolność do samodzielnego funkcjonowania (autonomiczność), wyższe wyniki wskazują na lepszy stan ogólny. Roczny wskaźnik przeżywalności wynosi w obu grupach odpowiednio 50,8% (95% PU 41,8–59,7) i 78,7% (95% PU 73,0–84,2). Natomiast w ocenie klinicznej pacjentów obejmującej między innymi liczbę pęcherzy, nie stwierdzono w punkcie wyjściowym badania różnic pomiędzy grupami. Badanie z wykorzystaniem skali Karnofsky'ego potwierdza duże ograniczenie w normalnym funkcjonowaniu pacjentów z BP i ND oraz niekorzystne ogólne rokowanie w tej grupie. Przekłada się to również na wysoką liczbę pacjentów stale unieruchomionych (bedridden) w grupie BP z demencją (65%) (Cordel i wsp. 2007).

Wskaźniki śmiertelności w grupie pacjentów z BP znacznie przekraczają wyniki dla populacji ogólnej. Stwierdzono, że wskaźnik rocznej śmiertelności pacjentów z BP i udarem mózgu zwiększony jest prawie trzykrotnie (OR 2,87; 95% PU 1,67-4,96 $p < 0,001$) (Milani-Nejad i wsp. 2017). W pierwszym roku po postawieniu rozpoznania BP wskaźnik śmiertelności może być zwiększony nawet 6-7 razy w porównaniu do populacji ogólnej (Kibsgaard i wsp. 2017). BP wiąże się z istotnie częstszym występowaniem chorób współtowarzyszących, co pośrednio również wpływa na wysoką śmiertelność. Współczynnik śmiertelności rocznej waha się między 13% a 27%. Istotnie zwiększone jest ryzyko wystąpienia infekcji oraz związanych z nimi powikłań, które występują u 56% pacjentów z BP. Ponadto w przypadku leczenia wysokimi dawkami sGKS występuje ryzyko owrzodzeń błony śluzowej żołądka, osteoporozy, HT i pojawienia się zaburzeń psychologicznych (Amber i wsp. 2017). BP może wiązać się również z częstszym występowaniem chorób układu sercowo-naczyniowego oraz cukrzycy. W dużym badaniu kohortowym na populacji duńskiej, obejmującym 3281 pacjentach z BP, wśród chorób współtowarzyszących poza ND najczęściej stwierdzano cukrzycę typu 1 i 2, nowotworzenie, chorobę niedokrwienną serca i HT. Już w momencie postawienia diagnozy pacjenci z BP wykazywali zwiększoną chorobowość dla MS (OR 9,7; 95% PU 6,0–15,6), PD (OR 4,2; 95% PU 3,1–5,8), choroby Alzheimera (OR 2,6; 95% PU 1,8–3,5) i udaru mózgu (OR 2,7; 95% PU 2,4–2,9). Jednak większość chorób występowało przed postawieniem rozpoznania BP. Wśród pacjentów z BP z chorób pozaneurologicznych stwierdzono zwiększoną chorobowość dla cukrzycy typu 1 (OR 3,1; 95% PU 2,5–3,8), cukrzycy typu 2 (OR 2,3; 95% PU 2,0–2,6), nowotworów złośliwych (OR 1,3; 95% PU 1,1–1,4), choroby niedokrwiennej serca (OR 1,7; 95% PU 1,5–1,9), HT (OR 2,0; 95% PU 1,8–2,2) (Kibsgaard i wsp. 2017).

4.3.2.2 Występowanie pemfigoidu pęcherzowego w populacji pacjentów z chorobami neurodegeneracyjnymi

W ocenie prowadzonej analogicznie do powyższych badań oceniano współwystępowania BP w grupie pacjentów z ND. Stwierdzono istotnie zwiększony OR występowania BP u pacjentów z ND trwającą dłużej niż 12 miesięcy. Trzykrotny wzrost wskaźnika obserwowano dla pacjentów z demencją, PD i dwukrotny wzrost dla udaru i padaczki. MS również wiązało się ze zwiększeniem OR dla BP, jednak ze względu na małą liczebność przypadków ogranicza to wartość statystyczną wyniku. W porównaniu przypadków w grupie badanej względem kontroli stwierdzono udar w 8% vs. 5% (OR 1,8; 95% PU 1,3–2,5); demencję w 7% vs. 2% (OR 3,4; 95% PU 2,4–4,8); PD w 3% vs. 1% (OR 3,0; 95% PU 1,8–5,0); padaczkę w 2% vs. 1% (OR 1,7; 95% PU 1,0–3,0); oraz MS w 1% vs 0,1% (OR 10,7; 95% PU 2,8–40,2). Istotnie statystycznie wyniki dotyczyły tylko rozpoznań

ND poprzedzających BP. Natomiast nie stwierdzono związku pomiędzy ND rozpoznanymi u pacjentów z istniejącym już BP (Langan i wsp. 2011). Co ciekawe w badaniu na populacji fińskiej największe ryzyko wystąpienia BP obserwowano po stwierdzeniu rozpoznania MS (OR 5,9; 95% PU 3,9–8,5). Pacjenci z MS mieli 5,9 razy wyższe ryzyko wystąpienia BP w porównaniu do dobranej pod względem płci i wieku grupy kontrolnej. BP u pacjentów z MS występowało średnio 12 lat wcześniej niż ogólnie wśród pacjentów z BP bez ND. Demencja również wiązała się z 3,8-krotnym wzrostem ryzyka wystąpienia BP, dla demencji na podłożu naczyniowym wzrost był 3,6-krotny. Ryzyko wystąpienia BP było zwiększone 2,1 razy u pacjentów z krwawieniem podpajęczynówkowym, 2,6 razy dla krwawienia śródmózgowego oraz 1,8 razy dla udaru niedokrwienego mózgu. W przypadku zaburzeń psychiatrycznych, ryzyko współwystępowania było najwyższe dla schizofrenii (OR 2,7; 95% PU 2,0–3,5) oraz zaburzeń osobowości (OR 2,2; 95% PU 1,3–3,3), które poprzedzały BP (Försti i wsp. 2016). Również w populacji azjatyckiej w porównaniu do grupy kontrolnej, statystycznie wyższy wskaźnik wystąpienia BP stwierdzano u pacjentów z udarem mózgu (OR 3,30; 95% PU 3,03-3,60), demencją (OR 4,81; 95% PU 4,26-5,42), PD (OR 3,49; 95% PU 3,05-3,98) i padaczką (OR 3,97; 95% PU 3,28-4,81). Stwierdzano również większą częstość występowania BP u pacjentów z chorobami psychiatrycznymi, chorobą jedno i dwubiegunową (OR 1,75; 95% PU 1,12-2,73), a także podobnie do populacji europejskiej ze schizofrenią (OR 2,56; 95% PU 1,52-4,30). Jednak związek z chorobą jedno i dwubiegunową był nieistotny statystycznie (Chen i wsp. 2011).

Bardziej szczegółowe badania w mniejszej grupie pacjentów ALS ujawniły pojedyncze przypadki współwystępowania z BP. W analizie 168 przypadków z ALS w populacji francuskiej u trzech z nich stwierdzono występowanie klinicznych, histologicznych i molekularnych (ujawniono obecność przeciwciał wobec antygenów BPAG1 i BPAG2) cech BP. Średni wiek pacjentów wynosił zaledwie 54 lata. U żadnego nie stwierdzono innej choroby autoimmunizacyjnej (Chosidow i wsp. 2000).

4.3.3 Wyniki analizy danych literaturowych w grupie pacjentów z opryszczkowatym zapaleniem skóry

4.3.3.1 Choroby współwystępujące z opryszczkowatym zapaleniem skóry

W dostępnym piśmiennictwie najczęściej opisywane choroby współtowarzyszące to zaburzenia autoimmunologiczne oraz z uwagi na potencjalnie wspólną patogenezę CD.

Nowotworzenie pozostaje niezależnym przedmiotem badań. Poszczególne wyniki analizy danych piśmienniczych przedstawiono poniżej.

Celiakia

Według danych literaturowych współwystępowanie DH z CD lub symptomatyczną gluteno-zależną enteropatią (gluten-sensitive enteropathy, GSE) szacuje się między 3,7% a 11,1% przypadków. Jednak istotny pozostaje fakt współwystępowania DH z asymptomatyczną GSE, w której pacjenci nie doświadczają objawów ze strony przewodu pokarmowego (Alonso-Llamazares i wsp. 2007). Jest to jedną z przyczyn zaniechania diagnostyki endoskopowej i wykonania badania histopatologicznego bioptatu błony śluzowej jelita cienkiego. Pojedyncze przypadki CD w grupie pacjentów z DH zdiagnozowane w KiKD UMP odpowiadają danym piśmienniczym. Wykonując biopsję jelita cienkiego pacjentów z DH, zajęcie śluzówki stwierdza się u 69% przypadków. Ponadto stosując za kryterium rozpoznania GSE zwiększoną liczbę limfocytów w śródbłonku mikrokosmków jelita cienkiego, odsetek ten może sięgać nawet 93% pacjentów z DH (Alonso-Llamazares i wsp. 2007).

Choć DH przez wielu specjalistów uznawane jest za skórny manifestację CD, to w obrazie fenotypowym wykazuje znaczne odmienności. Oba schorzenia leczone są między innymi restrykcyjną, ciągłą (stosowaną przez całe życie) GFD. W badaniach przeprowadzonych w Finlandii oceniono jakość życia (quality of life, QOL) oraz występowanie objawów ze strony układu pokarmowego pacjentów z DH leczonych GFD w porównaniu z grupą kontrolną zdrowych osobników. Wykorzystując specjalnie walidowane skale (Gastrointestinal Symptom Rating Scale, Psychological General Well-Being Survey) nie stwierdzono u mężczyzn (51%) w badanej grupie istotnego obniżenia jakości życia lub występowania objawów gastrycznych w porównaniu do grupy kontrolnej zdrowych. Natomiast w porównaniu do grupy chorych na CD pacjenci z DH mieli mniej objawów ze strony układu pokarmowego i wyższą jakość życia. Co ciekawe pacjentki z DH miały większą liczbę dolegliwości gastrycznych w porównaniu do mężczyzn z DH. Ponadto nie stwierdzono związku między występowaniem zmian skórnych, przestrzeganiem i długością stosowania GFD, a objawami gastrycznymi i QOL (Pasternack i wsp. 2015).

Zanik krążących przeciwciał IgA przeciwko śródmięśniowej mięśni gładkich (endomysium) i tTG w surowicach pacjentów z DH i CD może być traktowany, jako specyficzny marker przestrzegania GFD. Ponadto długie i restrykcyjne stosowanie GFD może prowadzić do fałszywie ujemnych wyników badania DIF. U około ¼ pacjentów stosujących GFD w ciągu 3 do 16 miesięcy

od ustąpienia wykwitów skórnych zanikają również złogi immunoreaktantów w bioptatch skóry (Junkins-Hopkins 2010).

CD postrzegana, jako stała nietolerancja glutenu u predysponowanych genetycznie osobników traktowana była, jako choroba dzieci, obecnie jednak rozpoznawana jest coraz częściej u osób dorosłych. Scharakteryzowanie populacji dziecięcej i osób dorosłych chorujących na CD dostarczyło informacji na temat rozbieżności w epidemiologii choroby, odmiennych typów obrazu klinicznego, chorobach współtowarzyszących oraz powikłaniach w porównaniu do DH. Badania nad CD dostarczają również informacji na temat przebiegu DH i związku tych dwóch chorób. CD jest dwa do pięciu razy częstsza wśród dzieci niż u dorosłych. Klasyczny obraz kliniczny z objawami ze strony układu pokarmowego dominuje w populacji pediatrycznej. Natomiast współwystępowanie z innymi zaburzeniami autoimmunologicznymi przeważa w grupie dorosłych w porównaniu do populacji pediatrycznej, odpowiednio 42% oraz 5%. U dorosłych częściej występuje cukrzyca typu 1, zespół Sjögrena i DH. Słaba współpraca pacjentów w zakresie przestrzegania zaleceń terapeutycznych, niewydolność trzustki, przerost bakteryjny jelita, limfocytarne zapalenie jelita, mikroskopowe zapalenie jelita, nietolerancja laktozy, zespół jelita drażliwego są uważane za czynniki opornego przebiegu CD (brak poprawy po leczeniu lub utrata odpowiedzi na GFD) u dorosłych (dotyczy 10-30% chorych), ale problem ten nie występuje u dzieci. Powikłania jak rozwój nowotworów jelita cienkiego, gardła i przełyku obserwowane są wyłącznie u osób dorosłych. Rozpoznanie CD u dzieci poniżej 10 roku życia nie zwiększa ryzyka wystąpienia nowotworu w porównaniu do pacjentów zdiagnozowanych po 20 roku życia. Wczesne rozpoznanie choroby, jak się wydaje, nie wiąże się też z większym życiowym ryzykiem wystąpienia nowotworów, co wykazywały inne badania projektowane specjalnie pod kątem oceny tego zagadnienia. Ryzyko rozwoju chłoniaka nieziarniczego (non-Hodgkin lymphoma, NHL) w dowolnej lokalizacji może być zwiększone 3-5 razy, a nawet 40 krotnie dla chłoniaka jelita cienkiego w porównaniu do populacji ogólnej. Natomiast ryzyko rozwoju T-komórkowego chłoniaka związanego z enteropatią (enteropathy-associated T-cell lymphoma, EATL) w jelicie cienkim u dorosłych pacjentów z CD może być zwiększone 50-100 krotnie w porównaniu do populacji ogólnej (Poddar 2013).

Inne choroby autoimmunologiczne

Autoimmunizacyjne choroby stwierdza się u 22,2% chorych z DH, w tym choroby tarczycy (11,1%), anemię złośliwą, inuslinozależną cukrzycę, nadczynność przytarczyc i chorobę Addisona (Alonso-Llamazares i wsp. 2007). Postuluje się występowanie u pacjentów z DH wyższej

chorobowości zaburzeń tkanki łącznej, zwłaszcza zespołu Sjogrena oraz RA i toczeń rumieniowaty (lupus erythematosus, LE) (Bolotin i wsp. 2011). Jednak ewentualny związek wydaje się być słabszy niż w przypadku chorób tarczycy, na co wskazują wyniki zapadalności na układowy toczeń rumieniowaty (systemic lupus erythematosus, SLE) mieszczące się w granicach 0,94-4,3%. Sporadycznie podaje się w literaturze współwystępowanie DH z RA, którego zapadalność wynosi w tej grupie 3,7%, co odpowiada zapadalności na LE. Jednocześnie zapadalność na zapalenie wielomięśniowe szacowano jest na 0,4%, przy populacyjnej zapadalności 0,005%. Pomimo bardzo niskich wskaźników, w tym przypadku ewentualny związek może być również wytłumaczony wspólnym haplotypem (*HLA-B8/DR3*) (Alonso-Llamazares i wsp. 2007). Nierozstrzygniętym pozostaje, czy obserwowane współwystępowanie może wynikać ze wspólnego autoimmunologicznego podłoża tych chorób, czy ma jedynie charakter incydentalny (Aydog i wsp. 2006).

Chorobowość cukrzycy typu 2 jest również zwiększona u pacjentów z DH oraz ich krewnych pierwszego stopnia i szacuje się ją na 2,3% do 5%, co jest wynikiem podobnym do CD, jednak zdecydowanie wyższym w porównaniu z populacją ogólną (Bolotin i wsp. 2011; Alonso-Llamazares i wsp. 2007). Badanie na 264 pacjentach z DH prowadzone przez Alonso-Llamazares i wsp. (2007) wykazało częstość rodzinnego występowania choroby u krewnych pierwszego stopnia na poziomie 2,4%.

Choroba Addisona rzadko opisywana była u pacjentów z CD. Natomiast szacowana zapadalność u pacjentów z DH wynosi około 0,6%, w porównaniu do szacowanej zapadalności w populacji ogólnej wynoszącej 0,005%. Ewentualny związek pomiędzy DH a chorobą Addisona mógłby także wynikać ze wspólnego haplotypu HLA-B8. Jednak nie wykazano by przestrzeganie GFD wpływało korzystnie na obniżenie produkcji autooprzeciwciał lub remisji współwystępującej autoimmunizacji (Alonso-Llamazares i wsp. 2007).

Podaje się również związek łysienia plackowatego i bielactwa z DH. Jednak ze względu na ograniczoną liczbę przypadków trudno określić rzeczywistą częstość takiego współwystępowania oraz czy ewentualny związek ma wspólne podłoże etiopatogenetyczne (Bolotin i wsp. 2011).

Ciekawym spostrzeżeniem jest rzadko opisywane współwystępowanie DH i wrzodziejącego zapalenia jelita grubego (colitis ulcerosa, CU), z wysoką zapadalnością sięgającą 2,2%. Rozpoznanie to poprzedzało diagnozę DH zwykle o 4,8 roku, u pacjentów w średnim wieku 40 lat (17-58 lat). Ponieważ oba schorzenia nie łączy wspólne podłoże genetyczne, jedna z hipotez zakłada uszkodzenie funkcji bariery błony śluzowej jelita, co skutkuje zwiększoną ekspozycją na ewentualne antygeny. Co ciekawe podobny mechanizm wyzwalania powinien być obserwowany wówczas również w innych zapalnych chorobach jelit, jak chorobie Leśniowskiego-Crohna, co nie

ma odzwierciedlenia w dostępnej literaturze, w której brakuje podobnych opisów u chorych z DH (Alonso-Llamazares i wsp. 2007).

Choroby nowotworowe w opryszczkowatym zapaleniu skóry

Potencjalny związek DH z chłoniakami jest przedmiotem wielu sprzecznych doniesień literaturowych. Ryzyko rozwoju chłoniaków u pacjentów z CD zostało wykazane, a wiele badań wskazuje na ochronną rolę GFD przed rozwojem chorób limfoproliferacyjnych w grupie pacjentów z CD oraz pacjentów z DH. Po raz pierwszy związek występowania DH z chłoniakami opisali w 1970 r. Gjone i Nordoy. Badanie Sigurgeirssona i wsp. (1994) potwierdzało zwiększone ryzyko wystąpienia NHL u mężczyzn chorujących na DH ze względnym ryzykiem wystąpienia 5,4 (PU 2,2-11,1). Jednak jeśli z analizy wyłączono rozrosty limfoproliferacyjne to nie obserwowano ogólnej zwiększonej zapadalności na nowotwory złośliwe. Co istotne, w badaniu tym większość chłoniaków stwierdzono poza układem pokarmowym i większość stanowiły chłoniaki B-komórkowe, co nie odpowiada koncepcji poliklonalnej stymulacji limfocytów przez gluten zawarty w diecie i transformacji w złośliwe linie komórkowe EATL.

Podobnie w dużym badaniu kohortowym oceniającym długoterminowe ryzyko wystąpienia nowotworów złośliwych u pacjentów z CD i DH w ocenie obejmującej pacjentów przez średnio 25 lat stwierdzono podobny poziom ryzyka wystąpienia nowotworu złośliwego u pacjentów z DH co w populacji ogólnej (standaryzowany współczynnik zapadalności, SIR 0,99; 95% PU 0,65 – 1,44). Jednocześnie w tej grupie badanych istotnie wyższe było ryzyko wystąpienia NHL – SIR 5,14 (95% PU 1,05 – 15,0). W grupie pacjentów z CD ogólne ryzyko wystąpienia nowotworu było istotnie wyższe niż w populacji ogólnej SIR 1,41 (95% PU 1,09 – 1,78), jednak w ocenie szczegółowej również tylko ryzyko wystąpienia NHL było istotnie statystycznie podwyższone SIR 12,0 (95% PU 6,55-20,1). Dla pozostałych typów nowotworów ryzyko pozostawało podwyższone, ale bez istotnej statystycznej zależności. Co ważne długi czas obserwacji pacjentów pozwolił potwierdzić znaną z innych badań zależność zmniejszenia ogólnego ryzyka wystąpienia nowotworu złośliwego po 15 latach od postawienia rozpoznania, zarówno w grupie dzieci jak i dorosłych (Grainge i wsp. 2012).

W badaniu na dużej grupie 1104 pacjentów z DH oraz ich krewnych pierwszego stopnia (n=1825) na chłoniaka zachorował 1% pacjentów z DH (11 przypadków), wszyscy na NHL, w tym u 8 pacjentów stwierdzono chłoniaka B komórkowego, a tylko w 2 przypadkach EATL. Najczęstszym chłoniakiem u chorych z DH był rozsiały chłoniak B wielkokomórkowy (z dużych komórek B). Wskazuje to, że DH nie musi wiązać się wyłącznie z występowaniem EATL specyficznego dla CD, ale również może współwystępować z chłoniakami B-komórkowymi zajmującymi zarówno

przewód pokarmowy jak i lokalizacje węzłowe i pozawęzłowe. EATL występowały u pacjentów z DH w ciągu 3 do 6 lat od postawienia rozpoznania podstawowego, podczas gdy chłoniaki B-komórkowe pojawiały się w szerszym zakresie czasowym. Zaledwie 0,2% krewnych pierwszego stopnia zachorowało na chłoniaka (wszyscy na chłoniaki B-komórkowe), przy chorobowości w populacji fińskiej dla NHL wynoszącej 0,1%. Jednocześnie u żadnego z tych krewnych nie rozpoznawano DH lub CD. Na podstawie danych ankietowych stwierdzono również, że wszyscy pacjenci z DH chorujący na chłoniaka słabiej przestrzegali ścisłej GFD w porównaniu do chorych z DH bez obciążenia chorobą limfoproliferacyjną. W wielu badaniach ścisłe przestrzeganie GFD u pacjentów z DH oceniane jest, jako czynnik protekcyjny względem rozwoju chłoniaka. Potwierdzeniem tej tezy była słaba współpraca pacjentów w zakresie przestrzegania zaleceń w stosowaniu GFD aż u 73% pacjentów z DH i chłoniakiem (Hervonen i wsp. 2005).

Zgodnie z dostępnymi danymi literaturowymi krewni pierwszego stopnia chorych z DH nie mają zwiększonego ogólnego ryzyka zapadalności na chłoniaki lub EATL, co jak uważa się występuje w przypadku krewnych pacjentów z CD. Ponadto w grupie pacjentów z DH nie obserwuje się zwiększonej śmiertelności związanej ze złośliwymi nowotworami, co jednak nie wyklucza większego ryzyka wystąpienia u tych pacjentów NHL (Bolotin i wsp. 2011).

W metaanalizie materiału zgromadzonego w bazach Medline, PubMed, Web of Science i EMBASE z lat 1865 do 2010 stwierdzono czterokrotny wzrost ryzyka wystąpienia NHL w grupie pacjentów z GSE rozpoznaną technikami serologicznymi z potwierdzeniem w biopsji jelita cienkiego. Przy takim poziomie ryzyka szacunkowo jeden na 2000 pacjentów z GSE rozwinie NHL w ciągu roku. Kobiety i mężczyźni mieli porównywalne ryzyko wspólne. Co ciekawe poziom ryzyka zależał również od metody jaką diagnozowano GSE i był najwyższy w razie stosowania biopsji, a najniższy jeśli opierano się na badaniu podmiotowym. Obecnie średnią chorobowość GSE kształtuje się na poziomie 1%. Ponadto w grupie NHL poza EATL, chłoniaki rozlane z dużych komórek B (DLBCL) i prawdopodobnie inne podtypy chłoniaków należy wiązać z GSE (Kane i wsp. 2011).

U pacjentów z DH wynik badania histopatologicznego błony śluzowej jelita może mieć znacznie rokownicze. U chorych, u których występowały makroskopowe zmiany w błonie śluzowej jelita cienkiego, względne ryzyko wystąpienia nowotworu złośliwego wynosi 4,22%, co jest wynikiem porównywalnym do CD. U pacjentów z prawidłowym obrazem śluzówki w kontrolowanych biopsjach nie rozwijał się nowotwór złośliwy (Leonard i wsp. 1983).

W starszych badaniach często obserwowano istotny wzrost zapadalności na NHL, jednocześnie nie stwierdzono zwiększonej zapadalności na inne nowotwory złośliwe lub zwiększonej ogólnej śmiertelności w grupie badanej. 10-krotny, istotny statystycznie wzrost ryzyka

wystąpienia chłoniaków dotyczył NHL (SIR 10,3; 95% PU 2,80-26,3, $p < 0,01$). Co ciekawe ogólna śmiertelność w grupie pacjentów z DH nie była jednak zwiększona, a długoterminowy wskaźnik przeżywalności był nawet nieznacznie wyższy niż w populacji ogólnej (Collin i wsp. 1996). Wyjątek stanowi m.in. praca z Wielkiej Brytanii, gdzie zauważono zwiększoną zapadalność na nowotwory złośliwe u pacjentów z DH. W badaniu na 152 pacjentach zależność ta była istotnie wyższa, przy nieistotnej statystycznie ale niższej śmiertelności z powodu nowotworów w porównaniu do krajowych wskaźników (Swerdłowa i wsp. 1993). Ponadto, w innej pracy również zwracała uwagę zwiększoną zapadalność na chłoniaki w grupie pacjentów z DH ($n = 487$) oraz ogólna zapadalność na nowotwory złośliwe, niż zakładana dla populacji (14,44%), ale bez istotności statystycznej. Były to w przeważającej większości raki oskrzela, żołądka, jelita, prostaty, piersi i występowały u pacjentów nieprzestrzegających GFD lub stosujących dietę krócej niż 5 lat. Co istotne, w tym badaniu grupa nie stosująca GFD lub stosująca dietę krócej niż 5 lat, była najliczniejsza wśród wszystkich badanych z DH. Raki u pacjentów z DH były stwierdzane nieco częściej niż w populacji ogólnej, ale wynik ten pozostawał nieistotny statystycznie. Wykazano ponadto, że wszyscy pacjenci, którzy rozwinęli chłoniaka nie stosowali ściśle GFD lub stosowali ją krócej niż 5 lat. Wyniki te mogą sugerować ochronną rolę GFD przeciwko rozwojowi chłoniaków w tej grupie pacjentów (Lewis i wsp. 1996). Osoby stosujące ściśle GFD przez co najmniej 5 lat nie wykazywały zwiększonego ryzyka rozwoju chłoniaka, co miały wykazać badania pacjentów z CD w 11 letnim interwale kontrolnym (Holmes i wsp. 1989).

Ochronny wpływ stosowania GFD przed rozwojem nowotworu złośliwego w porównaniu do diety bez restrykcji jest nadal kontrowersyjny. W jednym z badań ryzyko względne rozwoju nowotworu wynosiło odpowiednio 1,01 oraz 3,09, dla grupy stosującej GFD i bez niej (Leonard i wsp. 1983). W nowszych badaniach nie udało się jednak stwierdzić czy przestrzeganie GFD wykazuje działanie ochronne przed rozwojem chłoniaków u pacjentów z DH (Bolotin i wsp. 2011). Przypadek pacjenta z DH, nie stosującego GFD, u którego po 15 latach trwania choroby postawiono rozpoznanie współtowarzyszącej CD, a następnie gruczolakoraka jelita cienkiego, podnosi znaczenie stosowania u pacjentów z DH diety bezglutenowej. Również w przypadku asymptomaticznej GSE, GFD wykazuje udowodnioną redukcję ryzyka rozwoju nowotworów złośliwych w CD. Literaturowo potwierdzone zwiększone ryzyko wystąpienia raka jelita cienkiego u pacjentów z CD, dotyczy gruczolakoraków w odcinku pomiędzy dwunastnicą a wężadłem Treitza. Ze względu na lokalizację zmian opóźniająca postawienie prawidłowego rozpoznania, wyniki leczenia wysoko-zaawansowanych raków jelita są niesatysfakcjonujące z 5-letnim współczynnikiem przeżycia nieprzekraczającym 28% (Derikx i wsp. 2012).

Nowsze badania kohortowe na grupie pacjentów hospitalizowanych z rozpoznaniem CD i DH (w sumie 12 tys. przypadków) oceniające zapadalność na nowotwory złośliwe dają nieco odmienny obraz sytuacji epidemiologicznej. Dorośli pacjenci z CD (ale nie dzieci i nastolatki) mają podwyższone ryzyko wystąpienia nowotworu złośliwego (SIR 1,3): chłoniaków, raków jelita cienkiego i grubego, noso-gardła, przełyku, dróg żółciowych i trzustki. Natomiast pacjenci z DH mają nieznacznie podwyższone ryzyko wystąpienia nowotworu złośliwego (SIR 1,2) z powodu częstych chłoniaków i białaczek, ale nie stwierdza się podwyższonego ryzyka wystąpienia raka przewodu pokarmowego (Askling i wsp 2002). Jednocześnie zapadalność na NHL i chłoniaki Hodgkinowskie na poziomie 1,9%, odpowiada innym wcześniejszym doniesieniom (poniżej 2%) (Alonso-Llamazares i wsp. 2007)

W niektórych populacyjnych badaniach kohortowych, nie stwierdzano częstszego występowania nowotworów złośliwych w porównaniu do populacji ogólnej, zarówno w grupie z DH jak i CD: SIR wynosił odpowiednio 1,0 (95% PU 0,6-1,5) i 1,2 (95% PU 0,9-1,5). Jednak ryzyko wystąpienia NHL w obu grupach było zwiększone, dla DH SIR wynosił 6,0 oraz dla CD SIR 3,2. W grupie z DH tylko jeden z siedmiu pacjentów z NHL miała EATL. Pozostałe chłoniaki (inne niż EATL) w tym chłoniaki B-komórkowe stanowiły większość w grupie z DH, co jest wynikiem odmiennym w porównaniu do grupy chorych z CD, w której większość NHL stanowiły EATL. Śmiertelność w grupie pacjentów z CD była zwiększona (standaryzowany współczynnik śmiertelności, SMR 1,26; PU 1,00-1,55), ale zmniejszona w grupie z DH (SMR 0,52; 0,36-0,72). Istotnie statystycznie różnice w śmiertelności w obu grupach (DH względem CD) były obserwowane u pacjentów z chorobą układu krążenia. W grupie pacjentów z CD stwierdzono wyższą śmiertelność z powodu choroby niedokrwiennej serca (SMR 1,59), natomiast u pacjentów z DH ryzyko to było obniżone (różnica bez istotności statystycznej). Podobnie sytuacja przedstawiała się dla wskaźników śmiertelności z powodu nowotworów limfoproliferacyjnych i zaburzeń hematologicznych (Viljamma i wsp. 2006)

Ponadto stwierdzono dwa przypadki chłoniaków T-komórkowych (CTCL) z zajęciem wyłącznie skóry u pacjenta z DH. Większość chłoniaków związanych z CD pochodzi z linii T-komórkowych i opisywana jest jako EATL. Większość chłoniaków u pacjentów z DH występuje w grupie, w której stwierdzono również CD, wówczas DH poprzedza rozpoznanie chłoniaka o 15 lat (mediana) (Bose i wsp. 1994).

W jednym z najnowszych badań kohortowych na dużej grupie chorych z DH (n= 846) oraz dobranej pod względem wieku, płci i zawodu grupie kontrolnej (n= 4225), w odróżnieniu od CD, ale również wielu innych wcześniejszych badań nad DH nie stwierdzono wzrostu ryzyka w żadnej z analizowanych kategorii w porównaniu do populacji ogólnej. Ogólne ryzyko dla dowolnego

złamania wyniosło 1,1 (95% PU 0,77-1,52), dla dowolnego nowotworu złośliwego 1,0 (95% PU 0,73-1,49), nie stwierdzono wzrostu ryzyka dla wystąpienia raka przewodu pokarmowego (HR 1,6; 95% PU 0,67-3,67) lub nowotworów limfoproliferacyjnych (HR 1,6; 95% PU 0,44-6,06). Jednocześnie nie stwierdzono zwiększonej śmiertelności w grupie z DH w porównaniu do populacji ogólnej (Lewis i wsp. 2008).

DH może być również rozpatrywane, jako rzadki przypadek zespołu paraneoplastycznego. Opisywano przypadek DH rozpoznanego na podstawie obrazu klinicznego i badania DIF (badania serologiczne w kierunku DH/CD wypadły ujemnie), które poprzedzało rozpoznanie rozsianego procesu nowotworowego – gruczolakoraka jelita grubego. Jednocześnie objawy subiektywne i wykwity skórne dobrze odpowiadały na leczenie dapsonem. Choć DH może wiązać się ze zwiększonym ryzykiem rozwoju głównie chłoniaków T- lub B-komórkowych, to jako zespół paraneoplastyczny u pacjentów rasy białej opisywane jest zdecydowanie rzadziej niż pozostałe ADP. Nowe rozpoznanie DH u pacjentów w wieku podeszłym, zwłaszcza przy braku współistniejącej GSE zawsze powinno nasuwać podejrzenie możliwego utajonego procesu nowotworowego (Hartke i wsp. 2012). Sytuacja przedstawia się nieco odmiennie dla populacji azjatyckiej, gdzie występowanie DH jest jeszcze rzadsze niż u rasy białej, ale związek z nowotworami złośliwymi może być częstszy. W literaturze opisywane są pojedyncze przypadki DH w populacji azjatyckiej indukowane procesem limfoproliferacyjnym i gruczolakorakiem płuca (Amo i wsp. 2000; Shigeta i wsp. 2012). W badaniu przeglądowym z 35 letniego okresu obserwacji, w grupie 91 japońskich pacjentów z DH zauważono związek z występowaniem chłoniaków (żaden nie należał do EATL). Jednocześnie w badanej grupie związek z GSE był rzadko spotykany i jedynie w 3 przypadkach został w pełni potwierdzony (Ohata i wsp. 2012).

W literaturze opisywane są także pojedyncze przypadki DH współwystępującego z ziarniniakiem grzybiastym (MF, mycosis fungoides). Jedną z hipotez zakłada, że oba schorzenia mogą być następstwem stymulacji limfocytarnej i wytworzenia antygenowej oporności (na gluten) w świetle przewodu pokarmowego, z następową migracją klonalnych komórek T do skóry wywołujących MF. Ze względu na niewielką liczbę doniesień ewentualny związek etiopatogenetyczny nie został dotychczas udowodniony (Sun i wsp. 2008; Porter i wsp. 2001).

