

Alma Mater Studiorum - Università di Bologna

DOTTORATO DI RICERCA IN
SCIENZE CHIRURGICHE

Ciclo 33

Settore Concorsuale: 06/D4 - MALATTIE CUTANEE, MALATTIE INFETTIVE E MALATTIE DELL'APPARATO DIGERENTE

Settore Scientifico Disciplinare: MED/35 - MALATTIE CUTANEE E VENEREE

UTILIZZO DEL PLASMA RICCO DI PIASTRINE (PRP) SU PAZIENTI AFFETTI DA
LESIONI MUCOSE DI DIFFICILE GUARIGIONE: STUDIO OSSERVAZIONALE
PROSPETTICO ESPLORATIVO

Presentata da: Camilla Loi

Coordinatore Dottorato

Annalisa Patrizi

Supervisore

Annalisa Patrizi

Esame finale anno 2021

Indice

Lista abbreviazioni	4
Introduzione	5
Malattie bollose autoimmuni con interessamento del cavo orale	Error! Bookmark not defined.
Pemfigoide bolloso.....	8
Pemfigoide delle membrane mucose	9
Epidermolisi bollosa acquisita	11
Dermatosi a IgA lineare	12
Pemfigoide anti-p200.....	13
Lichen planus-pemfigoide.....	13
Pemfigo volgare	14
Pemfigo paraneoplastico	16
Indici di severità clinica	20
Eziopatogenesi	26
Diagnosi.....	36
Clinica	38
Microscopia ottica	38
Immunofluorescenza diretta (IFD)	40
Indagini sierologiche.....	42

Terapia	44
Nuove possibilità terapeutiche: il gel piastrinico	61
Progetto di ricerca	65
Obiettivi dello studio	66
Piano dello studio	67
Schede dei pazienti.....	74
Risultati.....	82
Discussione	100
Bibliografia.....	105

LISTA DI ABBREVIAZIONI

ABSIS	Autoimmune Bullous Skin Disorder Intensity Score
CRF	Case Report Form-Scheda Raccolta Dati
DLQI	Dermatology life Quality Index
Dsg	Desmogleine
EBA	Epidermolisi Bollosa Acquisita
EGF	Epithelial growth factor
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
GCP	Good Clinical Practice-(Norme di Buona Pratica Clinica)
GF	Growth Factor
Ig	Immunoglobuline
LAD	Dermatosi a IgA Lineare
MBA	Malattie Bollose Autoimmuni
MMP	Pemfigoide delle Membrane Mucose
MMPDAI	Mucous Membrane Pemphigoid Disease Area Index
ODSS	Oral Disease Severity Score
PB	Pemfigoide Bolloso
PDAI	Pemphigus Disease Area Index
PNP	ParaNeoplastic Pemphigus
PRP	Plasma Ricco di Piastrine
PV	Pemfigo Volgare
TGF-Beta	Transforming growth factor beta

Le malattie bollose autoimmuni (MBA) sono patologie dermatologiche croniche caratterizzate dalla presenza di autoanticorpi diretti contro antigeni self, in particolare contro specifici antigeni dei desmosomi o degli emidesmosomi, le strutture di adesione intercheratinocitarie o membrana basale-cellule dello strato basale, e sono caratterizzati dalla formazione di bolle intra o subepidermiche a livello di cute e/o mucose.

Le MBA vengono suddivise sulla base della sede di formazione della bolla: MBA subepidermiche e MBA intraepidermiche. Al loro interno vengono riconosciuti numerosi sottotipi.

Tra le MBA subepidermiche troviamo il pemfigoide bolloso (PB), il pemfigoide delle membrane mucose (MMP), il pemfigoide anti-p200, l'epidermolisi bollosa acquisita (EBA), la dermatosi a IgA lineare (LAD), la malattia di Duhring e l'herpes gestationis. Gli autoanticorpi sono diretti contro componenti degli emidesmosomi, ovvero le strutture di adesione presenti tra la membrana basale e le cellule epidermiche, con conseguente formazione di bolle a localizzazione subepidermica.

Il secondo gruppo è quello del pemfigo con le sue varianti (volgare, vegetante, foliaceo, eritematoso e paraneoplastico). Nel pemfigo la risposta autoanticorpale è diretta contro quei meccanismi che hanno il compito di mantenere l'adesione cellula-cellula a livello epidermico, ovvero le Desmogleine (Dsg) 1 e 3 e si ha quindi una perdita di coesione intercheranocitaria che si manifesta clinicamente con la

formazione della bolla e istologicamente con acantolisi con fenditure intraepidermiche.^{1,2}

Nei pazienti affetti da MBA la mucosa orale è una delle sedi più frequentemente coinvolte³. L'estensione del coinvolgimento mucoso orale è variabile ma determina inevitabilmente un notevole impatto sulla qualità di vita⁴⁻⁶.

Clinicamente, gli aspetti di più frequente riscontro sono eritema, erosioni, bolle e ulcere più o meno estese. Tali caratteristiche sono aspecifiche e non patognomoniche: la clinica da sola infatti non ci permette di fare una corretta diagnosi differenziale. Oltre all'estensione, anche la localizzazione è estremamente varia e ogni area della bocca può essere coinvolta.

Anche la sintomatologia, seppur varia sia in base all'estensione sia alla soggettività di ogni individuo, è comune a tutte le MBA e spesso è legata a un decadimento della qualità di vita di questi pazienti poiché i sintomi associati sono invalidanti, talora anche nelle forme meno estese: dolore, disfagia con conseguenti disturbi della nutrizione, fetore.

La mucosa orale rappresenta inoltre una sede in cui le lesioni tendono ad una lenta guarigione, per cui vi sono pazienti in cui, nonostante si sia raggiunto con le attuali terapie un buon controllo del quadro generale, presentano lesioni persistenti³.

Per questi motivi, in aggiunta alle frequenti comorbilità dei pazienti che talora limitano le possibilità terapeutiche, si cercano sempre nuovi approcci che controllino la patologia e migliorino la qualità di vita.

Recentemente anche in ambito dermatologico è stato proposto e approvato l'utilizzo del plasma ricco di piastrine (PRP) nel trattamento delle lesioni aperte di difficile risoluzione.

Il nostro obiettivo è stato pertanto applicare questa metodica ai pazienti affetti da MBA con interessamento della mucosa orale.

MALATTIE BOLLOSE AUTOIMMUNI CON INTERESSAMENTO DEL CAVO ORALE

Pemfigoide bolloso

Il PB è la più comune delle MBA e si presenta tipicamente nel soggetto anziano, sebbene siano descritte rare forme pediatriche, con interessamento quasi esclusivamente cutaneo⁷.

L'incidenza annua è tra 2.5 e 42.8 casi per milione di abitanti in base all'area geografica considerata, ma questi valori sono in costante aumento sia a causa dell'aumentata aspettativa di vita sia per il maggior numero di fattori scatenanti (patologie, farmaci). Secondo alcuni autori, però, tale incremento è legato prevalentemente alla nostra maggior capacità e precisione diagnostica⁸.

Molto discussi invece sono i dati legati alla mortalità dei pazienti con PB, infatti, sebbene venga considerato a decorso benigno, la mortalità dei pazienti affetti è aumentata dalle 2 alle 15 volte rispetto alla popolazione generale⁹.

Questi dati sono spesso legati all'età di insorgenza e alle comorbidità dei pazienti. Il PB insorge spesso nel paziente anziano con comorbidità importanti e l'associazione con patologie neurologiche (sclerosi multipla, demenza)¹⁰ e tromboemboliche¹¹ è ormai assodata.

Esistono inoltre forme di PB indotte da farmaci di comune utilizzo nella popolazione di età avanzata, quali gliptine, furosemide e spironolattone, psicotropi, pembrolizumab, nivolumab, durvalumab¹².

Nel PB, la formazione della bolla è secondaria alla presenza di specifici autoanticorpi, in particolare immunoglobuline (Ig) G ma anche IgE e IgA, diretti contro antigeni della membrana basale. Gli antigeni self principalmente chiamati in causa sono BP180 (in particolare dominio NC16A) e BP230, componenti chiave degli emidesmosomi.

Le mucose sono interessate solo nel 10-30% dei pazienti e a livello orale si possono osservare lesioni erosive o vere e proprie vescico-bolle di dimensioni ed estensione variabile, sebbene nella maggior parte dei casi sia limitata¹³.

Pemfigoide delle membrane mucose

Il MMP era inizialmente considerato estremamente raro e veniva definito “pemfigoide cicatriziale”. Adesso sappiamo che la minor incidenza rispetto al PB è in parte legata alla maggior difficoltà diagnostica e che non sempre, per fortuna, la guarigione delle lesioni avviene con esito cicatriziale.

Il MMP presenta un'incidenza annua di 1.3-2.0 nuovi casi per milione di abitanti in Europa e, proprio come nel PB, l'età avanzata è quella più colpita, in particolare il sesso femminile.

Il meccanismo eziopatogenetico è analogo al PB: autoanticorpi diretti contro antigeni della membrana basale, in particolare BP180, BP 230, laminina 332, collagene tipo VII e integrine ($\alpha6/\beta4$). Tra questi, gli anticorpi diretti contro la porzione C-terminale di BP180 e contro la laminina332 sono quelli maggiormente coinvolti,

mentre quelli contro le integrine si hanno soprattutto in caso di interessamento oculare¹⁴.

Come si intuisce dal nome stesso della patologia, si differenzia dal PB per il prevalente interessamento mucoso, mentre l'associazione di coinvolgimento mucoso e cutaneo si osserva solo nel 20% dei pazienti.

Tra le mucose, quella orale è quella più frequentemente interessata riguardando circa l'85% dei casi, seguita da quella oculare (circa il 50%) e infine quella genitale (15%).

A livello della cavità orale, la gengiva è l'area maggiormente coinvolta (70% delle forme di MMP orale) e spesso rappresenta la manifestazione d'esordio, ma lesioni erosive si possono osservare anche a livello di palato, lingua, mucose geniene e labbra.

L'aspetto clinico d'esordio tipico, anche se non patognomonico, è la gengivite desquamativa, presente anche in corso di lichen planus (LP), pemfigo volgare (PV) e EBA. In fase successiva, a livello orale, compaiono bolle tese a contenuto sieroso o emorragico che rompendosi danno luogo a erosioni e/o ulcere di forma irregolare circondate da un alone eritematoso. Talora la guarigione avviene con cicatrizzazione e possibili ostruzioni a livello laringeo o faringeo e conseguenti ostruzioni delle vie aeree, in particolare sembra esserci una correlazione tra tale localizzazione e la presenza di anticorpi anti laminina 332. L'andamento è cronico-ricidivante, con fasi di remissione.

Essendo le mucose quelle maggiormente coinvolte, i sintomi sono decisamente più invalidanti rispetto al PB e si ha dolore, disfagia, cattivo odore e sanguinamento al minimo traumatismo¹⁵.

Epidermolisi bollosa acquisita

L'EBA è una MBA estremamente rara (0.08-0.5 nuovi casi per anno per milione di abitanti in Europa)¹⁶, ma di fronte a lesioni erosive o bollose della mucosa orale è giusto considerarla nella diagnosi differenziale. EBA fa parte delle MBA

subepidermiche ed è causata da autoanticorpi diretti contro il collagene di tipo VII, una proteina di 290 kDa che forma le fibrille d'ancoraggio del derma superficiale.

L'età di insorgenza è variabile, con una mediana intorno ai 50 anni e due picchi, nelle prime tre decadi di vita e intorno ai 70 anni. Non si osserva una predilezione di sesso.

Anche nel caso dell'EBA si è osservata un'associazione con altre patologie, in particolare le malattie infiammatorie croniche intestinali (morbo di Crohn e rettocolite ulcerosa), ma anche tiroidite, psoriasi e artrite reumatoide.

In base alla presentazione clinica, vengono distinte due varietà di EBA: la forma non infiammatoria (classica o mecano-bollosa) e la forma infiammatoria, più simile al PB. La prima è quella più frequentemente associata al coinvolgimento mucoso con possibile evoluzione in stenosi ed esiti cicatriziali.

Chen et al. Hanno descritto 5 sottotipi di EBA¹⁵:

- Presentazione classica
- EBA simile a PB

- EBA simile a MMP: quando vi è un preponderante interessamento mucoso
- Varietà Brunsting Perry: localizzata a capo e collo
- EBA simile alla dermatosi a IgA lineare

Attualmente, in realtà, le forme tipo BP MMP e LAD sono incluse tra quelle infiammatorie e le altre due tra le forme mecano-bollose.

Il coinvolgimento mucoso è presente nel 23% dei pazienti e la mucosa orale è quella più frequentemente colpita, seguita da quella oculare, genitale, esofagea, tracheale/laringea, anale. A livello della mucosa orale possiamo osservare erosioni, bolle, ulcere, gengivite, perdita di alcuni denti e ridotta capacità di aprire la bocca. Tali lesioni tendono a guarire con esiti cicatriziali e sono spesso resistenti alle terapie¹⁶.

Dermatosi a IgA lineari

Le MBA sono tipiche dell'età adulta e/o avanzata, con casi eccezionali descritte in età pediatrica. Durante l'infanzia la forma di MBA di più frequente riscontro è la LAD: le prime manifestazioni cliniche si hanno infatti nell'età prescolare con successiva tendenza all'autorisoluzione.

Esistono poi forme dell'adulto, dove si possono avere due picchi: durante l'adolescenza e dopo i 60 anni¹⁶.

Presenta un'incidenza complessiva compresa tra 0.23 e 2.3 nuovi casi all'anno per milione di abitanti in Europa, con una lieve predilezione per il sesso femminile¹⁶.

In questa patologia, gli autoanticorpi sono di classe IgA e sono diretti contro antigeni di 97kDa (LABD97) e/o di 120kDa (LAD-1) della membrana basale, frammenti del dominio extracellulare della proteina BP180¹⁷.

Come per le altre MBA descritte finora, vi può essere associazione con l'utilizzo di alcuni farmaci scatenanti (particolarmente severa la forma indotta da vancomicina che mima l'andamento della necrolisi epidermica tossica, TEN), neoplasie (ematologiche e non) e malattie disimmunitarie (connettiviti, endocrinopatie)^{18,19}.

Nell'80% circa dei pazienti vi è coinvolgimento delle membrane mucose, in particolare quella nasofaringea e laringea. A livello orale il quadro è aspecifico con erosioni e ulcere dolorose, cheiliti o gengiviti desquamative. L'evoluzione cicatriziale è estremamente frequente¹⁷.

Pemfigoide anti-p200

Il pemfigoide anti-p200 prende il nome dalla proteina di 200KDA (p200) localizzata a livello della lamina lucida verso cui sono diretti gli autoanticorpi, pertanto fa sempre parte delle MBA subepidermiche.

La presentazione clinica è estremamente eterogenea e non è spesso distinguibile dal PB, con bolle tese su base eritematosa, prurito e lesioni orticarioidi.

L'età media di insorgenza è circa 60 anni.

Si differenzia rispetto al PB perché in questo caso si hanno lesioni mucose nel 40% circa dei pazienti, in particolare a livello orale e, secondariamente, genitale²⁰.

Lichen planus-pemfigoide

Il lichen planuspemfigoide (LPP) è una MBA subepidermica considerata in precedenza di riscontro eccezionale ma la cui incidenza è in costante aumento. La prima descrizione del LPP è stata fatta da Kaposi oltre un secolo fa, ma è stata meglio identificata come entità autonoma solo dopo la scoperta di specifici autoanticorpi.

Si caratterizza per l'associazione di lesioni di tipo lichenoidi di cute e/o mucose a lesioni più francamente bollose con presenza di autoanticorpi diretti contro BP180 e 230.

L'interessamento cutaneo è quello di più frequente riscontro, ma sono state descritte forme ad esclusivo interessamento delle membrane mucose, con quadri sovrapponibili alle forme di PB ad interessamento mucoso.

Si differenzia rispetto al PB, oltre che per la presenza del quadro lichenoidi associato, perché tende a insorgere nel paziente giovane (età media 46 anni) e per il decorso più lieve con più rapida guarigione.

Come nelle altre MBA descritte finora, è stata osservata associazione con alcuni farmaci, in particolar modo gli ACE-inibitori, infezioni e neoplasie (adenocarcinoma del colon)²¹.

Pemfigo volgare

IL PV è la MBA intraepidermica di più frequente riscontro ed è causato dalla presenza di specifici autoanticorpi diretti contro componenti dei desmosomi, le Dsg, in particolare antiDsg1 e 3, con conseguente perdita di adesione intercheratinocitaria

che può avvenire a livello cutaneo, mucoso o entrambi, in base alla presenza di anticorpi antiDsg1, antiDsg 3 o entrambi. Le Dsg, infatti, sono espresse in modo diverso lungo tutta l'epidermide: a livello cutaneo, le Dsg1 sono espresse su tutta l'epidermide ma soprattutto a livello superficiale mentre le Dsg3 nella parte inferiore; a livello mucoso troviamo sia Dsg1 sia 3 ma l'espressione di Dsg3 è decisamente maggiore.

L'incidenza annua in Europa è di 0.7-8 nuovi casi per milione di abitanti, con picco alla quinta decade di vita e lieve predominanza nel sesso femminile².

In passato, prima dell'introduzione della terapia steroidea sistemica, la mortalità raggiungeva il 95% dei pazienti affetti. Attualmente, sebbene sia calata drasticamente, è comunque superiore di 2-3 volte rispetto alla popolazione generale ed è causata soprattutto dalle complicanze infettive²².

