

Otoimmün Büllöz Hastalıkların Tanısında İmmünofloresan Bulgular

Immunofluorescence Findings in the Diagnosis of Autoimmune Bullous Diseases

Soner Uzun

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

Özet

Otoimmün büllöz hastalıklarda doğru tanıya ulaşabilmek için klinik, histolojik ve immünopatolojik bulguların birlikte değerlendirilmesine ihtiyaç vardır. Bu hastalıkların pek çoğunda, özellikle pemfigusta, yan etki veya komplikasyon geliştirme riskleri oldukça yüksek ilaçlar veya tedavi yöntemleri kullanılmaktadır. Dolayısıyla doğru ve etkin bir tedavi için kesin tanı şarttır. Otoimmün büllöz hastalıklarda klinik şüphenin doğrulanması için immünofloresan testler gibi çok değerli laboratuvar yöntemleri vardır. Bu yazıda söz konusu tanı yöntemlerinin kısaca uygulama tekniklerinden ve özellikle otoimmün büllöz hastalıklarda elde edilen immünofloresan bulgulardan bahsedilmiştir. (*Türkderm 2011; 45 Özel Sayı 1: 31-5*)

Anahtar Kelimeler: Büllöz hastalıklar, tanı, immünofloresan bulgular

Summary

The accurate diagnosis of autoimmune bullous diseases of the skin requires evaluation of clinical, histologic, and immunopathologic findings. There is generally a risk of serious side effects or complications in the treatment of autoimmune bullous diseases especially of pemphigus. Therefore definite diagnosis is essential for accurate and effective treatment. Fortunately, there are invaluable laboratory methods such as immunofluorescence tests in confirming a diagnosis that is suspected by clinical examination. In this article, the application techniques of these tests briefly and particularly the immunofluorescence findings that could be obtained in autoimmune bullous diseases were discussed. (*Turkderm 2011; 45 Suppl 1: 31-5*)

Key Words: Bullous diseases, diagnosis, immunofluorescence findings

Giriş

Fluorescein ile işaretlenmiş anti-human antikorlar aracılığı ile doku örneklerinde immünoreaktanların varlığını ve/veya lokalizasyonlarını ortaya koymak amacı ile ilk kez 1960'lı yılların başından itibaren kullanıma giren immünofloresan (İF) teknikler özellikle otoimmün büllöz hastalıkların (OBH), lupus eritematosus'un ve vaskülitlerin tanısında yaygın olarak kullanılmaktadırlar^{1,2}. Bugün tüm dünyada otoimmün hastalıkların tanısında en sık kullanılan antikor testleridir. Temel olarak direkt immünofloresan (DİF) ve indirekt immünofloresan (İİF) şeklinde iki yöntem ile uygulanırlar.

DİF deri örneklerinde depolanmış antikorların varlığını, İİF ise serumda dolaşan antikorların varlığını ortaya koyar. DİF'de frozen kesitleri yapılmış doku örnekleri doğrudan fluorescein konjugat ile enkübe edilirken, İİF'de seri dilüsyonları yapılmış serum örnekleri önce bir ara doku (substrat) ile (maymun özefagusu, normal insan derisi veya sıçan özefagusu gibi) ardından da fluorescein konjugat ile enkübe edilir. Hazırlanan preparatlar ultraviyole mikroskopu ile incelenir.

İF teknikler OBH'nin rutin tanısında kullanılan en önemli tanı-ayırıcı tanı yöntemleridir. Mevcut klinik ön tanıyı kesinleştirebilirler, yine mevcut tanıyı değiştirip tamamen farklı bir tanının konmasına neden olabilir-

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Soner Uzun, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi

Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı, 07059 Antalya, Türkiye Tel: +90 242 249 67 00 E-posta: sonuzun@akdeniz.edu.tr

*Türkderm-Deri Hastalıkları ve Frengi Arşivi Dergisi, Galenos Yayınevi tarafından basılmıştır.
Turkderm-Archives of the Turkish Dermatology and Venerology, published by Galenos Publishing.*