4.3.3.2 Leki w opryszczkowatym zapaleniu skóry

Udział produktów lipooksygenazy w patogenezie DH postulowany był w badaniu na 13 dorosłych pacjentach z DH leczonych indometacyną. U 9 z nich po podaniu leku, pomimo stosowania dapsonu lub sulfa-metoksypirydazyny, obserwowano zaostrzenie stanu

dermatologicznego (Griffiths i wsp. 1985). W przeciwieństwie do indometacyny, spośród NLPZ ibuprofen w badaniach nie wykazywał wpływu na przebieg DH (Grimwood i wsp. 2005).

Opisywane są również przypadki DH indukowanego progesteronowymi lekami antykoncepcyjnymi (Hassan i wsp. 2007). Przypadki DH indukowanego stosowaniem gonadoliberyny (GnRH) w leczeniu hormono-zależnego nowotworu są odzwierciedleniem zależności pomiędzy układem wydzielania dokrewnego oraz procesami autoimmunizacyjnymi. U pacjentów z rakiem prostaty w ciągu kilku tygodni od włączenia leczenia antyandrogenowego leuprolidem (analog GnRH) występowała osutka zdiagnozowana w badaniu DIF i histopatologicznym jako DH, poddająca się leczeniu dapsonem (Yu i wsp. 2006; Grimwood i wsp. 2005). W jednym z opisywanych przypadków objawy skórne nawróciły u pacjenta po zastosowaniu drugiego analogu GnRH – bikalutamidu. Opisywane są również przypadki ograniczenia zmian skórnych w DH przez leczenie zastępcze niedoczynności przysadki mózgowej oraz comiesięczne nawroty wykwitów DH u pacjentek w okresie przedmiesiączkowym.

Do innych znanych wyzwalaczy należą związki jodu stosowane w terapii ogólnej, jak i miejscowej. Hormonalna terapia zastępcza w niedoczynności tarczycy uznawana jest za czynnik mogący zarówno nasilać, jak i zmniejszać objawy w DH (Grimwood i wsp. 2005).

W analizie retrospektywnej 35 przypadków pacjentów z RA leczonych antagonistami TNF- α oceniono skórne działania niepożądane. Do najczęstszych należały wykwity odpowiadające łuszczycy i wypryskowi rozsianemu. Następnie w kolejności występowania infekcje wirusowe i bakteryjne skóry. W pojedynczych przypadkach stwierdzono wystąpienie leukoklastycznego zapalenie naczyń, łysienia plackowatego, ale również nawrót DH, zdiagnozowanego wiele lat wcześniej (Lee i wsp. 2007).

Innym z leków przeciwreumatycznych, który potencjalnie może indukować DH jest D-penicylamina. U pacjenta leczonego z powody RA przerwanie leczenia skutkowało remisją zmian skórnych w ciągu 2 miesięcy, która utrzymywała się w trakcie 16 miesięcznej obserwacji. Haplotypowanie wykonane u pacjenta wykazało obecność alleli *HLA B8, A1, A2 i BW39* (Weltfriend i wsp. 1988).

Polineuropatia spotykana u pacjentów z DH może również wykazywać związek z GSE. Natomiast drugi mechanizm zakłada związek z przewlekłym stosowaniem dapsonu. W badaniach stwierdzono, że dapson wywołuje aksonalną, czysto ruchową neuropatię. Natomiast neuropatia spowodowana enteropatią jest w przeważającej mierze typu czuciowego. Jednocześnie w literaturze spotyka się doniesienia o przypadkach poprawy u pacjentów z neuropatią entropatyczną w trakcie przewlekłego leczenia dapsonem (Dimann i wsp. 1991).

5. Dyskusja

5.1 Choroby kręgu pęcherzycy wywołanej lekowo

5.1.1 Znaczenie diagnostyki pęcherzycy wywołanej lekowo

W patogenezie pęcherzycy swoje miejsce mają zarówno czynniki genetyczne, jak i zewnętrzne. Szereg czynników środowiskowych traktowany jest, jako potencjalny czynnik indukujący, wyzwalający lub zaostrzający przebieg ADP. Stosowane leki, nowotwory współtowarzyszące oraz dieta wymieniane są najczęściej. Często pojawiający się w literaturze anglojęzycznej akronim PEMPHIGUS (Brenner i wsp. 2003) odzwierciedla zagadnienie mnogości różnych czynników mogących wpływać na wystąpienie choroby. Są to między innymi, zgodnie z akronimem: pestycydy (PE), nowotwory złośliwe (M), leki (P), hormony (H), infekcje oraz immunizacje (I), czynniki żywieniowe (G), promieniowanie ultrafioletowe (U) oraz stres (S). Choć zazwyczaj stwierdza się występowanie u pacjenta więcej niż jednego z czynników, to jednak leki pozostają nadal najistotniejszym z czynników zewnętrznych (Brenner i Goldberg 2011).

Pierwszy przypadek pęcherzycy indukowanej lekami został opisany w 1969 roku przez Degos i wsp., gdzie podejrzewano związek ze stosowaniem pochodnych penicylaminy (Pietkiewicz i wsp. 2015). Jednak ustalenie w praktyce klinicznej faktycznego związku między przyjmowanymi lekami przez pacjenta a wystąpieniem ADP jest trudne. Stereotypowy pacjent z PV lub PF jest osobą dorosłą w wieku średnim lub podeszłym, gdzie prawdopodobieństwo przyjmowania leków na dodatkowe schorzenia zdecydowanie wzrasta. Ponadto obserwowany problem stosowania równocześnie wielu środków w leczeniu jednego schorzenia, czyli zjawisko polipragmazji dodatkowo komplikuje próbę wykazania ewentualnego związku przyczynowo-skutkowego. Również w analizowanej grupie chorych z KiKD UMP zdecydowana większość pacjentów z towarzyszącym HT stosowała politerapię. Wynika to między innymi ze schematów terapeutycznych obowiązujących w leczeniu HT. Spośród 43 pacjentów przyjmujących leki na HT tylko 13 pacjentów (30%) stosowało monoterapię, nie uwzględniając leków przyjmowanych dodatkowo z innych wskazań. Leki uznawane powszechnie w dostępnej literaturze za mogące mieć związek z wywoływaniem ADP to zazwyczaj również leki najczęściej stosowane w tej grupie chorych. Dodatkowo podnosi to istotność problemu, jeżeli można by ograniczyć często obciążające dla pacjenta z pęcherzycą leczenie immunosupresyjne przez eliminację czynnika indukującego. Wśród lekarzy praktyków różnych specjalności utrwaliła się świadomość ewentualnego związku Pso ze stosowaniem blokerów receptorów β -adrenergicznych, jednak wiedza na temat znaczenie patogenetycznego leków hipotensyjnych u chorych kręgu pęcherzycy nadal pozostaje

niewystarczająca, również wśród dermatologów. Należy zauważyć, że wywiad z pacjentem powinien dotyczyć także leków pobieranych bez recepty (over-the-counter, OTC), jak również leków stosowanych miejscowo (przypadki PV po zastosowaniu miejscowych leków okulistycznych lub imikwimodu).

Mechanizm, w jakim leki mogą wyzwać procesy autoimmunizacyjne w ADP pozostają dokładnie nieokreślone. Jedną z teorii zakłada udział grup funkcyjnych obecnych w budowie chemicznej leków. Grupy funkcyjne można podzielić na cztery główne kategorie chemiczne: 1) zawierające grupy sulfhydrylowe (-SH) zwane tiolami lub merkaptanami; 2) zawierające aktywne grupy amidowe; 3) fenole; 4) inne nietiolowe, nieamidowe, niefenolowe. Jeden z arbitralnych podziałów leków wywołujących pęcherzycę, powszechnie stosowany w literaturze opiera się właśnie na stwierdzonej grupie funkcyjnej w strukturze leku. Zestawienie przykładowych leków z grup tioli i fenoli przedstawiono w tabeli 12. Prawdopodobnie leki lub ich metabolity łącząc się z białkami tworzą hapteny zdolne do stymulowania odpowiedzi T- lub B-komórkowej, prowadzącej do utraty autotolerancji lub modyfikując białka połączenia desmosomalnego keratynocytów. W ten sposób tworzą nowe antygeny rozpoznawane przez układ immunologiczny pacjenta. Szereg hipotez dotyczących związków tiolowych zakłada hamowanie enzymów (np. transglutaminazy) odpowiedzialnych za przyleganie międzykomórkowe, aktywację enzymów akantolitycznych (np. acetylocholinoesterazy przez inhibitory ACE) oraz zaburzenie adhezji międzykomórkowej przez tworzenie mostków tiolowo-cysteinowych. Aktywne grupy tiolowe były pierwszymi grupami chemicznymi podejrzewanymi o wywoływanie pęcherzycy, przez wiązanie z DSG i wywołanie odpowiedzi immunologicznej. W badaniach *in vitro* wykazano jednak również, że grupy tiolowe same bez wyzwalania immunizacji są zdolne do wywoływania akantolizy.

Znaczenie określenia typu aktywnej grupy chemicznej leku potencjalnie wywołującego chorobę nie powinna być bagatelizowane, ze względu na odmienny przebieg kliniczny i rokowanie w zależności od budowy chemicznej tej grupy. Leki tiolowe wywołują zwykle pęcherzycę w obrazie klinicznym PF, z uboższą prezentacją w badaniach immunofluorescencyjnych i dobrym rokowaniem po eliminacji leku podejrzewanego o indukcję procesu. Leki nietiolowe zawierające aktywną grupę amidową mogą wyzwać chorobę o przebiegu trudnym do odróżnienia od spontanicznej postaci PV (Brenner i wsp. 1997).

Rozpoznanie indukowanej lekami pęcherzycy nadal stanowi wyzwanie kliniczne. Przedział czasowy pomiędzy wystąpieniem objawów dermatologicznych a rozpoczęciem stosowania leku potencjalnie indukującego/wyzwalającego chorobę jest trudny do zdefiniowania. Należy uwzględnić możliwy okres wydłużonej latencji, co dodatkowo utrudnia właściwe rozpoznanie.

Większość pacjentów z lekowo indukowaną pęcherzycą stanowią chorzy z PF z przeciwciałami anti-DSG1 (Giménez-García i wsp. 2016). Zaprzeszanie przyjmowanym leku indukującego chorobę ma kluczowe znaczenie dla pacjenta, ze względu na ograniczenie konieczności stosowania obciążającego leczenia, które w takim przypadku można by określić objawowym. W niektórych przypadkach eliminacja leku wyzwalającego będzie prowadziła do poprawy efektywności leczenia, a w sytuacji leków indukujących ADP może nawet skutkować całkowitą remisją.

Rozpoznanie DIP może być dodatkowo poparte badaniami laboratoryjnymi jak testy transformacji limfocytów, zahamowania migracji makrofagów lub degranulacji mastocytów. Choć techniki te pozwalają na wskazanie potencjalnie wyzwalającego leku, to nie dają jednoznacznego potwierdzenia związku między stosowaniem leku z chorobą. Ponadto wykazano, że immunoznakowanie zapewnia specyficzne odmienne wzory barwienia dla idiopatycznej pęcherzycy, w przeciwieństwie do normalnego barwienia w DIP (Goldberg i wsp. 1999).

Kliniczna istotność badań polega na wykazaniu obecności pamięci immunologicznej u pacjenta względem podejrzanego leku, co pośrednio potwierdza związek z chorobą autoimmunizacyjną. Wskaźnik zahamowania migracji makrofagów (macrophage migration inhibitory factor, MIF) oraz test degranulacji mastocytów (białko MCD, *mast cell* degranulating peptide) w badaniu *in vitro* pozwala na stwierdzenie odpowiednio komórkowo mediowanej oraz IgE mediowanej immunizacji. Testy te są również często dodatnie dla alergii na leki w innych mechanizmach immunologicznych. Choć same testy nie pozwalają zawsze na wykazanie bezpośredniego udziału mechanizmów mediowanych komórkowo lub IgE mediowanych, ale potwierdzają stan uwrażliwienia immunologicznego względem leku (Brenner i wsp. 1998).

Test zahamowania migracji makrofagów wykorzystywany wcześniej do oceny ewentualnego związku leku z wystąpieniem choroby opierał się na mechanizmach komórkowej odpowiedzi immunologicznej. Badanie to pozwalało na ocenę migracji makrofagów w obecności leku lub jego braku, zależną od limfokin uwalnianych z uwrażliwionych limfocytów T przez właściwy antygen. Uwzględniając, że test uwolnienia INF- γ dostarcza podobnych wyników, a jest łatwiejszy w wykonaniu, decyduje to o jego coraz szerszym zastosowaniu. Niezależnie od zastosowanego testu, badania te dostarczają dodatkowych informacji na temat ewentualnego związku leku z patogenezą choroby, zwłaszcza w obliczu polipragmatyzacji oraz trudnego często do stwierdzenia związku czasowego. Specyficzność testu uwolnienia INF- γ jest wysoka (>90%), ale niższa czułość może wiązać się z fałszywie ujemnymi wynikami. Rico i wsp. (1999) wykorzystując techniki immunohistochemiczne oraz hybrydyzacji *in situ* w skórze okołowykwitowej pacjentów pęcherzycowych stwierdzili mieszany wzór Th1/Th2 ekspresji cytokin, występowanie IL-2, INF- γ i

IL-4 oraz brak występowania IL-5 i IL-13. Hertl i Merk (1995) zidentyfikowali limfocyty Th1 CD8+ jako dominujący podtyp populacji naskórkowych limfocytów T w indukowanych lekami reakcjach pęcherzowych. Te naskórkowe klony limfocytów T były cytotoksyczne przeciwko autologicznym komórkom B.

Ze względu na obecność lekowo-specyficznych limfocytów Th1 CD8+, które produkują interleukinę 2 (IL-2) i IFN- γ we krwi obwodowej i zajętej skórze pacjentów z indukowanymi lekami osutkami pęcherzowymi, test uwolnienia IFN- γ może mieć praktyczne znaczenie w diagnostyce DIP (Goldberg i wsp. 2008). Badanie umożliwia stwierdzenie immunologicznego uwrażliwienia na podejrzewany lek i ułatwia rozpoznanie go wśród innych stosowanych przez pacjenta leków (Brenner i Goldberg, 2011). Liczba zgłaszanych przypadków DIP stale wzrasta, jednak stwierdzenie związku pomiędzy lekiem oraz wystąpieniem pęcherzycy jest nadal trudne ze względu na wspomniane zjawisko polipragmazji, długi okres utajenia procesu chorobowego sięgający od kilku dni do nawet kilku lat od momentu rozpoczęcia przyjmowania leku. Wg danych literaturowych technika ta zapewnia 92% specyficzność i 77,8% czułość. Inne badania wykazały 74,2% zgodność pomiędzy badaniem *in vitro* uwolnienia IFN- γ a badaniami *in vivo* z obciążeniem lekiem (Goldberg i wsp. 2008). Co ciekawe w badaniach oceniających zastosowanie testu uwolnienia IFN- γ Goldberg i wsp. (2008) stwierdzili szereg nowych leków potencjalnie wywołujących DIP w tym m.in. metforminę, benazepryl, latanoprost, haloperidol, engerix B i paracetamol, które nie były dotychczas opisywane jako wywołujące PV.

Technika 32-2B immuno-znakowania (immunoznakowanie monoklonalnych przeciwciał wobec DSG1 i DSG3) jest także użyteczna w diagnozowaniu DIP, a normalny wzór jest wskaźnikiem korzystnym prognostycznie. Barwienie 32-2B monoklonalnym przeciwciałem skierowanym przeciwko DSG1 i DSG3 wykazało istotną różnicę w typie barwienia pomiędzy pęcherzycą idiopatyczną (84% przypadków wykazywało nieregularny wzór „patchy pattern”), a DIP (tylko 30%, $p < 0,0001$). Wykorzystanie normalnego wzoru barwienia jako testu diagnostycznego dla DIP zapewnia 70,3% czułość (95% PU 53,0-84,1) i 83,9% specyficzność (95% PU 71,7-92,4), 32,7% pozytywną wartość predykcyjną i 97,9% negatywną wartość predykcyjną. Jednocześnie barwienie umożliwia ocenę rokowniczą. Spośród 17 pacjentów z DIP u 14 z nich z normalnym wynikiem immuno-znakowania 32-2B osiągnęło remisję. Zatem immuno-znakowanie 32-2B wydaje się użyteczną diagnostycznie i rokowniczo techniką. Stwierdzono ponadto, że w przypadku pęcherzycy prawdopodobieństwo indukowania choroby przez lek wynosi 10% (uwzględniając wyłącznie chorobowość), w przypadku normalnego obrazu dla immuno-znakowania 32-2B prawdopodobieństwo wzrasta do 32%, dla barwienia o typie „patchy” prawdopodobieństwo to spada do 5% (negatywny wskaźnik prawdopodobieństwa) (Giménez-García i wsp. 2016).

Hipotetycznym wyjaśnieniem powstawaniu wzoru „patchy” w przypadku pęcherzycy idiopatycznej jest modyfikacja oporów sterycznych. Autoprzeciwciała wiążące się z powierzchnią komórki mogą wspólnie tworzyć ogniskowe klastry na jej powierzchni. Przeciwciała 32-2B będą zatem wykazały ten sam wzór dystrybucji jak ich docelowe antygeny, ponieważ one również wiążą się z DSG1 i DSG3 tworząc wzór typu „patchy”. Innym wyjaśnieniem może być tworzenie patologicznego wzoru na skutek zmian ultrastrukturalnych i zaburzenia w dystrybucji desmosomów (Maruani i wsp. 2008).

Próba zastosowania badania histopatologicznego w różnicowaniu DIP od postaci idiopatycznej pęcherzycy, wykazała ograniczenia metody. Biopaty skóry pacjentów z DIP i pęcherzycą idiopatyczną oceniono pod kątem występowania spongiozy z eozynofilią, degeneracji z wakuolizacją i ognisk martwicy w naskórku, stopnia akantolizy i poziomu rozszczepu naskórka. W oparciu o wymienione kryteria niezależna ocena przez pięciu dermatopatologów nie pozwalała na zróżnicowanie etiologii. Może to być potwierdzeniem zasadności wykluczenia tła polekowego u wszystkich pacjentów z nowo rozpoznaną pęcherzycą, zważywszy na podobny obraz kliniczny obu typów pęcherzycy. Według danych szacunkowych w DIP u 90% przypadków stwierdza się tkankowo-związane przeciwciała międzykomórkowe oraz u 70% przypadków krążące immunoglobuliny w klasie IgG. Jednocześnie antygen docelowy w DIP prawdopodobnie jest również ten sam, co w postaci idiopatycznej (DSG1 i/lub 3) (Landau i wsp. 1997).

Przegląd literatury wykazał, że pacjenci z pęcherzycą indukowaną penicylaminą lub innymi lekami tiolowymi mogą osiągnąć spontaniczną remisję po przerwaniu stosowania leku wywołującego. Jednak większość pacjentów z pęcherzycą wyzwoloną lekami nietiolowymi wykazuje kliniczne, histologiczne, immunologiczne i prognostyczne cechy zbliżone do pęcherzycy idiopatycznej. W tej grupie pacjentów tylko 15% doświadcza spontanicznej remisji po wycofaniu leku wywołującego, a większość (85%) rozwija pełnoobjawową PV. Badanie z wykorzystaniem techniki immunoprecypitacji na hodowli ludzkich keratynocytów oraz izotopowego znakowania wykazało u pacjenta z PF i niskimi mianami autoprzeciwciał brak precypitacji antygeny. Spośród pacjentów z PV z wysokim mianem przeciwciał, tylko jeden nie wykazywał precypitacji specyficznych antygenów. U pozostałych pacjentów stwierdzono w surowicy krążące autoprzeciwciała skierowane przeciwko antygenom PV lub PF. Porównując do grupy kontrolnej ze spontaniczną PV stwierdzono, że odpowiedź immunologiczna z udziałem autoprzeciwciał była podobna. Sugeruje to, że molekularne mechanizmy w postaci idiopatycznej oraz wywoływanej lekiem pęcherzycy są podobne. Może to być też uzasadnieniem podobnego obrazu klinicznego oraz przebiegu pęcherzycy idiopatycznej i wywoływanej czynnikiem zewnętrznym. Predyspozycje do

rozwoju PV związane są z głównym układem zgodności tkankowej klasy II. Specyficzny polimorfizm łańcuch β cząsteczki DR4 są uznawane za czynnik predysponujący do T-komórkowo mediowanej produkcji autoprzeciwciał rozpoznających obce białka. Tymi czynnikami stymulującymi mogą być zarówno białka wirusowe i bakteryjne, zdolne do molekularnej mimikry lub endogenne białka zmodyfikowane przez przyjmowane leki (Brenner i wsp. 1997).

Stwierdzono, że leki tiolowe wymagają dłuższego okresu stosowania (inkubacji) przed wyzwoleniem objawów choroby. Natomiast leki nietiolowe wywołują wystąpienie choroby wcześniej. Być może w przypadku DIP wywołanej lekami nietiolowymi, ich rola ograniczona jest do wyzwolenia już istniejącego łańcucha immunologicznego. W przypadku leków tiolowych odgrywających większą rolę w patogenezie choroby i które istotnie ingerują w odpowiedź układu immunologicznego, cały proces wymaga więcej czasu (Brenner i wsp. 1998).

Klasyczny podział kręgu pęcherzycy na postać pęcherzycy zwykłej (PV), pęcherzycy liściastej (PF), pęcherzycy paraneoplastycznej (PNP) i pęcherzycy związanej ze stosowanymi lekami (DIP) może nie odzwierciedlać faktycznego stanu. Podział ten obejmuje główne typy pęcherzycy z uwzględnieniem ich etiopatogenezy, jednak w praktyce klinicznej może prowadzić do niedoszacowania znaczenia potencjalnych zewnętrznych wyzwalaczy (Nguyen i wsp. 2004).

5.1.2 Rola przeciwciał w pęcherzycy wywołanej lekowo

Według danych literaturowych przeciwciała międzykomórkowe są niezmiennie stwierdzane w tkankach pacjentów z idiopatyczną postacią pęcherzycy, ale nie u wszystkich z DIP. Stwierdzenie przeciwciał międzykomórkowych w surowicy pacjenta jest również rzadsze w grupie DIP, a jeśli przeciwciała występują to w niższych mianach, natomiast ich poziomy nie wykazują związku z aktywnością choroby (Brenner i wsp. 1998).

Badania technikami immunoprecypitacji wykazały obecność krążących przeciwciał u pacjentów z DIP, które skierowane były przeciwko DSG1 lub DSG3, co może sugerować patogenetyczny związek tych przeciwciał występujących także w pęcherzycy idiopatycznej. Choć niektórzy autorzy sugerują, że w rzeczywistości przeciwciała mogą mieć niewielki wpływ na patomechanizm DIP. Przykładem są leki zawierające grupy tiolowe (np. kaptopryl, penicylamina), które zdolne są do wywoływania akantolizy w warunkach *in vitro* bez udziału przeciwciał. Ponadto w przypadku DIP nie zawsze stwierdza się obecność przeciwciał skierowanych przeciwko antygenom powierzchni keratynocytów. Przeciwnie u niektórych pacjentów stwierdzane są przeciwciała podobne do pęcherzycowych, jednak objawy nie występują. Mysi model PV wykazał występowanie różnych przeciwciała monoklonalnych przeciwko różnym epitopom Dsg3. Ponadto

samo związanie przeciwciała z Dsg3 nie musi skutkować wystąpieniem akantolizy. U pacjentów z PV stwierdzane *in vivo* autoprzeciwciała należą do heterogennej grupy autoprzeciwciał o izotypach IgG1 i IgG4, które mogą być patogenne, ale nie muszą. Pacjenci z pęcherzycą mogą mieć również przeciwciała skierowane przeciwko sekwencjom poprzedzającym niedojrzałych DSG. Stan taki może występować w okresie przed ujawnieniem się objawów. Profile przeciwciał anti-DSG1 i anti-DSG3 oceniono u pacjentów z RA. W pierwszej kontroli u 5,4%, a w drugiej 4,3% pacjentów stwierdzono obecność przeciwciał anti-DSG1 lub anti-DSG3. Odsetek ten był wyższy niż w grupach pacjentów z chorobami tkanki łącznej, jak SLE, zespole Sjögrena, mieszanej chorobie tkanki łącznej (MCTD) i twardzinie układowej. Ponadto większość pacjentów seropozytywnych (10 z 11 pacjentów) z RA przyjmowało leki tiolowe. Technikami immunofluorescencji i immunoblotingu stwierdzono, że przeciwciała anti-DSG obecne w surowicach pacjentów z RA reagowały odmiennie od tych stwierdzanych u pacjentów z pęcherzycą. Większość przeciwciał pacjentów z RA rozpoznawało EDTA-oporne epitopy DSG, które są różne od EDTA-wrażliwych epitopów rozpoznawanych przez przeciwciała z surowic pacjentów z pęcherzycą. Konformacyjne epitopy DSG zostały zmodyfikowane przez Ca^{2+} deplecję zależną od EDTA, jednak większość surowic pacjentów z RA zachowała reaktywność wobec DSG1 i DSG3 poddanych działaniu EDTA. Sugeruje to, że większość przeciwciał anti-DSG w RA było niepatogenna, skierowana wobec EDTA-opornych epitopów DSG. Badania techniką IIF wykazały, że żadna z surowic pacjentów z RA nie reagowała z przestrzenią międzykomórkową normalnej ludzkiej skóry. Może to oznaczać, że struktura białkowa rekombinowanych DSG używana w ELISA różni się od struktury w kriostatowych skrawkach normalnego ludzkiego naskórka. Podobne zjawisko obserwowane jest z ludzkimi przeciwciałami pęcherzycowymi, gdzie izotyp IgG1 rozpoznaje tylko linijne epitopy DSG, ale nigdy epitopy konformacyjne. Pozostaje niewyjaśnionym czy przeciwciała obecne w surowicach pacjentów z RA skierowane były przeciwko tiolowo-modyfikowanym epitopom innym od natywnych epitopów DSG. Na podstawie przeprowadzonej analizy autorzy stwierdzili, że pacjenci otrzymujący lek tiolowe mogą nabywać zdolność produkcji autoprzeciwciał dla niekonformacyjnych epitopów DSG1 lub DSG3, a ten typ przeciwciał samodzielnie nie jest zdolny do wywoływania akantolizy. Być może stwierdzane przeciwciała są jedynie niepatogennymi, podobnymi do pęcherzycowych (pemphigus-like) (Yamamoto i wsp. 2010).

Pomijając biochemiczne mechanizmy wyzwalania akantolizy potwierdzone w przypadku leków tiolowych, nie można jednak wykluczyć zjawiska mediowanego przeciwciałami. U pacjentów z DIP wyzwalaną D-penicylaminą krążące przeciwciała promowały syntezę aktywatora plazminogenu w hodowlach keratynocytów. Podobnie zachowują się przeciwciała od pacjentów z pęcherzycą idiopatyczną. Badania nad pęcherzycą endemiczną (fogo selvagem) ujawniły konwersję

przeciwciał anty-DSG z postaci niepatogennej w postać patogenną. Podobna sytuacja może mieć miejsce w DIP przy udziale dodatkowych czynników zewnętrznych, genetycznych oraz przełamaniu tolerancji immunologicznej. Ponieważ brakuje jednoznacznej zależności pomiędzy obrazem klinicznym PV a obecnością autoprzeciwciał anty-DSG1 i 3, a jak stwierdzono w badaniach na mysich noworodkach zmiany skórne i śluzówkowe typowe dla PV mogą występować również przy braku stwierdzanych przeciwciał anty-Dsg, patogeneza PV może być tłumaczona hipotezą „wielokrotnego uderzenia”. Sugeruje się, że akantoliza zależy od synergistycznego i kumulacyjnego efektu przeciwciał skierowanych przeciwko różnym typom molekuł błon keratynocytów. Dotyczy to zwłaszcza cząstek regulujących kształt komórek i ich adhezję (np. receptorów acetylocholinowych) oraz struktur warunkujących przyleganie międzykomórkowe (desmosomlanych kadheryn). Ciężkość przebiegu i obraz kliniczny będą zależne od stosunku poszczególnych typów przeciwciał u każdego z pacjentów (Nguyen i wsp. 2004).

W ocenie profilu immunologicznego pacjentów z DIP w populacji azjatyckiej (japońskiej) większość pacjentów prezentowała objawy PF (47%), pozostali pęcherzycy opryszczkowanej (pemphigus herpetiformis, PH, 18%) i atypowej osutki pęcherzowej (35%). Ostatnia grupa wykazywała obecność autoprzeciwciał zarówno przeciwko DSG1 jak i DSG3, co odpowiadało postaci skórno-śluzówkowej PV. Ponieważ pacjenci z PH, jak stwierdzono w tym i poprzednich badaniach wykazywali wyłącznie reaktywność wobec DSG1, wspólnie przypadki PF i PH można zakwalifikować do związanej z DSG1 DIP. Stwierdzone u niektórych pacjentów w badaniu ELISA autoprzeciwciała IgG wobec DSC1-3 w przypadku DIP nie mają udowodnionego znacznie patogenetycznego. We wcześniejszych badaniach stwierdzono, że przeciwciała IgG anty-DSC3 wywoływały utratę adhezji keratynocytów, a IgG i IgA anty-DSC1-3 stwierdzone były głównie u pacjentów z atypową pęcherzycą, PNP lub PH. W badanej grupie aż u 16 pacjentów DIP wywołana była lekiem tiolowym (bucylaminą, D-penicylaminą, tioproniną i kaptoprylem). Jednym lekiem nietiolowym była sulfasalazyna. Objawy pęcherzycy występowały średnio w ciągu 9,6 miesięcy (od 20 dni do 18 miesięcy) dla bucylaminy i 23,5 miesięcy (od 10 do 56 miesięcy) dla D-penicylaminy od momentu rozpoczęcia ich stosowania. W badaniu techniką ELISA i immunoblotingu w większości przypadków stwierdzono reaktywność surowicy względem DSG1 (53%), w 23% przypadkach wobec DSG1 i DSG3, i pozostałych niespecyficzną reaktywność. W badaniu immunoblotingu stwierdzono u części pacjentów paraneoplastyczną aktywność pęcherzycopodobną (pemphigus-like) wobec enwoplakiny (210-kDa) oraz periplakiny (190-kDa), pomimo wykluczenia tła nowotworowego. Enwoplakiny i periplakiny, choć wykrywane i wiązane typowo z PNP mogą stanowić dodatkowy autoantygen w DIP (Yoshimura i wsp. 2014).

W innych badaniach również najczęściej spotykaną postacią pęcherzycy indukowanej/wyzwalanej lekami była PF z przeciwciałami przeciwko DSG1 wywoływana przez leki tiolowe, tym niemniej przypadki PV również są opisywane. W rozpatrywanych przypadkach zmiany pojawiały się od 1 dnia do 6 miesięcy po wprowadzeniu leku (Giménez-García i wsp. 2016).

5.1.3 Uwarunkowania genetyczne w pęcherzycy wywołanej lekowo

Sugerowana w literaturze zależność przebiegu klinicznego choroby od mechanizmu działania leku i jego struktury nie daje odpowiedzi na szereg pytań. Leki tiolowe mają częściej indukować PF, podczas gdy leki nietiolowe odpowiadają za postaci PV wyzwalanej lekiem. W obu przypadkach przerwanie stosowania podejrzanego leku nie zawsze jednak przynosi spontaniczną poprawę (Pietkiewicz i wsp. 2015). Zrozumienie patomechanizmu indukcji lub nasilenia procesu autoimmunizacji wymaga opracowania modelu biologicznego ze względu na relatywnie rzadkie występowanie choroby. Uwzględniając powszechność stosowania w populacji osób dorosłych leków postrzeganych, jako ewentualnie wywołujących PV/PF oraz częstość samej choroby, dodatkowo zauważalny staje się fakt istniejącej predyspozycji genetycznej i/lub epigenetycznej u chorych z ADP.

Niski wskaźnik konkordancji ADP u genetycznie identycznych osobników i sporadyczne doniesienia dotyczące rodzinnego występowania pęcherzycy zaniżają faktyczne znacznie predyspozycji genetycznych, które są szczególnie istotne, choć niewystarczające do wystąpienia choroby. Genetycznie spokrewnione osobniki współdzielą wspólną „wrażliwość” na czynniki środowiskowe. Wrażliwość ta definiuje efekt biologiczny po ekspozycji. Niektóre badania wykazały, że nawet 50% krewnych pierwszego stopnia pacjentów z pęcherzycą może mieć międzykomórkowe autoprzeciwciała w surowicy, a część z tych osób ma również tkankowo związane międzykomórkowe autoprzeciwciała, choć nigdy nie rozwinęła objawów choroby. Potwierdza to jednak poligeniczną i wieloczynnikową etiopatogenezę choroby. Jednocześnie brak objawów u tych krewnych może świadczyć o innych genetycznych czynnikach ochronnych lub uniknięciu przez nich środowiskowych wyzwalaczy. Zrozumienie autoimmunizacji, jako złożonej interakcji pomiędzy czynnikami epigenetycznymi a środowiskowymi sugeruje, że w rzeczywistości może nie być żadnej różnicy pomiędzy pęcherzycą idiopatyczną a indukowaną lekiem. Być może nasze ograniczenia w zrozumieniu choroby i same ograniczenia diagnostyczne nie pozwalają w przypadkach rozpoznawanych jako pęcherzyca idiopatyczna stwierdzić faktycznego czynnika indukującego/wyzwalającego (Brenner i wsp. 1998). W istocie jak wykazano pacjenci z pęcherzycą

idiopatyczną i wywoływaną lekiem w genotypowaniu HLA nie wykazywali odrębności w badanych allelach (Matzner i wsp. 1995).

Choć pęcherzyca rozwija się u predysponowanych genetycznie osobników, to nie jest to warunek wystarczający do wystąpienia objawów, a znaczną rolę odgrywają czynniki zewnętrzne. Do znanych wyznaczników zwiększonego ryzyka wystąpienia choroby zaliczamy ludzkie antygeny leukocytarne, w szczególności allele *DR4*, *DR14*, *DQ1*, *DQ3*. Choć uwarunkowania genetyczne wydają się konieczne do wystąpienia choroby, to jak widać na przykładzie chorującego tylko jednego z dwóch monozygotycznych bliźniaków, czy dwóch z trzech trojaczków o identycznym predysponującym haplocybie, nie są jeszcze wystarczającymi. Pomimo, że u większości pacjentów nie sposób stwierdzić czynnika indukującego chorobę (pęcherzyca idiopatyczna), to jednak w wielu przypadkach taki czynnik zewnętrzny może być rozpoznany. W tym kontekście leki pozostają nadal najbardziej istotnym czynnikiem zewnętrznym indukującym pęcherzycę (Ruocco i wsp. 2001).