Le mucose in questo caso sono pressochè sempre coinvolte, tranne in rarissime eccezioni. Infatti il coinvolgimento mucoso può rappresentare l'unica manifestazione o comunque precedere di mesi o anni le manifestazioni cutanee.

In particolare, tra le membrane mucose, quelle più frequentemente interessate sono quelle del cavo orale che rappresenta la sede d'esordio nel 50-60% dei pazienti.

Clinicamente la lesione tipica è una bolla flaccida, fragile, che tende facilmente a rompersi, tanto che difficilmente se ne riesce ad individuare una intatta.

Durante le fasi iniziali, il quadro clinico di più frequente riscontro è dato da erosioni, spesso dolenti tanto da rendere difficoltosa l'alimentazione, a livello della mucosa geniena, palatina o gengivale, che vanno incontro a guarigione molto lentamente.

Le lesioni solitamente sono estese, di forma grossolanamente rotondeggiante, con superficie di colore rosso vivo senza induito fibrinoso, orlate da un collareto epiteliale. Sebbene sia decisamente più frequente nei pazienti affetti da MMP, in circa un quarto dei pazienti con PV o vegetante si può riscontrare anche una gengivite desquamativa. Tali lesioni guariscono senza lasciare esiti cicatriziali.

Dal cavo orale le lesioni possono estendersi anche in faringe o laringe causando raucedine. In letteratura sono stati descritti anche casi di interessamento della mucosa esofagea.

In casi più rari, l'esordio della malattia si può manifestare con erosioni a carico delle mucose genitali o congiuntivali o con lesioni essudative e crostose del cuoio capelluto, ombelico, cavo ascellare e unghie. Talora anche la mucosa nasale può essere interessata fin dall'inizio²³.

Anche nella variante di pemfigo vegetante il coinvolgimento della mucosa orale è estremamente frequente e riguarda il 60-80% di questi pazienti²⁴.

Pemfigo paraneoplastico

Il PNP è una variante di pemfigo associata a neoplasie, benigne o maligne. Le neoplasie più spesso chiamate in causa sono quelle emo-linfoproliferative e più raramente i tumori solidi²⁵. In particolare viene considerato come una delle manifestazioni della sindrome paraneoplastica autoimmune multiorgano (PAMS), che colpisce sia gli epiteli tegumentari sia gli organi interni²⁶. Le più frequenti neoplasie linfoproliferative associate a questa forma di pemfigo sono il linfoma non-

Hodgkin (NHL), la leucemia linfatica cronica (CLL) e la malattia di Castleman (CD).

Il riscontro della neoplasia sottostante costituisce uno dei criteri diagnostici fondamentali insieme al coinvolgimento mucoso iniziale e al riscontro di anticorpi circolanti anti envoplachina, periplachina e/o α 2-macroglobulina tipo 1.

La patogenesi è complessa: come per il PV ormai è accertata la predisposizione genetica legata ad alcune classi di geni del gruppo HLA, ma anche il tumore di per sé ha un ruolo fondamentale nella produzione di specifici autoanticorpi e nell'attivazione di un'autoimmunità reattiva.

Il profilo anticorpale di questi pazienti in realtà si differenzia in parte rispetto ai pazienti con altre forme di pemfigo: oltre agli autoanticorpi anti-Dsg 1 e 3, si riscontra positività per anticorpi diretti contro proteine epiteliali della famiglia delle plakine, come desmoplakine, envoplakine e periplakine, le quali costituiscono la placca desmosomiale intracellulare e mediano il legame tra citoscheletro e proteine transmembranarie²⁵.

Clinicamente, la manifestazione più caratteristica, oltre che fondamentale per poter porre diagnosi, è la presenza di una stomatite persistente e intrattabile, spesso emorragica, resistente alle terapie e che permane solitamente per tutto il decorso della patologia. Erosioni e ulcerazioni si possono ritrovare ovunque lungo tutta l'estensione della mucosa oro-faringea. Più comunemente, soprattutto negli stadi iniziali, le lesioni tendono a colpire i bordi laterali della lingua per estendersi poi a livello delle labbra. A livello cutaneo le lesioni possono assumere un aspetto alquanto variabile. Dal cavo orale vi può essere una successiva estensione al tratto

gastrointestinale e alle vie aeree superiori, ma anche congiuntiva e cute possono essere interessate con quadri molto eterogenei.

La prognosi non è favorevole e la mortalità raggiunge il 90% dei casi ed è legata alla patologia sottostante oltre al rapido decadimento a cui va incontro il paziente affetto²⁷.



Fig 1. PB mucosa linguale



Fig 2. MMP gengivale con tipica gengivite desquamativa



Fig 3. PV mucosa gengivale con importante retrazione gengivale



Fig 4. PNP

INDICI DI SEVERITÀ CLINICA

Gli indici di severità clinica attualmente più utilizzati sono:

- 1) PDAI (*Pemphigus Disease Area Index*), MMPDAI (*Mucous Membrane Pemphigoid Disease Area Index*)

Pemphigus Disease Area Index (PDAI)

Skin		Damage	
Anatomical Location	Activity		Post-inflammatory hyperpigmentation or erythema from resolving lesion
	0 absent 1 1-3 lesions, up to one >2 cm diameter, none > 6cm 2 2-3 lesions, at least two > 2 cm diameter, none > 6cm 3 >3 lesions, none > 6 cm diameter 5 >3 lesions, and/or at least one >6 cm diameter 10 >3 lesions, and/or at least one lesion >16 cm diameter or entire area	Number of lesions if ≤3	0 absent 1 present
Ears			
Nose			
Rest of the face			
Neck			
Chest			
Abdomen			
Back, buttocks			
Arms			
Hands			
Legs			
Feet			
Genitals			
Total skin	/120		/12

Scalp	Erosion/Blisters or new erythema	Number of lesions if ≤3	Post-inflammatory hyperpigmentation or erythema from resolving lesion
	0 absent 1 in one quadrant 2 two quadrants 3 three quadrants 4 affects whole skull 10 at least one lesion > 6 cm		0 absent 1 present
Total Scalp	/10		/1

Mucous Membrane

Anatomical Location	Erosion/Blisters	Number of lesions if ≤3
	0 absent 1 1 lesion 2 2-3 lesions 5 >3 lesions or 2 lesions >2 cm 10 entire area	
Eyes		
Nose		
Buccal mucosa		
Hard palate		
Soft palate		
Upper gingiva		
Lower gingiva		
Tongue		
Floor of mouth		
Labial bucosa		
Posterior pharynx		
Anogenital		
Total Mucosa	/120	

Total Activity Score :

Total Damage Score :

Skin	Activity		Damage
Anatomic location	Erosion/blisters or new erythema		Postinflammatory hyperpigmentation or erythema from resolving lesion or scarring
	0 Absent 1 1-3 Lesions, up to 1 lesion >2 cm in any diameter, none >6 cm 2 2-3 Lesions, at least 2 lesions >2 cm diameter, none >6 cm 3 >3 Lesions, none >6 cm diameter 5 >3 Lesions, and/or at least 1 lesion >6 cm 10 >3 Lesions, and/or at least 1 lesion >16 cm diameter or entire area	No. of lesions if ≤ 3	0 Absent 1 Present
Ears			
Forehead			
Rest of the face			
Neck			
Chest			
Abdomen			
Shoulders, back			
Buttocks			
Arms and hands			
Legs and feet			
Anal			
Genitals			
Total skin	/120		/12
Scalp	Erosion/blisters or new erythema	No. of lesions if ≤ 3	Postinflammatory hyperpigmentation or erythema from resolving lesion/scarring
	0 Absent 1 1 Quadrant 2 2 Quadrants 3 3 Quadrants 4 Affects whole skull 10 At least 1 lesion >6 cm		0 Absent 1 Present
Total scalp (0-10)	/10		/1
Mucous membrane	Activity		Damage
Anatomic location	Erosion/blisters		Postinflammatory hyperpigmentation or erythema from resolving lesion or scarring
Eyes (quadrants upper, lower, medial and lateral)*	0 No erythema 1 Light pink 2 Moderate pink 3 Dark pink 4 Bright red add up quadrants	Subtotal	0 absent 1 present
Left eye (0-16) x 0.625	/10	/16	
Right eye (0-16) x 0.625	/10	/16	
	0 absent 1 1 lesion 2 2-3 lesions 5 >3 lesions or 2 lesions >2 cm 10 entire area	Number lesions if ≤ 3	0 absent 1 present
Nasal			
Buccal mucosa			
Palate			
Upper gingiva			
Lower gingiva			
Tongue/floor of mouth			
Labial			
Posterior pharynx			
Anal			
Genital			
Total mucosa	/120		/12

2) ABSIS (Autoimmune Bullous Skin Disorder Intensity Score)

Apply patient sticker here

ABSIS SCORING SHEET

Date:

Patient's weight (kg):

Legend for weighing factor (most dominant appearance of skin lesions):

1.5	Erosive, exudative lesions
1	Erosive, dry lesions
0.5	Reepithelialized lesions (incl post inflamm erythema &/or hyperpigmentation)

Skin Involvement (Max BSA)	Patient's BSA	Weighting factor
Head & neck (9%):		
L Arm including hand (9%):		
R Arm including hand (9%):		
Trunk (front & back) (36%):		
L Leg (18%):		
R Leg (18%):		
Genitals (1%):		

(Skin involvement total score: % BSA x weighing factor = 0–150 points) - will be calculated by the program

Oral Involvement:

I. Extent (enter 1 for presence of lesions, 0 absence of any lesion):

Upper gingival mucosa		Tongue	
Lower gingival mucosa		Floor of the mouth	
Upper lip mucosa		Hard palate	
Lower lip mucosa		Soft palate	
Left buccal mucosa		Pharynx	
Right buccal mucosa			

(Total score ranges from 0–11)

Severity (discomfort during eating/drinking)

Food	Level	Factor of Discomfort	Severity score
Water	1		
Soup	2		
Yogurt	3		
Custard	4		
Mashed potatoes/ scrambled egg	5		
Baked fish	6		
White bread	7		
Apple/ raw carrot	8		
Fried steak/ whole-grain bread	9		

(Severity score= Level multiplied by the factor of discomfort= 0–45 points)

<i>Legend for factor of discomfort</i>	
1	Pain/bleeding occurred always
0.5	Pain/bleeding occurred sometimes
0	Never experienced problems

Recentemente, Ormond et al hanno proposto un nuovo sistema di valutazione clinica per le MBA ad interessamento orale, attualmente validato per il MMP, che ha dimostrato un consenso maggiore tra operatori rispetto a MMPDAI, ABSIS e PGA, oltre ad essere più semplice e rapido, caratteristiche indubbiamente molto importanti nella pratica clinica²⁸.

Site	Site Score	Activity Score / Unit of Site (0-3)*
Outer lips (1)		
Inner lips (1)		
R Buccal mucosa (1 or 2)		
L Buccal mucosa (1 or 2)		
Gingivae (1 each segment)		
Lower R (from 1 st premolar)		
Lower central (canine to canine)		
Lower L (from 1 st premolar)		
Upper R (from 1 st premolar)		
Upper central (canine to canine)		
Upper L (from 1 st premolar)		
Dorsum of tongue (1 or 2)		
R Ventral tongue (1)		
L Ventral tongue (1)		
Floor of mouth (1 or 2)		
Hard palate (1 or 2)		
Soft palate (1 or 2)		
Oropharynx (1 or 2)		
Total		

Total Score = Site Score + Activity Score + Pain Score (1-10) (Maximum 106)

Site Score
0 if no lesion
1 if lesion

For the buccal mucosa:
1 if less than 50% of area affected
2 if greater than 50% of area affected

For the dorsum of tongue, floor of mouth, hard or soft palate or oropharynx:
1 unilateral
2 bilateral

Activity Score
1 mild erythema
2 marked erythema without erosion
3 erosion or ulceration

*where a site has a score of 2, each site unit is allocated an activity score, which are then added together

Pain Score
Analogue scale from 0 (no discomfort) to 10 (the most severe pain they have encountered with this condition so far)

The patient is asked to provide a score reflecting their pain / discomfort as an average of the preceding week

Oltre a questi indici, utilizzati per la valutazione della severità clinica dei pazienti affetti da MBA, vi sono score utilizzati per la valutazione della sintomatologia associata alla patologia, non specifici delle MBA:

3) VAS (*Visual Analogue Scale*)

Rappresenta una scala numerica (da zero a dieci) di rapido utilizzo per capire il livello di dolore del paziente.

4) DLQI (*Dermatology Life Quality Index*)

1.	Negli ultimi 7 giorni, ha avuto prurito, dolore, o sensazioni di bruciore alla pelle?	Moltissimo Molto Un po' Per niente	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
2.	Negli ultimi 7 giorni, si è sentito/a imbarazzato/a o a disagio a causa dei suoi problemi alla pelle?	Moltissimo Molto Un po' Per niente	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
3.	Negli ultimi 7 giorni, i suoi problemi alla pelle le hanno creato fastidi per fare la spesa, occuparsi della casa (o del giardino)?	Moltissimo Molto Un po' Per niente	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Non riguarda il mio caso <input type="checkbox"/>
4.	Negli ultimi 7 giorni, i suoi problemi alla pelle hanno influenzato la scelta dei vestiti da indossare ?	Moltissimo Molto Un po' Per niente	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Non riguarda il mio caso <input type="checkbox"/>
5.	Negli ultimi 7 giorni, i suoi problemi alla pelle hanno influito sulle sue attività con gli altri, o di tempo libero ?	Moltissimo Molto Un po' Per niente	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Non riguarda il mio caso <input type="checkbox"/>
6.	Negli ultimi 7 giorni, i suoi problemi alla pelle le hanno reso difficile praticare sport ?	Moltissimo Molto Un po' Per niente	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Non riguarda il mio caso <input type="checkbox"/>

7.	Negli ultimi 7 giorni, i suoi problemi alla pelle le hanno impedito completamente di lavorare o di studiare ?	Si' No	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Non riguarda il mio caso <input type="checkbox"/>
	Se ha risposto "no": negli ultimi 7 giorni, i suoi problemi alla pelle le hanno creato difficoltà nel lavoro o nello studio ?	Molto Un po' Per niente	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
8.	Negli ultimi 7 giorni, i suoi problemi alla pelle le hanno creato difficoltà con il/la suo/a compagno/a , con gli amici intimi o con i parenti ?	Moltissimo Molto Un po' Per niente	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Non riguarda il mio caso <input type="checkbox"/>
9.	Negli ultimi 7 giorni, i suoi problemi alla pelle le hanno creato difficoltà di carattere sessuale ?	Moltissimo Molto Un po' Per niente	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Non riguarda il mio caso <input type="checkbox"/>
10.	Negli ultimi 7 giorni, la cura per la pelle le ha dato problemi, per esempio portandole via del tempo o sporcando in casa?	Moltissimo Molto Un po' Per niente	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Non riguarda il mio caso <input type="checkbox"/>

EZIOPATOGENESI

I meccanismi patogenetici delle MBA sono complessi e rappresentano un esempio di malattia immuno-mediata. Si basano infatti su una risposta umorale e cellulare diretta contro specifiche classi antigeniche, degli emidesmosomi nel caso delle MBA subepidermiche e dei desmosomi nel caso delle MBA del gruppo del pemfigo.

Eziopatogenesi delle MBA del gruppo pemfigoide

Le MBA subepidermiche sono un gruppo di patologie immunomediate caratterizzate da una risposta autoimmune diretta contro antigeni degli emidesmosomi, strutture di adesione dermo-epidermica. Tale risposta autoimmune è mediata sia da specifici autoanticorpi sia da una risposta autoreattiva mediata dai linfociti T.

Nel caso del PB, la quasi totalità dei pazienti presenta anticorpi anti BP180 e molti anche anti BP230; diverso è il caso del MMP e del lichen planus-PB, dove, come precedentemente descritto, solo una parte presenta questi autoanticorpi perché possono anche essere altri gli antigeni coinvolti. Nell'EBA gli anticorpi sono diretti contro l'antigene VII.

In tutti i casi, però, si ha una risposta autoreattiva linfociti T-mediata contro antigeni self che è la causa che determina la produzione di specifici autoanticorpi da parte dei linfociti B.

Successivamente il legame antigene-anticorpo porta alla cascata di eventi con attivazione del complemento, reclutamento di cellule infiammatorie e proteasi con formazione della bolla come evento finale¹³.

Pemfigoide bolloso

L'importanza dell'immunità umorale in questa patologia è fornita da una serie di fattori:

- 1) La quasi totalità dei pazienti presenta anticorpi anti BP180 e, sebbene in minor misura, anti BP230
- 2) Presenza di complessi antigene-anticorpo dove vi è danno tissutale.
- 3) Predisposizione genetica HLA-relata.
- 4) Correlazione titolo anticorpale e severità di malattia.
- 5) Il passaggio transplacentare degli anticorpi determina la comparsa di manifestazioni bollose transitorie nel neonato.
- 6) Risposta a terapia a base di immunosoppressori.
- 7) Sono stati effettuati modelli in vitro a dimostrazione di tale meccanismo d'azione.

Nel caso del PB, oltre alla classe delle Ig G che hanno un ruolo centrale, anche le IgE sembrano avere importanza e risultano aumentate nel 70% dei pazienti non trattati. In particolare IgE anti BP180 sono presenti in oltre l'80% dei pazienti. Anche la severità della patologia sembra correlata a questa classe anticorpale oltre alla fase orticarioide che spesso precede la comparsa delle bolle.

Il meccanismo iniziale però non è ancora noto, ma verosimilmente legato alla "rottura" della tolleranza periferica verso i sopracitati antigeni. In particolare vi è lo sviluppo di una risposta linfociti T-mediata autoreattiva verso BP180 e 230, quest'ultima sembra indotta da specifiche classi MHC II.