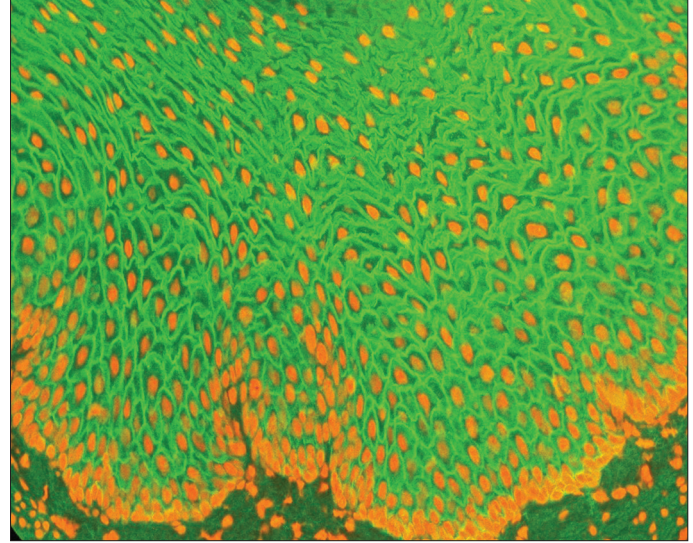


ler ve hatta yeni antiteler (IgA pemfigusu, lineer IgA dermatozu, büllöz SLE, edinsel epidermolizis büllöza gibi) tanımlayabilirler. Bu derlemenin konusu olan OBH tanısında kullanılan İF bulgular, tanıya ulaşmada DİF ve İİF bulgularının temel alındığı bir algoritma aracılığı ile sunulmaya çalışılacaktır (Şekil 1)³. OBH'de DİF ile saptanan immünoreaktan depolanmaları anatomik olarak üç alana sınırlıdır. Bunlar epidermiste keratinositlerin çevresinde interselüler aralık (İSA), dermoepidermal bileşkede bazal membran zonu (BMZ) ve dermal papillalardır.