5.1.4 Znaczenie struktury chemicznej leku w patogenezie pęcherzycy wywoływanej lekowo

5.1.4.1 Leki tiolowe w patogenezie pęcherzycy wywoływanej lekowo

Leki zawierające grupę tiolową mogą wywoływać pęcherzycę prawdopodobnie przez przyłączenie do kadheryn, wpływając na ich immunogenność (Anadolu i wsp. 2002). Leki zawierające grupy tiolowe (SH) wykazują dużą zdolność do wywoływania akantolizy w badaniach *in vitro* (Goldberg i wsp. 2008). Również leki zawierające jedynie atom siarki (S-) jak np. piroksydam, penicyliny, cefalosporyny, mogą przejść metaboliczną modyfikację prowadzącą do wytworzenia grup tiolowych, z tego względu określane są jako maskowane tiole (Brenner i wsp. 1997). Ponadto w badaniach *in vitro* wykazano, że zarówno penicylamina, jak i kaptopryl mogą wywoływać akantolizę bez udziału autoprzeciwciał, zjawisko to określane jest terminem biochemicznej akantolizy (Anadolu i wsp. 2002). Akantoliza jest morfologicznie-funkcjonalną zmianą naskórka Malpighiego, skutkującą utratą śródkomórkowej kohezji i zatrzymania procesów keratynizacji. Zjawisko to uznawane jest za patogenetyczne w pęcherzycy, wywoływane przez krążące i związane z tkanką autoprzeciwciała skierowane przeciwko desmosomom keratynocytów naskórka. W pęcherzycy indukowanej lekami akantoliza może być mediowana biochemicznie lub immunologicznie. Biochemiczna akantoliza przebiega bez udziału autoprzeciwciał, jednak z bezpośrednim udziałem leku wywołującego, natomiast mechanizm immunologiczny wymaga produkcji autoprzeciwciał. W doniesieniach literaturowych leki mogące wywoływać pęcherzycę arbitralnie zostały podzielone na trzy grupy. W podziale tym leki tiolowe wywołują akantolizę przez zahamowanie enzymów odpowiedzialnych za agregację keratynocytów, aktywację enzymów

rozluźniających połączenia między keratynocytami i zaburzenie adhezji międzykomórkowej (Baroni i wsp. 2012).

Tkankowozwiązane i krążące przeciwciała wobec struktur międzykomórkowych nie są stwierdzane u części pacjentów z indukowaną lekami tiolowymi pęcherzycą. Ci pacjenci doświadczają biochemicznie warunkowanej utraty przylegania międzykomórkowego. Jednocześnie w większości przypadków DIP indukowanej lekami tiolowymi, przeciwciała międzykomórkowe były stwierdzane, co wskazuje na immunologicznie mediowaną akantolizę. Co istotne te dwa mechanizmy nie wykluczają się wzajemnie, a prawdopodobnie jeden może prowadzić do wyzwolenia drugiego i odwrotnie. Immunologiczna akantoliza może rozpocząć się sekwencją procesów biochemicznych, które przez wytworzenie neoantygeny będą ostatecznie stymulowały produkcję autoprzeciwciał. Leki tiolowe mogą również bezpośrednio wpływać na układ immunologiczny z następowym uwolnieniem szkodliwych klonów B-komórkowych. Dotyczy to zwłaszcza leków o działaniu immunomodulującym. Międzykomórkowe przeciwciała pacjentów z DIP indukowanej penicylaminą promowały syntezę aktywatora plazminogenu w keratynocytach. Aktywator plazminogenu może być finalnym, wspólnym odcinkiem ścieżki immunologicznej i biochemicznej. Jak wiadomo biochemiczna akantoliza może być aktywowana przez uczynienie enzymów proteolitycznych, m.in. przez produkcję plazminy po przez hamowanie inhibitorów aktywatora plazminogenu, co obserwowane jest w przypadku penicylaminy i katoprylu (Brenner i wsp. 1998).

Indukowana lekami tiolowymi pęcherzyca klinicznie przebiega zazwyczaj w postaci PF, podczas gdy leki nietiolowe odpowiadają za przebieg trudny do odróżnienia klinicznie od spontanicznej PV. W drugim przypadku odstawienie leku zazwyczaj nie przynosi ustąpienia zmian skórnych. Jak dotychczas nie stwierdzone by którekolwiek z dostępnych badań dodatkowych (wg kryteriów immunopatologicznych lub histologicznych) lub kryteriów klinicznych pozwalało na zróżnicowanie pęcherzycy indukowanej lekiem od postaci idiopatycznej. Rozpoznanie nadal w przeważającej większości przypadków opiera się na badaniu podmiotowym (wywiadzie osobniczym) (Anadolu i wsp. 2002).

5.1.4.2 Leki nie-tiolowe w patogenezie pęcherzycy wywoływanej lekowo

Wywoływanie przez fenole pęcherzycy pierwszorazowo zostało opisane przez Tsankov i wsp. (1987), którzy zakładali mechanizm systemowej absorpcji związku chemicznego z bezpośrednim efektem toksycznym. Brenner i wsp. (1994) zaproponowali określenie „pęcherzycy kontaktowej”, co mogło sugerować mechanizm alergiczny, a nie jedynie penetrację przezskórną

związku. Tur i Brenner (1997) zauważyli, że pęcherzyca może rozwijać się u pacjentów ekspozowanych na taniny, związki powszechnie występujące w roślinach zawierających polifenole. Znaczna zawartość fenoli i taniny w pokarmach powszechnie spożywanych w Indiach mogłaby odpowiadać za częstsze występowanie pęcherzycy w tej populacji oraz wcześniejszy wiek wystąpienia objawów u pacjentów z PV w Indiach. Dodatkowo wzrost zawartości tanin w wodzie rzecznej podczas pory deszczowej w Brazylii przypada w okresie wzmożonej zapadalności na endemiczną postać pęcherzycy fogo selvagem. W świetle licznych doniesień na temat czynników dietetycznych (fenoli zawartych w pokarmach i wodzie), jako czynników wyzwalających lub nasilających pęcherzycę, ze znacznym zainteresowaniem badaczy spotkały się także leki fenolowe stosowane przez pacjentów pęcherzycowców (Goldberg i wsp. 1999).

Przypadek PV wywołanej ekspozycją na diazinon, organiczny, fosforowy związek insektobójczy, mieści się w spektrum zjawisk określanych przez innych autorów jako pęcherzyca kontaktowa (Orion i wsp. 2000). Postać ta rozwija się zwykle po zadziałaniu urazowego czynnika zewnętrznego. W tym przypadku przez uraz rozumiane jest wystąpienie kontaktowego zapalenia skóry. Jedną z hipotez postuluje, że czynnik zewnętrzny może zaburzać strukturę prawidłowego naskórka, lub uogólniona reakcja alergiczna może sprzyjać ujawnieniu choroby (Brenner i wsp. 1994).

Leki fenolowe wykazują udowodnione działanie promujące wystąpienie pęcherzycy, Ruocco i wsp. (2001) do grupy wysokiego ryzyka zaliczają 5-tiopirodoksynę, pirytyinol, ale także cefalosporyny. Ich unikanie jest zatem uzasadnione w grupie pacjentów z pęcherzycą. Z uwagi na rzadsze doniesienia literaturowe pełne restrykcje dotyczące stosowania kwasu acetylosalicylowego, ryfampicyny czy lewodopy i fenobarbitalu pozostają kwestią dyskusyjną. W leczeniu miejscowym u pacjentów z pęcherzycą rekomendowane są preparaty zawierające mocznik, a nie kwas salicylowy będący także fenolem.

Leki polifenolowe jak np. ryfampicyna zdolne są do zaostrzenia przebiegu PV u pacjentów w trakcie leczenia GKS, ale również do wywołania choroby już w trakcie ich kilku miesięcznego stosowania (Goldber i wsp. 1999). Leki fenolowe mogą uwalniać TNF- α oraz interleukinę 1 α (IL-1 α), cytokiny uczestniczące m.in. w przebiegu akantolizy w PV. Przez regulację syntezy komplementu i proteaz, jak np. aktywatora plazminogenu, pośrednio wpływają na kolejne etapy akantolizy (Ruocco i wsp. 2013).

5.1.4.3 Leki wywołujące pęcherzycę w podziale klasyfikacji anatomiczno-terapeutyczno-chemicznej (ATC)

Leki blokujące receptory β -adrenergiczne

W literaturze anglojęzycznej odnaleźć można nieliczne opisy przypadków, w których wystąpienie objawów pęcherzycy związane jest z lekami blokującymi receptory β -adrenergiczne. Przypadki dotyczą pacjentów leczonych propranololem i bisoprololem (Godard i wsp. 1980; Peterson i wsp. 2007). W materiale własnym również znaleźli się pacjenci (6 przypadków) pobierający bisoprolol. Pozostali stosowali w kolejności malejącej metoprolol, karwedilol, sotalol, betaksolol. Ze względu na epizodyczność doniesień dotyczących wystąpienia DIP u pacjentów stosujących β -blokery, uwzględniając ewentualne korzyści wynikające z ich stosowania, zalecenie ograniczenia ich stosowania nie wydaje się uzasadnione (Ruocco i wsp. 2001).

Leki działające na układ renina-angiotensyna; Inhibitory ACE

Do działań ubocznych inhibitorów ACE należy ich zdolność do wywoływania pęcherzycy, co zostało potwierdzone między innymi w szeregu badań nad zdolnością tych leków do wywoływania akantolizy komórek naskórka (Cozzani i wsp. 2010). W klasycznym podziale DIP na indukowaną i wyzwalaną lekiem, do pierwszej grupy zaliczono leki tiolowe. Spośród nich dla penicylaminy i kaptoprylu, jako czynników indukujących obserwowano spontaniczne remisje odpowiednio w 39% i 53% przypadków. W tej grupie dominuje głównie obraz kliniczny PF i pęcherzycy rumieniowatej, z rzadkim zajęciem błon śluzowych. W przypadku pęcherzycy indukowanej lekiem pacjent ma lepsze rokowanie i może osiągnąć trwałą remisję po zaprzestaniu stosowania leku potencjalnie wywołującego ADP (Ong i wsp. 2000). W jednej z prac poświęconej ocenie zmian śluzówkowych wywoływanych przez leki, w przeważającej większości przypadki przebiegające w obrazie klinicznym ADP dotyczyły PV. Natomiast przypadki PF właściwie nie występowały. Obserwacje te wydają się zbieżne z naturalnym obrazem klinicznym obu tych chorób występujących spontanicznie (niezwiązanych z pobieranymi lekami). Co ciekawe wśród leków najczęściej wywołujących zmiany śluzówkowe wymieniano również inhibitory ACE (Jayakaran 2014). Tym niemniej w literaturze PV typowo wiązana jest z grupą pęcherzycy wyzwalanej lekami nietiolowymi, a średni czas inkubacji jest krótszy (około 128 dni), w porównaniu do długiego okresu inkubacji wynoszącego około 12 miesięcy w przypadku leków tiolowych (Ong i wsp. 2000). Grupa tiolowa uważana jest za niezbędną do wyzwolenia pęcherzycy. Prawdopodobnie dochodzi do interakcji z grupami funkcyjnymi zawierającymi siarkę błon komórkowych keratynocytów. W efekcie może prowadzić to do akantolizy zależnej od mechanizmów biochemicznych. (Ong i wsp.

2000). Niektóre z inhibitorów ACE zawierają aktywne grupy tiolowe (np. kaptopryl), jednak co istotne wszystkie posiadają w swojej budowie grupę amidową (Ruocco i wsp. 2013; Pietkiewicz i wsp. 2015). Ponadto stwierdzono, że leki z grupy inhibitorów ACE zdolne są do indukcji przeciwciał skierowanych przeciwko białkom powierzchniowym keratynocytów u osób nieprezentujących objawów pęcherzycy. Teoretycznie może dochodzić do przestawienia odpowiedzi immunologicznej z Th1 na Th2 zależną. Stwierdzono również, że kaptopryl dodany do hodowli prawidłowej ludzkiej skóry *in vitro* wyzwał apoptozę, modyfikując aktywność acetylocholinoesterazy ograniczając zależną od receptora dla acetylocholiny agregację keratynocytów, pośrednio upośledzając adhezję międzykomórkową i prowadził do akantolizy (Ruocco i wsp. 2013).

W jednym z badań oceniano zdolność kalcytriolu do ochrony proliferujących keratynocytów przed uszkodzeniem wywołanym kaptoprylem. Kalcytriol, hormonalnie aktywny metabolit witaminy D wykazuje działanie protekcyjne wobec keratynocytów przez hamowanie programowanej śmierci komórki wywoływanej szkodliwymi czynnikami zewnętrznymi o różnej etiologii. Wykorzystując autonomicznie proliferujący keratynocyt HaCaT stosowane, jako model warstwy podstawnej, potwierdzono ochronne działanie kalcytriolu przed wywołanym przez kaptopryl oddzieleniem się komórek i ich apoptozą. Działanie hormonu stwierdzano już przy stężeniu 1 nmol L^{-1} (Zeeli i wsp. 2011).

Tiolowe inhibitory ACE (T-ACEI) zdolne są do wywoływania akantolizy bez udziału przeciwciał, w tak zwanym mechanizmie biochemicznym. Innym klasycznym przykładem leku należącego do tej grupy jest lisinopryl mogący wywoływać skórno-śluzówkową postać PV, bez udziału wykrywalnych krążących lub związanych z tkanką autoprzeciwciał anti-DSG. Jednak nadal powszechnie uważa się, że krążące autoprzeciwciała stwierdzane są w około 70% przypadków pacjentów z DIP, a IIF zazwyczaj ujawnia niskie miana autoprzeciwciał, co jednak nie wykazuje związku z nasileniem objawów choroby (Baričević i wsp. 2013).

W badaniu na skrawkach prawidłowej ludzkiej skóry inkubowanych z fosinoprylem i kaptoprylem, jako substratach do IIF oceniano ewentualne mechanizmy wywoływania przez te leki akantolizy w warunkach *in vitro* w obecności przeciwciał anti-DSG3. W grupie z kaptoprylem (T-ACEI) niezależnie od jego stężeń i czasu inkubacji wynik IIF pozostawał ujemny. Może to sugerować, że przeciwciała anti-DSG3 nie były zdolne do identyfikacji antygenów na substracie po inkubacji z lekiem. Prawdopodobnie kaptopryl blokował cząstki adhezyjne na powierzchni keratynocytów i w ten sposób mógł indukować akantolizę w typowym dla leków T-ACEI mechanizmie biochemicznym. W przypadku IIF na substracie z fosinoprylem nietiolowym

inhibitorem ACE (nT-ACEI) wynik ulegał pozytywizacji przy wydłużonym czasie inkubacji z lekiem. Częściowy blok cząstek adhezyjnych obserwowany był jedynie przy bardzo wysokich stężeniach leku (niespotykanych w warunkach *in vivo*). Tylko bardzo wysokie stężenia fosinoprylu blokowały cząstki adhezyjne, a zjawisko to był całkowicie odwracalne po 12 godzinach inkubacji z lekiem. Co istotne pacjenci z biochemicznie indukowaną DIP często mają dodatni wynik DIF oraz stwierdzane krążące autoprzeciwciała. Wynika to zapewne z faktu nakładania się w warunkach *in vivo* mechanizmów nieimmunologicznych z immunologicznymi (Parodi i wsp. 2002). Większość pacjentów z pęcherzycą idiopatyczną wykazuje dodatni wynik DIF, a w przypadku DIP wyniki te są bardziej zmienne. Szacuje się, że 70-90% pacjentów z DIP ma dodatni wynik DIF, podczas gdy tylko u 50-70% stwierdza się krążące autoprzeciwciała (dodatni wynik IIF). Dodatkowo stwierdzane poziomy przeciwciał przeciw-desmogleinowych (Intercellular cement substance antibodies, ICCS) u pacjentów z DIP wywoływanych ACEI wahały się między 0 do 1:2560. Pomimo spotykanych czasami tak wysokich poziomów mian przeciwciał przerwanie leczenia inhibitorami ACE może skutkować remisją (często osiąganą dopiero po dołączeniu leczenia immunosupresyjnego). Jednocześnie u pacjentów z niskimi mianami przebieg może być oporny na leczenie i przewlekły (Ong i wsp. 2000).

Druga z koncepcji wyzwalania przez leki tiolowe akantolizy zakłada tworzenie stwierdzanych w badaniach laboratoryjnych autoprzeciwciał. Związanie przeciwciał może prowadzić do aktywacji komplementu z towarzyszącym uwolnieniem mediatorów stanu zapalnego i rekrutacją aktywowanych komórek T produkujących cytokiny pomocnicze typu 2 (Th2) – interleukinę 4 i 5 (IL-4 i IL-5), które stymulują komórki B do produkcji autoprzeciwciał. U pacjentów z DIP indukowaną lekami tiolowymi stwierdzenie dodatniego wyniku IIF jest mniej prawdopodobne, podczas gdy obecność krążących autoprzeciwciał była częściej stwierdzona w grupie pacjentów z pęcherzycą wywołaną lekami nietiolowymi (Baričević i wsp. 2013). Jednak badania dostarczają niejednoznacznych wyników. Innego zdania są Cozzani i wsp. (2010), którzy w swojej pracy oceniali zdolność inhibitorów ACE do indukowania krążących przeciwciał skierowanych przeciwko antygenom powierzchniowych komórek naskórka w grupie badanych bez objawów skórnych. Nie wykazało istotnie statystycznych różnic w zdolności do indukcji produkcji autoprzeciwciał pomiędzy grupami T-ACEI (53%) a nT-ACEI (52%), chociaż ramipryl indukował występowanie autoprzeciwciał statystycznie rzadziej (Cozzani i wsp. 2010).

Dyskusyjnym pozostaje postawienie samego rozpoznania pęcherzycy, w sytuacji ujemnego wyniku badania DIF. Związane z tkanką śródkomórkowe przeciwciała IgG są kryterium diagnostycznym dla pęcherzycy idiopatycznej i występują u większości pacjentów (75-90%), zatem

również w przypadku polekowej osutki pęcherzowej ich wykazanie stanowi warunek rozpoznania ADP i finalnie DIP. W opisywanych przypadkach DIP indukowanej lisinoprylem stwierdzony w badaniu histopatologicznym naciek złożony z eozynofilów sugerował raczej typ IV reakcji nadwrażliwości późnej na lek. W takim przypadku mechanizmy zależne są od limfocytów T produkujących cytokiny pomocnicze typu 2 (Th2) – IL-4 i IL-5, wyzwalają odpowiedź mastocytów i eozynofilów. Komórki T są szczególnie istotne w reakcjach alergicznych na leki, zwłaszcza cytotoksyczne limfocyty T CD4+, mogące zachowywać się jak bezpośrednie komórki efektorowe produkujące cytotoksyczne mediatory; perforyny, granzymy B lub poprzez IL-5 chemotaktyczne aktywatory innych komórek stanu zapalnego – neutrofilii i eozynofilii (Baričević i wsp. 2013).

Inne mechanizmy patogenetyczne DIP, poza modyfikacjami antygenowymi prowadzącymi do produkcji przeciwciał i w efekcie zahamowania aktywności supresorowych komórek T oraz produkcji autoprzeciwciał przez klonalne linie komórek B, obejmują również wpływ leków na enzymy. Hodowle tkankowe ludzkiej skóry po inkubacji z lekami tiolowymi wykazywały podwyższenie aktywności aktywatora plazminogenu (PA) i niskie poziomy inhibitora aktywatora plazminogenu (PAI). Zdolność do wywoływania akantolizy uzależniona była ściśle od możliwości redukcji poziomów PAI-1 w komórkach naskórka. Niższe poziomy PAI skutkowało podwyższeniem poziomu aktywności PA, co przyczyniało się do wzrostu aktywności enzymów proteolitycznych. Alternatywnie leki mogą również wpływać na enzymy uczestniczące w adhezji komórek naskórka, jak np. transglutaminazy (Ong i wsp. 2000).

Jednym ze starszych leków z grupy ACE inhibitorów powszechnie wykorzystywanym w leczeniu HT jest enalapryl. W swojej budowie w odróżnieniu od leków zawierających grupy sulfhydrylowe (tiolowe) jak kaptopryl, zawiera grupy amidowe. Jak wykazali de Angelis i wsp. (1992) enalapryl jest najsilniejszym induktorem akantolizy *in vitro* wśród badanych leków. W badaniu na ludzkiej skórze zdrowych dawców wywoływał maszyną akantolizę keratynocytów i całkowity nadpodstawiny rozszczep naskórka przy krótszym czasie hodowli/inkubacji i stężeniu leku wynoszącym 1/10 stężenia stosowanego w badaniach *in vitro* z lekami zawierającymi grupy tiolowe.

Działanie akantolityczne enalaprylu (nadpodstawną akantolizę) wykazane w badaniu histopatologicznym skóry pozornie zdrowej u pacjenta bez objawów klinicznych ADP lub wrodzonych / nabytych dermatoz przebiegających z akantolizą (np. choroby Hailey-Haileya, Dariera, Grovera), może stanowić model *in vivo* działania enalaprylu znanego z wcześniejszych badań *in vitro*. Patomechanizm wiązany jest z wpływem leku na enzymy uczestniczące w agregacji

keratynocytów (między innymi hamowanie transglutaminazy) lub innego enzymu zaangażowanego w procesy zapalne (kininazy II). Klasyczny mechanizm może polegać na aktywacji enzymów proteolitycznych. Jak wspomniano wcześniej w przypadku leków tiolowych, zdolność do wywoływania akantolizy uzależniona była ściśle od obniżenia poziomu PAI, co skutkowało podwyższeniem poziomu aktywności PA i enzymów proteolitycznych (Ong i wsp. 2000). Natomiast przez hamowanie katabolizmu kinin, dochodzi do wystąpienia niespecyficznego stanu zapalnego mogącego stymulować produkcję IFN- γ i ekspresję normalnie nieobecnych na powierzchni keratynocytów molekuł (Lo Schiavo i wsp. 1999).

Jak wykazano inhibitory ACE są zdolne do indukowania krążących przeciwciał skierowanych przeciwko antygenom powierzchniowych komórek naskórka. W grupie badanych leczonych z powodu HT inhibitorami ACE bez objawów skórnych w 52,38% przypadków stwierdzano techniką IIF autoprzeciwciała przeciwko antygenom cytoplazmatycznym powierzchniowych keratynocytów naskórkowych. Nie określono jednak docelowych antygenów spośród białek naskórka, wobec których skierowane były krążące autoprzeciwciała. Jedną z hipotez zakłada, że były one skierowane przeciwko wewnątrzkomórkowej domenie DSG1 i DSG3. W tej grupie badanych w dwóch przypadkach techniką ELISA wykazano obecność przeciwciał anti-DSG1 i/lub anti-DSG3. Badania techniką immunoblotingu wypadły ujemnie. Większość pacjentów przyjmowała inhibitory ACE średnio przez około 5 lat. Jednak nie stwierdzono różnic w czasie trwania leczenia, wieku czy płci, a obecnością autoprzeciwciał stwierdzanych w badaniu IIF i ELISA. Autorzy zauważają, że być może stwierdzane autoprzeciwciała skierowane były przeciwko niekonformacyjnym epitopom DSG, co przekładało się na brak ewentualnych objawów. Według jednej koncepcji patogenetyczne przeciwciała w pęcherzycy zazwyczaj wiążą się z konformacyjnym epitopem w amino-terminalnej domenie DSG, podczas gdy niepatogenne przeciwciała wiążą epitopy niekonformacyjne (Cozzani i wsp. (2010)

Podłoże genetyczne może odgrywać również rolę w kontekście współwystępowania DIP i Pso. Współwystępowanie ADP z Pso pierwszorazowo zostało opisane w 1929 roku (Bloom). Od tego czasu opisano wiele podobnych przypadków, jednak w odniesieniu do BP (Stavropoulos i wsp. 2003). Również w materiale własnym stwierdziliśmy współwystępowanie Pso i BP u 9 pacjentów. Przypadek pacjenta z Pso, u którego po włączeniu enalaprylu wystąpiła osutka pęcherzowa, rozpoznana na podstawie badań laboratoryjnych (stwierdzono przeciwciała związane tkankowo w badaniu DIF i krążące w surowicy pacjenta w badaniu IIF) jako PF, dowodzi immunologicznych mechanizmów wyzwalania DIP przez leki, niezawierające grup tiolowych. Literaturowo znane są również przypadki poprawy stanu dermatologicznego w Pso po zaprzestaniu leczenia inhibitorami

ACE. W innych przypadkach literaturowych Pso poprzedzała wystąpienie PV średnio od 1 do 20 lat (Stavropoulos i wsp. 2003). Według dostępnej literatury zdolność enalaprylu do indukowania lub wyzwalania PV dotyczy osobników predysponowanych genetycznie. W opisywanych przypadkach stwierdzono obecność alleli typowych dla PV (*DR14, DQ1*) (Lo Schiavo i wsp. 1999). Ponadto według jednej z koncepcji zmniejszenie aktywności supresorowej komórek T skutkuje produkcją autoprzeciwciał lub wystąpieniem reakcji immunologicznych, dodatkowo zależnych od czynników endo- i egzogennych (np. od leczenia przeciwłuszczykowego) (Grunwalda i wsp. 1985). Przewlekły proces zapalny w Pso może promować ekspresję antygenów PV i stymulować odpowiedź immunologiczną, jednocześnie zwiększona aktywność aktywatora plazminogenu obserwowana w Pso, jest czynnikiem promującym wystąpienie PV (Yokoo i wsp. 1989; Lee i Ro 1994; Panzarella i Camisa 1996).

Leki działające na układ renina-angiotensyna; Antagoniści receptora angiotensyny II

Dotychczas sądzono, że leki z grupy ARB mogą stanowić bezpieczną alternatywę dla inhibitorów ACE, w przypadku których zawsze istnieje ryzyko indukowania pęcherzycy (Ruocco i wsp. 2001). Między innymi losartan, telmisartan i walsartan uważane były za bezpieczne ze względu na brak doniesień literaturowych. Obecnie znane są jednak dobrze udokumentowane przypadki PF indukowanej walsartanem (Giménez-García i wsp. 2016). Potwierdzają to inni autorzy w doniesieniach publikowanych na przestrzeni ostatnich 10 lat (Pietkiewicz i wsp. 2015; Bae i wsp. 2008). Sugeruje się, że coraz liczniej opisywane w literaturze przypadki wynikają z częstszego stosowania leków z tej grupy, co przekłada się na większe obciążenie populacyjne osobników genetycznie predysponowanych. ARB ze względu na brak w swojej cząsteczce grupy tiolowej wywołują naskórkową akantolizę i indukują tworzenie autoprzeciwciał przez pośrednie mechanizmy immunologiczne, a nie bezpośrednie reakcje biochemiczne. Dodatkową rolę ogrywają uwarunkowania genetyczne zwłaszcza u pacjentów z pęcherzycą wyzwalaną przez leki nietiolowe (Bae i wsp. 2008).

Antagoniści wapnia; Pochodne dihydropirydyny

Nifedypina w badaniach *in vitro* wykazuje w pewnej części przypadków (prawdopodobnie u osobników genetycznie predysponowanych) zdolność wywoływania zaburzeń adhezji międzykomórkowej naskórka (akantolizę) lub połączenia skórno-naskórkowego. Preparaty ludzkiej skóry poddane działaniu nifedypiny ulegają rozszczepieniu śródnaskórkowemu (typu pęcherzycowego) lub podnaskórkowemu (typu pemfigoidu). Stwierdzona akantoliza, może być wytłumaczeniem dla przypadków klinicznych przebiegających w obrazie pęcherzyco-podobnego

(pemphigus-like) zapalenia skóry, bez udziału krążących w surowicy autoprzeciwciał. W takiej sytuacji trudno mówić o ADP, jednak pozostaje to interpretacją kliniczną biochemicznych reakcji wywołujących utratę funkcji desmosomu. Nifedypina jest blokerem kanałów wapniowych, który hamuje przezłonowy napływ jonów wapnia do komórki. Wykazuje silne działanie naczyniorozkurczowe, ale wywołuje też szereg działań ubocznych u około 20% stosujących pacjentów. Reakcje skórne uważane są jednak za stosunkowo rzadkie, a pęcherzowe odczyny skórne za jeszcze radsze, w tym m.in. fototoksyczne reakcje pęcherzowe, polekowe utrwalone reakcje pęcherzowe i zespół Stevensa-Johnsona. Jony wapnia odgrywają istotną rolę w zapewnieniu integralności naskórka. Enzymy zaangażowane w proces keratogenezy, jak np. transglutaminaza keratynocytów i γ -glutamyltranspeptydaza, wymagają wolnych jonów wapnia do prawidłowego funkcjonowania. Autoprzeciwciała w pęcherzycy rozpoznają DSG, które są zależnymi od wapnia molekułami adhezyjnymi i składowymi złożonych desmosomalnych struktur. Teoretycznie farmakologiczne zaburzenie biodostępności wapnia w komórkach może indukować ultrastrukturalne zmiany w naskórku. W innych badaniach inkubacja keratynocytów w medium o zmniejszonej zawartości wapnia również skutkowałą akantolizą, być może przez zależną od wapnia zaburzoną funkcję desmosomu lub zależne od wapnia hamowanie enzymów (Brenner i wsp. 1999). Wśród blokerów kanału wapniowego nifendypina uznawana jest za czynnik wyzwalający dla PV i PF. Istnieją jednak nadal liczne kontrowersje czy leki z tej grupy stanowią faktyczne wyzwalacze czy obserwowany związek jest jedynie koincydentalny (Pietkiewicz i wsp. 2015).

Inhibitory dehydratazy (anhydrazy) węglanowej

Acetazolamid należy do leków diuretycznych z grupy inhibitorów anhydrazy węglanowej i w swojej cząsteczce zawiera grupę amidową. Należy zatem do nietiolowych i niefenolowych leków potencjalnie wyzwalających DIP. W przypadku stosowania leków z tej grupy opisywano jedynie związek czasowy między przyjmowaniem leku a nawrotem PV, bez wykonania celowanej diagnostyki farmakologicznej. (La Schiavo i wsp. 2009).

Leki zmniejszające stężenie cholesterolu i triglicerydów w surowicy; Inhibitory reduktazy HMG-CoA – Statyny

Statyny (inhibitory 3-hydroksy-3-metylglutaryl-CoA reduktazy) są powszechnie stosowanymi lekami o działaniu hipolipemizującym w prewencji zdarzeń sercowo-naczyniowych. Choć uważane za bezpieczne mogą wywoływać szereg działań niepożądanych, do których należą miopatie, zapalenie mięśni szkieletowych, a nawet rbdomioliza. W długoterminowych badaniach

obserwacyjnych u pacjentów stosujących statyny stwierdzono również, że ich przedłużone stosowanie może prowadzić do reakcji autoimmunizacyjnych. Statyny, jako czynniki proapoptotyczne uwalniają do krążenia antygeny jądrowe, co może indukować produkcję patogenetycznych autoprzeciwciał. Lo Schiavo i wsp. (2014) opisali pierwszy przypadek pęcherzycy rumieniowatej wywołanej atorwastatyną. Wcześniej atorwastatyna była również opisywana, jako lek mogący wywoływać liniową IgA dermatozę pęcherzową (LABD) oraz toksyczną nekrolizę naskórka. W literaturze podawane są inne przypadki indukowanych statynami reakcji autoimmunizacyjnych (jak SLE, SCLE, zapalenia skórno-mięśniowego, zapalenia wielomięśniowego oraz uogólnionych rumieni skórnych), ponadto przypadki keratodermy kolczystej (spiny keratoderma). Inna statyna, jak prawastatyna może wywoływać porfirię skórną późną, reakcje fototoksyczne indukowane promieniowaniem UVB, lichenoidalne reakcje polekowe (lichenoid drug eruptions). Ewentualny mechanizm indukowania przez statyny procesów autoimmunizacyjnych pozostaje nadal niejasny. Statyny, jako silnie środki proapoptotyczne, jak już wspomniano mogą uwalniać do krążenia jądrowe antygeny, które z kolei mogą stymulować produkcję patogenetycznych autoprzeciwciał. Zaburzenia regulacji programowanej śmierci komórki (apoptozy) w przypadku keratynocytów i/lub niewystarczająca eliminacja produktów ich apoptozy (zwłaszcza DSG) może skutkować wyzwoleniem autoimmunizacji i produkcją swoistych autoprzeciwciał. W świetle ostatnich badań mediowana ligandem Fas apoptoza może odgrywać istotną rolę w procesie akantolizy keratynocytów. Obniżenie poziomu cholesterolu przez statyny może pośrednio wpływać na odpowiedź limfocytów T na sygnały zewnętrzne. Cholesterol obecny jest w wysokich stężeniach w pewnych obszarach błon komórkowych i uczestniczy w aktywacji odpowiedzi immunologicznej (lipid rafts). Być może statyny zdolne są do zaburzenia czynności limfocytów T, co skutkuje uwolnieniem szkodliwych klonów komórkowych. Według innych hipotez statyny mogą bezpośrednio modulować aktywację limfocytów T przez promocję odpowiedzi Th2 zależnej, w konsekwencji z aktywacją limfocytów B i produkcją patogenetycznych autoprzeciwciał, możliwe również, że tych odpowiedzialnych za wystąpienie pęcherzycy (Lo Schiavo i wsp. 2014).

Niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ)

Jednymi z powszechniej stosowanych i często dostępnymi bez przepisu lekarza są leki przeciwbólowe i/lub przeciwzapalne. Przekłada się to również na niezgłaszanie personelowi medycznemu przez pacjentów stosowania leków z tej grupy, ale także pomijania przez samych lekarzy informacji o stosowaniu tej grupy leków w dokumentacji medycznej. Leki z grupy NLPZ mogą arbitralnie zostać podzielone na leki tiolowe zawierające grupy SH lub uwalniające je w

trakcie swojego metabolizmu (np. piroksykan) oraz leki nietiolowe bez grupy SH lub atomu siarki w cząsteczce, do których należą pochodne pyrazolonów oraz diklofenak. Wiele pochodnych pirazolonów wiązanych jest z indukowaniem pęcherzycy. To samo dotyczy nowszych NLZP np. piroksykamu, diklofenaku lub aspiryny (należącej do grupy leków fenolowych). Diklofenak w swojej cząsteczce nie zawiera grup SH, co może warunkować przebieg DIP wywołanej tym lekiem. Przerwania stosowania leku nie zapewnia pełnej remisji, co jest zjawiskiem częstszym dla leków nietiolowych (Matz i wsp. 1997). Zdaniem niektórych autorów uzasadnionym jest ograniczenie stosowania leków tej grupy do koniecznego minimum u pacjentów z pęcherzycą. Do rozważenia pozostaje również na okres ich stosowania zwiększanie dawek leków steroidowych. Alternatywną wydaje się stosowanie paracetamolu, będącego lekiem fenolowym, o niepotwierdzonym potencjale wywoływania DIP. W przypadku kwasu acetylosalicylowego stosowanego ze wskazań kardiologicznych (działania przeciwwagregacyjne na płytki krwi) sugerowane jest stosowanie jako zamiennika tiklopidyny (Ruocco i wsp. 2001). Znane są przypadki DIP wywołanej aspiryną, która określana jest jako „maskowany fenol”, ze względu na powstawanie cząstek fenolowych w trakcie jej metabolizmu i wytworzenia kwasu salicylowego. Być może część przypadków idiopatycznej pęcherzycy mogła być faktycznie DIP, jednak związek z przyjmowanym lekiem został przeoczony (Goldber i wsp. 1999).

Leki hipoglikemizujące; Pochodne sulfonilomocznika

W badaniach *in vitro* na hodowlach skóry ludzkiej stwierdzono zdolność glibenklamidu do indukowania akantolizy. Glibenklamid jest lekiem nietiolowym i niefenolowym, jednak jako pochodna sulfonilomocznika zawiera atom siarki (S-) w swojej cząsteczce, który prawdopodobnie warunkuje zdolność leku do inhibicji enzymów naskórkowych odpowiedzialnych za przyleganie komórek. Wyniki te mogą wyjaśniać występowanie PV u pacjentów przyjmujących ten lek. (Goldberg i wsp. 2005).

Leki przeciwbakteryjne; Antybiotyki β -laktamowe

Antybiotyki β -laktamowe w literaturze rzadko opisywane są jako wyzwalacze pęcherzycy. Penicylina traktowana jest, jako maskowany tiol, który w swojej cząsteczce zawiera molekułę siarkową (S-) i może ulec konwersji do tioli. Penicyliny w przebiegu hydrolitycznego rozkładu ulegają przekształceniu do penicylaminy. Z tego względu DIP wywołaną penicyliną można pośrednio również zaliczyć do DIP wywoływanej tiolami maskowanymi (Goldberg i wsp. 1999). W opisywanych przypadkach przebieg choroby odpowiada pęcherzycy indukowanej lekiem, gdzie zaprzestanie jego stosowania prowadzi do całkowitej remisji. Sugeruje to również biochemiczny

mechanizm akantolizy, przy braku krążących autoprzeciwciał (Baroni i wsp. 2012). Natomiast zdaniem niektórych autorów cefalosporyny nie kwalifikują się do tej grupy, pomimo podobnej budowy chemicznej, ze względu na nietworzenie grupy tiolowej w procesach metabolicznych (Goldberg i wsp. 1999). Penicyliny częściej niż cefalosporyny wywołują DIP, choć obie grupy antybiotyków zawierają w swojej budowie pierścień siarkowy, to jednak prawdopodobnie cząsteczka cefalosporyn w warunkach *in vivo* jest bardziej oporna na degradację (i ewentualne przejście do postaci aktywnej grupy tiolowej). Jednocześnie zarówno penicyliny i cefalosporyny zawierają w strukturze swojego pierścienia β -laktamowego aktywną grupę amidową, która również może być odpowiedzialna za wystąpienie choroby (Brenner i wsp. 1998). Znany jest przypadek pęcherzycy rumieniowatej (zespół Senear-Usher) klinicznie wykazującej cech LE i pęcherzycy, w którym stwierdzono związek czasowy z przyjmowaniem cefuroksymu. W tym przypadku cefalosporyna jest klasycznym przykładem leku potencjalnie wywołującego chorobę, zważywszy na budowę cząsteczki leku zawierającą zarówno grupę tiolową, jak i fenolową. Składowa fenolowa stymuluje keratynocyty do produkcji szeregu cytokin prozapalnych jak; IL-1 i TNF- α , które regulują produkcję dopełniacza i proteaz (m.in. aktywatora plazminogenu) istotnych w patomechanizmie akantolizy. Stwierdzono między innymi, że wysokie stężenia plazminogenu wywołują akantolizę w hodowlach tkankowych, a przeciwciała przeciwko aktywatorowi plazminogenu blokują akantolizę indukowaną przeciwciałami pęcherzycowymi w klasie IgG (Baroni i wsp. 2008).

Leki cholinolityczne i przeciwpsychotyczne

Wystąpienie pęcherzy w PF wymaga udziału autoprzeciwciał IgG (głównie podklasy IgG4) skierowanych przeciwko cząstkom adhezyjnym i odbywa się przez fosforylację białek międzykomórkowych związanych z desmosomami. Regulacja przylegania międzykomórkowego naskórka odbywa się przy udziale osi acetylocholinowej keratynocytów. Acetylocholina (Ach) i leki cholinergiczne mogą wpływać na stabilność połączeń międzykomórkowych keratynocytów i ich ruchomość w mechanizmach auto- i parakrynowych. Jak wykazano zarówno antagoniści nikotynowi i muskarynowi wywołują akantolizę w warstwie keratynocytów. Agoniści cholinergiczni mogą odwracać akantolizę indukowaną przez antagonistów receptora. Badania kliniczne z wykorzystaniem bromku pirydostygminy sugerują, że możliwe jest leczenie oszczędzające GKS u pacjentów z PF, wykorzystując farmakologiczną stymulację adhezji międzykomórkowej keratynocytów przez ich oś acetylocholinową. Leki psychotropowe z aktywnością antymuskarynową (antycholinergicznymi) mogą pogarszać przebieg pęcherzycy (Botelho-Nogueira i wsp. 2011). U pacjentów z PV poza przeciwciałami skierowanymi przeciwko

cząstkom adhezyjnym warunkującym przyleganie międzykomórkowe (np. DSG1, 2 i 3, DSC, plakoglobinom), stwierdzane są przeciwciała skierowane przeciwko cholinergicznym receptorom keratynocytów regulującym przyleganie komórkowe (podjednostki Fc ϵ RI α , α 3 i α 9 receptorów nikotynowych ACh). Aktywacja tych receptorów naśladuje anty-akantolityczny efekt GKS w warunkach *in vitro*. W celu stwierdzenia czy agoniści cholinergiczni mogą hamować IgG mediowaną akantolizę w PV, w badaniu na bliźniaczych miotach bezgranicznych noworodków mysich podawano PV IgG w połączeniu z karbacholem. Żadna z tych myszy nie rozwinęła objawów PV. Stwierdzono, że stymulacja cholinergicznymi receptorami keratynocytów kontrolowała PV IgG-indukowaną akantolizę i pośrednio hamowałaby naturalny przebieg choroby u ewentualnych pacjentów z PV. W badaniach *in vitro* techniką Western blot i immunofluorescencji określono poziom ekspresji molekuł adhezyjnych na hodowlach (jednowarstwowych) ludzkich zdrowych keratynocytów inkubowanych z karbacholem (0,25mM). Karbachol zapewniał podniesienie względnej ilości E-kadheryn w keratynocytach ($p < 0,05$) bez wpływu na plakoglobiny ($p > 0,05$). Poziom fosforylacji E-kadheryn i plakoglobiny zwiększony był przez PV IgG, natomiast proces ten był hamowany w obecności 0,5 mM karbacholu. Bromek pirydostygminy, inhibitor acetylocholinoesterazy, wywołuje efekt podobny do karbacholu, co pozwala na wyjaśnienie klinicznego efektu u pacjentów z PV opornych na systemowe terapie GKS. Leczenie skojarzone bromkiem pirydostygminy (360mg/dobę) pozwalało na kontrolę objawów u pacjentów z PV przy niższych dawkach GKS w porównaniu do monoterapii u pacjenta z oporną na leczenie, nawrotową PV. Podczas badania przy zastosowaniu dawek bromku pirydostygminy nieprzekraczających 360mg/dobę nie obserwowano poważnych działań ubocznych leku (sporadycznie mdłości, skurcze żołądka, pocenie, wymioty). Wyniki te wydają się też zachęcające w kontekście rozwoju terapii PV ograniczających stosownie sGKS z wykorzystaniem nowych leków antyakantolitycznych wykorzystujących działanie leków cholinomimetycznych (Nguyen i wsp. 2004).

Leki immunomodulujące

IFN- α wykazuje działanie przeciwwirusowe, przeciwproliferacyjne i immunomodulujące, przez co znalazł zastosowanie m.in. w leczeniu przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu B (HBV) oraz typu C (HCV). Wystąpienie autoimmunologicznego zapalenia tarczycy, trombocytopenii i tocznia rumieniowatego u pacjentów otrzymujących IFN zostało opisane wielokrotnie. Pierwotnie u podłoża tych zaburzeń występuje mechanizm uwolnienia autoprzeciwciał skierowanych przeciwko różnym białkom i receptorom, w tym również przeciwciał przeciwko strukturom naskórka, a większość z nich stanowią przeciwciała pęcherzycopodobne. Terapia IFN- α może indukować wystąpienie autoprzeciwciał u ponad połowy leczonych pacjentów

z powodu HCV. Do najczęstszych należą autoprzeciwciała przeciwtarczycowe, przeciwjądrowe lub anty-DNA. Tym niemniej u wielu pacjentów, u których stwierdza się obecność tych autoprzeciwciał nie występują objawy chorób autoimmunizacyjnych. Systemowe działanie immunomodulujące IFN- α zostało stwierdzone w badaniach *in vitro*, w których IFN- α hamował proliferację keratynocytów naskórkowych. Dermatologiczne działania uboczne IFN dotyczą między innymi wywoływania Pso, liszaja płaskiego i w pojedynczych doniesieniach również pęcherzycy (Marinho i wsp. 2001). Zarówno PV, jak i PF wg doniesień literaturowych mogą być wywoływane przez IFN- α . Jednocześnie wysokie poziomy IFN- α stwierdzane są u pacjentów z PV wykazując związek z aktywnością choroby (Mashiah i Brenner, 2005). Większość pacjentów z *de novo* występującą autoimmunizacją niezwiązaną z chorobą wątroby otrzymała dawkę sumaryczną IFN- α wyższą niż 200 MIU (międzynarodowych jednostek masowych) lub leczona była dłużej niż 16 tygodni. Sugeruje się, że wysokie dawki lub przedłużone schematy terapii IFN- α mogą zwiększać ryzyko wystąpienia chorób autoimmunizacyjnych (Marinho i wsp. 2001).

Imikwimod jest lekiem immunomodulującym zarejestrowanym do leczenia powierzchownego raka podstawnokomórkowego. Działa jako ligand receptorów Toll-like 7 i 8, promując ekspresję różnych cytokin, jak m.in. IFN- α , czynnika martwicy nowotworów (TNF- α) i innych interleukin (IL-1, 6, 8, 10, 12) stymulujących wrodzoną i komórkową odpowiedź immunologiczną. Imikwimod znany jest z wielu reakcji niepożądanych, zwłaszcza miejscowych. Znane są również opisy wystąpienia zmian pęcherzyco-podobnych w miejscu zastosowania (Bauza i wsp. 2009). Większość wymienionych powyżej cytokin prozapalnych może wywoływać wystąpienie pęcherzycy. Jednocześnie w surowicach pacjentów z aktywną pęcherzycą stwierdzany jest ich wysoki poziom. Dodatkowo opisano udział TNF- α w akantolizie w PV poprzez aktywator urokinazy plazminogenu. Anty-TNF- α wykazują natomiast skuteczność w leczeniu PV. Podwyższone surowicze poziomy IL-1, IL-6 także stwierdzane są u pacjentów z pęcherzycą. Zdolność miejscowo stosowanego imikwimodu do wyzwalania kontaktowej pęcherzycy może wynikać z indukcji produkcji różnych cytokin, w tym IFN (Mashiah i Brenner, 2005). Imikwimod nie zawiera grupy tiolowej lub siarkowej, możliwe jest miejscowe tworzenie przeciwciał anty-DSG1. W przypadkach, w których nie stwierdza się przeciwciał anty-DSG, być może dochodzi do aktywacji enzymów wywołujących zaburzenia agregacji keratynocytów. TNF- α i IL-1 zaangażowane są między innymi w mechanizmy akantolizy w PV po przez aktywator urokinazy plazminogenu. Ich wysokie poziomy również stwierdzane są u pacjentów pęcherzycowych i wykazują związek z aktywnością choroby (Bauza i wsp. 2009).

Niektórzy autorzy przestrzegają przed stosowaniem u pacjentów z pęcherzycą IFN lub innych cytokin, ze względu na ryzyko indukowania lub zaostrzenia przebiegu choroby. Znane są

przypadki również śmiertelnego przedbiegu u pacjentów z pęcherzycą po zastosowaniu IFN i interleukiny 2 (IL-2). W ostatnim czasie poszerzyła się jednak nasza wiedza na temat roli interleukiny-1- α (IL-1 α) oraz TNF- α (Ruocco i wsp. 2001).

Leki immunosupresyjne; Inhibitory TNF- α

Występowanie ADP u pacjentów leczonych antagonistami TNF- α jest opisywane sporadycznie. TNF- α jest cytokiną odgrywającą kluczową rolę w T-komórkowo mediowanych procesach uszkodzenia tkanek, dlatego też inhibitory TNF- α znalazły szerokie zastosowanie w leczeniu pacjentów z RA. W 2009 roku Ramos-Casals i wsp. przeanalizowali 379 przypadków wystąpienia powikłań autoimmunizacyjnych u pacjentów leczonych terapiami anty-TNF w latach 1990 do 2008. W tej grupie badanych nie stwierdzono ADP. Boussemart i wsp. (2010) opisali przypadek BP po leczeniu adalimumabem oraz przypadek PF indukowanej infliksymabem. Nieprawidłowe poziomy TNF- α były stwierdzane zarówno w surowicy jak i płynie pęcherzowym pacjentów z BP, u których poziomy te korelowały z aktywnością choroby. W odniesieniu do tych danych wydaje się, że TNF- α przynajmniej w przypadku BP odgrywa istotną rolę w patomechanizmie choroby. Tym niemniej według wiedzy autorów wystąpienie ADP nie jest nadal zaliczane do działań niepożądanych leków anty-TNF- α . Leki anty-TNF działają zapewne w mechanizmie obserwowanym w zespole tocznio-podobnym, śródmiąższowym zapalenia płuc, zespole antyfosfolipidowym, zapalnej miopatii, czy autoimmunologicznym zapaleniu wątroby i tarczycy. Ten mechanizm działania inhibitorów TNF nie jest do końca poznany, jednak dotyczy wędrówki (homing) limfocytów Th1 i Th2. Działanie terapii anty-TNF skutkuje u leczonych pacjentów przesunięciem odpowiedzi immunologicznej z Th1 na Th2 zależną, co jest zjawiskiem obserwowanym również w ADP jak BP, czy pęcherzyc (Baroni i wsp. 2004). Jednak znane są również przypadki wykorzystania inhibitorów TNF do skutecznego leczenia opornego BP, PV, ale także atopowego zapalenia skóry. Chorób uznawanych za modelowe zaburzenia z dominacją odpowiedzi Th2 zależnej. Jednym z wyjaśnień takiego stanu rzeczy może być status immunologiczny pacjenta i towarzyszące mu inne zaburzenia odpowiedzi autoimmunologicznej. Leki anty-TNF nie zawsze działają jak proste inhibitory odpowiedzi Th1. TNF- α odgrywa istotną rolę w zmianie odpowiedzi Th1/Th2 mediowanej przez eozynofile. Eozynofile inkubowane z TNF- α i IL-4 wykazują zwiększoną ekspresję mRNA i sekrecję białek Th2 chemokin, CCL17 i CCL22. Natomiast chemokiny Th1, CXCL9 i CXCL10 wykazują większą ekspresję po stymulacji TNF- α z IFN- γ . Co jest do pewnego stopnia uzasadnieniem, dlaczego w chorobach zapalnych jak RA czy Pso (przebiegających ze zwiększonym poziomem IFN- γ we krwi) anty-TNF- α hamuje Th1 zależną

odpowieź. Natomiast w chorobach przebiegających z niskimi poziomami IFN- γ , o dominującej odpowiedzi Th2-zależnej, jak BP czy AZS, wykazuje działanie hamujące odpowiedź Th2 poprzez eozynofile. Dlatego też inhibitory TNF zależnie od tła immunologicznego pacjenta mogą zarówno nasilać jak i hamować procesy autoimmunizacyjne w ADP (Boussemart i wsp. 2010).

Antymetabolity; Analogi puryn

Fludarabina hamuje syntezę DNA i RNA oraz wykazuje aktywność cytotoksyczną. Stwierdzono redukcję aktywności limfocytów T, gdzie efekt wobec komórek CD4+ może utrzymywać się nawet do 11 miesięcy, co skutkuje zwiększeniem zapadalności na choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (graft-versus-host disease, GVHD). Do zgłaszanych skórnych reakcji pęcherzowych należą zespół Stevens-Johnsona i toksyczna nekroliza naskórka oraz DIP. Opisywane były również inne przypadki PNP u pacjentów onkologicznych leczonych fludarabiną, u których nie podejrzewano jednak tła polekowego i nie rozpoznano DIP. Inne ADP nie były wiązane ze stosowaniem fludarabiny co pośrednio sugeruje, że wywołanie DIP nie jest skutkiem prostej niespecyficznego immunosupresji indukowanej lekiem. Jedną z hipotez zakłada indukcję skórnych autooprzeciwciał przez fludarabinę lub lekowo wywoływanych przeciwciał przeciwko guzowi, które w reakcji krzyżowej mogą reagować ze skórnymi epitopami. Możliwe również, że odsłonięte antygeny nowotworu wykazują podobieństwo do białek naskórka. Stwierdzenie związku pęcherzycy ze stosowanym lekiem, czyli rozpoznanie DIP ma istotne znaczenie dla dalszego postępowania leczniczego, zważywszy na często letalny przebieg choroby (Gooptu i wsp. 2001). W literaturze opisywane są inne przypadki PNP wywołanej fludarabiną, gdzie wystąpienie objawowej PNP związane było z włączeniem leczenia fludarabiną. Związek czasowy wystąpienia objawów klinicznych pęcherzycy z rozpoczęciem stosowania leku nasuwa podejrzenie DIP, tym niemniej zjawisko autoimmunizacji paraneoplastycznej stanowi istotny aspekt, a uzyskiwane wyniki badań immunopatologicznych nie pozwalają różnicować DIP od PNP (Powell i wsp. 2004).

Leki przeciwreumatyczne

Bucylamina (merkaptometylpropanocysteina) jest lekiem z grupy DMARD, wykazującym budowę strukturalną podobną do D-penicylaminy. Jednak rzadko opisywana jest w kontekście DIP. Doniesienia literaturowe dotyczą głównie związku z śródmiąższowym zapaleniem płuc, nefropatią, czy miastenią gravis. Natomiast D-penicylamina znana jest ze swojego potencjalnego immunogennego działania, z opisywanymi na czele reakcjami typu DIP oraz zapaleniem

wielomięśniowym. Zapadalność na DIP wywoływaną przez D-penicylaminę może sięgać nawet 7%, a średni czas od rozpoczęcia leczenia do wystąpienia objawów wynosi około 12 miesięcy. Znaczenia bucylaminy w patogenezie DIP może dostarczyć dodatkowych informacji o patogenezie DIP indukowanej tiolami (Hur i wsp. 2006). Przypadki DIP opisane w literaturze anglojęzycznej, indukowane bucylaminą, przebiegały zarówno w obrazie PF, jak i PV. Stwierdzono również przypadek podrogowej krostkowej pęcherzycy IgA. Bucylamina zawiera w swojej cząsteczce grupę tiolową, a ta grupa leków stereotypowo wywołuje DIP w obrazie PF. Prawdopodobnie aktywność wobec licznych grup SH pomiędzy warstwą kolczystą i ziarnistą naskórka indukuje odpowiedź immunologiczną. Przeciwnie DIP wywoływana lekami nietiolowymi objawia się klinicznie zazwyczaj jako PV. Choć wystąpienie PV po leku tiolowym nie jest typowe, to dobra odpowiedź na przerwanie jego stosowania jest dość charakterystyczna dla DIP indukowanej lekiem. Oprócz bezpośredniego działania toksycznego na keratynocyty i wyzwalania akantolizy w mechanizmie biochemicznym, stwierdza się również produkcję autooprzeciwciał. Wyzwolenie syntezy przeciwciał może być następstwem ekspozycji na uwolnione antygeny pęcherzycowe w mechanizmie akantolizy. Równocześnie produkcja autooprzeciwciał może wynikać z zaburzenia antygenowej struktury DSG po związaniu z lekiem i wymianie tiolowo-dwusiarczkowej (thiol-disulfide interchange) (Yanagishita i wsp. 2015). Prawdopodobnie poprzez wiązanie grupy sulfhydrylowej z białkami powierzchniowymi naskórka zostają one rozpoznane przez układ immunologiczny gospodarza jako nowe antygeny. Tym niemniej częstość występowania przeciwciał IgG i IgA skierowanych przeciwko strukturom międzykomórkowym w DIP wywołanej lekami tiolowymi jest niższa niż w pęcherzycy spontanicznej. Jak zauważono w niektórych przypadkach DIP stwierdzenie tych przeciwciał może w ogóle nie być możliwe, dotyczy to również DIP indukowanej bucylaminą (Hur i wsp. 2006).

Penicylamina jest dobrze znanym lekiem o właściwościach chelatujących metale ciężkie, powszechnie stosowana w chorobie Wilsona, RA i cystynurii. W dermatologii wykorzystywana w leczeniu twardziny. Jednak dobrze znane są również działania niepożądane związane z jej stosowaniem. Lek ten wykazuje bogactwo klinicznych manifestacji skórnych działań niepożądanych. Od ostrych reakcji nadwrażliwości, przez dermatopatie charakteryzujące się zaburzeniem włókien elastycznych w obrazie elastosis perforans serpiginosa i pseudoxanthoma elasticum (zespół Grönblad-Strandberg), aż po autoimmunizacyjne jak pęcherzyca i zespół toczeniopodobny. Wystąpienie tych objawów może wykazywać zależność od dawki oraz czasu stosowania penicylaminy, a także choroby, z powodu której jest pobierana (Ishak i Abbas, 2013). Zjawisko serokonwersji u pacjenta z DIP wywołaną stosowaniem D-penicylaminy wykazano immunohistochemicznym barwieniem z przeciwciałami anti-32-2B. Prawidłowy obraz barwienia

obserwowany w DIP, w razie nawrotu pęcherzycy (pomimo przerwania leczenia D-penicylaminą) ulegał zmianie we wzór patologiczny, tożsamy z rozpoznaniem idiopatycznej pęcherzycy. Immunobarwienie z przeciwciałami monoklonalnymi anti-32-2B skierowanymi przeciwko DSG1 i DSG3 może być użyteczne w różnicowaniu DIP od postaci idiopatycznej pęcherzycy (Khashoggi i wsp. (2013).

Sole złota często stosowane jako alternatywna metoda w leczeniu pęcherzycy znane są również jako potencjalne wyzwalacze DIP. Auranofin jak wszystkie związki złota, w swojej cząsteczce zawiera grupę tiolową. Być może poprzez tą grupę modyfikuje międzykomórkowe struktury łączące (DSG1 i DSG3) czyniąc je immunogennymi, co w efekcie prowadzi do powstawania autoprzeciwciał i mediowanej immunologicznie akantolizy. Sole złota jako leki tiolowe mogą również wchodzić w reakcje biochemiczne z błonami komórkowymi, zaburzając procesy tworzenia keratynocytów i przylegania międzykomórkowego (akantoliza biochemiczna). Pierwszy etap w obu typach akantolizy w przebiegu DIP wymaga związania leku z błoną komórkową i wytworzenia połączeń „lek-cysteina” zamiast „cysteina-cysteina” w strukturze molekularnej DSG. Prowadzi to bezpośrednio do rozdzielenia komórek i wystąpienia akantolizy bez udziału mediatorów immunologicznych. Ewentualnie zmiana ta może również powodować modyfikację układu (konformacji) antygenów powierzchniowych komórki, czyniąc je immunogennymi, z następczą produkcją autoprzeciwciał. Na opisywane procesy dodatkowo nakładają się czynniki zewnętrzne. Prawdopodobnie u osób bez predyspozycji genetycznych do wystąpienia pęcherzycy, istnieją mechanizmy kontrolujące opisywane procesy. Natomiast u osób predysponowanych brak jest zdolności zahamowania potencjalnie niszczących reakcji. Potwierdza to obraz kliniczny pacjentów niepredysponowanych (w obrazie genotypownia HLA), u których przerwanie stosowania leku wyzwalającego pozwala osiągnąć często trwałą remisję (La Schiavo i wsp. 2004).

Leki przeciwpadaczkowe; Pochodne karboksamidu

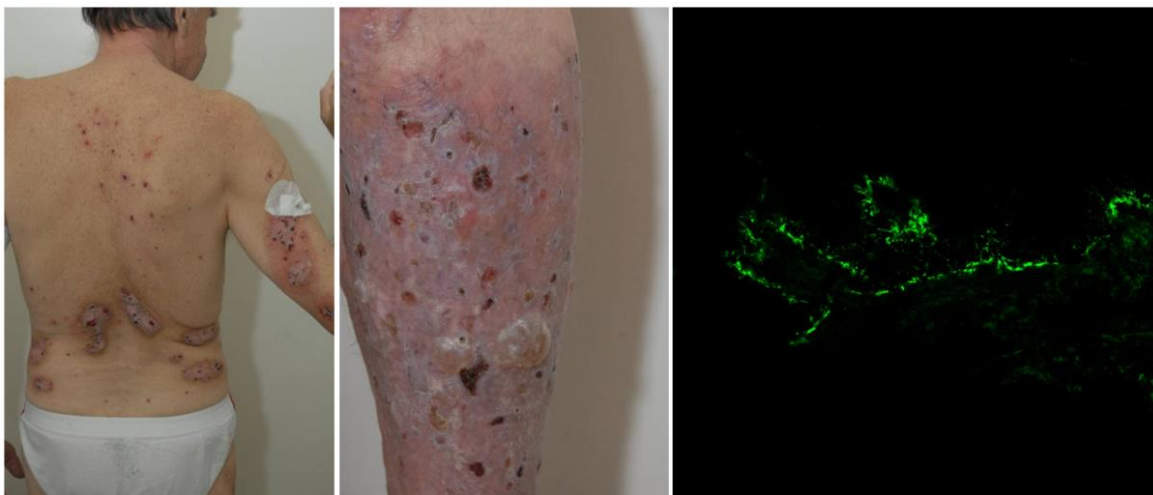
Karbamazepiny znane są ze swoich licznych działań ubocznych, w tym również objawów dermatologicznych. Jednak opisane przypadki DIP wywołanej przyjmowaniem leków z tej grupy są nieliczne. Karbamazepiny w swojej cząsteczce posiadają aktywną grupę amidową i zaliczają się do nietiolowych leków (Patterson i Davies 2003). Co ciekawe w surowicach pacjentów przyjmujących karbamazepiny, bez towarzyszących objawów dermatologicznych, również stwierdzano obecność autoprzeciwciał anti-DSG1 i anti-DSG3. W opisywanym badaniu u pacjentów przyjmujących

kwasy walproinowy nie obserwowano zależności występowania autoprzeciwciał od długości leczenia lub surowiczych poziomów karbamazepiny (Yoshimury i wsp. 2001).

5.2 Związek pemfigoid pęcherzowego i pemfigoidu błon śluzowych z chorobami neurologicznymi

BP jest najczęstszą ADP występującą u osób dorosłych, ze szczytem zapadalności w ósmej dekadzie życia i później. W przeciągu ostatnich 15 lat stwierdzono trzykrotny wzrost zapadalności na BP, z szacowaną liczbą 21,7 nowych przypadków na milion mieszkańców na rok (Joly i wsp. 2012). Podobnie w grupie osób powyżej 55 roku życia od 5% do 55% populacji dotknięta jest zaburzeniami neurologicznymi. Spośród najczęstszych chorób neurologicznych zaburzenia o typie ND jak demencja (choroba Alzheimera typu naczyniowego), PD i polineuropatia, dotyczą odpowiednio 12,4%, 10,2% i 9,1% osób w wieku podeszłym (Callixte i wsp. 2015). W związku ze starzeniem się populacji, zwiększona zapadalność na BP oraz ND staje się narastającym problemem zdrowia publicznego krajów rozwiniętych. W obliczu starzenia się społeczeństw, określenie czynników ryzyka wystąpienia BP oraz ND, wydaje się istotne dla rozwoju strategii zapobiegania i leczenia powyższych zaburzeń autoimmunizacyjnych. Pso dotyczy około 2% populacji Zachodniej i postrzegana jest jako przewlekła choroba o wieloczynnikowej etiologii, związana z różnymi czynnikami wyzwalającymi jak m.in. infekcje, stosowane leki oraz urazy. Występowanie zmian w Pso jest wyrazem autoreaktywnej odpowiedzi immunologicznej pacjenta (Wolff i wsp. 2013; Bologna i wsp. 2014). Pso uznawana jest za systemową chorobę zapalną, zależną od T-komórkowej odpowiedzi immunologicznej (mediowaną m.in. przez TNF- α i IL-23), dotyczącą skóry, stawów i układu sercowo naczyniowego (Bologna i wsp. 2014; Hunter i wsp. 2016). Zwiększone ryzyko sercowo-naczyniowe u pacjentów z Pso dotyczy występowania udarów mózgu (Reich i wsp. 2012; Tablazoni i wsp. 2014; Armstrong i wsp. 2013). W świetle ostatnich badań wysoka chorobowość zaburzeń psychiatrycznych, jak depresja u pacjentów z Pso może być następstwem układowego stanu zapalnego, a nie jedynie powikłaniem psychosomatycznym (Hunter i wsp. 2016). W niektórych badaniach stwierdzono również, że pacjenci z umiarkowaną do ciężkiej postaci Pso rozwijają współtowarzyszące objawy umiarkowanych zaburzeń kognitywistycznych (Gisondi i wsp. 2014). Opisywane są przypadki wcześniejszego (poprzedzającego) występowania Pso, przed rozwojem ADP, zwłaszcza BP. Zależność tą obserwowano również u pacjentów z naszego ośrodka (Dmochowski i wsp. 1993). Określenie „psoriasis bullosa acquisita” (Moris i wsp. 2002) zaproponowane dla opisu współwystępowania Pso z podnaskórkową ADP z wykrywanymi surowiczymi przeciwciałami IgG przeciw antygenowi p200, lamininie- γ -1, błędnie

wiązано z kolagenem typu VII, autoantygenem w EBA. Pso może poprzedzać wystąpienie każdej podnaskórkowej ADP, a praktycznie także każdej śródskórkowej ADP. Zdjęcia przedstawiają pacjenta z naszego ośrodka, u którego po wieloletnim przebiegu Pso na podstawie obrazu klinicznego i badań laboratoryjnych rozpoznano BP (Ryc. 8). Badanie oparte na porównaniu grup pacjentów z populacji dwóch różnych dermatoz zapalnych o podłożu autoimmunizacyjnym, które w niniejszej pracy dotyczyło populacji pacjentów z BP i Ps, wydaje się dostarczać więcej klinicznie istotnych informacji niż badania wykorzystujące jako grupę kontrolną wyłącznie populację osób zdrowych.



Ryc. 8 Pacjent z Pso i BP (obraz kliniczno-laboratoryjny). Badanie DIF konfokalna: uwidoczniono złogi IgG4 wzdłużnie w DEJ. Technika ELISA wykryto surowicze przeciwciała IgG wobec BP180 IgG >200RU/ml i BP230 >200RU/ml (punkty odcięcia 20RU/ml). Opublikowano pierwotnie w: Bartkiewicz P. i wsp. Adv Dermatol Allergol 2017; 24(1): 42–46.

Autoimmunizacyjne choroby układu nerwowego mogą współwystępować z procesami autoimmunizacyjnymi skierowanymi przeciwko antygenom skórnym, co przypuszczalnie odzwierciedla stan zwiększonej podatności na zaburzenia typu immunologicznego u predysponowanych osobników. Brakuje jednak szerszych informacji dotyczących potencjalnego związku etiopatogenetycznego pomiędzy występowaniem BP i ND. W grupie pacjentów z BP z KiKD UMP chorobowość ND (28,13%) mieściła się w przedziale wyznaczonym we wcześniejszych badaniach (europejskich i brazylijskich), wynoszącym 22-46% (Taghipour i wsp. 2010, Cordel i wsp. 2007; Langan i wsp. 2011; Tarazona i wsp. 2015; Jedlickova i wsp. 2010). Czynniki środowiskowe oraz genetyczne mogą wpływać na tak znaczny rozrzut wyników w poszczególnych badaniach. Prawdopodobnie część pacjentów w grupie BP-ND pozostaje niezdiagnozowanych. Wynika to między innymi z pomijania przez dermatologów w dokumentacji medycznej wpisów o zaburzeniach neurologicznych. Taki stan rzeczy prowadzi do zaniżenia liczby

pacjentów włączanych do dalszej oceny. Niska świadomość wśród wykwalifikowanego personelu medycznego dotycząca współwystępowanie ND z BP może w sposób niezamierzony wpływać na wiarygodność badań.

Chorobowość incydentów mózgowo-naczyniowych u pacjentów z BP (12,5%) obserwowana w KiKD UMP była podobna do obserwacji z badań francuskiej grupy badawczej (15%), jednak zdecydowanie niższa niż raportów brytyjskich (44,4%) (Taghipour i wsp. 2010; Cordel i wsp. 2007; Tarazona i wsp. 2015). Być może wcześniej wspomniane czynniki, ale także wysoka śmiertelność pacjentów z udarem mózgu w polskiej populacji może wpływać na liczbę zgłaszanych incydentów w grupach badanych.