I linfociti T CD4+ a loro volta producono citochine Th1 e Th2, queste ultime cruciali nei meccanismi patogenetici e nella successiva cascata infiammatoria che media la formazione della bolla, attraverso attivazione del complemento e richiamo di cellule infiammatorie, quali mastociti, neutrofilo ed eosinofili. L'infiltrato eosinofilo è predominante nei pazienti affetti da PB e queste cellule sembrano giocare un ruolo essenziale, dimostrato anche dal loro rialzo a livello periferico^{29,30}.

Il *MMP*, il *pemfigoide anti p200*, il *lichen planus-pemfigoide* e la *dermatosi a IgA lineare* presentano meccanismi pressochè sovrapponibili, anche se gli antigeni coinvolti possono cambiare, pur facendo sempre parte del complesso degli emidesmosomi e, nell'ultimo caso, cambia la classe delle Ig coinvolte.

Anche nel caso dell'*EBA* il meccanismo non differisce di molto se non per il bersaglio d'azione che in questo caso è sempre il collagene di tipo VII²⁹.

Eziopatogenesi delle MBA del gruppo del pemfigo

La formazione delle bolle intraepidermiche presenta numerosi punti in comune con i meccanismi che sottendono alle MBA subepidermiche, in quanto è mediata da una risposta umorale e cellulare, in questo caso diretta contro due distinte strutture antigeniche, le Dsg 1 e 3, localizzate sulla parete dei cheratinociti all'interno delle strutture desmosomiali, ovvero i sistemi giunzionali più importanti nell'adesione cellula-cellula a livello epidermico.

Desmogleine e altri bersagli molecolari

Le Dsg sono glicoproteine transmembrana appartenenti alla superfamiglia delle caderine responsabili dell'adesione calcio-dipendente tra le cellule.

Nell'uomo vi sono 4 diverse isoforme di Dsg, ma quelle coinvolte nel pemfigo sono solo la 1 e la 3, ovvero quelle a localizzazione cutanea e mucosa. In particolare, quando l'interessamento è esclusivamente mucoso, l'antigene maggiormente coinvolto è la Dsg 3. Infatti, il profilo anticorpale dei pazienti varia molto in base alla localizzazione e all'estensione delle lesioni: nelle forme di PV muco-cutaneo un'alta percentuale di soggetti presenta positività per gli anticorpi anti-Dsg3 e 1. Bassa invece è la presenza di questi ultimi anticorpi nelle forme di PV limitato alle mucose. Rarissimi casi in letteratura riportano pazienti in cui entrambe le classi di IgG sono risultate negative.

Per capire la diversa presentazione clinica dei diversi tipi di pemfigo bisogna ricordarsi che le isoforme di Dsg 1 e 3, le uniche presenti a livello di cute e mucose, sono distribuite però in maniera quantitativamente diversa a seconda della sede.

La Dsg-3 è espressa solo negli strati basali e soprabasali dell'epidermide ed è fortemente presente anche nelle mucose. Al contrario, la Dsg-1 viene espressa lungo tutto lo spessore dell'epidermide, ma in misura maggiore negli strati più alti. A livello delle mucose si ritrova esclusivamente nella loro porzione più superficiale.

Questa diversa distribuzione è alla base della cosiddetta teoria della "Compensazione delle desmogleine": nelle aree in cui entrambe le isoforme di Dsg sono espresse (come per esempio lo strato profondo sopra descritto), la perdita di una isoforma può

essere compensata dall'altra isoforma, se presente. Di conseguenza, la sede delle lesioni dipenderà dalla diversa distribuzione delle isoforme di Dsg nella cute e nelle mucose, giustificando anche la diversità clinica determinata del diverso livello di clivaggio nei due tipi di pemfigo.

Attualmente sappiamo che i meccanismi patogenetici alla base del pemfigo sono ben più complessi in quanto vi sono molteplici molecole di adesione coinvolte: oltre 50 antigeni sono stati dimostrati essere bersaglio dell'autoimmunità del pemfigo, tra cui caderine desmosomiali (in particolare desmocolline (Dsc) 1-3, oltre alle sopracitate Dsg 1 e 3), desmoplakine, E-caderine, recettori della membrana cellulare, antigeni ematologici/immunologici, antigeni oncologici/neuronali e uno degli ultimi bersagli antigenici studiati è PERP (p53 effector related to PMP-22), appartenente alla famiglia delle proteine mieliniche periferiche (PMP)-22/gas3.

Altri bersagli sono i recettori dell'acetilcolina (AchRs), sia muscarinici sia nicotinici, presenti sulla membrana cellulare dei cheratinociti ed anch'essi sembrano regolare l'adesione cellulare, in accordo all'ipotesi di un controllo sinergico dell'adesione dei cheratinociti mediata dal rilascio auto/paracrino di acetilcolina (Ach), che contribuirebbe al mantenimento di una forma cellulare poligonale e all'adesione tra le cellule cheratinocitarie attraverso l'attivazione simultanea di entrambe le classi di AchRs³¹.

Risposta autoimmune

Il meccanismo iniziale nella comparsa del pemfigo ancora non è stato completamente chiarito, ma l'ipotesi più verosimile è che sia il risultato di una "rottura" della

tolleranza periferica nei confronti di determinati antigeni, con conseguente formazione di auto-anticorpi e successiva formazione di lesioni bollose.

La reattività delle cellule B e delle cellule T contro le Dsg sono quasi costantemente riscontrabili nei pazienti affetti da pemfigo e la severità clinica sembra esser correlata ai differenti epitopi, tutti comunque localizzati sul dominio extracellulare NH₂-terminale delle molecole.

I linfociti T sono responsabili di una risposta autoreattiva diretta nei confronti di determinati antigeni e tale risposta è probabilmente l'elemento cruciale che porta alla stimolazione dei linfociti B con conseguente produzione di autoanticorpi.

Negli individui affetti è stata riportata la presenza di linfociti T CD4⁺ autoreattivi oltre che frequenze elevate di particolari MHC di classe II. I linfociti T autoreattivi pertanto potrebbero essere indotti da specifiche classi MHC II.

I CD4⁺ producono sia citochine Th1 sia citochine Th2, queste ultime sembrano di maggiore importanza nella patofisiologia della malattia: sono predominanti nella cute lesionale e nel siero del paziente, così come le IgG4, la cui secrezione è regolata dalle citochine Th2, sono uno dei principali isotipi degli anticorpi anti Dsg²⁹.

In seguito al legame fra autoanticorpi e antigene, si viene a costituire una cascata di eventi che porta all'attivazione del complemento, al reclutamento di cellule dell'infiammazione e alla liberazione di citochine e proteasi che portano alla distruzione dei desmosomi. Ciò porta quindi a una perdita di adesione tra le cellule e in ultimo alla loro separazione, risultando nella formazione di una bolla.

Si può concludere quindi che, sebbene il meccanismo patogenetico nella

formazione delle lesioni coinvolga diversi fattori, inclusi la citotossicità cellulomediata, gli enzimi proteolitici e le citochine pro-flogistiche e pro-apoptiche, il ruolo principale nella patofisiologia autoimmune del pemfigo viene assunto dagli anticorpi anti-cheratinociti³¹.

Diverse evidenze testimoniano il loro fondamentale ruolo:

- 1) Neonati nati da madri con pemfigo in fase attiva sviluppano forme transitorie della malattia.
- 2) Il trasferimento passivo in modelli murini sani di siero (IgG) prelevato da pazienti affetti porta allo sviluppo di un fenotipo identico a quello del pemfigo.
- 3) Si osserva miglioramento della malattia a seguito di assorbimento, con costrutti antigenici, di frazioni di IgG nei pazienti affetti.

Acantolisi

L' acantolisi consiste nella perdita primaria di coesione tra le cellule.

Questo fenomeno, come precedentemente detto, è alla base delle manifestazioni cliniche del pemfigo, ma il meccanismo preciso con cui si realizza in questi pazienti non è stato ancora del tutto chiarito.

Le ipotesi principali sono:

- 1) “teoria dell’ingombro sterico”, ovvero una inibizione della funzione adesiva delle Dsg mediata dagli stessi anticorpi.

Questa teoria, per anni la principale, è stata però messa in discussione dalla dimostrazione sia che vi è l’attivazione di numerose vie di signalling intracellulare all’interno di cheratinociti esposti alle immunoglobuline del pemfigo sia che il

legame anticorpo-desmosomi si estende ben oltre le strutture desmosomiali, circondando l'intera superficie cellulare dei cheratinociti.

- 2) Deplezione delle Dsg IgG-mediata prima che queste vengano ad essere incorporate nei desmosomi.
- 3) Fosforilazione della Dsg-3 IgG-mediata con conseguente dissociazione di questa dalla plakoglobina (altra proteina desmosomiale), la quale potrebbe esser coinvolta nell'attivazione di cascate patogenetiche di segnale intracellulare. Essa, infatti, appare indispensabile per la retrazione dei tonofilamenti di cheratina, fenomeno che si osserva negli stadi iniziali dell'acantolisi. La fosforilazione IgG-indotta di molecole di adesione e di altre proteine strutturali condurrebbe, rispettivamente, ad un indebolimento delle giunzioni intercellulari ed al collasso del citoscheletro.

Molteplici sono le tipologie di recettori di superficie che, legandosi allo specifico anticorpo, possono dare inizio al danno cellulare innescando varie vie di signaling intracellulare; tra questi ricordiamo: Src, EGFR, EGFRK, cAMP, PKC, fosfolipasi C, mTOR, p38MAPK, JNK, e altre tirosin kinasi. Tali vie di segnale sono attivate da anticorpi diversi tra loro e specifici per ciascun recettore. Il pathway preferenziale attivato in un determinato paziente è determinato dalla specifica composizione del pool anticorpale del soggetto.

Sembra avere un ruolo di rilievo l'attivazione della cascata intracellulare di p38MAPK, innescata dall'attivazione del recettore EGFR e che si conclude

nell'attivazione di Fas, fattore di trascrizione coinvolto nell'apoptosi cellulare. Il verosimile coinvolgimento di questa via di segnale è stato poi dimostrato in laboratorio, su modelli murini, nei quali l'inibizione indotta di p38MAPK preveniva la formazione delle bolle impedendo i cambiamenti sul citoscheletro. Se questi meccanismi di signalling siano necessari o sufficienti per l'acantolisi o se siano invece solo conseguenza dell'acantolisi, rimane ancora da determinare. Da alcuni studi è, infatti, emerso che la cascata fosforilativa attivata da p38MAPK sia un evento secondario all'insulto cellulare piuttosto che diretta conseguenza del legame con le Ig, e che quindi la sua attivazione avvenga a seguito della già avvenuta perdita di coesione cellulare.

Oltre ai processi IgG-mediati, le vie apoptotiche nel pemfigo possono essere attivate anche dal rilascio in situ di fattori autocrini e paracrini da parte dei cheratinociti danneggiati, in particolare proteasi e citochine proflogistiche.

Si sostiene dunque un ruolo di sinergismo tra anticorpi anti-cheratinociti, fattori coinvolti nelle vie di signaling (FasL e TNF-alfa), fattori tissutali e plasmatici citotossici e proinfiammatori (citochine, serine e proteasi), i quali sinergicamente indurrebbero l'apoptosi della cellula epidermica.

Il coinvolgimento di diversi tipi di autoanticorpi nella patogenesi del pemfigo è stato spiegato attraverso la "multiple hit hypothesis" (ipotesi dei colpi multipli)⁶⁶. Secondo questa ipotesi, gli anticorpi anti-AchR sarebbero i primi ad innescare l'acantolisi, in quanto un'inibizione di tale recettore porta alla perdita del controllo fisiologico della forma poligonale dei cheratinociti e ad una disfunzione dei legami intercellulari,

risultando quindi in un indebolimento della coesione cellulare; i cheratinociti affetti si retraggono, causando un'espulsione dei desmosomi a livello degli spazi intercellulari, con conseguente stimolazione della produzione e del richiamo di anticorpi spazzini. Questi, saturando l'epidermide, causerebbero un ingombro sterico che ostacolerebbe la produzione di nuove strutture desmosomiali³².

Pemfigo paraneoplastico

Non è stato ancora spiegato il meccanismo patogenetico di tale patologia: è stato ipotizzato che questa risposta autoimmune contro le proteine-self derivi da un meccanismo di cross-reaione da parte di una risposta immune inizialmente antitumorale che si indirizzava contro le cellule tumorali, in quanto responsabili della produzione di proteine epiteliali anomale. Vi sono però altri studi condotti su colture di cellule prelevate da tumori di Castleman che hanno messo in evidenza la presenza di cellule B in grado di produrre specifici anticorpi, portando alla formulazione dell'ipotesi che sia lo stesso tumore responsabile della diretta produzione di autoanticorpi. Diversamente altri autori hanno proposto alla base di tutto la presenza di una disregolazione nella produzione di citochine da parte delle cellule tumorali, in particolare un abnorme rilascio di IL-6, responsabile della differenziazione dei linfociti B e della produzione di immunoglobuline.

Quest'ultima ipotesi patogenetica è sostenuta da studi clinici di follow-up in pazienti con CD in cui l'exeresi chirurgica del tumore si era accompagnata a una remissione della sintomatologia e a una drastica riduzione dei livelli di IL-6,

precedentemente elevati. Lo stesso risultato poi si può ottenere mediante la somministrazione di anticorpi monoclonali anti-IL-6³³.

DIAGNOSI

Di fronte a lesioni erosive della mucosa orale la diagnosi non è mai semplice nè immediata, sebbene fondamentale per attuare l'approccio terapeutico più indicato. Innanzitutto bisogna capire se ci si trova di fronte a una MBA o meno, in quanto da un lato le varie forme, come appena descritto, presentano quadri clinici non specifici, dall'altro numerose patologie possono avere un quadro clinico quasi sovrapponibile o comunque non di immediata identificazione.

Le più frequenti cause di lesioni erosive della mucosa orale sono²³:

- Agenti infettivi. Le infezioni erpetiche, in particolare herpes simplex, rappresentano una delle cause più frequenti di lesioni erosive a livello della mucosa orale e, soprattutto nel caso della prima manifestazione, si possono avere quadri di gengivo-stomatite estesa ed estremamente dolorosa. Anamnesi ed esame citologico sono un supporto indispensabile per indirizzare la diagnosi, sebbene la metodica standard sia la PCR (Polymerase Chain Reaction).
- Malattie infiammatorie. Alcune patologie infiammatorie, quali la malattia di Behçet, danno stomatiti aftose ricorrenti.

- Patologie autoimmuni. Lo stesso lupus eritematoso può presentare lesioni orali multiple, a disposizione asimmetrica, con quadri morfologici variabili (placche, eritema, ulcerazioni).
- Malattie immunomediate. Tra queste il lichen planus è quello che presenta più spesso il coinvolgimento del cavo orale ed è caratterizzato da quadri clinici estremamente variabili, che vanno dalla semplice presenza del reticolo biancastro (strie di Wickham) fino a vere e proprie erosioni e ulcerazioni.
- Lesioni di natura neoplastica. Anche alcune neoplasie possono presentarsi come ulcerazioni della mucosa, sebbene in questi casi solitamente siano lesioni singole.
- Reazioni farmaco-indotte. Tra i quadri più impressionanti di coinvolgimento mucoso vi sono la sindrome di Steven-Johnson (SJS) e la TEN. In questi casi solitamente l'esordio è acuto con stomatite erosiva e cheilite emorragica a cui segue un interessamento cutaneo e delle altre mucose.
- Le MBA, intraepidermiche o subepidermiche.

Proprio per l'estrema eterogeneità dei quadri clinici e le numerose diagnosi differenziali di fronte alle quali possiamo trovarci, la diagnosi viene posta basandosi su specifici criteri^{34,35}:

1) Clinica

La clinica non è patognomonica e pertanto da sola pertanto non è sufficiente per porre la diagnosi. In tutte le MBA, infatti, si possono osservare eritema, lesioni erosive o vere e proprie bolle. Queste ultime, però, non saranno mai bolle tese come si osservano ad esempio a livello cutaneo nel PB, cosa che ci permetterebbe di distinguere tra MBA sub o intraepidermiche, il che ovviamente rende ancora più difficoltosa la distinzione. Un esempio molto rappresentativo è anche la gengivite desquamativa, da molti associata al MMP, ma presente anche nel LP e nel PV. Un aiuto però può essere dato dalla ricerca della positività del segno di Nikolsky, presente esclusivamente nel pemfigo²³.

2) Microscopia ottica

La microscopia ottica risulta innanzitutto fondamentale nella distinzione tra MBA e le altre patologie caratterizzate da lesioni erosive della mucosa orale, quali le malattie dell'interfaccia come il LP o quelle di natura neoplastica, e permette di identificare, nella maggior parte dei casi, la presenza della bolla e a quale livello essa si è formata.

- Nel PB, MMP e pemfigoide anti-p200 si osserva la presenza di bolle subepidermiche e infiltrato infiammatorio di eosinofili, linfociti e/o neutrofili a livello dermico³⁶.

- Nell'EBA: gli aspetti istopatologici sono strettamente correlati alla fase della patologia e alla variante, negli stadi iniziali si osservano solo alterazioni vacuolari lungo la membrana basale ed edema del derma papillare; solo in una seconda fase è

possibile osservare la presenza della bolla subepidermica con infiltrato infiammatorio misto³⁶.