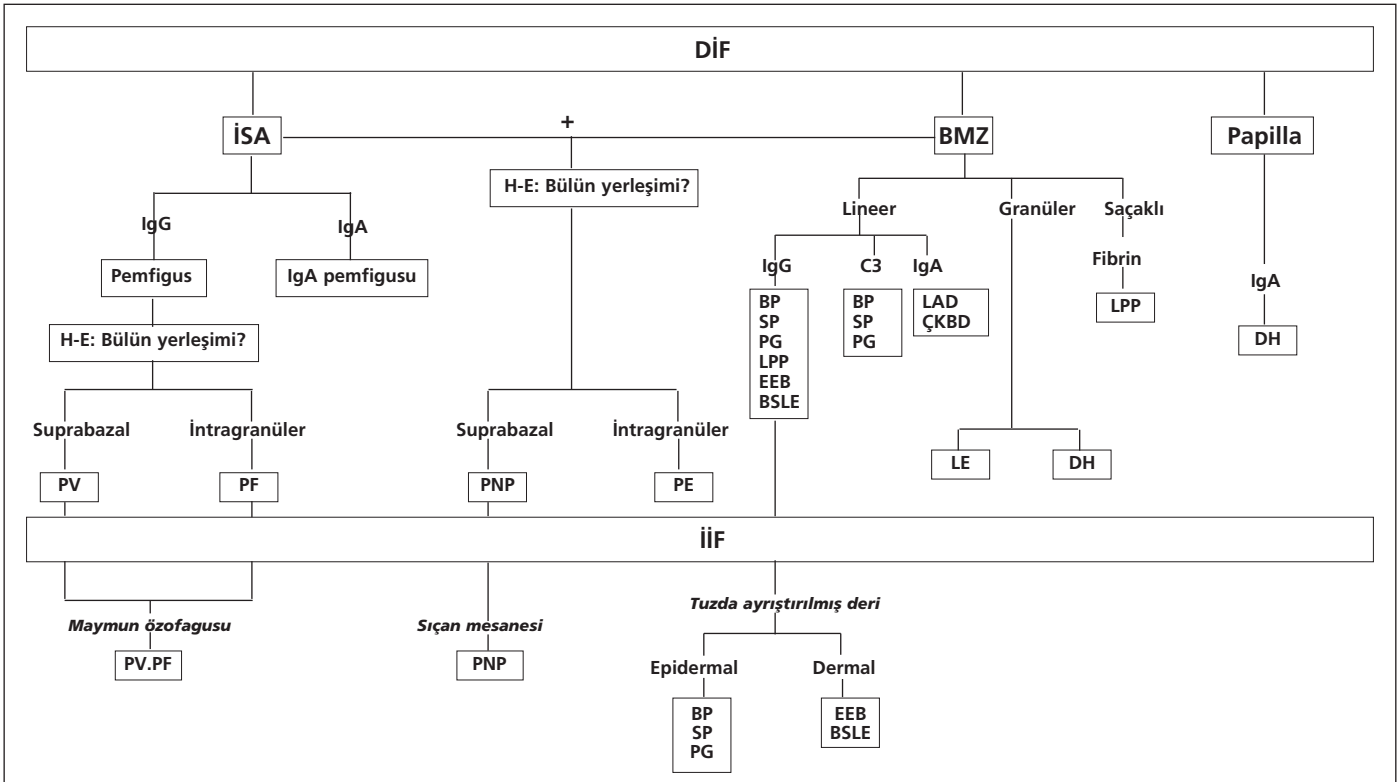
İSA Depolanması

Doğrudan pemfigusu işaret eden bir bulgudur. Tanıda altın standart kabul edildiği için pemfigus düşünülen tüm olgularda DİF uygulanmalıdır^{4,5}. Pemfigus için çok güvenilir ve oldukça duyarlı bir bulgudur. Özellikle oral pemfigus tanısında tüm tanı araçları içerisinde en duyarlı yöntemdir. Non-spesifik boyanmalar dışında yalancı pozitiflik pek görülmez. Yalancı negatiflik genellikle inflamatuvar alanlardan veya lezyonel alınan biyopsilerden kaynaklanır. Bu nedenle DİF'in sensitivitesi biyopsi örneklerinin uygun alınıp alınmadığı ile yakından ilişkilidir. Tüm OBH'lerde DİF için en uygun örnekler deride veya mukozada taze bir lezyona yakın "normal görünümlü" alandan alınan biyopsi örnekleridir. Genellikle DİF, İİF'den daha önce pozitifleşir ve tanılma değeri İİF'e göre daha göre yüksektir.

İSA'da IgG depolanması tüm pemfigus olgularında saptanır. Çoğu zaman buna C3 depolanması da eşlik eder (IgA ve IgM daha az). Tek başına IgA depolanması ise IgA pemfigusunu işaret eden bir bulgudur. İSA depolanması keratinositlerin çevresinde kesintisiz elma yeşili renginde bir floresan ile karakter.

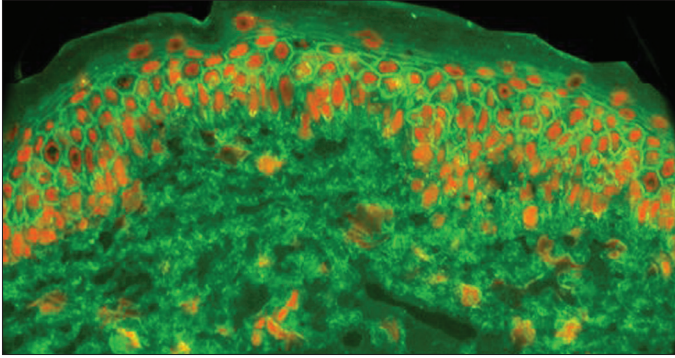


Şekil 2. DİF incelemede elma yeşili renginde ve balık ağı görünümünde floresan veren İSA depolanması pemfigus tanısı için altın standarttır