PD stwierdzona była u 5,21% pacjentów z BP z KiKD UMP, w porównaniu do 9% w badaniu francuskim i aż 30% w badaniu brytyjskim (Taghipour i w sp. 2010; Cordel i wsp. 2007; Tarazona i wsp. 2015). Jednocześnie w grupie kontrolnej z Pso z poznańskiego ośrodka wskaźnik ten był zdecydowanie niższy (0,67%). Natomiast w 5-letnim badaniu obserwacyjnym na Tajwanie stwierdzono zwiększone ryzyko wystąpienia PD u pacjentów z Pso (Sheu i wsp. 2013).

UnsD w grupie badanych z BP z KiKD UMP dotyczyły 5,21% pacjentów. Co ciekawe częstość występowania demencji w grupie pacjentów z Pso (9,4%) była wyższa niż w grupie z BP (5,21%) – wyniki bez istotności statystycznej. W porównaniu do badania populacyjnego prowadzonego na obszarze Polski Środkowozachodniej, w którym oszacowana częstość występowania demencji wynosiła 5,7% u osób w wieku powyżej 65 lat (Rossa 1997). Jednak wskaźnik ten jest ponad dwukrotnie wyższy dla Wielkiej Brytanii – 13% (Brick i wsp. 2014).

Badania epidemiologiczne potwierdzają związek BP i ND, jednak patomechanizm łączący poszczególne choroby oraz charakterystyka immunologiczna pacjentów pozostaje nie w pełni określona. W BP przeciwciała skierowane są przeciwko składowym HD, strukturom odpowiedzialnym za połączenie podstawnych keratynocytów naskórka ze strefą DEJ błony podstawnej. HD zbudowane są ze składowej wewnątrzkomórkowej, łączącej się z filamentami pośrednimi oraz składowej pozakomórkowej, łączącej się z macierzą pozakomórkową blaszki podstawnej (basal lamina, BL) tworzącej błonę podstawną (basement membranę, BM). BP230 (BPAG1) jest białkiem o masie 230-kDa łączącym wewnątrzkomórkowe filenty pośrednie z HD. Specyficzne przeciwciała IgG u pacjentów z BP wiążą się z COOH-końcową domeną BP230. Drugi główny antygen BP180 (BPAG2) jest białkiem przezbłonowym o masie cząsteczkowej 180-kDa, które wiąże wewnątrzkomórkowe białka jak między innymi BP230 do zewnątrzkomórkowej macierzy. Przeciwciała IgG skierowane są głównie przeciwko niekolagenowemu fragmentowi 16A

(NC16A) ektodomeny BP180. Przeciwciała IgG anty-BP180 stwierdzone są u ponad 90% pacjentów z BP. Oba białka BP180 i BP230 wykazują ekspresję również w układzie nerwowym, choć w formie odmiennych izotypów (Amber i wsp. 2017). BPAG1 posiada różne izoformy jak BPAG1a, BPAG1b, BPAG1e, wykazujące ekspresje odpowiednio w tkance nerwowej, mięśniowej i komórkach naskórka. C-końcowe powtórzenia BPAG1 uczestniczą w wiązaniu filamentów keratynowych, podczas gdy N-końcowe domeny odpowiadają za ochronę przed zewnątrzkomórkowymi proteazami. Ponadto BPAG1 odgrywa kluczową rolę w przekazywaniu sygnałów w komórkowych drogach transdukcji. BPAG1a i BPAG1e uważane są za kluczowe izoformy związane z patogenezą ADP i chorób neurologicznych. Genetyczne polimorfizmy BPAG1 mają odzwierciedlenie w obrazie klinicznym dziedzicznych chorób pęcherzowych. Mutacje genetyczne izoform BPAG1 leżą u podstaw EB i wielu ND (Ali i wsp. 2017).

5.2.1 Rola BPAG1 w patomechanizmie pemfigoidu pęcherzowego i chorób neurodegeneracyjnych

Spektroplakiny są wielofunkcyjnymi, wysoce konserwatywnymi białkami strukturalnymi cytoszkieletu, które pełnią funkcję komunikatorów integrujących składowe cytoszkieletu z błonami plazmatycznymi oraz połączeń międzykomórkowych. BPAG1 jest białkiem należącym do rodziny spektroplakin, kodowanym przez gen *BPAG1*, wykazuje ekspresję w różnych tkankach. Spektroplakiny obecne są również wśród organizmów obcogatunkowych dla ssaków, jak np. *Drosophila melanogaster*. Alternatywny splicing genu *BPAG1* i wykorzystanie promotora, skutkuje powstaniem różnych jego izoform z odmienną strukturą i odrębnymi domenami. Izofornie BPAG1 w tym między innymi BPAG1a (600-kDa), BPAG1b (800-kDa), BPAG1e (300-kDa), różnią się funkcją i dystrybucją tkankową. Dodatkowo przynajmniej trzy różne miejsca inicjacji transkrypcji prowadzą do powstania różnych transkryptów *BPAG1*, kodującego różne izoformy BPAG1a/b. BPAG1 odgrywa istotną rolę w szeregu mechanizmów biologicznych, jak organizacji cytoszkieletu, polaryzacji komórek, przyleganiu i migracji komórek, jak również transdukcji sygnałowej. Genetyczne mutacje izoform BPAG1 odgrywają rolę w EB simplex i wielu chorobach neurologicznych jak dziedzicznej czuciowej autonomicznej neuropatii typu VI (HSAN-VI). BPAG1a posiada również dalsze własne izoformy (a1, a2, a3), mogące różnić się w swoich N-końcowych fragmentach. BPAG1a wykazuje ekspresję w OUN i ObUN. Alternatywny splicing skutkuje występowaniem izoform a1, a2, a3 również poza układem nerwowym, między innymi w nerkach, płucach, śledzionie, wątrobie, jajnikach i jądrach. Podobnie BPAG1b posiada dodatkowe trzy izoformy (b1, b2, b3) z różnymi N-końcowymi i C-końcowymi sekwencjami. Izoforna BPAG1b wykazuje głównie ekspresję w mięśniu sercowym oraz mięśniach szkieletowych, z tego

względu określana jest izoformą mięśniową. Ponadto podobnie do BPAG1a występuje również w wątrobie, płucach, śledzionie, jajnikach i jądrach, nabłonku języka i chrząstkach żeber. BPAG1e występuje w mioblastach i komórkach nabłonka (epitelialnych). Epidermalna izoforma BPAG1 (BPAG1e), która występuje w podstawnych warstwach nabłonka skóry jest główną składową HD.

Identyfikacja BP230, jako jednego z głównych autoantygenów dla BP w 1981 roku (Stanley i wsp.) rozszerzyła zrozumienie patogenezy ADP. Jednak sklonowanie genu i rozwinięcie modeli zwierzęcych z projektowanymi mutacjami genowymi lub spontanicznymi mutacjami mysimi ujawniły złożoność struktury genowej kodującej BP230. Gen *BPAG1* składa się przynajmniej ze 100 eksonów i koduje trzy główne izoformy, nabłonkową (BPAG1e), neuronalną (BPAG1a) i mięśniową izoformą (BPAG1b). Sekwencja białkowa BPAG1e/BP230 wykazuje organizację składającą się z wielu domen podobną do desmoplakin i plektyn, dwóch innych członków rodziny białek plakinowych. Złożoność funkcji transkryptu *Bpag1* stwierdzono u myszy z wyciszonym genem *Bpag1e* (knockout), u których obserwowano oprócz zespołu wrażliwej skóry (wywołanego nieobecnością *Bpag1e* w HD), także dystonię i degenerację czuciowych włókien nerwowych. Objawy były zbieżne z obserwacjami nad myszami z ND znaną jako dystonia mięśniowa. Izofорма neuronalna BPAG1 początkowo nazywana BPAG1n, jak sądzono wykazuje bardzo podobną strukturę do BPAG1e, posiadając dodatkową domenę wiążącą aktyne (actin-binding protein, ABD) w N-końcowym fragmencie. Nie udało się jednak potwierdzić ekspresji BPAG1n w mózgu lub innych mysich tkankach przy użyciu RT-PCR oraz techniki northern blot. Stwierdzono natomiast dwa nowe transkrypty *BPAG1*, jeden występujący zwłaszcza w mózgu oraz drugi w mięśniach, izoformy nazwano odpowiednio BPAG1a i BPAG1b. Obie izoformy posiadają wspomnianą ABD w N-końcowym fragmencie, podobnie do BPAG1n, jednak współdzielią tylko jedną wspólną domenę z BPAG1e, domenę plakinową. Z powodu różnych miejsc początkujących transkrypcję oraz alternatywnego splicingu *BPAG1* koduje różne warianty zarówno BPAG1a i 1b z heterogenną dystrybucją w tkankach. Izoforme te różnią się nieznacznie w swoich N- i C-końcowych domenach. Rodzina białek plakinowych poza BPAG1 obejmuje również plektyny, desmoplakiny, czynnik MACF1 (microtubul-actin crosslinking factor 1), enwoplakiny, periplakiny i epiplakiny. Początkowo stwierdzone w komórkach epitelialnych, gdzie plakiny łączą głównie keratynowe filamenty pośrednie (IF) z desmosomami i HD. Następnie stwierdzono je w innych tkankach jak mózg i mięśnie. W skórze i mięśniach BPAG1, plektyny i desmoplakiny pełnią funkcje strukturalne odpowiadające za mechaniczną odporność i zachowanie cytoarchitektury tkanki. Modułowa struktura plakin zapewnia im zdolność do wiązania szeregu różnych białek oraz pełnienia specyficznych funkcji. Plakiny kształtują mikrofilamenty, filamenty pośrednie oraz mikrotubule

sieci cytoszkieletu, poprzez łączenie ich między sobą oraz określonych obszarów błon cytoplazmatycznych, błony jądrowej oraz organelli w komórkach różnych tkanek. Działają również jako adaptory dla białek sygnałowych, które modulują dynamikę cytoszkieletu, migrację komórek, ich różnicowanie i reakcje na czynniki stresowe.

Plektyna wykazuje ekspresję w nabłonku wielowarstwowym różnych tkanek, w tym również w skórze. W naskórku występują trzy różne izoformy plektyny; 1, 1a i 1c, różniące się między sobą N-końcowymi fragmentami oraz wykazują różne właściwości. Plektyna 1a występuje głównie w HD. Region plektyny wiążący filamenty pośrednie łączy się z kilkoma typami białek filamentów pośrednich, w tym naskórkowych keratyn, keratyn nabłonków, mięśniowo-specyficznych desmin, a także różnych specyficznych dla OUN filamentów pośrednich. Genetyczny defekt plektyny u człowieka skutkuje wystąpieniem EB Simplex (EBS), które w różnym stopniu wiąże się z występowaniem atrezji odźwiernika, dystrofii mięśniowej, atrofii mózgowej lub oftalmoplegi. Pacjenci z EBS i dystrofią mięśniowa mogą również rozwijać objawy miasteniczne, związane z zaburzeniami płytki końcowej (EPP). Zauważalnie defekty poszczególnych izoform plektyny, które pełnią tkankowo specyficzne funkcje, prowadzą do określonych objawów fenotypowych w różnych narządach. Przykładowo mutacja *PLEC* w eksonie 1a, prowadząca do uszkodzenia plektyny 1a wywołuje autosomalnie-recesywną skórno-dominującą postać EBS. Mutacja dotycząca wyłącznie plektyny 1f prowadzi do izolowanej postaci dystrofii mięśniowej obręczowo-kończynowej (LGMD). Plektyna stanowi również potencjalny autoantygen w BP oraz PNP zaliczanej do ciężkiego wielonarządowego autoimmunizacyjnego zespołu paraneoplastycznego.

BPAG1e jest wyspecjalizowaną składową HD, które stanowią połączenia zawierające zapewniające ścisłe przyleganie komórek i macierzy w rogowaciejącym i psudorogowaciejącym nabłonku m.in. naskórka i błon śluzowych. BPAG1e wykazuje ograniczoną tkankowo ekspresję, zwłaszcza w naskórku, twardówce i pęcherzu. N-końcowy fragment BPAG1e wykazuje interakcje z podjednostką $\alpha\beta4$ -integryny oraz domeną plakinową BP180, to jest dwoma pozostałymi składowymi HD. N-końcowy fragment BPAG1e włącznie z domeną plakinową mogą wchodzić w interakcje z innymi białkami strukturalnymi. Jednak zależność ta pozostaje niewyjaśniona. C-końcowy fragment BPAG1e specyficznie wiąże się z K5/K14 filamentami pośrednimi, synergistycznie z plektyną, łącząc je z HD. Jak wykazano BPAG1e wiąże się jedynie do naskórkowych keratyn, jak K5/K14 i K6/K17, ale nie do prostych keratyn, desminy i wimentyny. Spektraplakiny BPAG1a i BPAG1b to odległe spokrewnione z BPAG1e białka od dużych masach cząsteczkowych odpowiednio 625-kDa i 834-kDa (Ali i wsp. 2017).

Myszy chorujące na dystonię mięśniową wykazywały fenotyp dziedziczonej recesywnie neuropatii przebiegającej z ciężkimi zaburzeniami kontroli ruchowej, degeneracją neuronów czuciowych i ruchowych oraz wczesną śmiercią. Fenotyp ten wywoływany jest współwystępującą inaktywacją BPAG1a i BPAG1b. Stwierdzono przynajmniej dziewięć różnych mutacji genu BPAG1 u różnych szczepów myszy z dystonią mięśniową (Kunzli i wsp. 2016).

W skórze, nabłonkowa izoforma BPAG1 (BP230) BPAG1e wykazuje ekspresję jako białko wewnątrzkomórkowe. W modelach badawczych wyciszenie genu (knockout) BPAG1e skutkowało poza zwiększoną wrażliwością skóry, także zaburzeniami neurologicznymi jak dystonia i czuciowa degeneracja. Wykazano, że gen kodujący BPAG1e dodatkowo koduje neuronalną izoformę BPAG1. Poza zachowaną wiążącą aktywną domeną NH₂-końcowego fragmentu i wspólną domeną plakinową, izoforma neuronalna wykazuje niewielkie podobieństwo z BPAG1e. W skórze domena ta współdziała z BP180 (Amber i wsp. 2017). W układzie nerwowym BPAG1 odgrywa istotną rolę zarówno w antero- i retrogradowym transporcie. Mutacja w genie *BPAG1* w komórkach HEK 293T skutkuje zniszczeniem mikrotubul, przez zmniejszenie ich acetylacji, która kontrolowana jest przez BPAG1a/b – białko wiążące MAP1B. Izoformy BPAG1 są ściśle związane z retikulum endoplazmatycznym i aparatem Golgiego. Ze względu na udział BPAG1a/b w transporcie pęcherzykowym, zaburzenia w jego ekspresji mogą wpływać na zaburzenia w aparacie Golgiego. W przypadku komórek neuronalnych, kolokalizacja BPAG1 z układem pęcherzykowym odbywa się głównie przez mikrotubule. Ponadto kontroluje organizację i funkcję filamentów aktynowych. Uczestniczy także w tworzeniu cytoszkieletu i wewnątrzkomórkowego transportu między komórkami neuronalnymi oraz regulacji dróg mózdkowo-wzgorzowo-prążkowych (cerebello-thalamo-striatal pathway) (Ali i wsp. 2017). W przypadku zaburzeń ekspresji BPAG1 na poziomie komórkowym zaobserwowano dezorganizację neurofilamentów, agregację organelli związanych z błoną komórkową, zaburzenia autofagii, dyspersję aparatu Golgiego oraz dylatację retikulum endoplazmatycznego. Wpływ niedoboru BPAG1 na mikrotubule oraz antero-retrogradowy transport w neuronach pozostaje nie w pełni wyjaśniony ze względu na sprzeczne wyniki badań (Kunzli i wsp. 2016).

Jak wspomiano mutacje w genie *Bpag1* mogą wywoływać zmiany na poziomie fenotypowym u myszy, u których obserwowano postępującą degenerację w obrębie układu nerwowego, zwłaszcza neuronów czuciowych. Bpag1e wiąże filamenty keratynowe do HD a jego niedobór prowadzi fenotypowo do skóry nadwrażliwej u *Bpag*^{-/-} myszy. Myszy z wyciszonym genem *Bpag1* (knockout) wykazują podobny obraz kliniczny, wynikający z zaburzenia funkcji HD. Istotność tych obserwacji na poziomie mikrostruktury podkreśla zmniejszenie liczby HD oraz

fenotypowo hipoplazja obserwowana u pacjentów z JEB (junctional epidermolysis bullosa) z atrezią odźwiernika żołądka (JEB-PA). Patogenetyczna rola BPAG1 w chorobach skóry ujawnia się w przypadku nonsensownej mutacji genu *BPAG1* wpływającej na izoformę BPAG1e, objawiająca się klinicznie jako EBS, z uwrażliwieniem keratynocytów podstawnych i tworzeniem pęcherzy. Epidermalna izoforma BPAG1 wykazuje związek z integrynymi HD i cytoszkieletu K5/K14, które stabilizują połączenia hemidesmosomalane. Mutacje w domenach *BPAG1e* p.Q1124X i R1249X wpływają na wewnętrzną płytkę HD, filamenty keratynowe, plektyny, integryny β -4 i BPAG2. Obie mutacje promują występowanie indukowanych czynnikami mechanicznymi pęcherzy i nadżerek w miejscach narażonych na urazy. Mutacja genu *BPAG* w keratynocytach może wywoływać utratę ich adhezji, przyspiesza migrację komórek i podwyższa poziom nieprawidłowych białek jak integryny β -1, β -4 oraz keratyny 14 (Ali i wsp. 2017). Myszy z wyciszonym genem (*knockout-bpag1*) wykazują dyskretne tworzenie pęcherzy na skutek zaburzonego przyłączania filamentów pośrednich keratyny do HD w keratynocytach podstawnych. Dodatkowo obserwowano pogorszenie gojenia ran na skutek zaburzonej migracji keratynocytów. Przez analogię, u człowieka homozygotyczne mutacje nonsensowne *BPAG1* specyficycznie dotyczące BPAG1e skutkują wystąpieniem EBS ze zwiększoną wrażliwością keratynocytów podstawnych, brakiem płytki desmosomu i indukowanym urazem tworzeniem pęcherzy. Hodowle keratynocytów pozyskiwanych od pacjentów z EBS wywołanej przez mutacje *BPAG1* specyficycznie obejmujące BPAG1e wykazują obniżenie adhezji międzykomórkowej i zwiększenie poziomu migracji. To drugie zjawisko zależne jest od ekspresji podjednostek β -4 i β -1 integryny. U człowieka defekt *BPAG1* wywołuje również niepostępującą encefalopatię, ciężką ruchową i mentalną retardację oraz opóźnione dojrzewanie wzrokowe. Początkowo podejrzewano, że obraz fenotypowy jest skutkiem haploinsuficjencji BPAG1. Tym niemniej heterozygotyczne mysie mutanty z dystonią mięśniową wykazywały prawidłowy (bezobjawowy) fenotyp. Z tego względu u pacjenta negatywny wpływ stwierdzonej mutacji prawdopodobnie wynika z dominującego negatywnego efektu wywieranego w OUN przez skróconą postać BPAG1a/b (Kunzli i wsp. 2016).

5.2.2 Rola BPAG2 w patomechanizmie pemfigoidu pęcherzowego i chorób neurodegeneracyjnych

Poza BPAG1e w badaniach immunochemicznych z wykorzystaniem techniki western blotu zidentyfikowano białko o masie względnej 180-kDa nazwane BP180 lub BPAG2, uznawane obecnie za główny autoantygen w BP. Analogicznie do BPAG1e, BP180 wykazuje ekspresję wzdłuż DEJ, a na poziomie ultrastruktury lokalizuje się w HD. Techniki klonowania molekularnego wykazały, że BPAG2 należy do rodziny kolagenów (typ XVII). BP180 uczestniczy w przyleganiu

keratynocytów przez interakcje z białkami macierzy pozakomórkowej, między innymi z lamininą 332 (Kunzli i wsp. 2016). BP180 jest przezbłonowym białkiem z zewnątrzkomórkową domeną NC16A i proponowane jest jako główny cel odpowiedzi immunologicznej w BP. W przypadku tkanki nerwowej wykazuje ekspresję wewnątrzkomórkowo, a domena NC16A również stwierdzana jest wewnątrzkomórkowo. Jednocześnie BP180 wykazuje szerokie rozpowszechnienie w tkance nerwowej między innymi w ludzkiej korze mózgowej, hipokampie, ciele migdałowatym, siatkówce, mózdzku, opuszce węchowej. W siatkówce BP180 wraz z lamininą tworzą kompleksy stabilizujące synapsy (Amber i wsp. 2017). Stwierdzono również, że 1/3 pacjentów z PD ma mierzalne autoprzeciwciała w klasie IgG anty-BP180, które nie wykazują reaktywności względem skóry. Te specyficzne autoprzeciwciała wiążą się również z substancją szarą. W tej grupie pacjentów stwierdzano podwyższone poziomy przeciwciał anty-BPAG2, pomimo braku manifestacji skórnej choroby (nie rozpoznawano u nich BP). W jednym z badań, u 28% pacjentów (14 z 50 pacjentów) z ND (25 pacjentów z PD i 25 pacjentów z nie-parkinsonowską demencją) wykazano w surowicy obecność przeciwciał dla BPAG2. Wśród seropozytywnych pacjentów tylko u jednego (pacjent z PD) stwierdzono obecność przeciwciał wobec patogennego epitopu NC16A (Messingham i wsp. 2015). Podobnie u 1/5 pacjentów z demencją stwierdzono reaktywność IgG przeciwko wewnątrzkomórkowej składowej BP180. Również w pemfigoidzie ciężarnych stwierdzono dodatkowo występowanie reaktywności IgG przeciwko wewnątrzkomórkowym epitopom BP180 pochodzenia skórniego. Związek BP z ND częściowo może być tłumaczony zjawiskiem rozprzestrzeniania się epitopów, które z powodu uszkodzeń OUN zostają eksponowane. Jednak relatywnie niska incydencja BP w tych grupach chorych sugeruje wieloczynnikową patogenezę (teoria „multi-hit”) (Amber i wsp. 2017).

Przeciwciała pacjentów z BP w klasie IgG anty-BP180 głównie wiążą się z immunodominującym regionem, niekolagenowej domeny 16A (NC16A) zlokalizowanej na pozakomórkowym fragmencie białka, w pobliżu przezbłonowej domeny BP180. Jednocześnie wielu pacjentów z BP posiada w surowicy przeciwciała w klasie IgG, które wiążą się z BPAG1e. Te przeciwciała reagują z antygenowymi regionami rozproszonymi na powierzchni całej molekule, pomimo że C-końcowa domena BPAG1e zawiera immunodominujące epitopy. W przeciwieństwie do BP180, BPAG1e jest wewnątrzkomórkowym białkiem, które pierwotnie pozostaje nierozpoznane przez układ immunologiczny. Przeciwciała anty-BPAG1e IgG są zdolne do wnikania do komórki, jednak wpływ BPAG1e w BP na zainicjowanie procesu autoimmunizacji jest niewyjaśniony. U pacjentów z BP reaktywność IgG wobec wewnątrzkomórkowej BPAG1e nigdy nie poprzedza rozpoznania przezbłonowego białka BP180. Na modelach mysich autoprzeciwciała

wobec Bp180 niezmiennie pojawiają się przed wystąpieniem przeciwciał anty-Bpag1e, co może sugerować, że ich wystąpienie jest następstwem rozprzestrzeniania się epitopów po inicjującym uszkodzeniu tkanki. Obecne modele BP zakładają w patogenezie udział przeciwciał wobec zewnątrzkomórkowego immunodominującego epitopu BP180, które prowadzą do uszkodzenia tkanki i równocześnie wyeksponowania antygenowo reaktywnych miejsc wewnątrzkomórkowej domeny BP180 i BPAG1e (Ali i wsp. 2017). Dotychczasowe badania dowodzą, że obraz kliniczny pacjentów z BP, u których stwierdzono wyłącznie przeciwciała anty-BPAG2 IgG może różnić się o pacjentów, u których stwierdza się wyłącznie przeciwciała anty-BPAG1 IgG (Dmochowski i wsp. 2013). Natomiast w prowadzonym również w KiKD UMP badaniu retrospektywnym nie stwierdzono, aby surowicze poziomy przeciwciał w klasie IgG przeciwko BPAG1 lub BPAG2 wpływały na występowanie ND u pacjentów z BP (Gornowicz-Porowska i wsp. 2015b). Jednocześnie wydaje się na podstawie dostępnych wyników badań, że chorobowość ND może być wyższa u pacjentów z BP, u których stwierdza się równocześnie przeciwciała zarówno przeciw BPAG1 oraz BPAG2, zwłaszcza w płynie mózgowo-rdzeniowym (cerebrospinal fluid, CSF).

5.2.3 Reakcje krzyżowe pomiędzy antygenami skórnymi i neuronalnymi

W związku ze starzeniem się organizmu dochodzi również do specyficznych zmian dotyczących układu immunologicznego. Związane z wiekiem zaburzenia dotyczą między innymi dominacji prozapalnych mediatorów oraz przestawienia odpowiedzi na typ Th-2 zależny, z równoczesnym obniżeniem odporności nabytej. Badania cytometrii przepływowej krwi obwodowej u pacjentów z BP wykazały obecność biomarkera „wyczerpania komórek immunologicznych” (immune cell exhaustion) tj. limfocytów CD8+/CD28- w porównaniu do dobranej pod względem wieku grupy kontrolnej. Zjawisko to może w sposób istotny zwiększać ryzyko wystąpienia degeneracji tkanek u pacjentów z BP, Pso oraz ND (Noe i wsp. 2015).

Chorobowość BP jest zwiększona wśród pacjentów z ND. W porównaniu do ostrych uszkodzeń mózgu (np. wywoływanych urazem), ND jak demencja, udar mózgu, PD są często związane z występowaniem BP. Równocześnie stwierdza się zwiększoną chorobowość ND u pacjentów z BP. Wystąpienie ND często poprzedza BP. A interwał czasowy waha się od miesięcy do lat (Chen i wsp. 2011). Stwierdzona wysoką chorobowość zaburzeń neurologicznych wśród pacjentów z BP, skłania niektórych autorów do traktowania BP jako marker ND. Neuro-autoimmunizacja związana ze starzeniem oraz zaburzenia neurologiczne mogą uczestniczyć w rozwoju BP przez wystąpienie odpowiedzi immunologicznej wobec BPAG1a która wykazuje homologię z BPAG1 (Foureur i wsp. 2001). Izoforma nabłonkowa BPAG1e występuje wyłącznie w

skórce, natomiast mRNA BPAG1a i BPAG1b stwierdzane są także w skórce, jednak w mniejszych ilościach, niż odpowiednio w tkance nerwowej i mięśniu sercowym. Ze względu na nakładanie się wzorów ekspresji w skórce i podobieństw w zakresie sekwencji pomiędzy BPAG1e oraz BPAG1a, możliwe są krzyżowe reakcje immunologiczne u pacjentów z BP i ND (Chen i wsp. 2011). Sekwencja aminokwasów BPAG1 jest wysoce konserwatywna (96%) pomiędzy gatunkami (mysim i ludzkim). Stwierdzono, że białka BPAG1 (230-kDa) i 180-kDa z tkanki mózgowej myszy mogą być rozpoznawane przez surowice pacjentów z BP i ND, co może świadczyć, iż BPAG1 może być wspólnym autoantygenem dla chorób neurologicznych i dermatologicznych. W badaniu techniką immunoblotingu w kierunku białek strukturalnych skóry i mózgu, oceniano czy surowica pacjentów w wieku podeszłym z BP i ND mogą rozpoznawać antygeny BP w ludzkiej tkance mózgowej. Stwierdzono, że surowice rozpoznawały białko 230-kDa pochodzenia naskórkowego u 72,2% pacjentów z BP i ND, w 50% pacjentów z BP i u żadnego (0%) pacjenta z ND i zdrowej grupy kontrolnej. Białko 230-kDa pochodzące z ludzkiej tkanki mózgowej było rozpoznawane przez surowice 54,5% pacjentów z BP i ND, 9,1% z BP, 9,1% z ND i 4,5% z grupy kontrolnej. Białka 180-kDa i 165-kDa mogą również być rozpoznawane przez część surowic pacjentów z BP i BP z ND. Może to sugerować, że surowice pacjentów z BP i ND zawierają przeciwciała, które łatwo reagują z antygenami mózgowymi oraz że te przeciwciała skierowane przeciwko neuronalnej formie BPAG1 mogą krzyżowo reagować z izoformą naskórkową. Badanie wykazało, że zarówno ludzka skóra, jak i tkanka mózgowa zawiera immunogenne BPAG1 u pacjentów z BP i ND. Być może procesy starzenia OUN u osób w wieku podeszłym z ND prowadzą do wyeksponowania neuronalnych izoform BPAG1 lub innych autoantygenów BP. Autoprzeciwciała wobec mózgowych antygenów mogą reagować krzyżowo ze skórnymi antygenami, a zjawisko to może leżeć u podłoża wystąpienia BP (Chen i wsp. 2011).

Rozwinięciem hipotezy dotyczącej związku patogenetycznego BP z ND jest wystąpienie akumulacji pośrednich neurofilamentów i wtórnej autoimmunizacji wobec neuronalnej izoformy BPAG1. Badania na myszach z wyciszonym genem neuronalnego BPAG1 (knock-out mice) wykazują fenotyp z ciężką neurodegeneracją i dystonią, wywołany akumulacją pośrednich neurofilamentów w neuronach motorycznych. Sugeruje się, że akumulacja neurofilamentów może indukować przełamanie tolerancji immunologicznej wobec izoformy BPAG1, która z kolei może prowadzić do krzyżowej reakcji wobec epidermalnej izoformy BPAG1 (Cordel i wsp. 2007).

Badania epidemiologiczne wykazały istotny statystycznie związek BP z ND, zwłaszcza demencją, PD, MS, oraz chorobami naczyniowymi układu nerwowego. Jednocześnie pacjenci z ND wykazują zwiększone ryzyko wystąpienia BP. ND, dla których stwierdzano związek z BP są niemal

niezmiennie uznawane za typowe choroby mediowane immunologicznie przez przeciwciała. Z tego względu postuluje się systematyczną ocenę obecności autoprzeciwciał wobec BPAG1a i 1e u pacjentów z ND. Nasuwa to pytanie czy ekspozycja na antygeny neuronalne przez upośledzenie bariery mózgowo-naczyniowej ma wpływ na rozwój BP. Choć ekspresja BPAG1a w mózgu może być logicznym wyjaśnieniem związku ND z BP przez krzyżowe reakcje immunologiczne pomiędzy antygenami pochodzenia skórniego i z OUN, to nie we wszystkich badaniach uzyskano przekonujące wyniki. Autoprzeciwciała wobec domeny plakinowej BPAG1, która obecna jest we wszystkich izoformach BPAG1, stwierdzane były w płynie mózgowo-rdzeniowym 25% zdrowych osobników oraz 27% pacjentów z MS i 20% pacjentów z innymi zapalnymi ND. Do grupy tych ostatnich należały neuro-borelioza, zapalenie naczyń mózgowych i zapalenie mózgu wywołane ludzkim wirusem nabytego niedoboru odporności (HIV). Z tego względu stwierdzoną immunoreaktywność uznano za niespecyficzną i nieistotną w patogenezie ND. Natomiast przeciwciała wobec C-końcowego fragmentu BPAG1e stwierdzono tylko w niewielkiej grupie pacjentów z MS (11% przypadków). Znaczenie tego wyniku pozostaje dyskusyjne ze względu na nieobecność C-końcowego fragmentu BPAG1e w BPAG1a i BPAG1b.

Domena plakinowa nie jest immunodominującym regionem BPAG1e w BP. Ponadto brakuje mocnych dowodów, że przeciwciała anti-BPAG1e są patogenetyczne i specyficznie zaangażowane w początkowe etapy uszkodzenia skóry w BP. Dodatkowo profile ekspresji BPAG1a w OUN nie wykazują korelacji z heterogennym spektrum ND związanych z BP. Możliwe, że zależnie od zajętego obszaru OUN, specyficzne reakcje autoimmunizacyjne wobec neuropilnych izoform BPAG1 skutkują określonymi zaburzeniami funkcji związanymi z różnymi fenotypami klinicznymi (Ali i wsp. 2017).

Podczas gdy u pacjentów z BP stwierdzana jest immunoreaktywność IgG przeciwko BPAG1, często choć nie zawsze poprzedzona jest reaktywnością anti-BPAG2, co sugeruje zjawisko rozprzestrzeniania się epitopów, a nie pierwotne antygenowe podłoże autoimmunizacji. Niektóre badania na populacjach geriatrycznych ze świadomymi dermatozami wykazały częstsze występowanie przeciwciał anti-BP230.

Jednak krzyżowe reakcje pomiędzy BPAG1e z BPAG1a/b jako czynnik patogenetyczny pomiędzy BP a chorobami neurodegeneracyjnymi wydaje się wątpliwy, ponieważ jak już wspomniano konserwatywna domena plakinowa nie jest obszarem immunodominującym w BPAG1e, przeciwciała anti-BPAG1e IgG nie są dominującymi i/lub poprzedzane są przez IgG

anty-BP180. Ponadto pacjenci z BP typowo nie wykazują objawów neurologicznych związanych z uszkodzeniem transkryptu *BPAG1* (Amber i wsp. 2017).

Potencjalny związek BP z ND może zależeć także od BP180. Ekspresję BP180 stwierdzono w mózgu człowieka z zastosowaniem technik immunohistochemicznych. Rola BPAG2 jako białka przezłonowego z długą domeną pozakomórkową wiąże się ze stabilizacją synaps w OUN (Khosravani i wsp. 2017). Ekspresja BP180 jest silnie wyrażona w korze i hipokampie, regionach mózgu będących obszarami predylekcyjnymi m.in. dla choroby Alzheimera. Autorzy we wcześniejszym badaniu na 115 pacjentach z chorobą Alzheimera, wykorzystując technikę ELISA stwierdzili przeciwciała przeciwko immunodominującej domenie NC16A antygeny BP180 u 19% pacjentów z chorobą Alzheimera i tylko u 2% pacjentów w grupie kontrolnej neurologicznie bezobjawowych osób. Poziomy przeciwciał wobec BP180 wykazywały zależność z ubytkiem kognitywistycznym u chorych neurologicznych. W innych badaniach oceniających obecność przeciwciał przeciw BP180 i BP230 u pacjentów z PD i MS uzyskiwano często sprzeczne wyniki, co do ich obecności (Försti i wsp. 2016). Ostatnio stwierdzono, że w chorobie Alzheimera i SM surowicze przeciwciała IgG wobec BP180 rozpoznają inne epitopy od tych rozpoznawanych w BP, co sugeruje, że same te przeciwciała w tych ND nie są wystarczające do wzbudzenia BP (Tuusa i wsp. 2018).