- Nella LAD: presenza di bolla subepidermica con infiltrato prevalentemente di neutrofili a livello delle papille dermiche³⁶.
- Nel PV: Nel PV, il quadro istopatologico mostra una bolla intraepidermica soprabasale, formatasi tramite il meccanismo dell'acantolisi, il cui pavimento è costituito da cellule basali che, sebbene rimangano attaccate alla membrana basale, si mostrano leggermente separate l'una dall'altra assumendo il tipico aspetto detto a "fila di lapidi". Solitamente gli strati epidermici sovrastanti mantengono la loro normale struttura, mentre il derma superficiale presenta un modesto infiltrato infiammatorio di tipo misto³⁷.
- PNP: quadro non specifico e raramente si osserva acantolisi. Nel PNP è visibile una dermatite dell'interfaccia con degenerazione vacuolare e necrosi dei cheratinociti basali e lieve acantolisi. Inoltre nelle vicinanze della giunzione dermoepidermica vi è spesso un infiltrato lichenoidale³⁸.

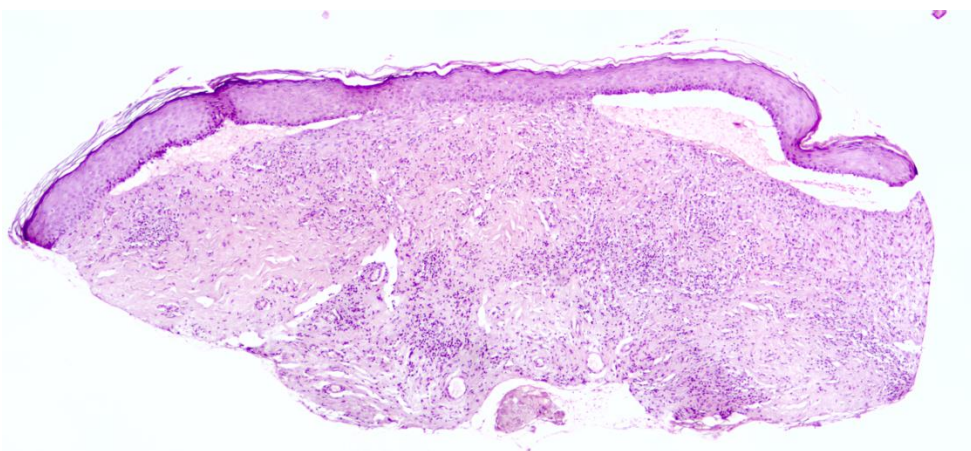


Fig 5. MO di PB

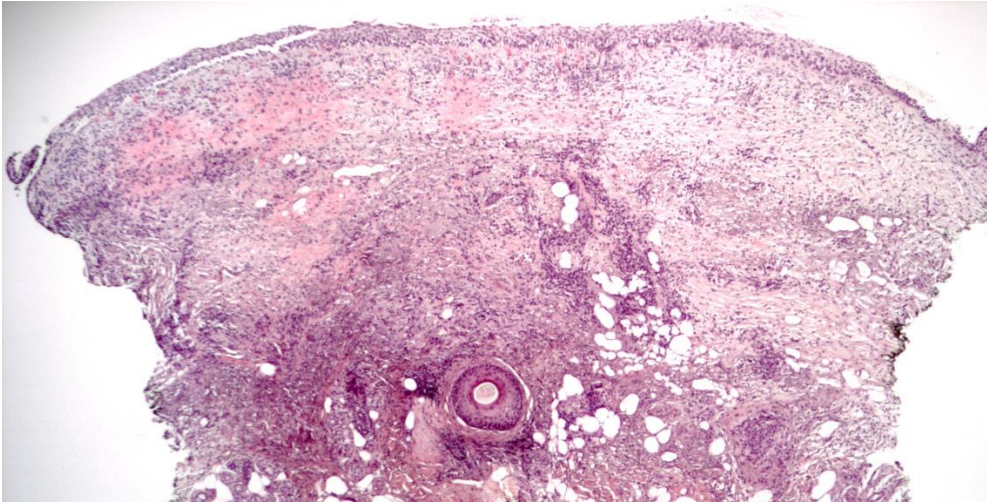


Fig 6. MO di PV

3) Immunofluorescenza diretta (IFD)

L'IFD rappresenta il gold standard tra le metodiche diagnostiche delle MBA, in quanto, evidenziando la sede dei depositi di immunoglobuline e complemento, permette di identificare la tipologia.

La specificità è pari al 98% e la sensibilità al 91%.

La presenza di falsi negativi può esservi in caso di errato prelievo o se non è stato preso un quantitativo di tessuto adeguato, anche a causa della sede di insorgenza della bolla. Un esempio è il MMP, in cui spesso si hanno difficoltà diagnostiche dovute, oltre al basso titolo anticorpale di questi pazienti, anche alle difficoltà ad eseguire correttamente un prelievo mucoso in sedi difficili.

Il prelievo cutaneo/mucoso deve avvenire a livello perilesionale (circa 1-2 cm di distanza dalla lesione bollosa) e deve essere di almeno 3 mm a livello mucoso².

- Nella MMP, PB, EBA, pemfigoide anti-p200 si osservano depositi prevalentemente lineari di IgG e, in alcuni casi, IgA e/o complemento lungo la membrana basale.
- Nella LAD si osservano depositi granulari esclusivamente di IgA lungo la membrana basale.
- Nel PV sono presenti depositi di IgG e complemento a livello della superficie delle cellule epiteliali.
- Nel PNP si possono osservare depositi di IgG e complemento a livello della superficie delle cellule epiteliali e in alcuni casi anche lungo la membrana basale²³.

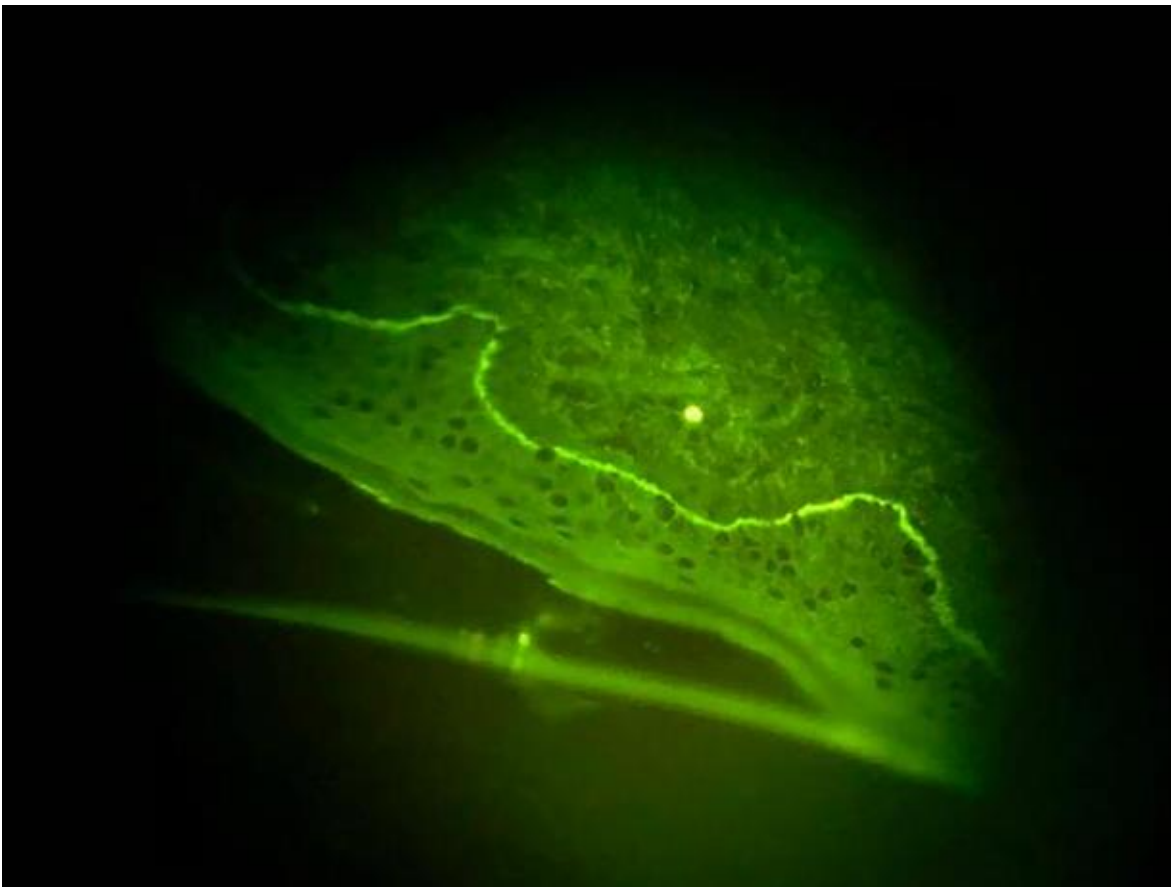


Fig 7. IFD di PB

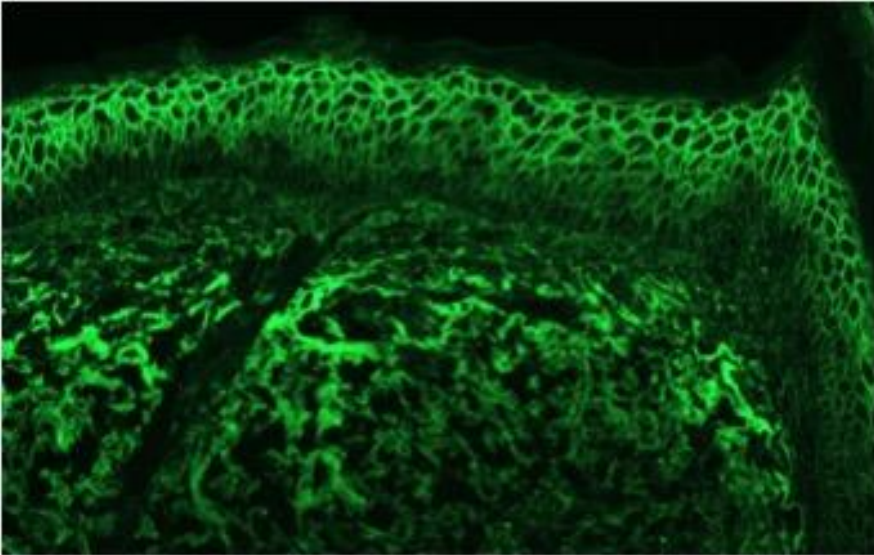


Fig 8. IFD di PV

4) Indagini sierologiche

a) Immunofluorescenza indiretta (IFI)

L'IFI è una metodica basata mettendo a contatto il siero del paziente con un substrato organico, successivamente incubato e lavato per eliminare gli anticorpi che non si sono legati. Questo meccanismo permette così di identificare gli anticorpi circolanti diretti contro gli antigeni desmosomiali o della giunzione dermo-epidermica.

Per la scelta del substrato, l'esofago di scimmia è considerato il più sensibile per le MBA del gruppo del pemfigo, mentre la nuova metodica chiamata salt skin split è migliore per quelle del pemfigoide (anticorpi anti BP180, BP230, $\alpha 6 \beta 4$ integrina sul tetto della bolla, anti laminina332, laminina $\gamma 1$, p200 e collagene tipo VII a livello del pavimento della bolla)³⁵.

b) ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)

Tra le indagini sierologiche, attualmente l'ELISA è quella maggiormente utilizzata soprattutto grazie alla maggior praticità rispetto all'IFI. Si basa infatti sull'utilizzo di antigeni target ricombinanti e attualmente in commercio ne esistono di altamente specifici e sensibili utilizzati per ricercare anticorpi anti BP180 NC16A, anti BP230, anti DSG 1 e 3, anti collagene VII e nuovi kit ancora non standardizzati e con sensibilità variabile per il riscontro di anticorpi anti BP180 porzione C-terminale, anti laminina 332 e γ , anti desmocolline.

Questa metodica è estremamente utile sia in fase diagnostica che di monitoraggio delle MBA, poiché permette non solo di identificare la presenza di specifici anticorpi, ma anche la loro titolazione prima e durante la terapia³⁵.

TERAPIA

L'approccio terapeutico al paziente affetto da MBA è strettamente legato alla specifica patologia e, soprattutto, al livello di severità, inteso come estensione della patologia stessa ma anche impatto sulla qualità di vita.

Sicuramente la terapia steroidea, topica e/o sistemica, rappresenta il primo e fondamentale approccio al paziente affetto da MBA. L'introduzione dei corticosteroidi ha infatti determinato una drastica riduzione della mortalità e un netto miglioramento nella gestione della terapia, seppur con i limiti legati ai ben noti effetti collaterali che ne indicano l'utilizzo a dosaggio pieno solo in fase iniziale.

In seguito i pazienti affetti da MBA possono assumere farmaci steroideo-risparmiatori meglio descritti in seguito.

Farmaci:

Corticosteroidi

Vengono sempre utilizzati in corso di MBA, sia in formulazioni topiche (creme, unguenti, colluttori), da soli nelle forme circoscritte o di supporto con altre terapie, sia per via sistemica (per os o endovenosa).

Il limite principale di queste terapie sono gli importanti effetti collaterali presenti in entrambe le modalità di somministrazione.

Nel caso degli steroidi topici, l'utilizzo prolungato è correlato ad assottigliamento e atrofia dei tessuti, oltre che a una maggior incidenza di infezioni opportuniste, per cui può essere utile l'associazione con antisettici e antimicotici topici.

Inoltre è giusto tenere in considerazione che un trattamento esteso e prolungato, seppur topico, può comunque determinare un assorbimento sistemico con tutti i rischi correlati.

Per quanto riguarda gli steroidi sistemici, gli effetti collaterali possono essere acuti (aumento ponderale e rialzo della pressione arteriosa) o legati all'utilizzo cronico (diabete mellito, riduzione della densità ossea e osteoporosi, glaucoma, aumentato rischio infettivo, atrofia muscolare e del muscolo cardiaco, ulcera peptica, sindrome di Cushing, arresto della crescita nei bambini, disturbi neuropsichici, irsutismo e atrofia cutanea).

Tra i corticosteroidi sistemici, il prednisolone, o la sua forma metabolicamente attiva, il prednisone, sono quelli più utilizzati nel trattamento del pemfigo.

Il dosaggio iniziale è ovviamente variabile e sono molteplici i fattori determinanti la scelta: nelle forme lievi-moderate è pari a 0.5-0.75 mg/kg/die, mentre in casi moderati-severi sono necessarie dosi maggiori del farmaco, comprese in un range di 0.75-1.25 mg/kg/die, anche se in alcuni casi si può arrivare fino a 120-240 mg/die seppure con maggiori rischi di effetti avversi; per questo motivo, alcuni autori hanno suggerito dosi massime di 60-100 mg/die o 4 cicli di 1 gr di metilprednisolone oppure di 100 mg di desametasone come alternative più sicure.

Ovviamente nelle forme più severe è necessario il ricovero e l'uso di regimi steroidei somministrati per via endovenosa o con boli orali (oral pulsed).

Anche il Deflazacort rappresenta una buona scelta terapeutica. Grazie alla sua forte attività glucocorticoide, con scarso effetto mineralcorticoide, si ha una riduzione

degli eventi avversi a lungo termine. Il deflazacort viene somministrato per via orale con un dosaggio variabile in base alla severità della malattia e alla risposta del paziente alla terapia stessa, solitamente comunque compreso tra 0.5 e 1 mg/Kg/die fino ad un dosaggio massimo di 120 mg/die³⁹⁻⁴¹.

Una volta raggiunto un buon livello di controllo farmacologico della malattia, stabile nel tempo, si attua un lento decalage volto ad evitare le recidive da sospensione troppo rapida.

Sulla sospensione completa del cortisonico i pareri sono discordanti, infatti se per alcuni autori l'interruzione completa è legata a un eccessivo rischio di rebound della malattia, altri sostengono invece che esso dovrebbe esser sospeso del tutto evitando di mantenerlo ad una dose di mantenimento/omeopatica⁴⁰.

L'azione dei corticosteroidi sistemici sulla malattia sembra essere duplice, infatti oltre alla ben nota e generica azione antinfiammatoria e immunosoppressiva, nel caso delle MBA del gruppo del pemfigo sembra che possano agire direttamente sulle Dsg, aumentandone la sintesi oppure inducendo delle modificazioni post-trascrizionali che ne possano prolungare l'emivita³⁹.

Azatioprina

L'azatioprina è un inibitore della sintesi degli acidi nucleici e della sintesi proteica. Inoltre interferisce con il metabolismo cellulare inibendo le mitosi cellulari. La conseguenza è la riduzione dei monociti e l'alterazione della sintesi delle immunoglobuline e della funzione dei linfociti T e B.

La dose raccomandata di azatioprina è compresa in un range di 1-4 mg/kg/die, da aggiustare in base ad età e funzionalità epatica e renale.

La risposta terapeutica compare solo dopo 3-6 settimane, fino ad allora è utile la contemporanea somministrazione di steroidi sistemici ad eccezione delle forme più lievi in cui l'azatioprina può essere utilizzata in monoterapia con buoni risultati.

Gli effetti avversi più temibili sono pancitopenia ed epatossicità, mentre tra quelli minori troviamo malessere generale, disturbi gastrointestinali (vomito, nausea, perdita dell'appetito, diarrea, pancreatiti, stomatiti aftose) ed eruzioni cutanee.

Inoltre, essendo un farmaco immunosoppressore, bisogna sempre considerare l'aumentato rischio infettivo.

Alcuni studi hanno inoltre dimostrato anche un potenziale mutageno con un rischio di sviluppare neoplasie e possibile tossicità ematologica.