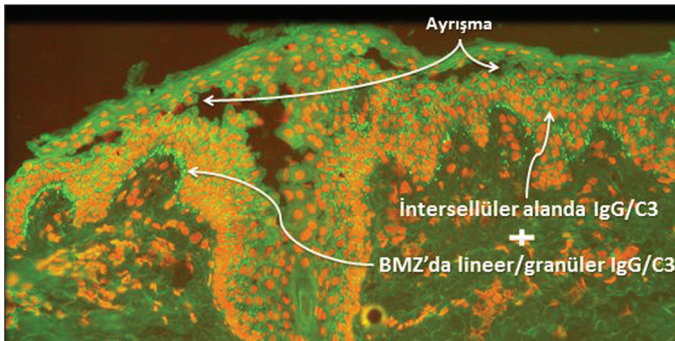


Şekil 1. Otoimmün büllöz hastalıkların immünofloresan bulgularla tanı algoritması³. DİF: Direkt immünofloresan, İSA: İnterselüler aralık, BMZ: Bazal membran zonu, H-E: Hematoksislen eozin, İİF: İndirekt immünofloresan, PV: Pemfigus vulgaris, PF: Pemfigus foliaceus, PE: Pemfigus eritematozus, PNP: Paraneoplastik pemfigus, BP: Büllöz pemfigoid, SP: Skatrisyel pemfigoid, PG: Pemfigoid gestasyon, LPP: Liken planus pemfigoides, EEB: Edinsel epidermolizis büllöza, BSLE: Büllöz SLE, LAD: Lineer IgA Dermatozu, ÇKBD: Çocukluk kronik büllöz dermatozu, LE: Lupus eritematozus, DH: Dermatit herpetiformis

terizedir (balık ağı, tavuk kümesi görünümü) (Şekil 2, Şekil 3). Floresan depolanma paterni pemfigus formlarının çoğunda identiktir ve epidermin tüm katları boyunca gözlenir. Ancak depolanma az sayıdaki pemfigus vulgaris (PV) olgusunda suprabazal alanda, pemfigus foliaceus (PF) olgusunda ise üst epidermiste daha yoğun olabilir. Ancak PV ile PF'nin ayrımında



Şekil 3. Pemfigusta İSA depolanması tip farkı olmaksızın genellikle epidermin tüm katları boyunca gözlenir



Şekil 4. İSA ve BMZ depolanmasının birlikte olduğu DİF bulgusu; ayrışma üst epidermiste ise PE'yi işaret eder

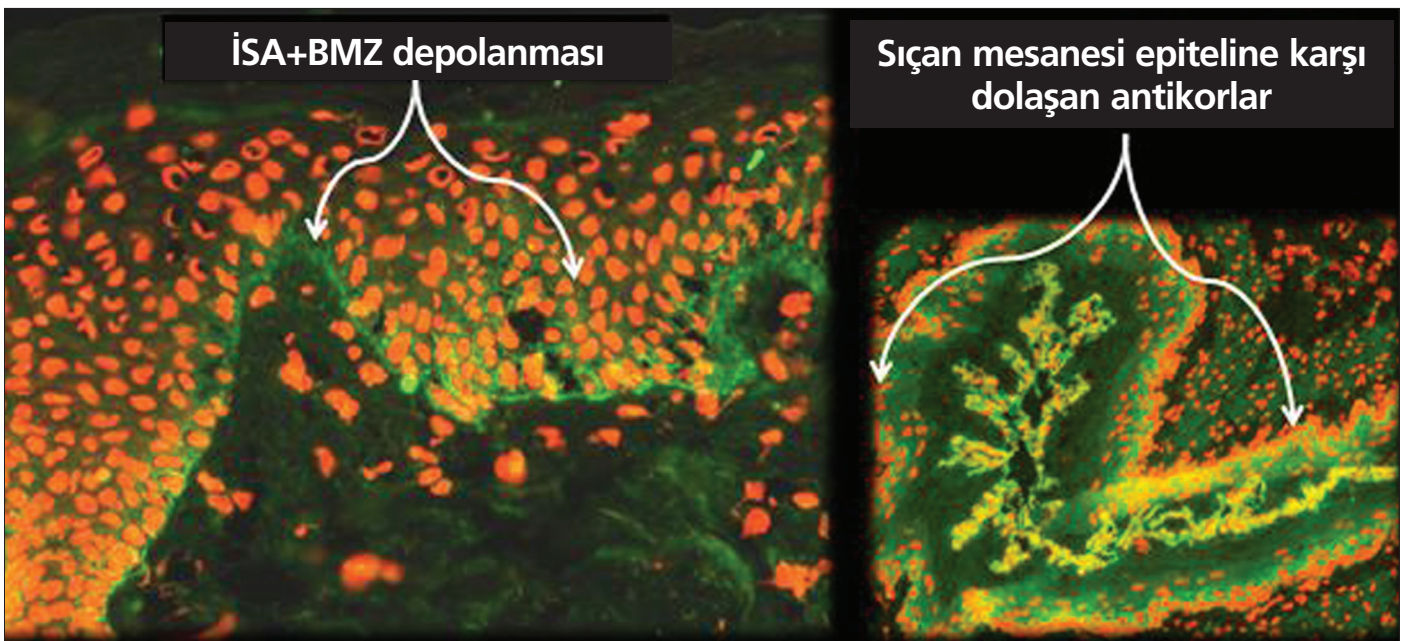
en güvenilir bulgu H-E incelemede ayrışmanın anatomik lokalizasyonudur. DİF ile tek başına İSA depolanması saptanan bir örnekte ayrışma suprabazal ise tanı PV'dir. Ancak subkorneal veya intragranüler bir ayrışma varsa tanı PF'dir (Şekil 1). İİF ile pemfiguslu olguların serumunda IgG antikorları %80-%90 olguda saptanabilir. Sensitivite doğrudan kullanılan ara dokuya ilişkilidir. Sırasıyla sensitivitesi en yüksek olanlar normal insan derisi, maymun özofagusu ve sıçan özofagusudur. İİF'de yalancı pozitiflik yanıklarda, TEN, penisilin allerjisi gibi durumlarda görülebilir. Antikor titrasyonları genellikle klinik aktivite ile korelasyon gösterebilirlerse de hastalığın şiddetini yansıtması bakımından güvenilir değildir.