Jak wspomiano zarówno BP i ND wstępują częściej w populacji osób w wieku podeszłym. W celu oceny ewentualnego związku patofizjologicznego pomiędzy chorobami w jednym z badań oceniano również wystąpienie ND u pacjentów z rozpoznaniem już (wcześniej) BP. W opisywanej sytuacji nie wykazano istotnej statystycznie zależności, co może sugerować pośrednio, że to ekspozycja na antygeny neuronalne odgrywa rolę w rozwoju późniejszej immunizacji skórnej - BP (Langan i wsp. 2011). Zrozumienie patofizjologii BP jest szczególnie istotne ze względu na związany z chorobą wzrost śmiertelności pacjentów. Stosowanie sGKS zwiększa ryzyko powikłań i obniża wskaźniki przeżywalności. Pomimo wytycznych międzynarodowych zalecających terapie oszczędzające GKS, nadal powszechnie stosowane są terapie systemowe z ich wykorzystaniem (Kibsgaard i wsp. 2017).

5.2.4 Rola przeciwciał w patomechanizmie pemfigoidu pęcherzowego i chorób neurodegeneracyjnych

Przeciwciała wobec filamentów zakotwiczących keratynocytów dolnych warstw naskórka (antygeny docelowe BPAG1 i BPAG2) są kluczowe w patogenezie BP. Jednocześnie stanowią hipotetyczny czynnik łączący choroby kręgu BP z ND w mechanizmie reakcji

krzyżowych względem różnych izoform BPAG1. Postulowany mechanizm reakcji krzyżowych ma dotyczyć współwystępowania BP z MS, PD i demencją (Kibsgaard i wsp. 2017). Wysokie surowicze poziomy przeciwciał anti-BP180 i znaczne podwyższenie poziomu eozynofili w krwi obwodowej okazały się niezależnymi czynnikami predykcyjnymi dla wystąpienia ND w BP. Ponadto stwierdzono, że występowanie ND w 27% przypadków BP (w grupie pacjentów zamieszkujących poza domami opieki) koreluje z wysokimi poziomami BP180 oraz eozynofilią krwi obwodowej. Wczesne wystąpienie nacieków złożonych z komórek CD4+ T pomocniczych i eozynofili wydają się istotne w rozwoju zmian pęcherzowych. Aktywacja limfocytów Th2 pozwala na rekrutację i aktywację eozynofili w zmienionej zapalnie skórze i prowadzi dalej do uszkodzenia tkanki w BP. IL-5 odgrywa kluczową rolę w rekrutacji i aktywacji eozynofili. Znaczenie aktywacji eozynofili w patogenezie BP potwierdzają badania nad surowiczymi poziomami białka kationowego eozynofili, którego poziomy istotnie spadają po zastosowaniu leczenia immunosupresyjnego (Gambichler i wsp. 2015). Proponowany jest również udział mechanizmów zależnych od B-komórkowej odpowiedzi immunologicznej w związku patogenetycznym ND i BP. Pośrednio dowodzi tego skuteczność terapii anti-CD20 (rytuksymab, RTX), która wywołując deplecję komórek B, wykorzystywana jest w leczeniu BP, ale również autoimmunologicznych zaburzeń neurologicznych (Alexopoulos i wsp. 2016; Kosmidis i wsp. 2010). Ponadto ostatnio opisany regulator limfocytów B semaforyna 4d (Sema4D) początkowo scharakteryzowana jako czynnik wpływający na rozwój neuronów, może odgrywać również istotną rolę w patogenezie BP (Shen i wsp. 2017).

Trudno jednak wyjaśnić zjawisko podwyższonych poziomów BP180 i zwiększonej eozynofili krwi obwodowej u pacjentów z BP i ND w porównaniu do pacjentów z BP bez ND. Być może obserwowane wzrosty poziomów wiążą się z większą aktywnością choroby w BP z ND. Dodatkowo wyższe poziomy przeciwciał wobec BP180 u pacjentów z BP z ND w porównaniu do BP bez ND mogą wiązać się rozpoznawaniem przez te przeciwciała również białek związanych z BPAG1 w mózgu szczura i małpy (Gambichler i wsp. 2015). Wyniki pozostają jednak niejednoznaczne. W innym badaniu wykazano, że nie występuje różnica w odpowiedzi humoralnej u pacjentów z BP i ND oraz bez ND w zakresie poziomów przeciwciał i docelowych antygenów. Wyniki potwierdzono niezależnymi badaniami techniką IIF, ELISA i immunoblotingu (Taghipour i wsp. 2014).

W 1/3 przypadków badanych preparatów ssaczych (szczura i małpy) mózgow, w ich różnych obszarach występuje niespecyficzna immunofluorescencja. W pozostałych 2/3 przypadków wyniki były ujemne. Nie udało się zatem wykazać specyficznego wiązania przeciwciał wobec

BP180 w tkance nerwowej co mogłoby potwierdzać ich patogenetyczne znacznie (Gambichler i wsp. 2015). Autoreaktywność wobec substancji szarej śródmózgowia, obszaru ściśle związanego z rozwojem PD, która uważana jest za ND współwystępującą z BP, oceniano w IIF z wykorzystaniem przeciwciał przeciwko hydroksylazie tyrozynowej (TH). Autoprzeciwciała w surowicach pacjentów z PD kolokalizowały w obszarach TH-pozytywnych neuronów w mózgu szczura, jak również w mózgu pacjentów z BP z towarzyszącą PD. Przeciwciała w grupie kontrolnej nie były zdolne do wiązania się z substancją szarą mózgu (Messingham i wsp. 2015).

W analizie IgG zależnej reaktywności u pacjentów z chorobą Alzheimera oraz w grupie kontrolnej bez objawów neurologicznych, przeciwciała wobec BP180 stwierdzono w 18% przypadków z chorobą Alzheimera i 3% przypadków z grupy kontrolnej ($p = 0,019$). Poziomy BP230 były również częściej podwyższone niż w grupie kontrolnej, ale zależność nie wykazywała istotności statystycznej. Żadna z surowic pacjentów z chorobą Alzheimera, która wykazywała reaktywność wobec pełnej długości proteiny BP180 w immunoblotingu, nie reagowała z błoną podstawną skóry w badaniu IIF. Retrospektywna ocena danych klinicznych pacjentów z chorobą Alzheimera nie wykazała rozpoznania u nich BP lub obecności objawów mogących sugerować ADP. Jednocześnie podwyższone poziomy przeciwciał anty-BP180-NC16A korelowały z ubytkami kognitywistycznymi ocenianymi w skali mini-mental state, jednak nie ze stężeniami innych markerów specyficznych dla choroby Alzheimera w płynie mózgowordzeniowym (Kokkonen i wsp. 2017).

W OUN BPAG1 i BPAG2 kolokalizują w obszarach synaptycznych i pozasynaptycznych. Oba białka są składowymi neuronalnych kompleksów zakotwicających, do których wiązane są lamininy OUN, co stabilizuje presynaptyczne regiony w przyległej macierzy pozakomórkowej. Taki układ przypomina kompleksy zakotwicające lamininy w skórze, w których BPAG1 i BPAG2 odgrywają kluczowe role jako struktury stabilizujące DEJ. Być może związane z BPAG1 i BPAG2 defekty kompleksów zakotwicających lamininy w synapsach są odpowiedzialne za objawy neurologiczne u pacjentów z BP i ND. W badaniach stwierdzono również reaktywność surowic pacjentów z BP i ND wobec antygenów o masach cząsteczkowych 180-kDa i 165-kDa pochodzenia mózgowego, co sugeruje występowanie BPAG2 w tkance nerwowej (Chen i wsp. 2011).

5.2.5 Rola autoimmunizacji i (auto)zapalenia

BP zazwyczaj związane jest z występowaniem przeciwciał wobec autoantygenów hemidesomosomalnych BP180 i/lub BP230. Jednak sama obecność autoprzeciwciał nie w pełni tłumaczy obecność nacieków eozynofilowych i neutrofilowych w zmianach skórnych. Choć w

literaturze opisano wiele przypadków współwystępowania BP z ND, to związek patogenetyczny nie został do końca wyjaśniony. Autoimmunizacyjne zaburzenia układu nerwowego mogą współwystępować z procesami autoimmunizacyjnymi skierowanymi przeciwko skórze, co przypuszczalnie odzwierciedla stan zwiększonej podatności na zaburzenia typu immunologicznego u predysponowanych osobników. W dostępnym piśmiennictwie wskazywany jest możliwy związek etiopatogenetyczny pomiędzy BP i ND, bez uwzględniania możliwej roli ppn. W oparciu o wyniki badań prowadzonych w KiKD UMP wydaje się, że ppn typu PNMA2 u pacjentów z ND może stanowić marker wystąpienia BP, jednak ze względu na ograniczenia grup badanych konieczna jest dalsza szersza analiza.

W innym badaniu surowice pacjentów z BP z obecnymi surowiczymi przeciwciałami anti-BP180 przebadano na panelu mozaikowym IIF (biochip) w kierunku obecności ppn (na komórkach transfekowanych; NMDAR1, Amfifizynie, ARHGAP26, CASPR2, MOG, GAD65, Ma2/Ta, Yo, AMPAR-1/2, AQP4, CV2, Tr/DNER, DPPX, GABAR-B1/B2, GAD67, GLRA1b, GRM1, GRM5, Hu, LG11, Rec, Ri, ZIC4) oraz na zawierających mrożone skrawki tkanek hipokampa szczura, mózdzku szczura i małpy oraz mózgu małpy. Wykorzystując wymienione biopaty mózgow ssaczych w badaniu mozaikowym (biochip) IIF nie wykazano specyficznej immunofluorescencji dla BP180 (Gambichler i wsp. 2015).

Największe ryzyko wystąpienia BP dotyczy chorych z MS, które jest dobrze znaną autoimmunizacyjną chorobą OUN. Jednak stan zapalny układu nerwowego odgrywa rolę w innych chorobach neurologicznych i psychiatrycznych wiązanych z występowaniem BP. W ND jak choroba Alzheimera, PD oraz schizofrenia, ale także w chorobach o gwałtowniejszym przebiegu jak zakażenie mózgu stwierdzane są mechanizmy zapalne. W zapaleniu tkanki nerwowej odmienne chorobowo-specyficzne patomechanizmy, zarówno obwodowe jak i centralne wywołują aktywację komórek gleju, który odpowiada za produkcję mediatorów zapalnych (Försti i wsp. 2016).

We wcześniejszych doniesieniach, głównie case-control study wykazywano związek BP z Pso, chorobą będącą wzorcowym przykładem zapalnej dermatozy o przebiegu ogólnoustrojowym. Jak wykazano mężczyźni chorujący na Pso mieli zwiększone ryzyko wystąpienia BP (OR 2,03). Jedną z hipotez zakłada, że zmiany w obrębie DEJ w Pso mogą odpowiadać za heterogenną odpowiedź immunologiczną z udziałem przeciwciał i indukować ADP. Być może zwiększone poziomy surowiczych chemokin CCL28 i możliwa rola komórek T pomocniczych (Th) 17 u pacjentów z Pso i BP mogą być czynnikami łączącymi. Zarówno komórki Th17 i IL-17 mogą

uczestniczyć w produkcji prozapalnych cytokin, metaloproteinaz macierzy, neutrofilii i eozynofili, które wszystkie potencjalnie uczestniczą w patogenezie BP. W biopsjach błony śluzowej pacjentów z MMP również stwierdzano istotnie zwiększone poziomy limfocytów Th17 (Chen i wsp. 2011)

Zdaniem niektórych badaczy związek BP z Pso może być również indukowany przez leczenie biologiczne, fototerapię i miejscowe GKS, metody powszechnie stosowane w leczeniu tej najczęstszej dermatozy. Jednak każde leczenie, jako potencjalny czynnik uszkodzający lub rozumiany w kategorii stresu biologicznego powinien być uznawany za potencjalny wyzwalacz ADP. Dodatkowo czynnikiem mogącym łączyć ND i zaburzenia psychiatryczne z BP może być leczenie stosowane w tych chorobach. Przewlekłe stosowanie spironolaktonu i fenotiazynowych leków antypsychotycznych jak wykazano może mieć związek z BP. W jaki sposób leki te mogą wyzwać lub indukować BP nie zostało dotychczas w pełni wyjaśnione (Försti i wsp. 2016). Sugerowano, że leki, zmiany odleżynowe i urazy oraz wtórna immunizacja odpowiadają za wystąpienie BP u chorych z zaburzeniami neurologicznymi. Leki, zwłaszcza miorelaksanty, jak baklofen, jak również miejscowe związki jodu oraz leki zawierające atomy siarki mogą uczestniczyć w patogenezie BP. Tym niemniej związek ten pozostaje nadal hipotetycznym (Stinco i wsp. 2005).

W dużej meta-analizie 14 prac, na populacji łącznie 23369 pacjentów z BP i 128697 osobnikach kontrolnych stwierdzono, że pacjenci z BP mają istotnie większe ryzyko wystąpienia ND jak udaru, PD, demencji, padaczki i MS. W porównaniu do kontroli zgrupowane względne ryzyko (RR) jest niemal trzykrotnie wyższe dla udaru, ponad 12-krotnie wyższe dla MS u pacjentów z BP (Lai i wsp. 2016). W badaniu na populacji duńskiej, prawdopodobnie jednym z największych dotychczas wykonanych badań kohortowych na grupie pacjentów z BP, również stwierdzono zwiększoną częstością zwłaszcza dla MS i PD. Ponieważ opieka medyczna dla mieszkańców Dani pozostaje bezpłatna, ryzyko wstępnej selekcji pacjentów w badaniu jest minimalne. Ponadto populacja Dani jest stabilna pod względem wielkości i homogenna w zakresie etnicznym, emigracyjnym i statusu społecznego mieszkańców. Istotny pozostaje również długi okres obserwacji wynoszący 38 lat (1977-2015r.) (Kibsgaard i wsp. 2017). MS jest autoimmunizacyjną chorobą demielinizacyjną OUN, wywołaną nieprawidłową reakcją komórkową i humoralną wobec epitopów mielinowych. Jak wykazano również w innych badaniach, u pacjentów z BP występuje większa chorobowość MS w momencie rozpoznania ADP, ale także zwiększone ryzyko wystąpienia u nich MS. Prowadzone są obecnie badania nad skutecznością fumaranu dimetylu, w populacji pacjentów z BP i ND. Wyniki badań przedklinicznych wskazują,

że farmakodynamiczny efekt fumaranu dimetylu wynika głównie z aktywacji ścieżki transkrypcyjnej czynnika jądrowego Nrf2 ((erythroid-derived 2)-like 2 factor). Wykazano, że fumaran dimetylu zwiększa u pacjentów ekspresję genów ochrony antyoksydacyjnej zależnych od Nrf2 (takich jak np. dehydrogenaza NAD(P)H, chinon 1). Badania prowadzone są na pacjentach z BP z towarzyszącym MS. Fumaran dimetylu uzyskał rejestrację o statusie leku do stosowania w chorobach rzadkich (orphan designation) przez Europejską Agencję Medyczną do leczenia BP w 2016r. (EU/3/16/1698). Być może przyniesie to odpowiedź czy zapadalność na BP ulegnie zmniejszeniu u pacjentów z MS leczonych tym lekiem. Związek MS oraz innych ND z BP może być uzasadnieniem do prowadzenia szczegółowej oceny neurologicznej u wszystkich pacjentów z BP (Patsatsi i Murrell 2017).

5.2.6 Podłoże genetyczne

Nie bez znaczenia pozostaje ewentualne podłoże genetyczne. W dostępnym piśmiennictwie potwierdzony jest związek obszaru chromosomu 8 z zaburzeniami neuropsychiatrycznymi, ND i nowotworami (Tabarés-Seisdedos i wsp. 2009; McQueen i wsp. 2005). Jednocześnie gen dla PNMA2, mogący odpowiadać za związek patogenetyczny ND z BP, również zlokalizowany jest na chromosomie 8, podobnie do rodziny białek kolagenowych (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/10087>). Możliwy biologiczny związek poprzez chromosom 8 dotyczy śród-chromosomowych interakcji, potencjalnie oddziałujących na BP, ND i nowotworzenie. Geny dla BP180 i BP230 zlokalizowane są odpowiednio na chromosomie 10 i 6 (Kasperkiewicz i wsp. 2007). Jednocześnie wskazuje się związek zaburzeń neuropsychiatrycznych z locus na chromosomie 10 (choroba Alzheimera) (Ertekin-Taner i wsp. 2000; Myers i wsp. 2000) oraz chromosomem 6 (w chorobie dwubiegunowej) (McQueen i wsp. 2005).

Porównawcza ocena zaburzeń autoimmunizacyjnych IgG4 zależnych ujawniła znaczne podobieństwa w wiązaniu epitopów i związku z ludzkim kompleksem zgodności leukocytów (HLA). Allele *HLA-BQB1*03:01* są dobrze przebadanymi czynnikami ryzyka wystąpienia BP, a jednocześnie mogą stanowić dodatkowy punkt łączący ND i BP, po przez regulację zjawiska szerzenia się epitopów z neuronalnego BP180 na hemidesmosomalne BP180 lub odwrotnie. Jednocześnie z uwagi na niedużą zapadalność na BP u pacjentów z ND sama teoria szerzenia epitopów została uzupełniona hipotezą tzw. wielokrotnego uderzenia (multi hit), która zakłada dodatkowe czynniki indukujące (Amber i wsp. 2017).

W wielu badaniach oceniano homologię wspólnych białek dla neuronów i DEJ. Allele głównego układu zgodności tkankowej (MHC), w tym *HLA-DQB1*03:01*, mają wykazane

znaczenie w warunkowaniu podatności na wystąpieniu BP i mogą być dodatkowym czynnikiem łączącym z ND, katalizując procesy rozprzestrzeniania epitopów z neuronalnego BP180 na hemidesmosomalny BP180 lub odwrotnie. Zaproponowano między innymi, że *HLA-DQB1*03:01*, który wykazuje nadekspresję u pacjentów z BP, może uczestniczyć w prezentacji antygenów BP autoreaktywnym limfocytom T CD 4+. Komórki T z allelami *HLA-DQB1*03:01* stymulowane przez BP180 wykazują reaktywność zarówno u pacjentów z BP jak i zdrowych nosicieli allelu *HLA-DQB1*03:01*. W odróżnieniu od zdrowych osobników z allelami HLA klasy II niezwiązanymi z BP, u których stymulacja BP180 nie prowadzi do aktywacji odpowiedzi immunologicznej. Zdrowi nosiciele nie wykazywali reakcji Th2 zależnej, w porównaniu do pacjentów z BP, u których stwierdzano odpowiedź anti-BP180 zarówno w mechanizmie Th1 i Th2 zależnym. Związek BP z innymi chorobami układowymi, w szczególności ND, może być wskazówką w zrozumieniu patofizjologii podnaskórkowych ADP. Rola *HLA-DQB1*03:01* związana z immunogenną częścią BP180 warunkuje potencjalny mechanizm, w którym ekspozycja na neuronalny kolagen BP180 może prowadzić do choroby skóry. W teorii wielokrotnego uderzenia (muli-hit) sugeruje się, że pacjenci z toczącą się ND są ekspozowani na wcześniej sekwestrowane antygeny własne, zwłaszcza BP180. Pacjenci z allelami *HLA-DQB1*03:01* wykazują zwiększoną awidność komórek T dla różnych epitopów BP180, zwłaszcza domeny BP180-NC16A. Obserwacja ta wykazuje genetyczną podatność dla rozwinięcia BP poprzez ekspozycję na docelowe antygeny. U pacjentów z zaburzoną równowagą odpowiedzi immunologicznej Th1/Th2, w związku z utratą energii, komórki T ulegają aktywacji co skutkuje rozwojem autoimmunizacji przeciwko domenie BP180-NC16A. Stwierdzono również, że interakcje *HLA-DQB1*03:01* z *HLA-DQB1*03:02* związane są ze MS w dużej grupie pacjentów z Europy, Azji i Stanów Zjednoczonych. W innych badaniach wykazano ochronny wpływ haplotypów zawierających allele *HLA-DQB1*03:01*. Allele *DQB1*03:01* wiązały się też z gorszym wynikiem stwierdzanym w badaniu rezonansu magnetycznego u pacjentów ze MS. Badania nad HLA u pacjentów z PD, chorobą Alzheimera i demencją nie wykazały patogennej roli *HLA-DQB1*03:01* (Amber i wsp. 2017).

W badaniach stwierdzono obecność BP180 w tkance nerwowej z następowym tworzeniem antyneuronalnych anti-BP180 przeciwciał IgG, które jednak nie wykazują aktywności krzyżowej z BP180 pochodzącym z DEJ. Pytaniem pozostaje, dlaczego tylko niektórzy pacjenci z ND rozwijają BP. Same predyspozycje genetyczne w zakresie HLA klasy II nie są warunkiem wystarczającym do wystąpienia choroby. Badania nad BP na modelach mysich wykazały występowanie BP-podobnego fenotypu u myszy Swiss Jim Lambert (SJL), jednak nie u dobranych w zakresie MHC myszy B6.SJL-H-2, u których brakuje samej dysregulacji komórek T, co myszom SJL. Dlatego

dysregulacja komórek T wydaje się odgrywać dodatkową rolę, którą potwierdza inne różnicowanie komórek T obecne u *HLA-DQB1*03:01* dobranych pacjentów. Jedyne dalsze badania charakteryzujące profile HLA pozwolą na zrozumienie patofizjologii BP i towarzyszącej ND. Poza wykonaniem typowania HLA pacjentów z BP i ND, konieczne będzie wykonanie mapowania epitopów w celu potwierdzenia faktycznego związku występowania specyficznych przeciwciał z miejscami wiązania HLA. Również scharakteryzowanie przeciwciał skierowanych przeciwko niepatogennym epitopom u pacjentów z izolowaną chorobą neurologiczną może dostarczyć istotnych informacji (Amber i wsp. 2017).

5.3 Opryszczkowe zapalenie skóry a nowotworzenie

5.3.1 Choroby współwystępujące z opryszczkowym zapaleniem skóry

W pracy porównującej populację pediatryczną i dorosłych chorujących na CD, stwierdzono częstsze występowania CD u dzieci. Temat ten pozostają nadal kwestią wielu kontrowersji, między innymi w kilku dużych badaniach potwierdzających tę obserwację zasugerowano związek z krótszym karmieniem dzieci piersią przez matkę lub całkowitym jego brakiem oraz zwiększonym spożyciem glutenu. Natomiast spadek zapadalności na CD już od 3 roku życia może wynikać z latencji choroby. DH będące chorobą współtowarzyszącą dla CD dotyczy niemal wyłącznie populacji dorosłych (Poddar 2013). Zjawisko to jest o tyle zastanawiające, że przy wspólnym podłożu genetycznym szczyt zachorowań na DH w populacji białych pacjentów przypada w drugiej i trzeciej dekadzie życia. Choć według niektórych autorów (Alonso-Llamazares i wsp. 2007) największa rozpoznawalność choroby przypada na piątą dekadę życia. Z przewagą wśród mężczyzn (1,36 : 1) co stanowi odmiennosć w porównaniu do innych chorób autoimmunizacyjnych gdzie przeważającą grupę pacjentów stanowią kobiety. Różnice fenotypowe pacjentów z CD zależne od wieku nie dotyczą tylko współwystępowania DH. Postać klasyczna CD (podział zaproponowany przez grupę roboczą z Oslo) z towarzyszącą biegunką dotyczy w przeważającej mierze dzieci. Postać nieklasyczna choroby (pacjenci z objawami gastrycznymi bez biegunek) i postać subkliniczna obserwowana jest zazwyczaj u dorosłych z CD. Jednak trend występowania postaci klasycznej przy wczesnym początku choroby i postaci nieklasycznej w późniejszym wystąpieniu CD ulega również zmianie. W badaniach wielośrodkowych stwierdzono, że u 76% dzieci występowała klasyczna postać choroby, u 18% nieklasyczna, a u 6% subkliniczna postać CD. Jednocześnie na przestrzeni 4 lat zaobserwowano wzrost częstości postaci nieklasycznej z 16% do blisko 30%. Jednocześnie u dorosłych również obserwowano wzrost częstości postaci nieklasycznej w tym czasie z 36% do 58%. Można założyć, że u ponad połowy dorosłych pacjentów występuje

postać nieklasyczna i w tej grupie zdecydowanie częstsze jest występowanie zmian skórnych typu opryszczkowego zapalenia skóry. Jednak u dzieci pomimo różnic w odmiennych rejonach geograficznych świata, nadal dominuje postać klasyczna (w Azji Środkowej u 80% dzieci występuje biegunka) (Poddar 2013). Obserwacje te są zbieżne również w grupie chorych na DH, u których zazwyczaj nie obserwujemy jawnej klinicznie enteropatii glutenożytnej.

Jednym z uzasadnień odmiennego obrazu fenotypowego w zależności od grupy wiekowej jest efekt liczby kopii danego genu (gene dose) lub homozygotyczności. Wykazano, że homozygotyczność dla allelu *DQ2* wiąże się z młodszym wiekiem wystąpienia objawów i ich bardziej nasilonym przebiegiem. Ponadto zdwojenie (double-dose) alleli *DQB1*02* było częstsze u pacjentów z klasyczną postacią DH. Homozygotyzm allelu *DQB1*0201* wiązał się z ciężkim przebiegiem CD. U pacjentów oligosymptomatycznych o późniejszym początku choroby dominowały większa liczba kombinacji haplotypów kodujących tylko jeden *DQ* (*A1*0502*, *B1*0201*) heterodimer (Poddar 2013).

Sytuację komplikuje dodatkowo pochodzenie etniczne pacjentów, co zapewne ma swoje uzasadnienie w różnicach na poziomie genetycznym. W badaniu porównawczym pacjentów z DH z KiKD UMP, prawdopodobnie osobników reprezentatywnych dla populacji Europy Środkowej, ocenialiśmy odmienności względem danych piśmienniczych dotyczących pacjentów z DH w populacji japońskiej (DHj). W DHj nie stwierdzano *HLA-DQ2* lub *-DQ8*, które występują powszechnie u Europejczyków. Natomiast wykazano nieznacznie zwiększoną częstość *HLA-DR9* (Ohata i wsp. 2012). Również w badaniach nad DH na populacji Chin kontynentalnych, na obszarze, na którym DH występuje sporadycznie, wykazano najsilniejszy związek z dwoma niezależnymi allelami *HLA-DRB1*0301* i *HLA-B*0801*. Pierwszy z nich może być również czynnikiem ochronnym względem występowania objawów gastrycznych, które w badanej populacji dotyczyły około 25% przypadków (Sun i wsp. 2016).

Co ciekawe dalsze odmienności w omawianych grupach etnicznych dotyczą również obrazu fenotypowego oraz wyników badań laboratoryjnych stosowanych w diagnostyce ADP. W DHj średni wiek wystąpienia objawów szacowany jest na piątą dekadę (43,8 lata), z wcześniejszym występowaniem u kobiet (średnio o 13 lat). Nie wykazano również ścisłego związku z GSE, a współwystępowanie objawowej GSE wydaje się jeszcze rzadsze niż w populacji DH obszaru Europy Środkowej (Ohata i wsp. 2012; Shigeta i wsp. 2012). W populacji DH obszaru Europy Środkowej najczęściej stwierdzanym w badaniu DIF skóry okołowłóknikowej jest wzór świecenia typu ziarnistego (złogi IgA). Natomiast typ ziarnisto włóknikowy jest najrzadszy (Wolniak-

Trzeciak i wsp. 2005a). W DHj ponad 50% pacjentów wykazywało obecność złogów ziarnistych. Wykwity umiejscowione były wówczas w miejscach predylekcyjnych dla DH. Jednak u ponad 36% stwierdzano złogi włókienkowe, wówczas typowo miejsca predylekcyjne pozostawały zaoszczędzane. Natomiast w badaniu IIF nie stwierdzano u pacjentów z DHj specyficznych przeciwciał IgA przeciwko śródmięśni mięśni gładkich (wynik dodatni w 63,5% przypadków dla populacji białej). Również przeciwciała anty-tTG i anty-eTG były obecne sporadycznie lub wcale nie występowały (Ohata i wsp. 2012; Shigeta i wsp. 2012).

Przypadki DH indukowanego stosowaniem gonadoliberyny (GnRH) w leczeniu hormonozależnego nowotworu ilustruje wpływ układu hormonalnego na procesy autoimmunizacyjne. Postuluje się wpływ wahań poziomów progesteronu i estrogenów, wraz z obniżeniem stosunku testosteronu do estrogenów u mężczyzn chorujących na DH. Oś podwzgórze-przysadka-gruczoły płciowe może odgrywać istotną rolę przez kontrolę wydzielania hormonów płciowych, w regulacji procesów autoimmunizacyjnych. Ekspresja receptorów dla GnRH została stwierdzona w pierwotnych narządach limfatycznych (śledzionie, grasicy) i na obwodowych komórkach odpowiedzi immunologicznej, w tym również ludzkich limfocytach. Androgeny wykazują w pewnym stopniu działanie immunosupresyjne. W modelach mysich układowego toczenia rumieniowatego (SLE) podanie androgenów skutkowało obniżeniem poziomów przeciwciał anti-dsDNA. Natomiast podanie estradiolu powodowało wzrost produkcji przeciwciał antykardiolipinowych oraz anti-dsDNA. Opisywane są również przypadki zaostrzeń w przebiegu SLE, epizody trombocytopeni i lupus nephritis po podaniu analogów GnRH. Ponadto u mężczyzn chorujących na hipogonadyzm obserwuje się zwiększoną zapadalność na choroby autoimmunizacyjne, w tym między innymi na SLE u pacjentów z zespołem Klinefeltera. U niektórych pacjentów z zespołem Klinefeltera i towarzyszącym procesem autoimmunizacyjnym terapia zastępcza testosteronem prowadzi do ograniczenia aktywności choroby autoimmunizacyjnej i zmniejszenia stosunku limfocytów CD4+/CD8+, zmniejszając humoralną odpowiedź immunologiczną (Yu i wsp. 2006).

5.3.2 Choroby nowotworowe w opryszczkowatym zapaleniu skóry

W badaniu Lewisa i wsp. (2008) w odróżnieniu od wyników badań nad CD, ale również wielu innych wcześniejszych badań nad DH, nie stwierdzono wzrostu ryzyka nowotworzenia i innych chorób towarzyszących w żadnej z analizowanych kategorii w porównaniu do populacji ogólnej. Jednym z wyjaśnień tak odmiennych wyników uzyskanych przez Lewisa i wsp. (2008) w tym badaniu w porównaniu do wcześniejszych doniesień literaturowych może być fakt

wykorzystania bazy o zasięgu populacyjnym, a nie bazy ograniczonej do pacjentów z leczenia zamkniętego (szpitalnego). W drugim przypadku, taki dobór pacjentów może skutkować występowaniem cięższych przypadków, dodatkowo obciążonych chorobami współtowarzyszącymi. Jest to również jedno z ograniczeń badania własnego, które prowadzone było na populacji pacjentów hospitalizowanych w Oddziale KiKD UMP. Ponadto jest to jeden z ośrodków w kraju o najwyższej referencji w zakresie diagnostyki i leczenia ADP, co może wpływać na wstępną preselekcję przypadków. Enteropatia w DH uważana jest za lżejszą niż w CD, a jedyną nieprawidłowością u blisko 1/3 chorych są limfocytarne nacieki śródnamionkowe błony śluzowej jelita cienkiego. Ciężkie zaniki kosmków (w skali Marsha typy IIIb i IIIc) spotykane są natomiast u 2/3 chorych z CD. Pozostaje nadal aktualnym pytanie, czy łagodniejszy przebieg enteropatii jest uzasadnieniem odmiennego ryzyka wystąpienia często śmiertelnych powikłań limfoproliferacyjnych, w tych dwóch chorobach, które wywoływane są przez nadwrażliwość na gluten, przebiegają z morfologicznie podobną enteropatią i współdzielą podobne podłoże genetyczne. Być może wyjaśnieniem jest różnica w ekspresji i/lub aktywności tkankowej transglutaminazy w obu chorobach (Lewisa i wsp. 2008).

W badaniu kohortowym większość chłoniaków u pacjentów z DH, w odróżnieniu od grupy pacjentów z CD, stanowiły NHL niezwiązane z enteropatią gluteno-zależną (inne niż EATL). Być może mniej nasilone zmiany w obrębie błony śluzowej jelita cienkiego w DH odpowiadają za inny przebieg lub typ zaburzeń limfoproliferacyjnych. Autorzy zwracają również uwagę na częstsze stosowanie GFD także w grupie pacjentów z DH, w czasie ostatnich 20 lat, co przy założeniu ochronnego wpływu GFD może być przyczyną całkowitego ograniczenia występowania NHL u pacjentów z DH rozpoznanych po 1981 roku (Viljamma i wsp. 2006).