Tali effetti avversi si manifestano complessivamente nel 30-50% della popolazione trattata, pertanto è fondamentale un attento monitoraggio clinico e laboratoristico e la determinazione genotipica delle tiopurinametiltransferasi (TPMT) prima dell'inizio della terapia al fine di ridurre al minimo il rischio di mielosoppressione.

Inoltre alcuni farmaci, quali allopurinolo e sulfasalazina, possono inibire ulteriormente l'attività di questi enzimi aumentando ancor di più il rischio di effetti avversi.

La somministrazione poi è sconsigliata, salvo una attenta valutazione rischio/beneficio, alle donne in gravidanza e in allattamento, sebbene non vi sia certezza sulla sua possibile azione teratogena^{39,40}.

Micofenolato mofetile

Il micofenolato mofetile è un farmaco immunosoppressore inibitore della sintesi de novo della guanina, da cui sono dipendenti i linfociti in fase di replicazione attiva.

La dose standard del micofenolato mofetile è 2 gr/die (circa 30-45 mg/kg/die) in associazione alla terapia con steroidi sistemici. Al raggiungimento della remissione clinica può essere ridotto dopo 2-3 mesi di 500 mg al mese fino a mantenere il dosaggio di 1 gr die.

Alternativamente, raggiunta la remissione, si può optare per una riduzione e successivamente un'interruzione dello steroide sistemico mentre la somministrazione di micofenolato viene prolungata per un periodo variabile alla dose di mantenimento. Gli effetti collaterali sono rari, tra i più comuni sono riportati disturbi gastrointestinali (nausea, vomito, diarrea, dolori addominali), leucopenia e anemia, oltre all'incremento del rischio infettivo. Più rari sono esofagiti, gastriti, emorragie del tratto gastro-intestinale o infezione invasiva da citomegalovirus.

È assolutamente controindicato in gravidanza in quanto teratogeno.

Il vantaggio rispetto all'azatioprina, la cui efficacia è paragonabile al micofenolato mofetile, consiste principalmente nel non essere gravato da epato- e nefro-tossicità, sebbene, a causa della possibile mielotossicità, sia comunque necessario un attento monitoraggio laboratoristico^{39,40}.

Ciclofosfamide

La ciclofosfamide è un agente alchilante con proprietà antineoplastiche e immunosoppressive il cui meccanismo di azione si basa sulla capacità di inibire la replicazione del DNA determinando così la morte cellulare, in particolare il suo principale bersaglio è costituito dai linfociti B con conseguente riduzione degli autoanticorpi.

Tra i farmaci immunosoppressori, la ciclofosfamide viene considerata di terzo livello a causa del suo possibile effetto tossico, per cui il suo utilizzo è riservato alle forme refrattarie o particolarmente aggressive di pemfigo e in quei pazienti in cui gli altri immunosoppressori sono altamente controindicati.

Anche la modalità di somministrazione e il dosaggio sono ampiamente discussi in letteratura, in quanto la somministrazione per via orale (1-3mg/kg/die) è quella maggiormente gravata dal rischio di tossicità legato a una maggiore dose cumulativa, pertanto sono state proposte numerose alternative, quali dosi mensili per via endovenosa, eventualmente associate a basse dosi orali giornaliere e terapie immunosoppressive a singola dose.

L'ostacolo principale all'utilizzo di questo farmaco è sicuramente dato dall'effetto tossico dose cumulativa dipendente che ha, in particolar modo a livello gonadico e indipendente dalle modalità di somministrazione che lo rende di difficile utilizzo in pazienti in età fertile che hanno intenzione di procreare: una dose cumulativa totale di 30 gr per l'uomo e 12 gr per la donna è da considerare a rischio.

Altre condizioni in cui è controindicata sono date da: TBC in fase attiva e infezioni

virali, patologie cardiache, gravidanza e allattamento, a causa della sua azione teratogena. Particolare attenzione va posta nei pazienti con diabete mellito che necessiteranno di modificare la terapia ipoglicemizzante e insulinica in corso a causa dell'assunzione contemporanea dello steroide.

Gli effetti avversi immediati più comuni sono flushing, debolezza, singhiozzo, cefalea, parestesie, poliuria, disturbi psichici, disturbi gastrointestinali (quali nausea, vomito, anoressia), mentre più tardivamente si può avere mielodepressione, squilibri idro-elettrolitici (soprattutto ipokaliemia), aumentato rischio infettivo, cistiti emorragiche, cardiotossicità e epatotossicità e la già citata tossicità gonadica.

In letteratura sono stati descritti altri possibili effetti avversi seppur di minor frequente riscontro, quali diarrea, dolore o ulcere del cavo orale, artralgie, insonnia, alopecia, discromie ungueali, iperglicemia.

Non bisogna poi dimenticare il potenziale effetto cancerogeno della ciclofosfamide (5-10%), in particolare è stata osservata associazione con carcinomi della vescica, linfomi non Hodgkin e leucemia acuta, carcinoma spinocellulare cutaneo e carcinoma della cervice^{39,40}.

Immunoglobuline

Le immunoglobuline endovena (Ig vena) sono un agente biologico e vengono utilizzate nel trattamento delle MBA resistenti alle terapie tradizionali. Sono caratterizzate da buoni risultati, se associate a terapia steroidea sistemica o immunosoppressiva, e presentano rari effetti collaterali. Il loro principale svantaggio

consiste nella necessità di ospedalizzazione ad ogni ciclo di terapia con conseguente costo elevato del trattamento complessivo.

Nel trattamento del pemfigo, le Ig vena vengono utilizzate con dosaggi di 400 mg/Kg/die somministrati per 3-5 giorni consecutivi con intervalli di 2-6 settimane a seconda della gravità clinica della patologia. Dopo la remissione, i cicli possono essere eseguiti a distanza di 4 settimane. Una recente revisione sull'utilizzo delle Ig vena nelle malattie bollose autoimmuni ha dimostrato l'efficacia di questo approccio terapeutico, in particolare nei casi severi ad evoluzione cicatriziale, dimostrando oltre all'efficacia nel controllo della malattia anche il vantaggio di poterle impiegare per ridurre il dosaggio di steroidi sistemici e immunosoppressori.

Il meccanismo d'azione sembra quello di ridurre i titoli anticorpali aumentando il catabolismo degli stessi^{39,40}.

Rituximab

Il rituximab è un anticorpo monoclonale anti-CD20, molecola presente sulla superficie dei linfociti B, i quali vanno quindi incontro a morte cellulare con riduzione progressiva del loro numero.

Inizialmente questo farmaco era stato introdotto in oncologia nel trattamento dei linfomi tipo B e successivamente per altri disordini di tipo autoimmune, quali trombocitopenia, anemia emolitica autoimmune, lupus eritematoso sistemico e artrite reumatoide.

Negli ultimi anni è stato approvato nel trattamento del pemfigo resistente alle terapie

tradizionali ed esistono numerosi lavori in letteratura sul suo utilizzo nelle forme refrattarie di pemfigoide, in particolare MMP.

Esistono 2 possibili schemi posologici, quello oncologico (375mg/mq di BSA, una volta a settimana per un periodo di 4 settimane) e quello reumatologico, considerato migliore come rapporto rischio/beneficio, che consiste in 2 infusioni endovenose da 1000 mg ciascuna a distanza di 2 settimane una dall'altra.

Successivamente è possibile una dose di richiamo di 500 mg ev a 6 mesi di distanza qualora ci fossero state solo risposte parziali o recidive.

Diversi studi hanno messo in luce l'efficacia a lungo termine di questo trattamento che può essere utilizzato anche in assenza di altre terapie sistemiche e che non perde di efficacia anche in caso di infusioni successive "on demand" qualora vi fossero recidive.

Gli effetti collaterali importanti, quali le gravi infezioni (con rischio di evoluzione in sepsi) sono rari.

Viceversa, più comuni possono essere gli effetti collaterali legati all'infusione (febbre, nausea e vomito, ipotensione, prurito diffuso, dispnea e broncospasmo), i quali però sono evitabili tramite la premedicazione con steroidi sistemici e antistaminici.

Le principali controindicazioni all'uso di Rituximab sono: ipersensibilità al farmaco; infezioni severe (incluso TBC, sepsi, HIV, epatiti e infezioni opportunistiche); gravidanza; insufficienza cardiaca o severe patologie cardiache⁴².

Metotressato (MTX)

MTX è un analogo dell'acido folico con azione anti-infiammatoria ed antiproliferativa. Il suo meccanismo d'azione si basa sulla sua capacità di inibizione della sintesi del DNA, inibizione di alcuni enzimi con aumento dell'adenosina tissutale (che ha capacità antiinfiammatoria) e inibizione della metionina sintetasi. È economico e presenta rari effetti collaterali, poiché nelle MBA viene utilizzato a dosaggio con azione antiinfiammatoria più che immunosoppressiva, per cui l'incidenza di complicanze infettive è decisamente più bassa rispetto ad altri immunosoppressori.

Viene ampiamente utilizzato nel PB, meno nel pemfigo.

Presenta interazioni con altri farmaci quali FANS, trimethoprim-sulfametossazolo, sulfasalazina e fenintoina ed è controindicato in caso di gravidanza, desiderio di procreare anche nell'uomo, malattie croniche quali epatite, cirrosi, leucemia e trombocitopenia, alcolismo e insufficienza renale cronica

Gli effetti collaterali comuni sono nausea e vomito, anoressia, diarrea e malessere.

Per fortuna più raramente si ha mielosoppressione, fibrosi epatica e polmonare, mucositi, infezioni, iperomocisteinemia, anemia megaloblastica, letargia ed insufficienza renale.

La supplementazione con acido folico può prevenire la deficienza di folati incrementando la tolleranza complessiva e prevenendo l'anemia, la neutropenia, la stomatite e le ulcere orali³⁹⁻⁴¹.

Ciclosporina

La ciclosporina viene raramente utilizzata nelle MBA in associazione a steroidi sistemici al dosaggio di 5mg/kg/die nei pazienti che presentano anomalie ematologiche che limitano l'impiego degli altri adiuvanti a disposizione.

Infatti non si è dimostrata efficace in fase acuta.

Maggiormente interessante è l'utilizzo per via topica di ciclosporina in caso di estese lesioni della mucosa orale⁴¹.

Dapsone

Il dapsone è un agente chemioterapico ampiamente utilizzato in alcune patologie infettive, quali lebbra, polmoniti da *Pneumocystis carinii* e malaria. Inoltre ha dimostrato una certa efficacia anche nel trattamento di alcune MBA. Nel MMP rappresenta il farmaco sistemico di prima scelta. Recentemente è stata descritta la sua efficacia e sicurezza anche in alcune forme di pemfigo refrattarie alle terapie tradizionali.

Il dosaggio è compreso tra 50 e 300 mg/die in monoterapia o in associazione allo steroide orale.

Gli effetti avversi sono dose dipendenti e solitamente reversibili, principalmente rappresentati da complicanze ematologiche come emolisi, anemia e metaemoglobinemia.

Queste sono quasi sempre da ricollegarsi ad un deficit congenito dell'enzima glucosio-6- fosfatodeidrogenasi (G6PD), che andrebbe dosato prima dell'inizio della

terapia⁴¹.

Plasmaferesi e Immunoassorbimento

Sono entrambe metodiche che agiscono attraverso la rimozione dal circolo delle immunoglobuline con l'obiettivo di ridurre gli autoanticorpi responsabili del pemfigo. In particolare la plasmaferesi rimuove tutte le proteine plasmatiche circolanti mentre l'immunoassorbimento è specifico per le immunoglobuline.

Rappresentano metodiche terapeutiche di grande efficacia ma poco utilizzate a causa dei costi elevati. Sono pertanto indicate soprattutto nelle forme di pemfigo più severe e refrattarie alle terapie convenzionali.

I risultati clinici, seppur raggiunti rapidamente, hanno tuttavia breve durata.

Al fine di raggiungere la massima efficacia, tale trattamento dovrebbe essere eseguito nei soggetti già in terapia immunosoppressiva al fine di evitare l'effetto rebound nella sintesi di anticorpi che può seguire alla rimozione degli stessi.

Il principale effetto collaterale di queste metodiche è il rischio infettivo, che può arrivare a una vera e propria sepsi³⁹⁻⁴¹.

Tetracicline e nicotinamide

L'utilizzo di questi farmaci è stato proposto in associazione agli steroidi e a immunosoppressori quali l'azatioprina con la funzione di steroide-risparmiatori, sebbene il loro meccanismo d'azione non sia stato a tutt'oggi del tutto chiarito⁴¹.

Farmaci biologici anti- TNF α

In letteratura esistono alcuni case reports che riportano buoni risultati ottenuti con l'impiego di farmaci biologici del gruppo degli anti TNF alfa, infliximab, etanercept e adalimumab, il cui utilizzo si è basato sul fatto che questa molecola sembra avere un ruolo fondamentale nell'acantolisi; si tratta però di singoli case reports o case series con un numero estremamente ridotto di pazienti per cui a tutt'oggi non rientrano tra i farmaci comunemente in uso in questa patologia³⁹.

Prospettive future⁴³

Pemfigo

- 1) Veltuzumab, anticorpo monoclonale umanizzato anti CD20, da somministrare sottocute ogni 14 giorni. Esiste solo un case report.
- 2) Daclizumab, anticorpo monoclonale anti CD25, utilizzato sia nel PB sia nel PV, associato però a steroidi e azatioprina.
- 3) Tocilizumab, anticorpo monoclonale anti IL-6, la cui efficacia è stata descritta in un case report in cui è stato utilizzato in corso di PF.
- 4) PRN 1008. Bruton tyrosine kinase che determina una down-regulation dell'attività dei linfociti B. Attualmente in corso studio di fase 3.

Pemfigoide

- 1) Omalizumab, anticorpo monoclonale umanizzato diretto contro le IgE, attualmente approvato nell'orticaria cronica.

- 2) Bertilimumab, anticorpo monoclonale diretto contro l'eotassina, attualmente in studio (fase 2).
- 3) Mepolizumab, anticorpo monoclonale anti IL-5, anch'esso in fase 2 di studio.
- 4) Dupilumab, anticorpo monoclonale anti IL-4 e 13, attualmente utilizzato nella dermatite atopica dell'adulto.
- 5) Ixekizumab, anti IL-17, molecola che sembra avere un ruolo anche nel PB oltre che nella psoriasi.
- 6) Ustekinumab (anti IL 12/23) e inibitori IL-23 (guselkumab, risankizumab, mirikizumab) sono stati presi in considerazione, ma ancora non vi sono studi adeguati.

Norme dietetiche e comportamentali per pazienti affetti da pemfigo

Nel pemfigo alcune norme dietetico-comportamentali risultano essere di fondamentale importanza per ridurre il numero di recidive e le riacutizzazioni di malattia. In particolare, in caso di coinvolgimento del cavo orale, bevande e cibi caldi o piccanti dovrebbero essere evitati. Inoltre si sconsiglia l'utilizzo di alcune categorie di alimenti contenenti allium (aglio, cipolla, porro, erba cipollina, scalogno), isocianati (mostarda, rape, ravanello, cavolfiore, cavoletti di Bruxelles, broccoli), fenoli o tannini (pepe nero, peperoncino rosso, tè, vino rosso, more, ciliegie).

Fondamentale è inoltre il mantenimento di una buona igiene orale, eventualmente associata a cure parodontali, per ridurre l'azione proinfiammatoria del tartaro.

1) PB

Ancora oggi l'approccio terapeutico del paziente affetto da PB è estremamente dibattuto poiché alcuni Autori sostengono la necessità di utilizzare solo steroidi topici⁴⁴, mentre altri sostengono la necessità di un approccio sistemico. Sicuramente l'equilibrio di questi pazienti è precario ed è stato osservato come in effetti la mortalità sia spesso legata alle complicanze delle terapie impostate piuttosto che alla patologia stessa.

Il primo approccio terapeutico è rappresentato dall'utilizzo di steroide topico potente e, nelle forme estese, di steroidi sistemici (dose massima consigliata: 0.75 mg/Kg/die). Come steroido-risparmiatori, di ampio utilizzo sono MTX, azatioprina, MMF e dapsons. Solo nelle forme refrattarie trovano impiego Igvena, immunoassorbimento, ciclofosfamide, rituximab e omalizumab. Scarsa utilità ha invece la ciclosporina. Nei pazienti non suscettibili ad altre terapie inoltre la doxiciclina è risultata essere un'ottima alternativa, associata o meno alla nicotinamide⁴¹.

2) MMP

L'approccio terapeutico al paziente con MMP è progressivo: le forme lievi sono trattate con steroidi topici associati ad accurata igiene orale, quelle lievi-moderate con steroidi sistemici e dapsons e quelle moderate-severe con altri immunosoppressori steroido-risparmiatori quali azatioprina e MMF. Solo nelle forme più severe e

refrattarie alle terapie si considerano Igvena, rituximab e ciclofosfamide. Le terapie sistemiche sono sempre associate a quelle topiche³⁹.

3) EBA

L'EBA è si caratterizza per scarsa risposta alle terapie, fondamentali sono quindi alcune norme comportamentali, come evitare traumatismi e fotoesposizione I farmaci maggiormente utilizzati sono colchicina, dapsons e minociclina.

In seconda linea, Igvena, ciclosporina ad alte dosi (6 mg/Kg/die), MMF, azatioprina, rituximab e fotoferesi⁴⁰.

4) LAD

I farmaci maggiormente utilizzati, oltre agli steroidi topici e sistemici, sono dapsons e colchicina.

La risposta in questi pazienti è buona, sebbene le forme a coinvolgimento oculare o nasofaringeo siano più resistenti ai trattamenti e gravati da complicanze⁴⁰.