İSA ve BMZ Depolanması

İSA depolanmasına eşlik eden lineer veya granüler BMZ depolanması pemfigusun iki alt tipinde görülen İF bulgularıdır^{4,5}. Böyle bir depolanmada tanının sözü pemfigus tiplerinden hangisi olduğuna yine H-E incelemede ayrışmanın anatomik lokalizasyonu ile karar verilir. Ayrışma üst epidermiste ise yani subkorneal veya intragranüler ise tanı pemfigus eritematозus (PE) (Şekil 4), ayrışma suprabazal ise paraneoplastik pemfigustur (PNP) (Şekil 5). Depolanmış immüno reaktanlar IgG ve/veya C3'tür. PNP'de İİF ile olguların %75'inde sıçan mesanesi epiteline karşı dolaşan antikorlar saptanırken PE olgularının %80'inde lupus bant testi pozitifliği, %30-%80'inde ise ANA pozitifliği gözlenebilir⁵.

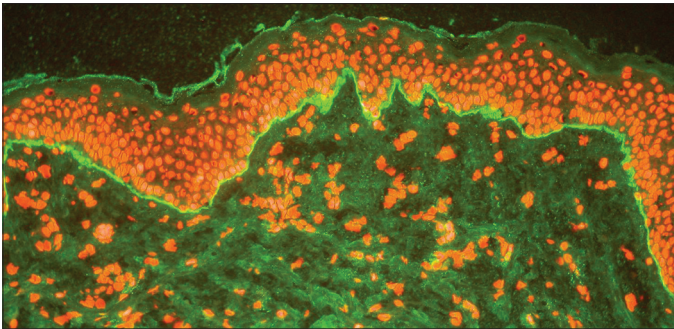
BMZ Depolanması

DİF ile BMZ'de gözlenen depolanmanın morfolojisi (lineer, granüler, saçaklı vs.) ve depolanmış immüno reaktanın tipi (IgG, IgA, IgM, C3, Fibrinojen) tanı için önemli ipuçları verir. Tek başına



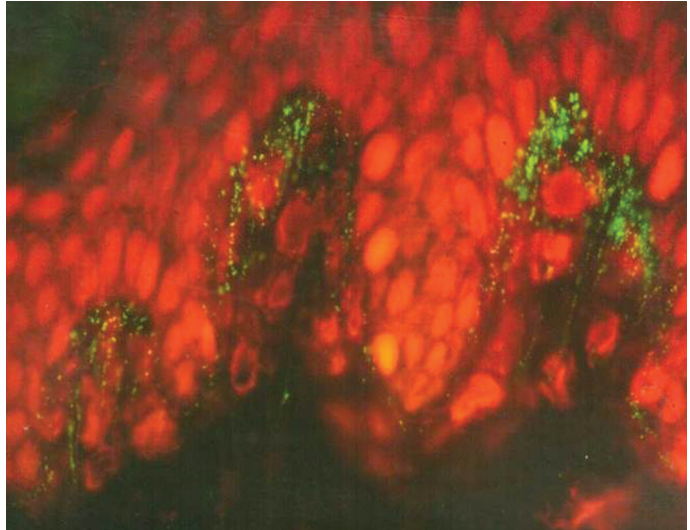
Şekil 5. İSA ve BMZ depolanmasının birlikte olduğu DİF bulgusu ayrışma suprabazal ise PNP'i işaret eder. Bu hastaların önemli bir kısmının serumunda İİF ile sıçan mesanesi epiteline karşı antikorlar saptanır