W dużym badaniu na 1104 pacjentów z DH również stwierdzono, że najczęściej występującymi chłoniakami w tej grupie pacjentów są niezwiązane z enteropatią gluteno-zależną NHL (inne niż EATL) zajmujących lokalizacje poza układem pokarmowym i pozawęzłwe. Istotna obserwacja dotyczyła także czasu ewentualnego wystąpienia chłoniaka, EATL występowały u pacjentów z DH w ciągu 3 do 6 lat od postawienia rozpoznania podstawowego, podczas gdy chłoniaki B-komórkowe pojawiały się w szerszym zakresie czasowym (Hervonen i wsp. 2005). Powstaje więc pytanie, czy chłoniaki w grupie pacjentów z DH inne niż EATL wykazują jakikolwiek związek z chorobą zasadniczą. Co w pewnym stopniu pokrywa się z obserwacjami w długoterminowym badaniu obserwacyjnym (średnio 25 letni okres obserwacji). Długi czas obserwacji pacjentów pozwolił potwierdzić zależność zmniejszenia ogólnego ryzyka wystąpienia nowotworu złośliwego po 15 latach od postawienia rozpoznania podstawowego, zarówno w grupie

dzieci jak i dorosłych. Jedna z hipotez zakłada, że nowotwory te zależne są od nasilenia stanu zapalnego, który przy odpowiednim leczeniu zostaje zredukowany do poziomu niestanowiącego czynnika indukującego nowotworzenie. Autorzy podkreślają, że choć chłoniaki mogą być powikłaniem CD lub DH, to są rzadkie, a ryzyko ich wystąpienia spada wraz z czasem od postawienia rozpoznania tej ADP. Jednocześnie wcześniejsze postawienie diagnozy (tzn. w dzieciństwie) wiąże się ze zmniejszeniem ryzyka rozwoju chłoniaka, być może właśnie na skutek wczesnego wdrożenia właściwego leczenia (Grainge i wsp. 2012).

W innych badaniach sugerowany jest także związek pomiędzy długością trwania DH (od momentu rozpoznania) a ryzykiem wystąpienia nowotworu złośliwego z uwzględnieniem dodatkowo czasu stosowanego leczenia GFD. W wielu pracach, nie tylko nad CD, ale również nad DH, zaznacza się istotny spadek ryzyka rozwoju nowotworów, w tym również innych niż EATL, w związku ze stosowaniem GFD (Hervonen i wsp. 2005; Collin i wsp. 1996). W pracy Lewisa i wsp. (1996) nad zagadnieniem nowotworzenia u pacjentów w DH określono czas trwania GFD, który powinien zabezpieczać przed wystąpieniem nowotworów złośliwych w tej grupie pacjentów. Autorzy odwołują się również do pracy Holmes i wsp. (1989), w której osoby stosujące ściśle GFD przez co najmniej 5 lat nie wykazywały zwiększonego ryzyka rozwoju chłoniaka.

Niektórzy autorzy dostrzegają jeszcze dalej idące skutki stosowania GFD. Collin i wsp. (1996) w swoim badaniu u pacjentów z DH stwierdzili śmiertelność na poziomie populacji ogólnej, przy długoterminowym wskaźnik przeżywalności na poziomie nieznacznie wyższym niż w populacji ogólnej. Jak zaznaczono, aż 93% pacjentów z DH włączonych do badania stosowało GFD, co może prowadzić do odmiennych wyników w porównaniu z innymi ośrodkami. Jedna z hipotez zakłada właśnie korzystny wpływ przestrzegania GFD. Jednak w kontekście ewentualnej wyższej przeżywalności sugerowane jest także znaczenie regularnej kontroli lekarskiej w grupie pacjentów z DH (Collin i wsp. 1996).

Jak wspomiano rozpoznanie DH stawiane jest wyjątkowo rzadko w populacji azjatyckiej. Jednym z wytłumaczeń jest niska częstość występowania specyficznych dla DH antygenów HLA (*HLA-A1, -B8, DR3 i -DQ2*) w całej populacji azjatyckiej. Również u pacjentów z DH pochodzenia azjatyckiego nie stwierdza się wzrostu częstości występowania tych antygenów (Amo i wsp., 2000).

Rozwój chłoniaków układu pokarmowego występuje sporadycznie w DHj, jednak niektóre przypadki DHj mogą być zespołem paraneoplastycznym (Ohata i wsp. 2012). Przypadki kliniczne z charakterystycznym dla DH obrazem klinicznym i wynikami badań histopatologicznego i DIF, przy negatywnych badaniach w kierunku przeciwciał w klasie IgA przeciwko eTG lub tTG, śródmięsnej

mięśni gładkich, retikulinie lub gliadynie, okazywały się manifestacją zespołu parneoplastycznego. Nie wykazywano również objawów GSE. Jednak te odmienności zdają się być dość typowe w populacji azjatyckiej chorych na DHj. Istotę problemu stanowi jednak fakt, że o ile GSE i DH są wyjątkowo rzadkie w tej grupie etnicznej, to często współwystępują z nowotworami złośliwymi (Shigeta i wsp. 2012). Obserwacje te, choć poszerzają naszą wiedzę na temat patofizjologii ADP, to jednak powinny być wykorzystywane ostrożnie, a proste ekstrapolacje wyników z różnych etnicznie obszarów wymagają zawsze ostrożności.

Podsumowując, z analizy danych piśmienniczych i obserwacji ośrodka poznańskiego, także wcześniej opublikowanych, wynika, że czynniki uważane za wyzwalające ADP mają zazwyczaj jedynie spekulatywne uzasadnienie, opierając się głównie na argumencie chronologicznym, w tym sensie, że ujawnienie się kliniczne ADP nastąpiło po zadziałaniu czynnika. Argument, że ADP ulega poprawie po usunięciu czynnika uważanego za wyzwalający jest nieprzekonujący, bo chory na taką ADP w zasadzie również wymaga leczenia właściwego dla idiopatycznych ADP. Dlatego istotne jest uzyskanie danych doświadczalnych, że te spekulatywne czynniki wyzwalające są rzeczywistymi czynnikami spawczymi. W celu ujawnienia ewentualnych zależności przyczynowo-skutkowych są potrzebne międzynarodowe, wieloośrodkowe badania eksperymentalne bazujące na koniecznych badaniach obserwacyjno-epidemiologicznych, które powinny być prowadzone przez współpracujących ze sobą klinicystów i biotechnologów jak najszerszych specjalności.

6.WNIOSKI

1. Nowotwory złośliwe mogą współwystępować z autoimmunizacyjnymi dermatozami pęcherzowymi, nie tylko w przypadku pęcherzycy paraneoplastycznej i powinny być rozpatrywane u każdego pacjenta z autoimmunizacyjną dermatozą pęcherzową z autoimmunizacją wobec białek w przeważającej mierze strukturalnych. W grupie tych chorych wymagane jest więc rozszerzenie postępowania diagnostyczno-terapeutycznego. Najbardziej narażeni na rozwój złośliwego procesu nowotworowego wydają się pacjenci z pemfigoidem pęcherzowym, co może mieć związek z podeszłym wiekiem tej populacji chorych.

2. Należy brać pod uwagę leki, zwłaszcza stosowane w terapii nadciśnienia tętniczego jako możliwe czynniki wywołujące pęcherzycę zwykłą lub liściastą. W uzyskanych wynikach szczególnie związane z rozwojem pęcherzycy zwykłej są leki przeciwnadciśnieniowe z grupy inhibitorów konwertazy angiotensyny, antagonistów receptora angiotensyny, antagonistów wapnia, sulfonamidów, natomiast grupy leków związanych z rozwojem pęcherzycy liściastej to najprawdopodobniej inhibitory konwertazy angiotensyny, antagoniści receptora angiotensyny, antagoniści wapnia, sulfonamidy i ich pochodne oraz tiazydy.

3. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdza się, że niektóre szlaki patogenetyczne chorób kręgu zaburzeń neurodegeneracyjnych mogą być wspólne dla pemfigoidu pęcherzowego i łuszczycy pospolitej, przy czym procesy neuropatologiczne w chorobie Parkinsona są przypuszczalnie najbardziej związane z pemfigoidem pęcherzowym.

4. Zapewne przeciwciała przeciwneuronalne nie są swoiście związane z rozwojem pemfigoidu pęcherzowego u pacjentów z chorobami neurodegeneracyjnymi. Jednak wydaje się, że niektóre przeciwciała przeciwneuronalne mogą być elementem łączącym immunopatogenezę chorób neurodegeneracyjnych i pemfigoidu pęcherzowego na drodze rozprzestrzeniania się epitopów (epitope spreading), wśród których PNMA2 u pewnych chorych mógłby być antygenem najbardziej istotnym w tym procesie.

5. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdza się, że związek immunopatogenetyczny chorób neurodegeneracyjnych i pemfigoidu pęcherzowego jest niezależny od konkretnego antygeny pemfigoidu pęcherzowego. Ponadto produkcja przeciwciał IgG anty-BP180 i anty-BP230 pozostaje prawdopodobnie bez związku z produkcją przeciwciał przeciwneuronalnych.

6.Cechy opryszczkowego zapalenia skóry w odmiennych populacjach etnicznych mogą się znacząco różnić, co nakazuje ostrożność w ekstrapolowaniu danych z jednej populacji na inną, umożliwiając jednak lepsze zrozumienie danej choroby w populacji rodzimej. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdza się, że łączenie opryszczkowego zapalenia skóry i celiakii, chorób cechujących się podobnym podłożem immunopatologicznym, nie jest w pełni uzasadnione.

7. STRESZCZENIE

Autoimmunizacyjne dermatozy pęcherzowe (ADP) są heterogenną grupą schorzeń, w której potencjalne czynniki wyzwalające oraz patogenetyczny związek z zaburzeniami towarzyszącymi pozostaje niewystarczająco scharakteryzowany. Spośród śródskórkowych ADP grupa pęcherzycy obejmuje szereg dermatoz, również o potencjalnie śmiertelnym przebiegu w przypadku, których do najczęstszych czynników wyzwalających zaliczane są leki. Pemfigoid pęcherzowy (bullous pemphigoid, BP) jest najczęstszą ADP u osób dorosłych, o stale wzrastającej zachorowalności związanej m.in. ze starzeniem się populacji krajów wysoko rozwiniętych. Schorzenia neurodegeneracyjne (neurodegenerative disease, ND) i BP zdają się wykazywać wspólne podłoże, a ich zasięg populacyjny stanowi coraz większy problem socjoekonomiczny. W zupełnie odmiennej klinicznie i wiekowo grupie pacjentów z opryszczkowatym zapaleniem skóry (dermatitis herpetiformis, DH), sugerowano powiązanie tej ADP z nowotworzeniem, również przez analogię do choroby trzewnej (celiac disease, CD). W związku z powyższym, podjęto badania populacji rodzimej, których celem była:

- retrospektywna analiza danych epidemiologicznych pacjentów z ADP z Katedry i Kliniki Dermatologii Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu (KiKD UMP) z lat 2006 - 2016 oraz danych literaturowych (metaanaliza) w celu ustalenia najczęstszych chorób współistniejących, ze szczególnym uwzględnieniem procesu nowotworzenia w poszczególnych ADP;
- retrospektywna analiza danych epidemiologicznych pacjentów z pęcherzycą zwykłą (pemphigus vulgaris, PV) i pęcherzycą liściastą (pemphigus foliaceus, PF) z KiKD UMP z lat 2006-2016 oraz danych literaturowych w celu oceny wpływu przyjmowanych leków na wzbudzenie patologicznej autoimmunizacji skórnej w ADP;
- porównawcza analiza występowania ND w grupie pacjentów z BP i pozytywnej grupie kontrolnej pacjentów z łuszczycą (psoriasis, Pso) w celu oceny procesu neuropatologicznego, jako elementu wywołującego BP oraz wytypowania zjawiska neurodegeneracyjnego najbardziej swoiście zaangażowanego w rozwój BP;
- ocena profilu przeciwciał przeciwneuronalnych (ppn) w grupach pacjentów z BP i towarzyszącą ND (BP+ND) oraz bez takiego współwystępowania (BP-ND) w celu określenia antygeny neuronalnego mogącego być swoistym wczesnym biomarkerem BP u osób z ND;
- ustalenie serologicznych profili (anty-BP180 IgG, anty-BP230 IgG) u pacjentów BP+ND i BP-ND wraz z oceną korelacji pomiędzy występowaniem surowiczych przeciwciał IgG anty-BP180 i anty-BP230 a ppn w badanych grupach;

- analiza literaturowa obrazu DH, ze szczególnym uwzględnieniem procesów nowotworzenia i czynników egzogennych, jako potencjalnych wyzwalaczy, w różnych populacjach etnicznych, również w powiązaniu z CD.

Materiał badawczy stanowili pacjenci KiKD UMP z lat 2006-2016 z wykrytą w bezpośrednim badaniu immunofluorescencyjnym (DIF) ADP, a grupę kontrolną tworzyli pacjenci z Pso leczeni w latach 2002-2015. Badaniu immunoblotingu w kierunku ppn poddano łącznie 60 surowic pacjentów z BP, w tym 30 pacjentów z BP+ND oraz 30 pacjentów z BP-ND. Ponadto wykorzystano następujące metody diagnostyczne i badawcze rutynowo stosowane w trakcie diagnozowania omawianych grup chorych: biopsję skóry/błony śluzowej średnicy 5 mm oraz próbki krwi/surowicy, badanie histopatologiczne w barwieniu H+E, DIF z oznaczeniem podklas IgG4 i IgG1, tam gdzie jest to uzasadnione, identyfikację autoimmunizacji wobec BP 180/BP 230/DSG1/DSG3/tTG techniką ELISA, pośrednią immunofluorescencję na przełyku małpim i w systemie mozaikowym, badanie genetyczne (oznaczenie haplotypu) w wybranych przypadkach.

W analizie retrospektywnej danych epidemiologicznych w grupie pacjentów z PV i PF najpowszechniej przewlekle stosowaną grupę leków stanowiły leki kardiologiczne, przeciwcukrzycowe oraz stosowane w leczeniu zastępczym niedoczynności tarczycy. Stosowane leczenie przewlekle było zbieżne z towarzyszącymi chorobami układowymi, w kolejności były to: choroby układu sercowo-naczyniowego, zaburzenia endokrynologiczne, w tym cukrzyca. W analizie retrospektywnej porównującej chorobowość ND, w szczególności chorobę Parkinsona (Parkinson's disease, PD), nieokreślone zaburzenia neurologiczne o typie demencji i udar mózgu, w grupie pacjentów z BP i kontrolnej z Pso, wykazano brak istotnej statystycznie różnicy pomiędzy grupami (w przypadku nieokreślania typu ND). Stwierdzono natomiast istotnie statystycznie zwiększoną chorobowość PD w grupie pacjentów z BP (BP vs. Pso: 5,21% vs. 0,67%; $p=0,031$). W badaniu porównującym występowanie ppn w klasie IgG u pacjentów z BP+ND i BP-ND, stwierdzono w pierwszej grupie istotną statystycznie korelację pomiędzy poziomem przeciwciał anti-BP180 w klasie IgG oraz ppn anti-Yo ($r=-0,430$, $p=0,0318$) oraz w drugiej grupie pomiędzy poziomem przeciwciał anti-BP180 w klasie IgG oraz przeciwciałami ppn anti-CRMP-5 ($r=-0,402$, $p=0,0308$). Ppn anti-PNMA2 wykazywały największą różnicę w występowaniu w grupie BP+ND (13% pacjentów) i grupie BP-ND (3% pacjentów), zależność bez istotności statystycznej ($p=0,1534$). Porównanie cech DH ze środkowoeuropejskiego oddziału dermatologicznego (DH obszaru Europy Środkowej) i analiza piśmiennictwa z bazy PubMed dotyczącego DH, uwzględniające jego odrębności u Europejczyków i Japończyków (DHj), wykazało, że CD i związane z nią ryzyko rozwoju chłoniaków układu pokarmowego (chp) występują sporadycznie w DH populacji

azjatyckiej, jednak niektóre przypadki DHj mogą być zespołem paraneoplastycznym. Jedyne dwa przypadki nowotworów niechłoniakowych u chorych z DH w naszym ośrodku (DH obszaru Europy Środkowej) oraz dane anglosaskie również nie upoważniają do stwierdzenia wyższej zapadalności na chp. Ponieważ zamierzano przedyskutować łącznie wyniki własne i własne analizy danych piśmienniczych odnośnie do czynników wyzwalających i współchorobowości, więc analizy danych piśmienniczych ujęto w dziale wyników.

Uzyskane wyniki umożliwiły wysunięcie następujących wniosków:

1. Nowotwory złośliwe mogą współwystępować z ADP, nie tylko w przypadku pęcherzicy paraneoplastycznej i powinny być rozpatrywane u każdego pacjenta z ADP z autoimmunizacją wobec białek w przeważającej mierze strukturalnych. Chorzy na ADP wymagają, więc rozszerzonego postępowania diagnostyczno-terapeutycznego. Najbardziej narażeni na rozwój złośliwego procesu nowotworowego wydają się pacjenci z BP, co może mieć związek z podeszłym wiekiem tej populacji chorych.
2. Należy brać pod uwagę leki, zwłaszcza stosowane w terapii nadciśnienia tętniczego, jako możliwe czynniki wywołujące PV lub PF. W uzyskanych wynikach szczególnie związane z rozwojem PV są się leki przeciwnadciśnieniowe z grupy inhibitorów ACE, ARB, antagonistów wapnia, sulfonamidów, natomiast grupy leków związanych z rozwojem PF to najprawdopodobniej inhibitory ACE, ARB, antagoniści wapnia, sulfonamidy i ich pochodne oraz tiazydy.
3. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdza się, że niektóre szlaki patogenetyczne chorób kręgu ND mogą być wspólne dla BP i Pso, przy czym procesy neuropatologiczne w PD są przypuszczalnie najbardziej związane z BP.
4. Zapewne ppn nie są swoiście związane z rozwojem BP u pacjentów z ND. Jednak wydaje się, że niektóre ppn mogą być elementem łączącym immunopatogenezę ND i BP na drodze rozprzestrzeniania się epitopów (epitope spreading), wśród których PNMA2 u pewnych chorych mógłby być antygenem najbardziej istotnym w tym procesie.
5. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdza się, że związek immunopatogenetyczny ND i BP jest niezależny od konkretnego antygeny BP. Ponadto produkcja przeciwciał IgG anty-BP180 i anty-BP230 pozostaje prawdopodobnie bez związku z produkcją ppn.
6. Cechy DH w odmiennych populacjach etnicznych mogą się znacząco różnić, co nakazuje ostrożność w ekstrapolowaniu danych z jednej populacji na inną, umożliwiając jednak lepsze zrozumienie danej choroby w populacji rodzimej. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdza się, że łączenie DH i CD, cechujących się podobnym podłożem immunopatologicznym, nie jest w pełni uzasadnione.

8.ABSTRACT

Issues of triggering factors and comorbidities in autoimmune blistering dermatoses

Autoimmune bullous dermatoses (ABD) are heterogenous group of diseases with still inadequately identified triggering factors and comorbidities. Within group of intraepidermal ABD pemphigus is a circle of possibly lethal diseases, where the most common triggering factors are drugs. Bullous pemphigoid (BP) is the most common ABD in adults, with still growing incidence, as a result of senescence of highly developed countries populations. Neurodegenerative disorders (ND) and BP seem to share a common pathogenetic background both having a significant socioeconomic impact. On the other hand, in a distinct group of patients with dermatitis herpetiformis (DH) the connection with neoplastic process is suggested, by analogy with coeliac disease (CD). With reference to all above-mentioned issues, the aims of studies in the Polish population were as follows:

- retrospective analysis of epidemiological data of patients from Clinical Department of Dermatology of Poznań University of Medical Sciences (KiKD UMP) from 2006 to 2016 and literature research (meta-analysis), to investigate the most common comorbidities, with special concern of neoplastic process in ABD;
- retrospective analysis of epidemiological data of patients with PV and PF from KiKD UMP from 2006 to 2016 and literature research, to determine an impact of used drugs as a triggering factor for pathological cutaneous autoimmunisation in ABD;
- comparative analysis of coexistence of ND in group of BP patients and positive control group of patients with psoriasis (Pso) to assess a potential role of neurodegenerative process in triggering BP and to determine the most specific neurodegenerative process for this triggering;
- assessment of antineuronal antibodies (anab) profile in group of patients with BP and coexisting ND (BP+ND), as well as in group of BP patients without ND (BP-ND) to determine a neuronal antigen with clinical feature of early specific biomarker for BP in ND entities;
- determination of serological profile (anti-BP180 IgG, anti-BP230 IgG) in BP+ND and BP-ND patients, with assessment of correlation between the presence of serum IgG BP180 and BP230 antibodies and anab in study groups;

- literature research of clinical manifestation of DH, with particular interest in neoplastic process and exogenic factors as the potential triggers, in populations ethnically different, also in connection with CD.

Study groups comprised of ABD patients from KiKD UMP from 2006 to 2016 with positive direct immunofluorescence (DIF) results and patients with Pso treated from 2002 to 2015. Immunoblotting with anab was performed with sera of 60 patients with BP (30 patients BP+ND, 30 patients BP-ND). Moreover, routine diagnostic and research procedures were performed: skin and mucosa membrane biopsy with 5mm diameter, blood/sera samples, histopathological test (H+E staining), DIF with IgG4 / IgG1 subclasses (where necessary), ELISA BP180/BP230/DSG1/DSG3/tTG test, indirect immunofluorescence (monkey oesophagus substrate or mosaic system), genetic test (haplotyping) in certain entities.

In retrospective analysis of patients with pemphigus vulgaris (PV) and pemphigus foliaceus (PV) the most common groups of medication were cardiovascular, antidiabetic and hypothyroidisms treatment drugs. Used medication was the reflection of systemic comorbidities, respectively (from most common): cardio-vascular disorders, endocrine disorders, with diabetes mellitus. In retrospective analysis of prevalence of ND grouping together Parkinson's disease (PD), unspecified dementia and stroke, in BP patients and controls with Pso, no statistically significant difference was revealed. Nonetheless, statistically significant increase of prevalence of PD in BP patients (BP vs. Pso: 5.21% vs. 0.67%; $p=0.031$) was observed. Negative correlations found in BP+ND between anti-BP180 IgG and anti-Yo antibodies ($r=-0.430$, $p=0.0318$) and in BP-ND between anti-BP180 IgG and anti-CRMP-5 antibodies ($r=-0.402$, $p=0.0308$) were the only statistically significant ones. Anab anti-PNMA2 showed the biggest, albeit statistically insignificant (difference test between two proportions, $p=0.1534$), difference in occurrence in BP+ND patients (13%) and BP-ND patients (3%). A comparison of features of DH from central European dermatological department (DHce) and literature research from PubMed database for DH aiming at finding differences in European and Japanese population revealed that CD and connected risk of gastrointestinal lymphoma (gl) development was sporadic in Asian patients with DH, however some of Japanese DH might be a paraneoplastic syndrome. Only two cases of neoplasm (non-lymphoma type) in DHce patients and English data, suggest no increase in risk for gl in DH patients. The intension was to discuss jointly our own results as well as own literature data analysis regarding triggers and comorbidities in ABD therefore literature data analysis was also included in results chapter.

According to results obtained, conclusions were as follows:

1. Malignancy may coexist with all ABD, not only in paraneoplastic pemphigus, and they should be considered in all ABD patients with autoimmunity directed to structural proteins. Patients with ADS require extended diagnostic approach and treatment. Patients with BP are in group of highest risk for development of malignancy, what may be influenced by high elderly age of this patients.
2. The medications should be considered as the most common triggering factor for PV and PF, in particular antihypertensives. Antihypertensives from groups: ACEI, ARB, Ca-blockers, sulphonamide seem to be particularly connected with inducing PV, whereas ACEI, ARB, Ca-blockers, sulphonamide with derivatives and thiazides seem to be particularly connected with inducing PF.
3. Possibly certain pathogenetic pathways of ND might be shared by BP and Pso and neuropathological processes in PD seem to be the most relevant to BP.
4. According to results obtained, anab are not specifically connected with development of BP in ND patients. Possibly, same anab might be a connecting factor between immunopathology of ND and BP, in epitope spreading mechanism, where PNMA2 in certain patients might be the most notable antigen in this process.
5. It seems that immunopathologic connection between ND and BP is independent from specific BP antigen. Moreover, synthesis of IgG anti-BP180 and anti-BP230 is possibly independent from anab synthesis.
6. Features of DH in ethnically different population might differ significantly, what requires caution if extrapolation of data from one to another population is performed. However, it enables better understanding of disease in own patients population. According to results obtained, connecting DH and CD, diseases with similar pathogenetic background, is only partially justified.

9.ZAŁĄCZNIK – zgoda Komisji Bioetycznej na prowadzenie badań



UNIwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

KOMISJA BIOETYCZNA PRZY UNIwersytecie Medycznym
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Collegium Maius
ul. Fredry 10
61-701Poznań

tel. (+48 61) 854 62 51, 854 60 60
fax. (+48 61) 854 61 07
www.bioetyka.ump.edu.pl

Uchwała nr 560/15

Na podstawie przepisów Ustawy z dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarzy i lekarzy dentysty (Dz. U. 2011, Nr 277, poz. 1634 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych (Dz. U. Nr 47, poz. 480); Ustawy z dnia 6 września 2001r. Prawo farmaceutyczne (Dz. U. 2008 Nr 45, poz. 271 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. 2004 nr 101, poz. 1034 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 18 maja 2005r. zmieniające rozporządzenie w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. Nr 101, poz. 845); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie sposobu prowadzenia badań klinicznych z udziałem małoletnich (Dz. U. 2004 Nr 104, poz. 1108); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 15 listopada 2010 r. w sprawie zgłaszania niespożywanego ciężkiego niepożądanego działania produktu leczniczego (Dz. U. Nr 104, poz. 1107); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 15 listopada 2010 r. w sprawie wzorów wniosków przedkładanych w związku z badaniem klinicznym, wysokości opłat za złożenie wniosków oraz sprawozdania końcowego z wykonania badania klinicznego (Dz. U. 2010r. nr 222 poz. 1453, z późn. zm.); Ustawy z dnia 20 maja 2010 r. o wyrobach medycznych, wysokości opłat za złożenie wniosków oraz sprawozdania końcowego z wykonania badania klinicznego (Dz. U. 2010r. nr 222 poz. 1453, z późn. zm.); Ustawy z dnia 20 maja 2010 r. o wyrobach medycznych (Dz. U. 2010r. nr 107 poz. 679, z późn. zm.); Rozporządzenie Ministra Finansów z dnia 6 października 2010 r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej sponsora i badacza klinicznego w związku z prowadzeniem badania klinicznego wyrobów (Dz. U. 2010, Nr 194 poz. 1290); Ustawa z dnia 18 marca 2011 r. o Urzędzie Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobioetycznych (Dz. U. 2011 nr 82 poz. 451); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012r. w sprawie Dobrej Praktyki Klinicznej (Dz. U. 2012, poz. 489); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012r. w sprawie wzorów dokumentów przedkładanych w związku z badaniem klinicznym produktu leczniczego oraz w sprawie wysokości i sposobu uiszczania opłat za złożenie wniosku o rozpoczęcie badania klinicznego (Dz. U. 2012, Nr 0 poz. 491); w oparciu o Deklarację Helsińską - Zasady Etycznego Postępowania w Ekspozymencie Medycznym z Udziałem Ludzi.

Komisja Bioetyczna, na posiedzeniu w dniu 11 czerwca 2015 r.
rozpatrzyła wniosek dotyczący prowadzenia badań naukowych.

Kierownik projektu: Prof. dr hab. Marian Dmochowski

Miejsce prowadzenia badań:

**Pracownia Autoimmunizacyjnych Dermatoz Pęcherzowych Katedry i
Kliniki Dermatologii UM w Poznaniu**

Główny badacz: lek. med. Paweł Bartkiewicz

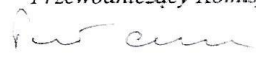
Członkowie zespołu

badawczego: prof. dr hab. Marian Dmochowski
dr hab. Monika Bowszyc- Dmochowska
dr Justyna Gornowicz- Porowska
lek. med. Paweł Pietkiewicz
st. tech. anal. med. Ewa Czajkowska
st. tech. anal. med. Barbara Jastrzębska

Temat badań:

„Zagadnienia czynników wyzwalających i chorób współistniejących w autoimmunizacyjnych dermatozach pęcherzowych”.

Komisja wydała uchwałę o pozytywnym zaopiniowaniu tego wniosku
Przewodniczący Komisji


prof. dr hab. med. Paweł Chęciński

10. PIŚMIENICTWO

- Adamczyk M. Terapie przyszłości w pęcherzycy zwykłej. *Dermatol Prakt., Doniesienia naukowe*; <http://www.dermatologia-praktyczna.pl>
- Adriano AR, Gomes Neto A, Hamester GR, Nunes DH, Di Giunta. Pemphigus vegetans induced by use of enalapril. *An Bras Dermatol.* 2011; 86(6): 1197-200.
- Ahmed AR, Carrozzo M, Caux F, Cirillo N i wsp. Monopathogenic vs multipathogenic explanations of pemphigus pathophysiology. *Exp Dermatol.* 2016, doi: 10.1111/exd.13106.
- Alexopoulos H, Biba A, Dalakas MC. Anti-B-Cell therapies in autoimmune neurological diseases: Rationale and efficacy trials. *Neurotherapeut.* 2016; 13(1): 20-33.
- Ali A, Hu L, Zhao F, Qui W i wsp. BPAG1, a distinctive role in skin and neurological diseases. *Semin Cell Dev Biol.* 2017; 69: 34-39.
- Alonso-Llamazares J, Gibson LE, Rogers RS. Report Clinical, pathologic, and immunopathologic features of dermatitis herpetiformis: review of the Mayo Clinic experience. *Int J Dermatol.* 2007; 46: 910–19.
- Amagai M, Yamaguchi T, Hanakawa Y, Nishifuji K i wsp. Staphylococcal exfoliative toxin B specifically cleaves desmoglein 1. *J Invest Dermatol.* 2002; 118(5): 845-50.
- Amagai M. The molecular logic of pemphigus and impetigo: the desmoglein story. *Vet Dermatol.* 2009; 20(5-6): 308-12.
- Amber KT, Zikry J, Hertl M. A multi-hit hypothesis of bullous pemphigoid and associated neurological disease: Is HLA-DQB1*03:01, a potential link between immune privileged antigen exposure and epitope spreading? *HLA* 2017; 89(3): 127–34.
- Amo Y, Tanei R, Tanabe K, Katsuoka K. Dermatitis herpetiformis in a Japanese patient with anaplastic large cell lymphoma. *J Dermatol.* 2000; 27: 533-36
- Anadolu RY, Birol A, Bostanci S, Boyvat A. A case of pemphigus vulgaris possibly triggered by quinolones. *J EADV* 2002; 16: 152–53.
- Anhalt GJ, Labib RS, Voorhees JJ, Beals TF, Diaz LA. Induction of pemphigus in neonatal mice by passive transfer of IgG from patients with the disease. *N Engl J Med.* 1982; 306(20): 1189.
- Armstrong EJ, Harskamp CT, Armstrong AW. Psoriasis and major adverse cardiovascular events: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *J Am Heart Assoc.* 2013; 2: e000062.
- Askling J, Linet M, Gridley G, Halstensen TS i wsp. Cancer incidence in a population-based cohort of individuals hospitalized with celiac disease or dermatitis herpetiformis. *Gastroenterol.* 2002; 123(5): 1428-35.
- Aydog E, Yesilli O, Sever A, Usan H. Dermatitis herpetiformis and rheumatoid arthritis. *Saudi Med J.* 2006; 27(6): 881-4.
- Bae YI, Yun SJ, Lee SC, Park GT, Lee JB. Pemphigus foliaceus induced by an angiotensin II receptor blocker. *Clin Exp Dermatol.* 2008; 33: 721–23.
- Baričević M, Stipetić MM, Šitum M, Marinović B i wsp. Oral bullous eruption after taking lisinopril—case report and literature review. *Wien Klin Wochenschr.* 2013; 125: 408–11.
- Barker J, Burgdorf W. The challenge of skin diseases in Europe. EDF White Book 4th Edition. ABW Wissenschaftsverlag 2013; 61-62.
- Baroni A, Puca RV, Aiello FS, Palla M i wsp. Cefuroxime-induced pemphigus erythematosus in a young boy. *Clin Exp Dermatol.* 2008; 34: 708–10.

- Baroni A, Russo T, Faccenda F, Piccolo P. Amoxicillin/clavulanic acid-induced pemphigus vulgaris: Case report. *Acta Dermatovenerol Croat.* 2012; 20(2): 108-11.
- Bauza A, Del Pozo LJ, Saus C, Martin A. Pemphigus-like lesions induced by imiquimod. *Clin Exp Dermatol.* 2009; 34, e60–e62.
- Bayramgürler D, Erçin C, Apaydin R, Unal G. Indapamide-induced pemphigus foliaceus. *J Dermatolog Treat.* 2001; 12(3): 175-7.
- Bektas M, Jolly P, Rubenstein D. Apoptotic pathways in pemphigus. *Dermatol Res Pract.* 2010, Art. 456841, doi: 10.1155/2010/456841
- Bolognia JL, Schaffer JV, Duncan KO, Ko CJ. Vesiculobullous disease. In: *Dermatology Essentials.* Bolognia JL, Schaffer JV, Duncan KO, Ko CJ (eds.). Elsevier-Saunders 2014; 223-8.
- Bolotin D, Petronic-Rosic V. Dermatitis herpetiformis. Part I. Epidemiology, pathogenesis, and clinical presentation. *J Am Acad Dermatol.* 2011; 64(6): 1017-24.
- Bonciolini V, Bianchi B, Del Bianco E, Verdelli A, Caproni M. Cutaneous manifestations of non-celiac gluten sensitivity: Clinical histological and immunopathological features. *Nutrients* 2015; 7(9): 7798-805.
- Bose SK, Lacour JP, Bodokh I, Ortonne JP. Malignant lymphoma and dermatitis herpetiformis. *Dermatol.* 1994; 188: 177–181.
- Botelho-Nogueira L, Quarantini L, Miranda-Scippa A. Use of anticholinergic drugs and worsening of pemphigus foliaceus in a patient with bipolar disorder. *Rev Bras Psiquiatr.* 2011; 33: 412-13.
- Bourdon-Lanoy E, Roujeau JC, Joly, Guillaume JC P i wsp. Bullous pemphigoid in young patients: A retrospective study of 74 cases. *Ann Dermatol Venereol.* 2005; 132(2): 115-22.
- Boussemart L, Jacobelli S, Batteux F, Gouvestre C i wsp. Autoimmune bullous skin diseases occurring under anti-tumor necrosis factor therapy: Two case reports. *Dermatol.* 2010; 221: 201–05.
- Brenner S, Bialy-Golan A, Anhalt GJ. Recognition of pemphigus antigens in drug-induced pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus. *J Am Acad Dermatol.* 1997; 36: 919-23.
- Brenner S, Bialy-Golan A, Ruocco V. Drug-induced pemphigus. *Clin Dermatol.* 1998; 16:393–397.
- Brenner S, Golana H, Bialy-Golan A, Ruocco V. Lesion topography in two cases of nifedipine-related pemphigus. *J EADV* 1999; 13: 123-126.
- Brenner S, Goldberg I. Drug-induced pemphigus. *Clin Dermatol.* 2011; 29: 455–7.
- Brenner S, Ruocco V, Bialy-Golan A, Tur E i wsp. Pemphigus and pemphigoid-like effects of nifedipine on in vitro cultured normal human skin explants. *Int J Dermatol.* 1999; 38: 36–40.
- Brick KE, Weaver CH, Savica R, Lohse CM i wsp. A population-based study of the association between bullous pemphigoid and neurologic disorders. *J Am Acad Dermatol* 2014; 71: 1191-7.
- Bucci C, Zingone F, Russo I, Morra I i wsp. Gliadin does not induce mucosal inflammation or basophil activation in patients with nonceliac gluten sensitivity. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2013; 11(10): 1294-9.
- Buzoń E, Pe´rez-Bernal AM, de la Pena F, Rios JJ, Camacho F. Pemphigus foliaceus associated with cilazapril. *Acta Derm Venereol.* 1998; 78(3): 227.
- Callixte KT, Clet TB, Jacques D, Faustin Y i wsp. The pattern of neurological diseases in elderly people in outpatient consultations in Sub-Saharan Africa. *BMC Res Notes.* 2015; 17(8): 159.
- Cetkovska P i Pizinger K. Childhood pemphigus associated with montelukast administration. *Clin Exp Dermatol.* 2003; 28: 321–34.