5) Lichen-pemfigoide

Il primo approccio terapeutico si basa sull'eliminazione dei fattori scatenanti e sull'utilizzo di steroidi topici, spesso sufficienti. Nelle forme più estese, oltre alla terapia steroidea sistemica, si utilizza prevalentemente acitretina e dapsons⁴⁰.

6) PV

La terapia iniziale consiste sull'utilizzo di steroidi topici e sistemici ad alto dosaggio (0.5-1.5 mg/Kg/die) con la successiva introduzione di steroido risparmiatori quali azatioprina, MMF, ciclosporina, MTX, dapsone, Igvena, plasmaferesi e immunoassorbimento, ciclofosfamide.

Sempre più rilevante sta diventando il ruolo di rituximab nella terapia del pemfigo, considerato addirittura di I linea in USA e in Inghilterra subito dopo la terapia steroidea^{39,42}.

7) PNP

La prognosi del PNP è infausta nel 90% circa dei pazienti ed strettamente correlata al trattamento della neoplasia sottostante, sebbene a volte non sufficiente.

I farmaci maggiormente utilizzati sono gli steroidi sistemici (0.5-1 mg/Kg/die), le Igvena e il rituximab, che si è dimostrato efficace e ben tollerato in questi pazienti³⁸.

Nuove possibilità terapeutiche: il gel piastrinico

Dal sangue intero, tramite centrifugazione, si ottiene la separazione dei diversi emocomponenti: in fondo i globuli rossi, nello strato intermedio i globuli bianchi e le piastrine (buffy coat), e nello strato superiore il plasma povero di piastrine (PPP).

Centrifugando il sangue intero a velocità più basse si ottiene nella frazione superiore il Plasma Ricco di Piastrine (PRP) nel quale si trovano la maggior parte delle piastrine e dei fattori di crescita (GFs). Dal PRP si può ottenere, attraverso un'altra centrifugazione, il Concentrato Piastrinico (CP) e il PPP⁴⁵. Il CP secondo il DM 1 agosto 2019 deve contenere un numero di piastrine pari a $1 \times 10^6/\text{ml}$ ⁴⁶.

Gli emocomponenti omologhi ad uso non trasfusionale (da donatori adulti e unità di sangue cordonale) possono essere preparati e distribuiti esclusivamente dai SIMT (Servizio Immunoematologia e Medicina Trasfusionale)⁴⁶.

Sia nel PRP che nel CP e PPP sono presenti molti GFs a diverse concentrazioni. Il CP, se attivato mediante Ca gluconato, trombina o batroxopina, dà origine al gel piastrinico che è utilizzato per la cura delle ulcere cutanee in vari distretti del corpo e che sfrutta le capacità di rigenerazione tissutale dei vari fattori di crescita presenti molti dei quali sono rilasciati dalle piastrine. Il PRP, CP, PP e il gel piastrinico sono emocomponenti ad uso non trasfusionale (EuNT)⁴⁵.

Le piastrine svolgono un ruolo decisivo nel processo di guarigione, esplicando le funzioni di emostasi, il mantenimento dell'integrità capillare, la fagocitosi, il trasporto attivo, la riparazione, la cicatrizzazione e la secrezione, attraverso la liberazione di numerosi mediatori. In particolare, lo stimolo riparativo e rigenerativo

tissutale è indotto da GFs rilasciati dalle piastrine e liberati durante il processo di formazione del coagulo. I GFs stimolano a loro volta la replicazione delle cellule mesenchimali e agiscono da fattori chemiotattici nei confronti di polimorfonucleati, monociti e macrofagi.

Tra i principali GFs troviamo:

- EGF (epidermal growth factor): responsabile della differenziazione cellulare e in grado di stimolare la riepitelizzazione, l'angiogenesi e l'attività del collagene.
- PDGF (platelet derived growth factor): è il primo ad essere rilasciato, stimola la replicazione cellulare, la differenziazione premitotica e la replicazione delle cellule endoteliali. Anch'esso inoltre promuove l'angiogenesi.
- IGF (insulin growth factor): fondamentale per la guarigione tissutale, stimola proliferazione e attivazione degli osteoblasti.
- VEGF (vascular endothelium growth factor): implicato nei processi infiammatori e nell'angiogenesi, determina un aumento della permeabilità capillare con conseguente edema.
- FGF (fibroblast growth factor): fattore di crescita dei fibroblasti.
- TGF (transforming growth factor): regola proliferazione e differenziazione di osteoblasti, cellule endoteliali, cellule staminali mesenchimali etc. Si distinguono in alfa (che favoriscono la crescita cellulare) e beta (che la inibiscono).
- PDEGF (platelet derived epidermal growth factor)
- PDAF (platelet derived angiogenesis factor)
- IL-8

- CTGR (connective tissue growth factor)
- GM-CSF (granulocyte macrophage colony stimulating factor)
- KGF (keratinocyte growth factor)

Tutti questi fattori giocano un ruolo fondamentale nelle diverse fasi del processo di guarigione.

Infatti, tale processo è dinamico e si suddivide in diverse fasi: infiammazione, formazione della matrice di fibrina, rilascio di GFs da parte di piastrine e leucociti, chemiotassi di macrofagi e cellule staminali, proliferazione cellulare, differenziazione delle cellule staminali e rimodellamento tissutale.

Alla luce di questi elementi, si è deciso di sfruttare la capacità propria delle piastrine attivate di favorire la riparazione tissutale attraverso la liberazione di GFs e di altre citochine⁴⁴.

Gli EuNT, in particolare PRP e gel piastrinico trovano quindi spazio di utilizzo in diverse discipline medico-chirurgiche: Chirurgia Plastica, Ortopedia (spesso in associazione a cellule mesenchimali), Chirurgia Maxillo-Facciale e Odontostomatologia.

L'utilizzo appropriato degli EuNT è definito nella Delibera della Regione Emilia Romagna GPG/2016/863 "Linee di indirizzo regionali per la produzione e l'utilizzo di emocomponenti per uso non trasfusionale e per le relazioni tra strutture pubbliche e private interessate al loro impiego" e nel documento pubblicato dal CNS "Indicazioni terapeutiche sull'utilizzo appropriato degli emocomponenti per uso non trasfusionale" (GdL del CNS. Ottobre 2019).

Il vantaggio di questa metodica consiste anche nell'utilizzare un preparato privo di tossicità e completamente riassorbibile, evitando quindi di esporre il paziente a rischi di allergie e intolleranze.

In Dermatologia, il gel piastrinico può essere applicato in diverse patologie (4,5): ustioni, piaghe da decubito, ulcere, ferite di difficile guarigione, cicatrici (chirurgiche e non), ringiovanimento cutaneo, alopecia androgenetica e areata.

Vengono infatti sfruttate anche in questo ambito le proprietà del PRP di accelerare la rigenerazione endoteliale ed epidermica, di stimolare la neoangiogenesi, incrementare la sintesi del collagene, diminuire la cicatrizzazione dermica, potenziare la risposta emostatica, impedire il rallentamento della guarigione indotto dai glucocorticoidi e, non ultimo, sfruttare l'azione antimicrobica.

Sulla base di queste proprietà, abbiamo deciso di applicare questa metodica in alcune MBA caratterizzate dalla perdita di sostanza con particolare difficoltà a raggiungere la guarigione, quali pemfigo e pemfigoide delle mucose⁴⁷.

PROGETTO DI RICERCA

L'ambulatorio Patologie Bollose rappresenta da diversi anni un punto di riferimento per tutti i pazienti affetti da MBA, sub o intraepidermiche. La presenza di un Laboratorio di Dermatopatologia ha permesso infatti da sempre di eseguire MO e IFD e, negli ultimi anni, è stato possibile eseguire l'ELISA con estrema facilità e rapidità. Il paziente, inoltre, ha accesso a tutte le possibili terapie, sia a prescrizione domiciliare sia più complesse, che possono richiedere Day Hospital o ricovero, come le Igvena. Tramite la collaborazione con la Medicina Trasfusionale del nostro Policlinico, alcuni pazienti, con quadri severi e refrattari, sono stati sottoposti a plasmateresi.

Attualmente è in corso anche una collaborazione con la Clinica Odontoiatrica che ha dato una maggior possibilità di accesso al nostro ambulatorio a molti pazienti che non arrivavano Dermatologia o avevano quadri misdiagnosticati da Colleghi di altre sedi pubbliche o private.

Recentemente, come precedentemente detto, è stato approvato l'utilizzo del PRP nei pazienti con lesioni aperte cutanee e/o mucose e abbiamo pertanto deciso di attuare questa metodica in un gruppo selezionato di essi con l'obiettivo di migliorare la qualità di vita e accelerare la guarigione.

Obiettivi dello studio

Il presente studio si pone l'obiettivo di osservare l'andamento clinico dei pazienti con una MBA che presentano lesioni di difficile guarigione a livello mucoso trattati con PRP.

Obiettivo principale: osservare l'andamento clinico delle lesioni aperte a livello mucoso in pazienti dermatologici trattati con PRP.

Obiettivi secondari dello studio:

- valutare gli eventuali effetti collaterali del trattamento con PRP;
- valutare i tempi di guarigione;
- valutare la tendenza alle recidive di patologia;
- valutare se vi è una riduzione della sintomatologia dolorosa;
- valutare se vi è miglioramento della qualità di vita dei pazienti dopo trattamento con PRP

Piano dello studio

Il nostro interesse principale è quello di osservare l'andamento delle lesioni aperte mucose di difficile guarigione insorte su base autoimmune dopo somministrazione topica per due mesi di PRP, quale apporto di GFs.

Disegno dello studio

Si tratta di uno studio pilota a carattere osservazionale prospettico senza medicinale, esplorativo, non randomizzato, monocentrico che utilizza un gel piastrinico e che valuta differenze dopo due mesi (60 giorni) di trattamento rispetto alla situazione basale, con controlli mensili, fino a 6 mesi complessivi di follow up, attraverso l'utilizzo di score quali ODSS, VAS e DLQI.

Saranno selezionati 10 pazienti totali affetti da MBA, diagnosticata con documentate prove cliniche, istologiche e ricerca di specifici autoanticorpi, con prevalenti o esclusive lesioni a carico della mucosa orale.

La diagnosi dovrà essere avvenuta da almeno 6 mesi e il quadro clinico dovrà risultare stabile e non responsivo alla terapia da almeno 3 mesi.

Popolazione dello studio

Pazienti affetti da MBA ad interessamento mucoso da almeno 6 mesi e stabile da almeno 3 mesi, afferenti alla UO Dermatologia proponente lo studio.

I pazienti saranno valutati prima del trattamento (selezione e reclutamento V1 e inizio trattamento V2) e successivamente dopo 3 e 6 mesi dal termine del trattamento.

Nelle giornate di trattamento non sono previste valutazioni cliniche ad eccezione della VAS.

Criteri di inclusione:

- pazienti maschi o femmine con età >18 anni
- pazienti con diagnosi (clinica, istologica e/o tramite immunofluorescenza diretta) di MBA ad interessamento mucoso da almeno 6 mesi con un quadro stabile lieve-moderato da almeno 3
- pazienti complianti con le procedure del protocollo di studio che abbiano compreso e firmato apposito consenso informato

Criteri di esclusione:

- pazienti femmine in stato di gravidanza o in corso di allattamento
- pazienti con diagnosi di patologia bollosa paraneoplastica o farmaco-indotta
- pazienti trattati negli ultimi 6 mesi con immunoglobuline endovena o rituximab o altri farmaci sperimentali

Trattamenti

Trattamento in studio

Il gel piastrinico, una o due piastre a seconda dell'estensione delle superfici da trattare, viene preparato a partire dal CP mediante aggiunta di un attivatore (Ca

Gluconato o trombina) presso la Banca del sangue cordonale-SIMT. Il CP adulto viene prodotto presso il SIMT dello IOR, mentre il CP da sangue cordonale viene prodotto presso la Banca regionale del sangue cordonale.

Il trattamento viene applicato nei nostri ambulatori dove il paziente dovrà rimanere per tutta la durata dell'applicazione che sarà di un'ora per ciascun trattamento, da ripetere con cadenza settimanale per 2 mesi.

Trattamento

I pazienti verranno arruolati in modo consecutivo e verrà loro dispensato il trattamento in studio.

Il DM 2 novembre 2015 e il DM 1 agosto 2019 definiscono le regole per la assegnazione degli emocomponenti ad uso trasfusionale e non trasfusionale.

Per l'assegnazione degli emocomponenti ad uso non trasfusionale il paziente deve eseguire un gruppo sanguigno ed un controllo di gruppo al primo accesso/trattamento per determinare la compatibilità e contestualmente deve essere fatta una richiesta trasfusionale ambulatoriale al SIMT/Banca del sangue cordonale. Per i successivi trattamenti basterà la richiesta trasfusionale ambulatoriale.

Terapie concomitanti

Non si ha evidenza che esistano farmaci concomitanti assunti per via sistemica che possano interferire con il trattamento. Verranno però selezionati pazienti con terapie

sistemiche steroidee e/o immunosoppressive stabili da almeno 3 mesi senza variazioni del quadro clinico.

Interruzione del trattamento

Ogni paziente ha piena facoltà di interrompere la sua partecipazione allo studio in qualsiasi momento; inoltre, qualora si ritenga che sia di beneficio alla sua salute, la partecipazione del paziente allo studio potrà essere interrotta.

Visite e valutazioni

La finestra di tempo (numero dei giorni di consentito anticipo-posticipo per ogni visita prevista dal protocollo) è di 3 giorni.

Nel caso di variazione della giornata di trattamento per un periodo non superiore a tre giorni, il paziente sarà ancora da considerarsi inserito nel protocollo del trattamento sperimentale. Oltre tale termine, il paziente sarà considerato escluso e posto in trattamento alternativo

Numero della visita	V1	V2 g.0	V3 g.7	V4 g.14	V5 g.21	V6 g.28	V7 g.35	V8 g.42	V9 g.49	V10-11 g.139- 229
		1° tp	2° tp	3°tp	4°tp	5°tp	6°tp	7°tp	8°	
Criteri di inclusione/esclusione	X	X								
Consenso informato	X									
Storia clinica	X									
Terapie concomitanti in atto	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Dati demografici	X									
Anamnesi medica	X									

Applicazione gel piastrinico		X	X	X	X	X	X	X	X	
Valutazione clinica		X	X	X	X	X	X	X	X	X
Iconografia	X									X
VAS dolore	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ODSS	X									X
DLQI	X									X
Ricerca autoanticorpi	X									X
Eventi avversi			X	X	X	X	X	X	X	X
Valutazione di tollerabilità			X	X	X	X	X	X	X	X

Visita di selezione

valutazioni di screening:

visita dermatologica completa con valutazione del livello di severità della patologia utilizzando ODSS, VAS e DLQI.

Durante tale visita verrà eseguito prelievo di controllo per valutare il livello in quel momento dei valori degli autoanticorpi per le patologie bollose.

Si esegue inoltre iconografia.

Viene spiegata al paziente la finalità dello studio e viene consegnata la scheda informativa, preparata per il paziente

Viene compilata la Scheda del Consenso Informato ed apposte le firme sia da parte del paziente che dello sperimentatore.

3.5. Valutazioni dei risultati

La valutazione dell'efficacia di tale trattamento verrà stabilita tramite l'utilizzo di appositi scores (ODSS, VAS e DLQI) e le immagini iconografiche, che verranno

effettuate al momento dell'arruolamento e dopo 90 e 180 giorni dal termine dell'applicazione del gel piastrinico (follow up complessivo: 6 mesi). Inoltre, verrà valutata la tollerabilità e la qualità della vita dei pazienti tramite appositi questionari.

Valutazioni di sicurezza

La valutazione della sicurezza del gel piastrinico in studio consisterà nel monitoraggio e nella registrazione degli incidenti/mancati incidenti.

Gestione dei dati e analisi statistica

I dati verranno raccolti mediante CRF cartacea.

Tutte le variabili raccolte in CRF saranno descritte mediante statistiche descrittive.

Abbiamo analizzato i dati relativi a VAS, ODSS e indice di placca (FMPS, Full Mouth Plack Score).

Si è deciso di utilizzare il T di Student a misure ripetute. Abbiamo adottato come soglia di significatività $p < 0.05$.

Il presente studio non è stato disegnato come studio dimostrativo di efficacia del trattamento ma come studio esplorativo volto a valutare se gli indici parametrici possano modificarsi a seguito della somministrazione del PRP e, pertanto, non è stato eseguito un calcolo formale per definire la dimensione del campione.

Si è ritenuto, sulla base dell'esperienza e di analoghe ricerche nello stesso ambito clinico, che un totale di 10 pazienti possa essere una numerosità adeguata per fornire informazioni cliniche e nuovi spunti per lavori e ricerche future.

Le valutazioni di sicurezza saranno basate principalmente sulla rilevazione e registrazione degli eventi avversi (frequenze assolute e relative percentuali), includendo tutti gli eventi avversi seri osservati.

Abbiamo raccolto i dati dei singoli pazienti tramite una rivisitazione delle normali cartelle ambulatoriali:

Dati e schede pazienti

Paz. N.

Sesso: M/F

Età: età attuale

Diagnosi: tipologia di MBA

Età all'insorgenza della MBA

Patologie concomitanti: patologie sistemiche rilevanti

Farmaci assunti per altre patologie: principali farmaci sistemici

Terapie attualmente assunte per MBA

Precedenti terapie per MBA

Autoanticorpi rilevati alla V1

Autoanticorpi rilevati alla V10

VAS V1-2-3-4-5-6-7-8-9-10

DLQI V1, V9 e V10

ODSS V1, V9 e V10

Eventi avversi rilevati in corso di terapia

Paziente 1

Sesso: F

Età: 79

Diagnosi: MMP

Età all'insorgenza della MBA: 76

Patologie concomitanti: ipertensione arteriosa

Farmaci assunti per altre patologie: bisoprololo

Terapie assunte per MBA: steroidi topici e sistemici

Precedenti terapie per MBA: dapstone (non tollerato); rifiuta immunosoppressori.