BMZ'de lineer depolanma tüm subepidermal OBH'ların ortak bulgusudur (Şekil 1). Büllöz pemfigoid (BP) tanısının doğrulanması için DİF şarttır⁵. BMZ'da lineer C3 depolanması olguların tümünde saptanır (Şekil 6). Genellikle buna lineer IgG depolanması da eşlik eder. İİF ile dolaşan anti-BMZ IgG antikoru %70-%80 olguda pozitif olup, klinik aktivite ile korelasyon göstermez. BP'nin edinsel epidermolizis büllöza (EEB)'dan ayırımı için tuzda ayrıştırılmış deride İF uygulanır. Bunun için önce ara doku olarak kullanılan normal insan derisi 1 M NaCl içerisinde 48-72 saat bekletilerek lamina lusida boyunca ayrıştırılır ve ardından İF test uygulanır^{4,5}. Eğer lineer depolanma ayrışmanın epidermal (%80 olguda) veya hem epidermal hem de dermal (%20 olguda) tarafında saptanırsa bu öncelikle BP'yi işaret eder (Şekil 7). Tek başına dermal tarafta depolanma ise öncelikle EEB'nin bulgusudur.

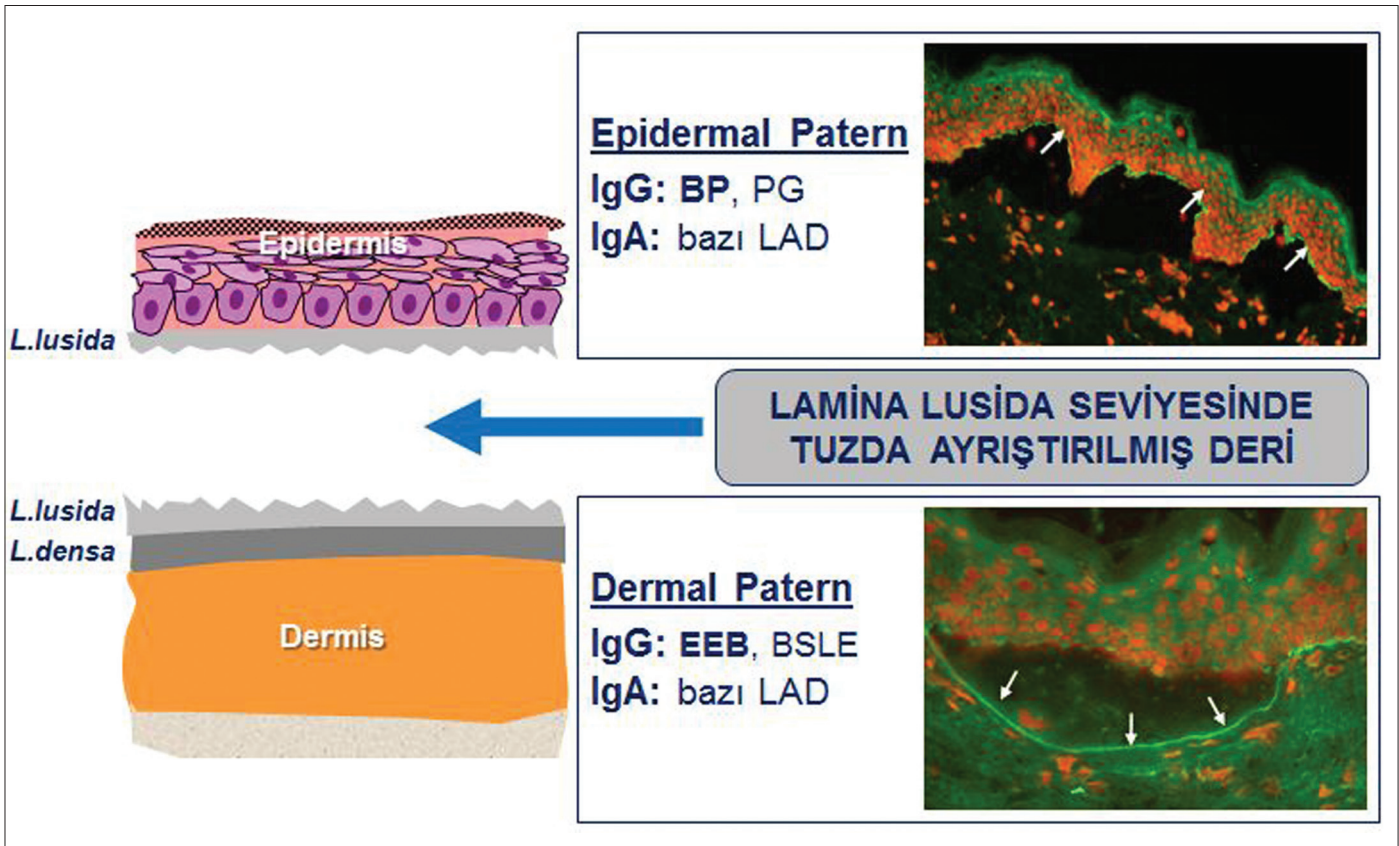


Şekil 6. BMZ'de lineer depolanma başta BP olmak üzere çoğu subepidermal otoimmün büllöz hastalığın ortak DİF bulgusudur

Pemfigoid gestasyon'unda BMZ'de lineer C3 tüm olgularda, IgG ise çoğunlukta saptanır. İİF ile %25 olguda dolaşan anti-BMZ IgG antikoru saptanırken %75 olguda da komplemanı fikse eden anti-BMZ IgG antikoru (HG faktör) saptanır. Sikatriyel pemfigoid'de %80 olguda BMZ'de lineer C3 depolanması, İİF ile olguların çoğunda anti-BMZ IgG antikoru saptanır. Büllöz SLE'de olguların tümünde BMZ'de IgG ve C3 saptanır (lineer veya granüler-bant şeklinde). İİF; genellikle negatiftir. Lineer IgA der-



Şekil 8. Üst dermiste papilla uçlarında granüler IgA depolanması DH için tanı koydurucu bir bulgudur



Şekil 7. Tuzda ayrıştırılmış normal insan derisinde uygulanan İF test ile özellikle BP ile EEB'nin ayırımı yapılır