- Chaudhry KN, Chavez P, Gasowski J, Grodzicki T, Messerli FH. Hypertension in the elderly: Some practical considerations. *Cleve Clin J Med*. 2012; 79(10): 694-704.
- Chen J, Li L, Chen J, Zeng Y i wsp. Sera of elderly bullous pemphigoid patients with associated neurological diseases recognize bullous pemphigoid antigens in the human brain. *Gerontology* 2011; 57: 211–216.
- Chen YJ, Wu CY, Lin MW, Chen TJ i wsp. Comorbidity profiles among patients with bullous pemphigoid: A nationwide population-based study. *Br J Dermatol*. 2011; 165: 593–9.
- Chevalier V, Barbe C, Reguiai Z, Plée J i wsp. Impact of neurological diseases on the prognosis of bullous pemphigoid: A retrospective study of 178 patients. *Ann Dermatol Venereol*. 2016; 143(3): 179-86.
- Chlebicki A, Chlebicka I. Kortykosteroidy stosowane ogólnie: Czy potrzebna jest profilaktyka i suplementacja? Mity i fakty. *Przegl Dermatol*. 2016; 103: 433.
- Chosidow O, Doppler V, Bensimon G i Joly P i wsp. Bullous pemphigoid and amyotrophic lateral sclerosis: a new clue for understanding the bullous disease? *Arch Dermatol*. 2000; 136(4): 521-4.
- Collin P, Pukkala E, Reunala T. Malignancy and survival in dermatitis herpetiformis: A comparison with coeliac disease. *Gut* 1996; 38: 528-530.
- Cordel N, Chosidow O, Hellot MF, Delaporte E i wsp. Neurological disorders in patients with bullous pemphigoid. *Dermatology* 2007; 215: 187–191.
- Cozzani E, Rosa GM, Drosera M, Intra C i wsp. ACE inhibitors can induce circulating antibodies directed to antigens of the superficial epidermal cells. *Arch Dermatol Res*. 2011; 303: 327–332.
- de Angelis E, Lombardi ML, Grassi M, Ruocco V. Enalapril: a powerful in vitro non-thiol acantholytic agent. *Int J Dermatol*. 1992; 31(10): 722-4.
- Dańczak-Pazdrowska A. Przeciwciała IgG, IgG1 i IgG4 przeciwko desmogleinie 1 w chorobach kręgu pęcherzycy. Rozprawa doktorska, UM im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Poznań 2005.
- Derikx MHM, Bisseling TM. Untreated celiac disease in a patient with dermatitis herpetiformis leading to a small bowel carcinoma. *Case reports in gastroenterology* 2012; 6: 20-25.
- Dillmann U, Krämer G, Goebel HH. Polyneuropathy in Duhring dermatitis herpetiformis. *Nervenarzt* 1991; 62(8): 516-8.
- Dmochowski M, Neumann E, Bowszyc-Dmochowska M. A case with coexistent bullous pemphigoid and psoriasis vulgaris. Immunofluorescence and immunoblot study. *Post Derm*. 1993; 10: 19-27.
- Dmochowski M. Autoimmunizacyjne dermatozy pęcherzowe. UM Poznań, 2006. Wyd. I
- Dmochowski M, Gornowicz-Porowska J, Pietkiewicz P, Bowszyc-Dmochowska M. Are patients with anti-BP230 IgG antibodies but without anti-BP180NC16a IgG antibodies suffering from less stereotypical varieties of bullous pemphigoid? International Pre IID Satellite Symposium on Autoimmune Bullous Diseases; Lübeck, Germany, 6–7th May 2013.
- Dmochowski M, Pietkiewicz P, Gornowicz-Porowska J, Bowszyc-Dmochowska M. Intake of antihypertensives suspected, according to published reports, of triggering pemphigus by pemphigus patients: The large-scale problem. *J Invest Dermatol*. 2014; 134: 49, Abstrakt 282.
- Ellebrecht C, Bhoj V, Nace A, Choi E i wsp. Novel chimeric immunoreceptors for pemphigus vulgaris (PV) therapy. *J Invest Dermatol*. 2016; 136: 10.
- Ellebrecht C, Payne A. Setting the target for pemphigus vulgaris therapy. *JCI Insight* 2017; 2(5): e92021.

- Ertekin-Taner N, Graff-Radford N, Younkin LH, Eckman C i wsp. Linkage of plasma Aβ₄₂ to a quantitative locus on chromosome 10 in late-onset Alzheimer's disease pedigrees. *Science* 2000; 290(5500): 2303-4.
- Försti AK, Jokelainen J, Ansakorpi H, Seppänen A i wsp. Psychiatric and neurological disorders are associated with bullous pemphigoid – a nationwide Finnish Care Register study. *Sci. Rep.* 2016; 6: 37125.
- Foureur N, Descamps V, Lebrun-Vignes B, Picard-Dahan C. Bullous pemphigoid in a leg affected with hemiparesia: a possible relation of neurological diseases with bullous pemphigoid? *Eur J Dermatol.* 2001; 11(3): 230-3.
- Gambichler T, Segert H, Hoxtermann S, Schmitz L i wsp. Neurological disorders in patients with bullous pemphigoid: Clinical and experimental investigations. *JEADV* 2015; 29: 1758–62.
- Giménez-García R, Nuñez-Cabezón M. Valsartan/hydrochlorothiazide induced pemphigus foliaceus. *Int J Aller Medications.* 2016; 2: 012.
- Gisoni P, Sala F, Alessandrini F, Avesani V i wsp. Mild cognitive impairment in patients with moderate to severe chronic plaque psoriasis. *Dermatol Basel Switz.* 2014; 228: 78-85.
- Godard W, Lambert D, Gavanou J, Chapuis JL. Pemphigus induced by treatment with a propranolol-meprobamate combination. *Ann Dermatol Venereol.* 1980; 107(12): 1213-6.
- Goldberg I, Sasson A, Gat A, Srebrnik A, Brenner S. Pemphigus vulgaris triggered by glibenclamide and cilazapril. *Acta Dermatovenerol Croat.* 2005; 13(3): 153-155.
- Goldberg I, Kashman Y, Brenner S. The induction of pemphigus by phenol drugs. *Int J Dermatol.* 1999; 38: 888–892.
- Goldberg I, Shirazi I, Brenner S. In vitro interferon-gamma release test in patients with drug-induced pemphigus. *IMAJ* 2008; 10: 424–427.
- Gooptu C., Littlewood T, Frith P, Lyon CC i wsp. Paraneoplastic pemphigus: an association with fludarabine? *Br J Dermatol.* 2001; 144: 1255-61.
- Gornowicz-Porowska J, Bowszyc-Dmochowska M, Dmochowski M. Autoantibody-driven enzymatic remodeling of the dermal-epidermal junction in bullous pemphigoid and dermatitis herpetiformis. *Autoimmunity* 2012; 45(1): 71-80.
- Gornowicz-Porowska J, Pietkiewicz P, Dmochowski M, Bowszyc-Dmochowska M. Mucosal-dominant pemphigus vulgaris in a captopril-taking woman with angioedema. *An Bras Dermatol.* 2015; 90(5): 748-51.
- Gornowicz-Porowska J, Pietkiewicz P, Bowszyc-Dmochowska M, Seraszek-Jaros A i wsp. Schorzenia neurodegeneracyjne a pemfigoid pęcherzowy – retrospektywne badanie immunopatologiczne. *Przeegl Dermatol.* 2015b; 102: 89-90.
- Grainge MJ, West J, Solaymani-Dodaran M, Card TR, Logan RFA. The long-term risk of malignancy following a diagnosis of coeliac disease or dermatitis herpetiformis: A cohort study. *Aliment Pharmacol Ther.* 2012; 35: 730-739.
- Grando SA. Pemphigus autoimmunity: Hypotheses and realities. *Autoimmunity* 2011; 45(1): 7-35.
- Griffiths CE, Leonard JN, Fry L. Dermatitis herpetiformis exacerbated by indomethacin. *Br J Dermatol.* 1985; 112(4): 443-5.
- Grimwood RE, Guevara A. Leuprolide acetate-induced dermatitis herpetiformis. *Cutis* 2005; 75(1): 49-52.
- Hammers CM, Chen J, Lin C, Kacir S i wsp. Persistence of anti-desmoglein 3 IgG+ B-cell clones in pemphigus patients over years. *J Invest Dermatol.* 2015; 135(3): 742–49.
- Hartke J, Trevino J, Akram S. Dermatitis herpetiformis: Rare cutaneous manifestation of colon adenocarcinoma. *J Gastrointest Canc.* 2012; 43: 161-3.
- Hassan S, Dalle S, Descloux E, Balme B, Thomas L. Dermatitis herpetiformis associated with progesterone contraception. *Ann Dermatol Venereol.* 2007; 134: 385-6.

- Herr AL, Hatami A, Kokta V, Dalle JH i wsp. Successful anti-CD20 antibody treatment of pemphigus foliaceus after unrelated cord blood transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2005; 35, 427–8.
- Hertl M, Jedlickova H, Karpati S, Marinovic B i wsp. Guideline on the Diagnosis and Treatment of Autoimmune Bullous Diseases – Pemphigus. *European Dermatology Forum (EDF) 2013*, strona internetowa: <http://www.euroderm.org/edf>.
- Hervonen K, Vornanen M, Kautiainen H, Collin P, Reunala T. Lymphoma in patients with dermatitis herpetiformis and their first-degree relatives. *Br J Dermatol.* 2005; 152: 82-86.
- Hunter HJA, Hinz R, Gerhard A, Talbot PS i wsp. Brain inflammation and psoriasis: A [11C]-(R)-PK11195 positron emission tomography study. *Br J Dermatol.* 2016; 175: 1082-4.
- Hur JW, Lee CW, Yoo DH. Bucillamine-Induced Pemphigus Vulgaris in a Patient with Rheumatoid Arthritis and Polymyositis Overlap Syndrome. *J Korean Med Sci.* 2006; 21: 585-7.
- Infantino M, Manfredi M, Meacci F, Grossi V i wsp. Diagnostic accuracy of anti-gliadin antibodies in non-celiac gluten sensitivity (NCGS) patients. *Clin Chim Acta.* 2015; 451: 135–141.
- Ishak R, Abbas O. Penicillamine revisited: Historic overview and review of the clinical uses and cutaneous adverse effects. *Am J Clin Dermatol.* 2013;14(3): 223-33.
- Izumi K, Niskie W, Mai Y, Wada M i wsp. Autoantibody profile differentiates between inflammatory and noninflammatory bullous pemphigoid. *J Invest Dermatol.* 2016; 136: 2201-10.
- Jayakaran TG. The effect of drugs in the oral cavity - A review. *J Pharm Sci & Res.* 2014; 6(2): 89-96.
- Jedlickova H, Hlubinka M, Pavlik T, Semradova V i wsp. Bullous pemphigoid and internal diseases – A case-control study. *Eur J Dermatol.* 2010; 20: 96-101.
- Joly P, Baricault S, Sparsa A, Bernard P i wsp. Incidence and mortality of bullous pemphigoid in France. *J Invest Dermatol* 2012; 132: 1998-2004.
- Junkins-Hopkins JM. Dermatitis herpetiformis: Pearls and pitfalls in diagnosis and management. *J Am Acad Dermatol.* 2010; 63(3): 526-8.
- Kabbani TA, Vanga RR, Leffl DA, Villafuerte-Galvez J i wsp. Celiac disease or non-celiac gluten sensitivity? An approach to clinical differential diagnosis. *Am J Gastroenterol.* 2014; 109: 741–6.
- Kane EV, Newton R, Roman E. Non-Hodgkin lymphoma and gluten-sensitive enteropathy: Estimate of risk using meta-analyses. *Cancer Causes Contro.* 2011; 22: 1435-44.
- Kasperkiewicz M, Zillikens D. The pathophysiology of bullous pemphigoid. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2007; 33(1-2): 67-77.
- Khashoggi M, Machet L, Perrinaud A, Brive D i wsp. D-penicillamine-induced pemphigus: Changes in anti-32-2B immunostaining patterns. *Ann Dermatol Venereol.* 2013;140(8-9): 531-4.
- Khosravani S, Handjani F, Alimohammadi R, Saki N. Frequency of neurological disorders in bullous pemphigoid patients: A cross-sectional study. *Int Sch Res Notices.* 2017; 1-4.
- Kibsgaard L, Rasmussen M, Lamberg A, Deleuran M i wsp. Increased frequency of multiple sclerosis among patients with bullous pemphigoid: A population-based cohort study on comorbidities anchored around the diagnosis of bullous pemphigoid. *Br J Dermatol.* 2017; 176: 1486–91.
- Kim SC, Won JH, Ahn SK. Pemphigus foliaceus induced by nifedipine. *Acta Derm Venereol.* 1993; 73(3): 210-11.
- Kokkonen N, Herukka SK, Huilaja L, Kokki M i wsp. Increased levels of the bullous pemphigoid BP180 autoantibody are associated with more severe dementia in Alzheimer's disease. *J Invest Dermatol.* 2017; 137(1): 71-76.

- Kosmidis ML, Dalakas MC. Practical considerations on the use of rituximab in autoimmune neurological disorders. *Ther Adv Neurol Disord.* 2010; 3(2): 93-105.
- Kowalewski C, Dmochowski M, Placek W, Waszczykowska E i wsp. Diagnostyka i leczenie pęcherzycy – konsensus Polskiego Towarzystwa Dermatologicznego. *Przeegl Dermatol.* 2014; 101: 147–155.
- Kunzli K, Favre B, Chofflon M, Borradori L. One gene but different proteins and diseases: the complexity of dystonin and bullous pemphigoid antigen 1. *Exp Dermatol.* 2016; 25: 10–16.
- Lai YC, Yew YW, Lambert WC. Bullous pemphigoid and its association with neurological diseases: a systematic review and meta-analysis. *JEADV* 2016; 30: 2007–15.
- Landau M, Brenner S. Histopathologic findings in drug-induced pemphigus. *Am J Dermatopath.* 1997; 19(4): 411-14.
- Langan SM, Groves RW, West J. The relationship between neurological disease and bullous pemphigoid: A population-based case–control study. *J Invest Dermatol.* 2011; 131: 631–36.
- Lanza A, Cirillo N, Femiano F, Gombos F. How does acantholysis occur in pemphigus vulgaris: A critical review. *J Cutan Pathol.* 2006;33(6): 401-12.
- Lee HH, Song IH, Friedrich M, Gauliard A i wsp. Cutaneous side-effects in patients with rheumatic diseases during application of tumour necrosis factor-alpha antagonists. *Br J Dermatol.* 2007;156(3): 486-91.
- Leivo I, Tani T, Laitinen L, Bruns R i wsp. Anchoring complex components laminin-5 and type VII collagen in intestine: association with migrating and differentiating enterocytes. *J Histochem Cytochem.* 1996; 44(11); 1267-77.
- Leonard JN, Tucker WFG, Fry JS, Coulter CA i wsp. Increased incidence of malignancy in dermatitis herpetiformis. *Br Med J.* 1983; 286: 16-18.
- Lewis NR, Logan RFA, Hubbard RB, West J. No increase in risk of fracture, malignancy or mortality in dermatitis herpetiformis: a cohort study. *Aliment Pharmacol Ther.* 2008; 27: 1140-47.
- Lewis HM, Renaula TL, Garioch JJ, Leonard JN i wsp. Protective effect of gluten-free diet against development of lymphoma in dermatitis herpetiformis. *Br J Dermatol.* 1996; 135: 363-7.
- Lo Schiavo A, Guerrera V, Cozzani E, Aurilia A i wsp. In vivo enalapril-induced acantholysis. *Dermatol.* 1999; 198: 391-3.
- Lo Schiavo A, Puca RV, Romano F, Cozzi R. Pemphigus erythematosus relapse associated with atorvastatin intake. *Drug Des Devel and Ther.* 2014; 8: 1463–5.
- Lo Schiavo A, Sangiuliano S, Puca V, Brunetti G, Ruocca E. Pemphigus relapse and acetazolamide, a drug with an active amide group, a casual or causal relationship? *JEADV* 2009; 23: 716-7.
- Lo Schiavo A, Sangiuliano S, Puca V, Brunetti G i wsp. Pemphigus and chrysotherapy: All that glitters is not gold! *Int J Dermatol.* 2008; 47: 645–7.
- Mahoney MG, Wang Z, Rothenberger K, Koch PJ i wsp. Explanations for the clinical and microscopic localization of lesions in pemphigus foliaceus and vulgaris. *J Clin Invest.* 1999; 103(4): 461.
- Matz H, Bialy-Golan A, Brenner S. Diclofenac: a new trigger of pemphigus vulgaris? *Dermatology.* 1997; 195(1): 48-9.
- Marinhoa RT, Johnsonb NW, Fatelaa NM, Serejo FS i wsp. Oropharyngeal pemphigus in a patient with chronic hepatitis C during interferon alpha-2a therapy. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2001; 13(7): 869-72.
- Maruani A, Mchet MC, Carlotti A, Giraudeau B i wsp. Immunostaining with antibodies to desmoglein provides the diagnosis of drug-induced pemphigus and allows prediction of outcome. *Am J Clin Pathol.* 2008; 130: 369-74.
- Mashiah J, Brenner S. Possible mechanisms in the induction of pemphigus foliaceus by topical imiquimod treatment. *Arch Dermatol.* 2005; 141: 908.

- McQueen MB, Devlin B, Faraone SV, Nimgaonkar VL i wsp. Combined analysis from eleven linkage studies of bipolar disorder provides strong evidence of susceptibility loci on chromosomes 6q and 8q. *Am J Hum Genet.* 2005; 77(4): 582-95.
- Messingham K, Narayanan N, Aust S i wsp. Collagen XVII autoantibodies are present in Parkinson's disease patients and co-localize with tyrosine hydroxylase in the substantia nigra. *J Invest Dermatol.* 2015; 135(1): 14.
- Messingham KA, Aust S, Helfenberger J, Parker KL i wsp. Autoantibodies to collagen XVII are present in Parkinson's disease and localize to tyrosine-hydroxylase positive neurons. *J Invest Dermatol.* 2016; 136(3): 721-3.
- Milani-Nejad N, Zhang M, Kaffenberger J. The association between bullous pemphigoid and neurological disorders: a systematic review. *Eur J Dermatol.* 2017; 27(5): 472-481.
- Mooney PD, Aziz I, Sanders DS. Non-celiac gluten sensitivity: Clinical relevance and recommendations for future research. *Neurogastroenterol Motil.* 2013; 25: 864-71.
- Morris SD, Mallipeddi R, Oyama N, Gratian MJ i wsp. Psoriasis bullosa acquisita. *Clin Exp Dermatol.* 2002; 27: 665-9.
- Murrell DF, Dick S, Ahmed AR, Amagai M i wsp. Consensus statement on definitions of disease, end points, and therapeutic response for pemphigus. *J Am Acad Dermatol.* 2008;58:1043-6.
- Myers A, Holmans P, Marshall H, Kwon J i wsp. Susceptibility locus for Alzheimer's disease on chromosome 10. *Science* 2000; 290(5500): 2304-5.
- Nguyen VT, Arredondo J, Chernyavsky AI, Pittelkow MR i wsp. Pemphigus vulgaris acantholysis ameliorated by cholinergic agonists. *Arch Dermatol.* 2004; 140: 327-334.
- Noe MH, Messingham K, Aust S i wsp. Bullous pemphigoid patients exhibit increased markers of immunoscence. 2015 Annual Meeting of the SID; Atlanta, GA, USA, 6-9th May 2015, Meeting Program, S1: LB738.
- Norman M, Simpson M, Mogensen J, Shaw A i wsp. Novel mutation in desmoplakin causes arrhythmogenic left ventricular cardiomyopathy. *Circulation.* 2005; 112(5): 636-42.
- Ohata C, Ishii N, Hamada T, Shimomura Y i wsp. Distinct characteristics in Japanese dermatitis herpetiformis: A review of all 91 Japanese patients over the last 35 years. *Clin Dev Immunol.* 2012; 2012: 562168.
- Ong CS, Cook N, Lee S. Drug-related pemphigus and angiotensin converting enzyme inhibitors. *Australas J Dermatol.* 2000; 41: 242-46.
- Orion E, Barzilay D, Brenner S. Pemphigus vulgaris Induced by diazinon and sun exposure. *Dermatol.* 2000; 201: 378-9.
- Parodi A, Cozzani E, Milesi G, Drosera M, Rebora A. Fosinopril as a possible pemphigus-inducing drug. *Dermatol.* 2002; 204: 139-41.
- Pasternack C, Kaukinen K, Kurppa K, Mäki M i wsp. Quality of life and gastrointestinal symptoms in long-term treated dermatitis herpetiformis patients: A cross-sectional study in Finland. *Am J Clin Dermatol.* 2015; 16(6): 545-52.
- Paterson AJ, Lamey PJ, Lewis MA, Nolan A, Rademaker M. Pemphigus vulgaris precipitated by glibenclamide therapy. *J Oral Pathol Med.* 1993; 22(2): 92-5.
- Patsatsi A, Murrell DF. Multiple sclerosis is the neurological disorder most highly associated with bullous pemphigoid. *Br J Dermatol.* 2017; 176: 1428-9.
- Patterson CRS, Davies MG. Carbamazepine-induced pemphigus. *Clin Exp Dermatol.* 2003; 28: 98-99.
- Pellicano R, Iannantuono M, Di Ciommo A, Bisceglia M. Pemphigus triggered by diclofenac. *JEADV* 1996; 7(2): 176-78.

- Peterson JD, Worobec SM, Chan LS. An erythrodermic variant of pemphigus foliaceus with puzzling histologic and immunopathologic features. *J Cutan Med Surg.* 2007; 11(5): 179-84.
- Piepoli MF, Hoes AW, Agewal S, Albus C i wsp. Wytyczne ESC dotyczące prewencji chorób układu sercowo-naczyniowego w praktyce klinicznej w 2016 roku. *Kardiologia Pol.* 2016; 74(9): 821–936.
- Pietkiewicz P, Gornowicz-Porowska J, Bowszyc-Dmochowska M, Dmochowski M. A retrospective study of antihypertensives in pemphigus: A still uncharted odyssey particularly between thiols, amides and phenols. *Arch Med Sci.* 2015; 11(5): 1021–27.
- Pinto GM, Lamarão P, Vale T. Captopril-induced pemphigus vegetans with Charcot-Leyden crystals. *J Am Acad Dermatol.* 1992; 27: 281-4.
- Pinto-Sánchez MI, Verdú EF. Non-coeliac gluten sensitivity: Are we closer to separating the wheat from the chaff? *Gut* 2016; 65: 1930-1937.
- Poddar U. Pediatric and adult celiac disease: similarities and differences. *Indian J Gastroenterol.* 2013; 32(5): 283-8.
- Porter WM, Dawe SA, Bunker CB. Dermatitis herpetiformis and cutaneous T-cell lymphoma. *Clin Exp Dermatol.* 2001; 26(3): 305-6.
- Powell AM, Albert S, Oyama N, Sakuma-Oyama Y i wsp. Paraneoplastic pemphigus secondary to fludarabine evolving into unusual oral pemphigus vegetans. *JEADV* 2004; 18: 360–64.
- Ravn AH, Thyssen JP, Egeberg A. Skin disorders in Parkinson's disease: Potential biomarkers and risk factors. *Clin Cosmet Invest Dermatol.* 2017; 10: 87–92.
- Reich K. The concept of psoriasis as a systemic inflammation: Implications for disease management. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2012; 26 (2): 3-11.
- Rossa G. The prevalence of Alzheimer's type dementia and vascular dementia in the district of Swiebodzin. *Psychiatr Pol.* 1997; 31: 121-34.
- Ruocco E, Aurilia A, Ruocco V. Precautions and suggestions for pemphigus patients. *Dermatol.* 2001; 203: 201-07.
- Ruocco V, Ruocco E, Schiavo A, Brunetti G i wsp. Pemphigus: Etiology, pathogenesis, and inducing or triggering factors: Facts and controversies. *Clin Dermatol.* 2013; 31: 374–81.
- Schiltz JR, Michel B. Production of epidermal acantholysis in normal human skin in vitro by the IgG fraction from pemphigus serum. *J Invest Dermatol.* 1976; 67(2): 254-60.
- Schmidt E, Spindler V, Eming R, Amagai M i wsp. Meeting report of the pathogenesis of pemphigus and pemphigoid meeting in Munich, September 2016. *J Invest Dermatol.* 2017; 137(6): 1199-1203.
- Schmutz JL, Barbaud A, Trechot P. Indapamide-induced pemphigus foliaceus a sulfurous affair? *Ann Dermatol Venereol.* 2002; 129(8-9): 1085.
- Schwartz S, Epstein S, Corkey B, Grant SF i wsp. The time is right for a new classification system for diabetes: Rationale and implications of the β -cell-centric classification schema. *Diabetes Care* 2016; 39: 179–180.
- Shelton RM. Pemphigus foliaceus associated with enalapril. *J Am Acad Dermatol.* 1991; 24(3): 503-4.
- Shen S, Ke Y, Dang E, Fang H i wsp. Semaphorin 4D from CD15(+) granulocytes via ADAM10-induced cleavage contributes to antibody production in bullous pemphigoid. *J Invest Dermatol.* 2018; 138(3): 588-597.
- Sheu JJ, Wang KH, Lin HC, Huang CC. Psoriasis is associated with an increased risk of parkinsonism: A population-based 5-year follow-up study. *J Am Acad Dermatol.* 2013; 68: 992-9.

- Shigeta M, Saiki M, Tsuruta D, Ohata C i wsp. Two Japanese cases of dermatitis herpetiformis associated each with lung cancer and autoimmune pancreatitis but showing no intestinal symptom or circulating immunoglobulin A antibodies to any known antigens. *J Dermatol.* 2012; 39(12): 1002-5.
- Sigurgeirsson B, Agnarsson BA, Lindelöf B. Risk of lymphoma in patients with dermatitis herpetiformis. *Br Med J.* 1994; 308(6920): 13-15.
- Sitaru C, Zillikens D. Mechanisms of blister induction by autoantibodies. *Exp Dermatol.* 2005; 14(12): 861-75.
- Stavropoulos PG, Kostakis PG, Papakonstantinou AMK, Panagiotopoulos A, Petridis AD. Coexistence of psoriasis and pemphigus after enalapril intake. *Dermatol.* 2003; 207: 336-7.
- Stinco G, Mattighello P, Zanchi M, Patrone P. Multiple sclerosis and bullous pemphigoid: A casual association or a pathogenetic correlation? *Eur J Dermatol.* 2002; 12(2): 186-8.
- Stinco G, Codutti R, Scarbolo M, Valent F, Patrone P. A Retrospective epidemiological study on the association of bullous pemphigoid and neurological diseases. *Acta Derm Venereol.* 2005; 85: 136-9.
- Sun G, Berthelot C, Duvic M. A second case of dermatitis herpetiformis and cutaneous T-cell lymphoma. *Clin Exp Dermatol.* 2008; 33(4): 506-7.
- Sun Y, Lin Y, Yang B, Wang C i wsp. The HLA alleles B*0801 and DRB1*0301 are associated with dermatitis herpetiformis in a Chinese population. *J Invest Dermatol.* 2016; 136(2): 530-2.
- Swerdlow AJ, Whittaker S, Carpenter LM, English JS. Mortality and cancer incidence in patients with dermatitis herpetiformis: A cohort study. *Br J Dermatol.* 1993;129(2): 140-4.
- Tabarés-Seisdedos R, Rubenstein JL. Chromosome 8p as a potential hub for developmental neuropsychiatric disorders: implications for schizophrenia, autism and cancer. *Mol Psychiatry.* 2009; 14(6): 563-89.
- Tablazon ILD, Al-Dabagh A, Davis SA, Feldman SR. Risk of cardiovascular disorders in psoriasis patients: current and future. *Am J Clin Dermatol.* 2014; 14: 1-7.
- Taghipour K, Chi C, Vincent A, Groves RW i wsp. The association of bullous pemphigoid with cerebrovascular disease and dementia: A case-control study. *Arch Dermatol.* 2010; 146: 1251-4.
- Taghipour K, Chi C, Bhogal B, Groves RW i wsp. Immunopathological characteristics of patients with bullous pemphigoid and neurological disease. *JEADV* 2014; 28: 569-573.
- Tarazona MJM, Unterstell N, Mota A, Bressan A, Gripp A. Bullous pemphigoid and neurological disease: Statistics from a dermatology service. *An Bras Dermatol.* 2015; 90(2): 280-2.
- Tuusa J, Lindgren O, Tertsunen HM, Nishie W i wsp. BP180 autoantibodies target different epitopes in multiple sclerosis or Alzheimer's disease than in bullous pemphigoid. *J Invest Dermatol.* 2019; 139(2): 293-299. Epub 2018 Oct 10.
- Vignes S, Paul C, Flageul B, Dubertret L. Ramipril-induced superficial pemphigus. *Br J Dermatol.* 1996; 135: 652-668.
- Viljamaa M, Kaukinen K, Pukkala E, Hervoonen K i wsp. Malignancies and mortality in patients with coeliac disease and dermatitis herpetiformis: 30-year population-based study. *Dig Liver Dis.* 2006; 38(6): 374-80.
- Vu TN, Lee TX, Ndoye A, Shultz LD i wsp. The pathophysiological significance of nondesmoglein targets of pemphigus autoimmunity. Development of antibodies against keratinocyte cholinergic receptors in patients with pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus. *Arch Dermatol.* 1998; 134(8): 971-80.
- Weltfriend S, Ingber A, David M, Sandbank M. Pemphigus herpetiformis following D-penicillamine in a patient with HLA B8. *Hautarzt* 1988; 39(9): 587-8.

- Williams T, Machann W, Kühler L, Hamm H i wsp. Novel desmoplakin mutation: juvenile biventricular cardiomyopathy with left ventricular non-compaction and acantholytic palmoplantar keratoderma. *Clin Res Cardiol.* 2011; 100(12): 1087-93.
- Wolff K, Goldsmith LA, Katz KI, Gilchrist BA, Paller AS, Leffell DJ. Disorders of epidermal and dermal-epidermal cohesion and vesicular bullous disorders. In: Fitzpatrick's dermatology in general medicine. 7th ed. The McGraw-Hill Companies 2008, 447-459 / 461-62.
- Wolf R, Tamir A, Brenner S. Drug-induced versus drug-triggered pemphigus. *Dermatologica* 1991; 182(4): 207-10.
- Wolnik-Trzeciak G. Autoimmunizacja wobec naskórkowej i tkankowej transglutaminazy w odniesieniu do wybranych czynników skórnej patogenezы opryszczkowego zapalenia skóry. Rozprawa doktorska, UM im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Poznań 2005.
- Wolnik-Trzeciak G, Bowszyc-Dmochowska M, Dańczak-Pazdrowska A, Dmochowski M. IgA antibodies to epidermal transglutaminase, tissue transglutaminase and endomysium in relation to patterns of IgA cutaneous deposits in dermatitis herpetiformis. *Clinical Dermatol.* 2005a; 7(2): 61-65.
- Yamamoto T, Takata-Michigami M, Hisamatsu Y, Yamamoto T i wsp. A prospective analysis of anti-desmoglein antibody profiles in patients with rheumatoid arthritis treated with thiol compounds. *J Dermatol. Sci.* 2010; 59: 170-175.
- Yanagishita T, Tamada Y, Watanabe D. Bucillamine-induced pemphigus vulgaris. *JEADV* 2015; 29: 1242-3.
- Yoshimura T, Seishima M, Nakashima K, Yasuhara Y i wsp. Increased antibody levels to desmogleins 1 and 3 after administration of carbamazepine. *Clin Exp Dermatol.* 2001; 26: 441-5.
- Yoshimura K, Ishii N, Hamada T, Abe T i wsp. Clinical and immunological profiles in 17 Japanese patients with drug-induced pemphigus studied at Kurume University. *Br J Dermatol.* 2014; 171: 544-53.
- Yu SS, Connolly MK, Berger TG, McCalmont TH. Dermatitis herpetiformis associated with administration of a gonadotropin-releasing hormone analog. *J Am Acad Dermatol.* 2006; 54(2): 58-9.
- Wolff K, Johnson RA, Saavedra AP. Genetic and acquired bullous diseases. In: Fitzpatrick's Color Atlas and Synopsis of Clinical Dermatology. 7th ed. Sydor AM, Davis KJ (eds.). McGraw Hill Education, USA 2013; 107-9.
- Zeeli T, Langberg M, Rotem C, David M i wsp. Vitamin D inhibits captopril-induced cell detachment and apoptosis in keratinocytes. *Br J Dermatol.* 2011; 164(1): 62-7.