Autoanticorpi rilevati alla V1: negativi

Autoanticorpi rilevati alla V10: negativi.

VAS: 8-5-5-3-3-3-2-2-2-3

DLQI 15(V1), 10(V9) e 10(V10)

ODSS 21(V1), 16(V9) e 16(V10)

Eventi avversi rilevati in corso di terapia: nessuno

Paziente 2

Sesso: F

Età: 35

Diagnosi: PV

Età all'insorgenza della MBA: 21

Patologie concomitanti: nessuna

Farmaci assunti per altre patologie: nessuno

Terapie assunte per MBA: attualmente solo steroidi topici

Precedenti terapie per MBA: steroidi sistemici, micofenolato mofetile, azatioprina,

Igvena, rituximab

Autoanticorpi rilevati alla V1: negativi

Autoanticorpi rilevati alla V10: negativi

VAS 2-2-2-2-2-1-1-1-1-0

DLQI 10(V1), 5(V9) e 3(V10)

ODSS 3(V1), 2(V9) e 2(V10)

Eventi avversi rilevati in corso di terapia: nessuno

Paziente 3

Sesso: F

Età: 35

Diagnosi: MMP

Età all'insorgenza della MBA: 34

Patologie concomitanti: nessuna

Farmaci assunti per altre patologie: nessuno

Terapie assunte per MBA: steroidi topici

Precedenti terapie per MBA: steroidi sistemici

Autoanticorpi rilevati alla V1: antiBP180 59

Autoanticorpi rilevati alla V10: negativi

VAS 2-2-2-2-2-1-2-1-2-2

DLQI 5(V1), 3(V9) e 3(V10)

ODSS 19(V1), 5(V9) e 5(V10)

Eventi avversi rilevati in corso di terapia: nessuno

Paziente 4

Sesso: F

Età: 67

Diagnosi: MMP

Età all'insorgenza della MBA: 60

Patologie concomitanti: ipertensione, pregresso K mammario

Farmaci assunti per altre patologie: ACE-inibitore, vitamina D

Terapie assunte per MBA: dapstone, steroidi topici

Precedenti terapie per MBA: steroidi sistemici

Autoanticorpi rilevati alla V1: negativi

Autoanticorpi rilevati alla V10: negativi

VAS 8-5-5-4-5-4-4-5-5-4

DLQI 11(V1), 7(V9) e 5(V10)

ODSS 20(V1), 20(V9) e 15(V10)

Eventi avversi rilevati in corso di terapia: nessuno

Paziente 5

Sesso: F

Età: 60

Diagnosi: MMP

Età all'insorgenza della MBA: 52

Patologie concomitanti: nessuna

Farmaci assunti per altre patologie: nessuno

Terapie assunte per MBA: steroidi topici, steroidi sistemici a dosaggio minimo

Precedenti terapie per MBA: steroidi sistemici ad alta dose, dapsone (effetti avversi)

Autoanticorpi rilevati alla V1: 18

Autoanticorpi rilevati alla V10: 17

VAS 7-2-2-0-0-0-0-0-0-1

DLQI 8(V1), 0(V9) e 2(V10)

ODSS 6(V1), 2(V9) e 2(V10)

Eventi avversi rilevati in corso di terapia: nessuno

Paziente 6

Sesso: M

Età: 90

Diagnosi: MMP

Età all'insorgenza della MBA: 87

Patologie concomitanti: ipertensione arteriosa

Farmaci assunti per altre patologie: beta-bloccante

Terapie assunte per MBA: dapsone, steroidi topici

Precedenti terapie per MBA: steroidi sistemici

Autoanticorpi rilevati alla V1: antiBP 180 21

Autoanticorpi rilevati alla V10: antiBP 180 22

VAS 8-4-4-3-3-3-2-2-2-1

DLQI 9(V1), 2(V9) e 2(V10)

ODSS 18(V1), 6(V9) e 6(V10)

Eventi avversi rilevati in corso di terapia: nessuno

Paziente 7

Sesso: F

Età: 78

Diagnosi: MMP

Età all'insorgenza della MBA: 69

Patologie concomitanti: dislipidemia, ipertensione

Farmaci assunti per altre patologie: simvastatina, metoprololo

Terapie assunte per MBA: dapsonsone, steroidi sistemici a dosaggio minimo e topici

Precedenti terapie per MBA: steroidi sistemici ad alta dose

Autoanticorpi rilevati alla V1: antiBP 180 21

Autoanticorpi rilevati alla V10: negativi

VAS 7-4-2-2-2-2-2-2-2-2

DLQI 6(V1), 3(V9) e 3(V10)

ODSS 14(V1), 7(V9) e 10(V10)

Eventi avversi rilevati in corso di terapia: nessuno

Paziente 8

Sesso: F

Età: 70

Diagnosi: MMP

Età all'insorgenza della MBA: 64

Patologie concomitanti: nessuna

Farmaci assunti per altre patologie: nessuna

Terapie assunte per MBA: steroidi topici, dapsone

Precedenti terapie per MBA: steroidi sistemici

Autoanticorpi rilevati alla V1: negativi

Autoanticorpi rilevati alla V10: negativi

VAS 2-2-2-2-2-2-2-2-2-1

DLQI 3(V1), 2(V9) e 0(V10)

ODSS 6(V1), 2(V9) e 2(V10)

Eventi avversi rilevati in corso di terapia: nessuno

Paziente 9

Sesso: F

Età: 58

Diagnosi: MMP

Età all'insorgenza della MBA: 53

Patologie concomitanti: nessuna

Farmaci assunti per altre patologie: nessuno

Terapie assunte per MBA: steroidi topici, minima terapia steroidea sistemica

Precedenti terapie per MBA: steroidi sistemici ad alta dose, dapsone (nessun risultato)

Autoanticorpi rilevati alla V1: negativi

Autoanticorpi rilevati alla V10-11: negativi

VAS 6-2-2-2-2-2-2-2-2-2

DLQI 8(V1), 6(V9) e 6(V10)

ODSS 6(V1), 15(V9) e 9(V10)

Eventi avversi rilevati in corso di terapia: nessuno

Paziente 10

Sesso: M

Età: 49

Diagnosi: MMP

Età all'insorgenza della MBA: 48

Patologie concomitanti: nessuna

Farmaci assunti per altre patologie: nessuno

Terapie assunte per MBA: steroidi topici, steroidi sistemici

Precedenti terapie per MBA: steroidi sistemici ad alta dose

Autoanticorpi rilevati alla V1: negativi

Autoanticorpi rilevati alla V10-11: negativi

VAS 7-5-5-4-4-4-4-4-2

DLQI 9(V1), 5(V10) e 3(V10)

ODSS 18(V1), 8(V9) e 10(V10)

Eventi avversi rilevati in corso di terapia: nessuno

RISULTATI

Popolazione

Complessivamente, da gennaio 2020 fino ad oggi, sono stati trattati con gel piastrinico 10 pazienti affetti da MBA accertata e stabile da almeno 3 mesi che presentavano lesioni erosive e/o bollose della mucosa orale.

Di questi, 8 pazienti erano femmine e 2 maschi.

L'età media al momento dell'inizio del trattamento è stata 62,1 anni.

Tutti i pazienti hanno portato a termine le 8 applicazioni di gel piastrinico e sono stati successivamente seguiti in follow up a 3 mesi. Non è stato possibile, inizialmente per la difficoltà di ottenere le autorizzazioni all'uso del PRP e poi a causa del rallentamento dovuto alla chiusura delle strutture a causa dell'emergenza COVID-19, iniziare nei tempi previsti e ancora non sono disponibili i risultati dei follow up a 6 mesi.

Patologie trattate

Ad eccezione di una paziente affetta da PV ormai stabilizzato, ma con lesioni persistenti della mucosa gengivale interessata prevalentemente da importante retrazione, tutti i pazienti sono affetti da MMP ad interessamento esclusivo della mucosa orale.

Dosaggio anticorpale

Il dosaggio degli anticorpi a inizio e fine trattamento non è stato effettuato per valutare l'influenza da parte del gel piastrinico su tali valori, ma per valutarne l'andamento nei pazienti in trattamento e se le variazioni erano correlate con l'andamento della patologia, come possibile fattore confondente sui risultati ottenuti. In nessuno dei pazienti si è però osservato un cambiamento significativo dei livelli anticorpali, sebbene questo risultato sia spesso poco significativo nei pazienti affetti da MMP, che spesso presentano negatività agli anticorpi anti BP180 e 230 poiché riconoscono altre molecole di adesione come target anticorpale.

Trattamento

Tutti i pazienti hanno cominciato e portato a termine il trattamento proposto e sono successivamente stati sottoposti a regolare follow up a 3 mesi.

Nessun paziente ha avuto effetti avversi e la tollerabilità alla terapia è stata ottima.

I pazienti che stavano effettuando terapie sistemiche non steroidee hanno proseguito invariata la terapia.

Per quanto riguarda la terapia steroidea sistemica, questa è stata mantenuta invariata nei pazienti 1, 4 e 9 in quanto non hanno avuto importanti miglioramenti e in quest'ultimo vi è stato un netto peggioramento della patologia, mentre è stato possibile ridurre il dosaggio nel paziente 10 e sospenderla nei pazienti 5 e 7. La terapia topica è stata mantenuta invariata nei pazienti 1, 4, 8, 9 e 10, ridotta di frequenza di applicazione nei pazienti 3, 5 e 7 e sospesa nei pazienti 2 e 6.

Valutazione clinica

Per quanto riguarda la qualità di vita e la valutazione del dolore riferito dal paziente vi è stato un netto miglioramento di tutti i pazienti trattati. Il miglioramento della sintomatologia dolorosa è stato rapido in tutti i pazienti trattati.

I valori dell'ODSS si sono dimostrati stabili in un paziente e vi è stato addirittura un peggioramento in un altro, ridotto invece nei restanti 8 pazienti.

ID	Sex	Age	Pt	BP 180	BP 230	Dsg 1	Dsg 3	Baseline			End of treatment			Follow up (3 mesi)		
								ODSS tot	VAS	FMPS	ODSS tot	VAS	FMPS	ODSS tot	VAS	FMPS
1	F	79	MMP	1	1	1	3	21	8	85	16	2	13	16	3	14
2	F	35	PV	ND	ND	ND	ND	3	2	5	2	1	2	2	0	2
3	F	35	MMP	58	1	1	1	19	8	30	5	2	5	5	2	5
4	F	67	MMP	2	6	1	1	20	8	85	20	5	85	15	4	80
5	F	60	MMP	18	1	0	0	6	7	25	2	0	25	2	1	15
6	M	90	MMP	21	1	1	1	18	8	85	6	2	20	6	2	20
7	F	78	MMP	21	10	1	3	14	7	19	7	2	19	10	2	19
8	F	70	MMP	16	1	1	1	6	2	30	2	2	14	2	1	14
9	F	58	MMP	1	1	1	1	6	6	35	15	2	25	9	2	15
10	M	49	MMP	1	1	1	1	18	7	40	8	4	10	10	2	5

Tab 1. Caratteristiche dei pazienti trattati con gel piastrinico.



Valutazione statistica

Analisi della VAS, dell'ODSS e del FMPS

Si è osservata una riduzione statisticamente significativa alla fine del trattamento per la VAS ($p > 0.001$), per l'ODSS ($p < 0.048$) e per il FMPS ($p < 0.028$).

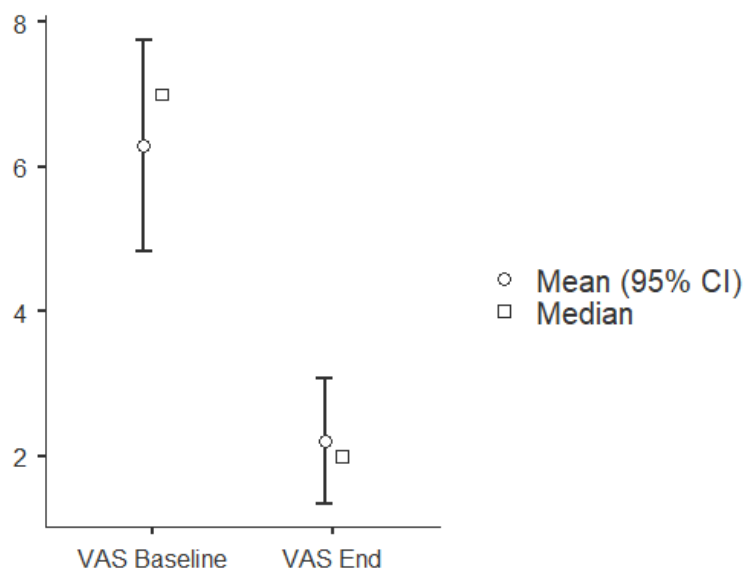
Tali riduzioni sono risultate statisticamente significative anche confrontando il baseline con il follow up a 3 mesi, al contrario tra l'ultimo trattamento e il follow up a 3 mesi nessun valore è variato in modo statisticamente significativo.

Bisogna ovviamente tenere conto del limite dato dal numero ridotto dei pazienti.

Confronto VAS Baseline-VAS End

T student campioni appaiati

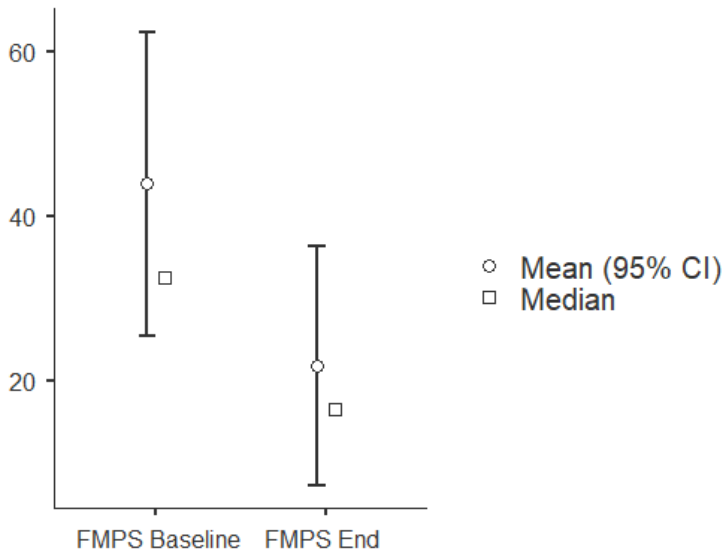
			statistic	df	p
VAS Baseline	VAS End	Student's t	5.56	9.00	< .001