matozunda adından da anlaşılacağı gibi tüm olgularda BMZ'de lineer paternde IgA depolanması gözlenir. İİF ile anti-BMZ IgA antikorları olguların en fazla %30'unda saptanır. BMZ'de granüler IgG depolanması büllöz SLE'i veya pozitif lupus bant testini işaret ederken IgA depolanması dermatitis herpetiformisi (DH) düşündürdüren bir bulgudur. BMZ'de lineer IgG ve/veya C3 depolanmasına fibrinojen ile saçaklı bir depolanmanın eşlik etmesi liken planus pemfigoides için tipik bir bulgudur.

Dermal Papilla Depolanması

Sadece IgA ile ve granüler morfolojide gözlenen bu DİF bulgusu DH için tanı koydurucu bir bulgudur (Şekil 8)^{4,5}. Öyle ki iki kez negatif saptanan DİF, DH tanısını kesin olarak dışlar. DH şüphesi olan olgularda DİF için en iyi biyopsi örneği taze bir eritemin yanındaki normal görünümlü alandan veya tutul-

mamış deri bölgesinden (ökol veya glutea en uygun yerler) alınan örneklerdir. DH'de İİF negatiftir.

Kaynaklar

1. Beutner EH, Lever WF, Witebsky E, Jordon R, Chertock B: Autoantibodies in pemphigus vulgaris: response to an intercellular substance of epidermis. JAMA 1965;192:682-8.
2. Jordon RE, Beutner EH, Witebsky E, Blumental G, Hale WL, Lever WF: Basement zone antibodies in bullous pemphigoid. JAMA 1967;200:751-6.
3. Aunhachoke K, Rogers III RS: The value of immunofluorescence testing in dermatology. Thai J Dermatol 1997;13:240-56.
4. Uzun S: Dermatolojide immüno floresan teknikler. In: Acar MA, Yücel A, Uzun S, Aksungur VL, Özpoyraz M (eds) Deri Sorunlarında Adım Adım Tanısal Yaklaşımlar, İstanbul, Mart Matbaacılık 2006;98-100.
5. Mutasim DF, Adams BB: Immunofluorescence in dermatology. J Am Acad Dermatol 2001;45:803-22.