Confronto ODSS Baseline- ODSS END

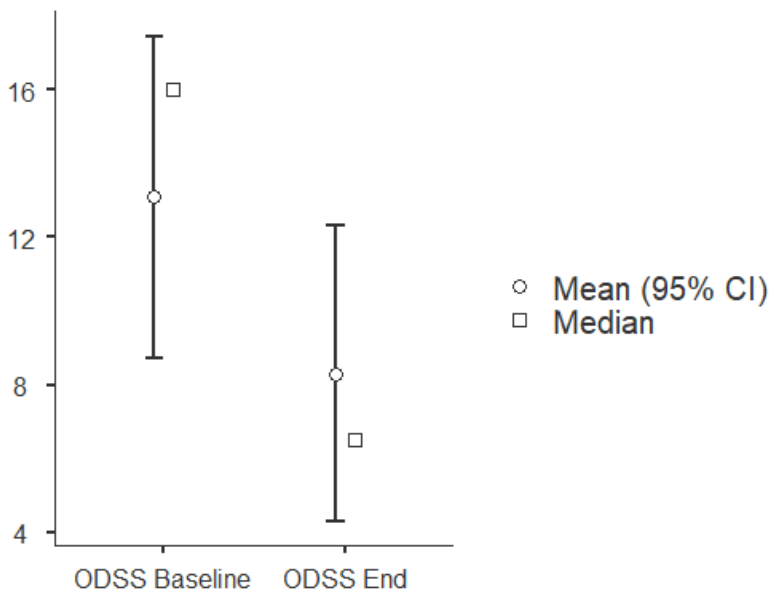
Paired Samples T-Test

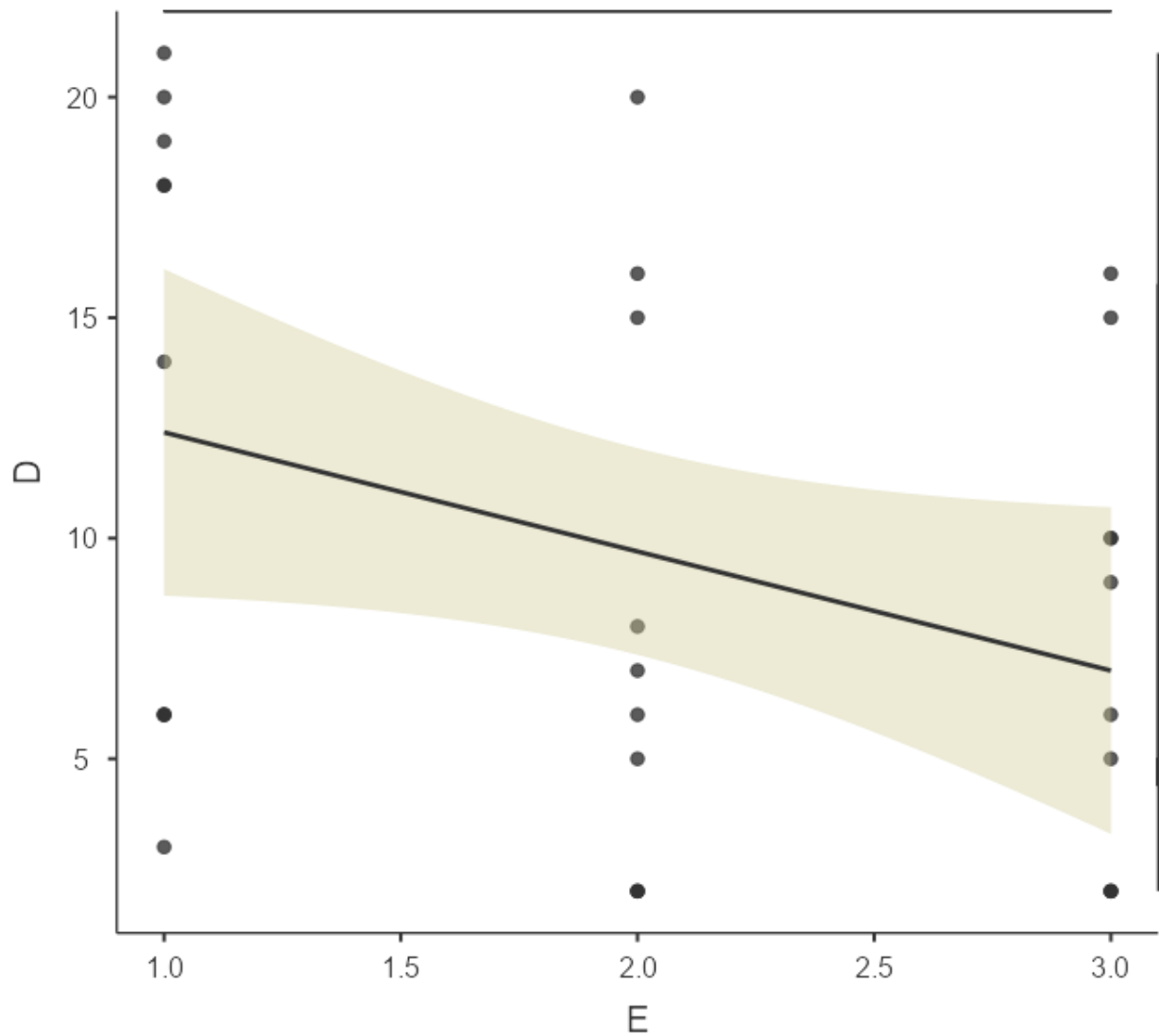
			statistic	df	p
ODSS Baseline	ODSS End	Student's t	2.28	9.00	0.048



Confronto FMPS Baseline-FMPS END

			statistic	df	p
FMPS Baseline	FMPS End	Student's t	2.62	9.00	0.028





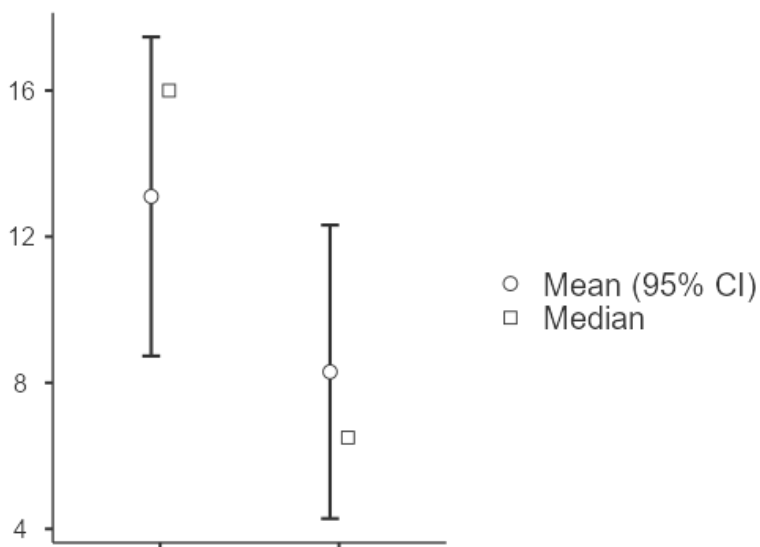
Paired Samples T-Test

			statistic	df	p	Mean difference	SE difference
Baseline ODSS	End of treatment ODSS	Student's t	2.284	9.00	0.048	4.800	2.102
End of treatment ODSS	ODSS follow up(3mths)	Student's t	0.678	9.00	0.515	0.600	0.884
Baseline ODSS		Student's t	3.451	9.00	0.007	5.400	1.565

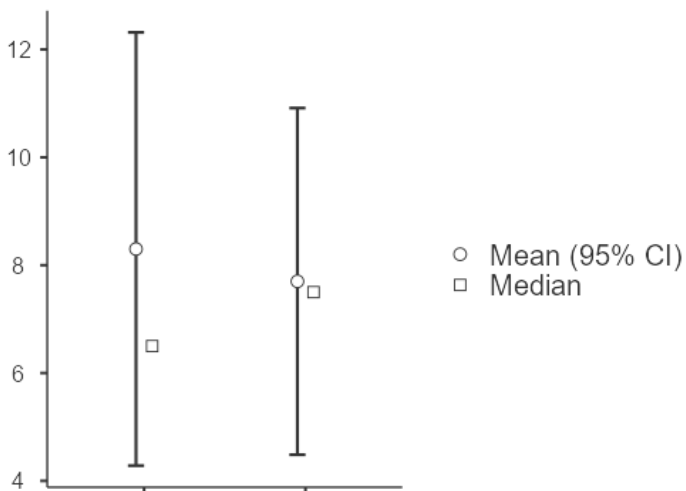
Descriptives

	N	Mean	Median	SD	SE
Baseline ODSS	10	13.10	16.00	7.05	2.23
End of treatment ODSS	10	8.30	6.50	6.48	2.05
End of treatment ODSS	10	8.30	6.50	6.48	2.05
ODSS follow up(3mths)	10	7.70	7.50	5.19	1.64
Baseline ODSS	10	13.10	16.00	7.05	2.23
ODSS follow up(3mths)	10	7.70	7.50	5.19	1.64

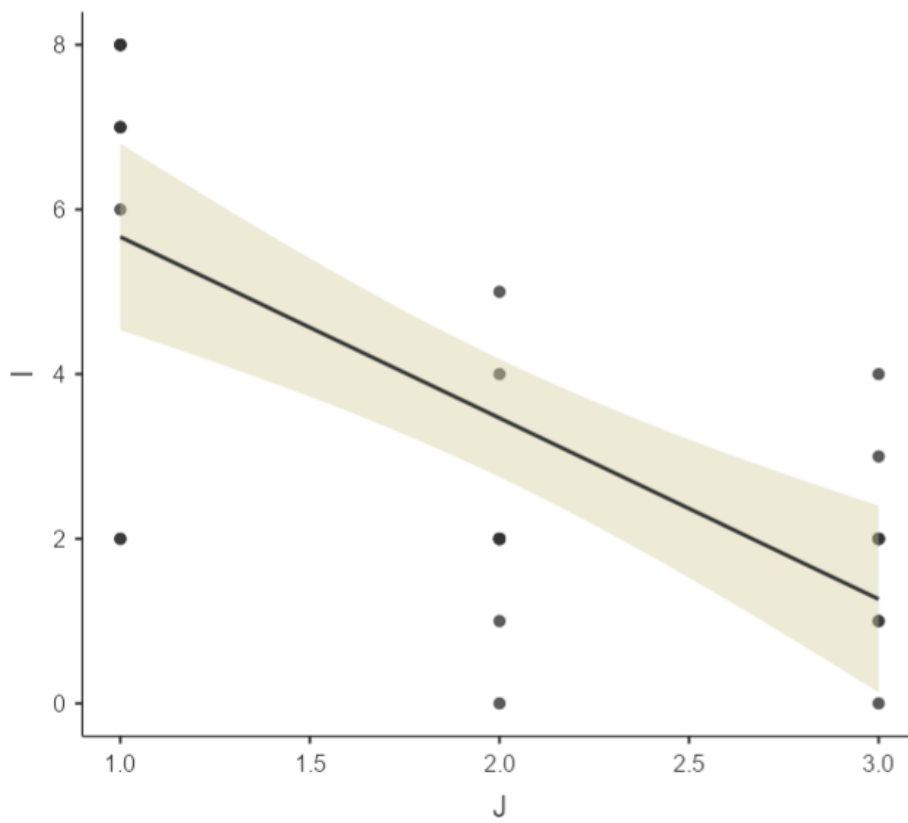
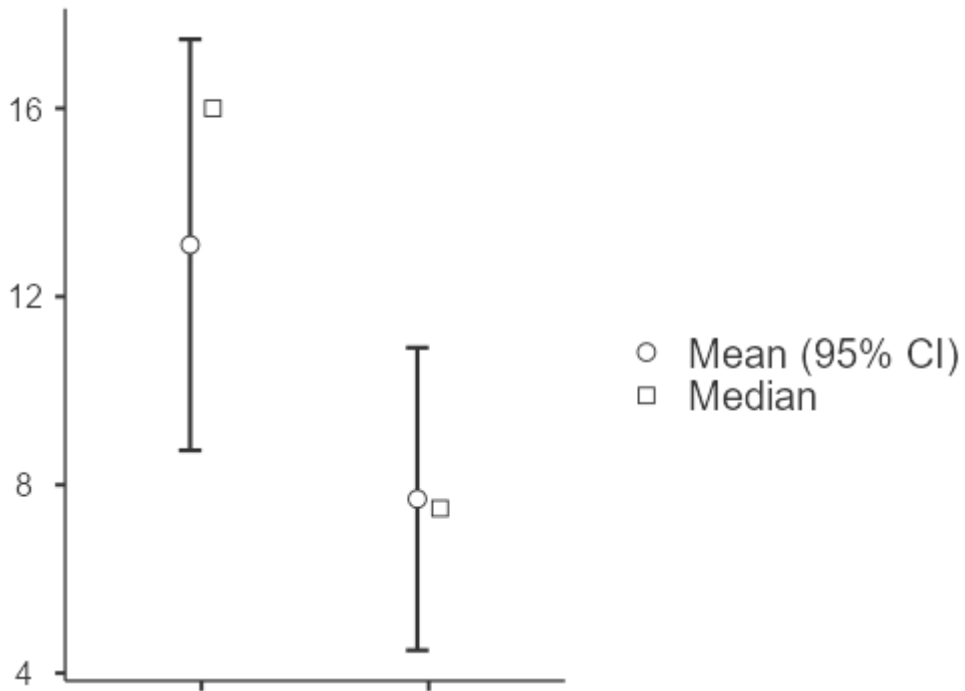
Baseline ODSS - End of treatment ODSS



End of treatment ODSS - ODSS follow up(3mths)



Baseline ODSS - ODSS follow up(3mths)



Paired Samples T-Test

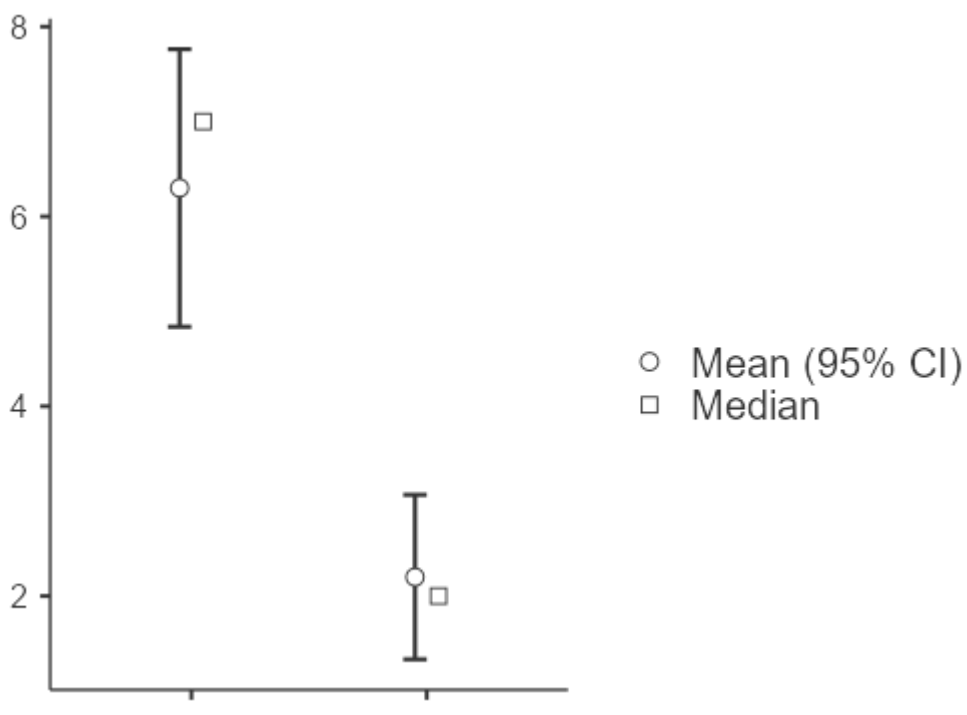
			statistic	df	p
VAS baseline	VAS end of treatment	Student's t	5.56	9.00	< .001
	VAS follow up	Student's t	8.12	9.00	< .001
VAS end of treatment		Student's t	1.00	9.00	0.343

Descriptives

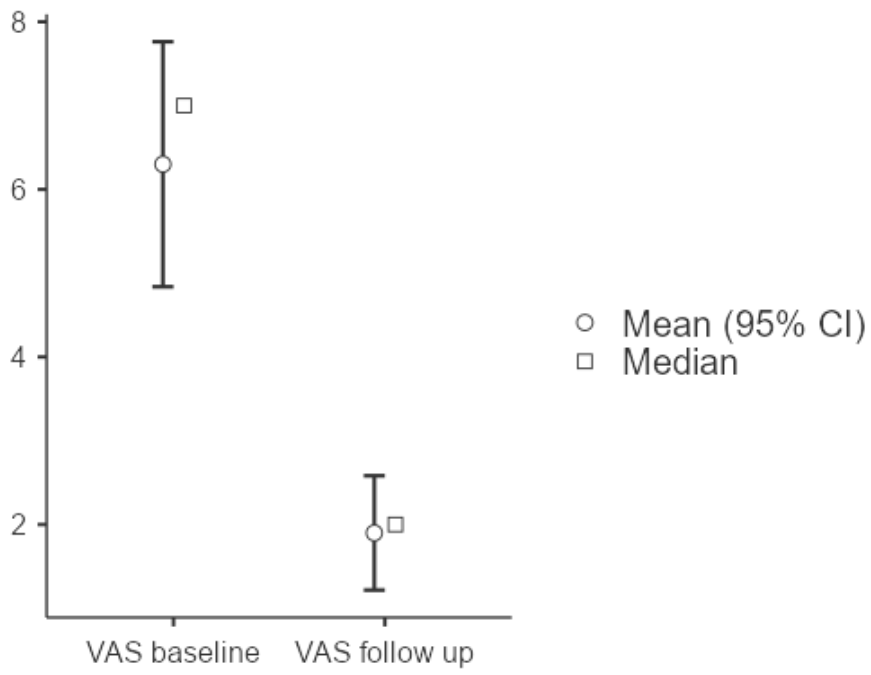
	N	Mean	Median	SD	SE
VAS baseline	10	6.30	7.00	2.36	0.746
VAS end of treatment	10	2.20	2.00	1.40	0.442
VAS baseline	10	6.30	7.00	2.36	0.746
VAS follow up	10	1.90	2.00	1.10	0.348
VAS end of treatment	10	2.20	2.00	1.40	0.442
VAS follow up	10	1.90	2.00	1.10	0.348

Plots

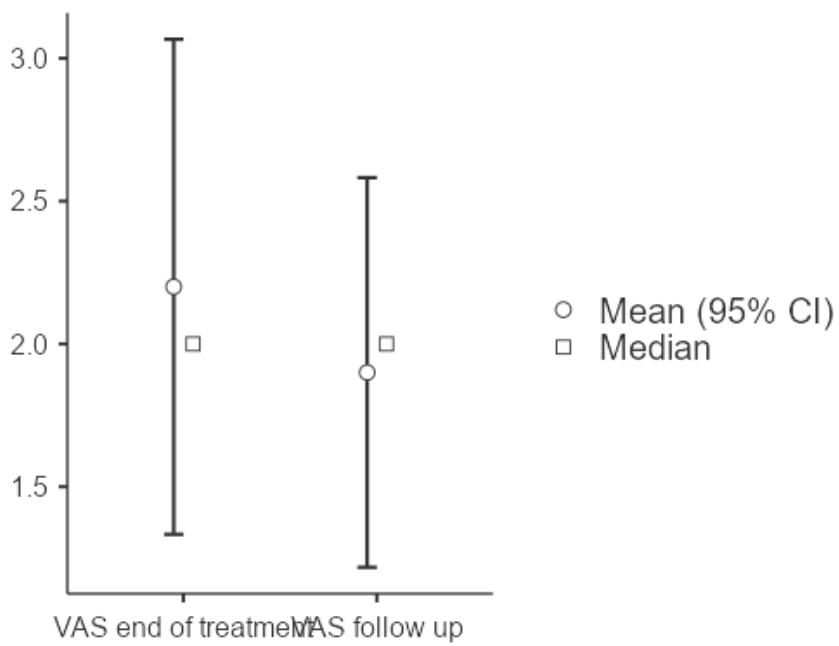
VAS baseline - VAS end of treatment

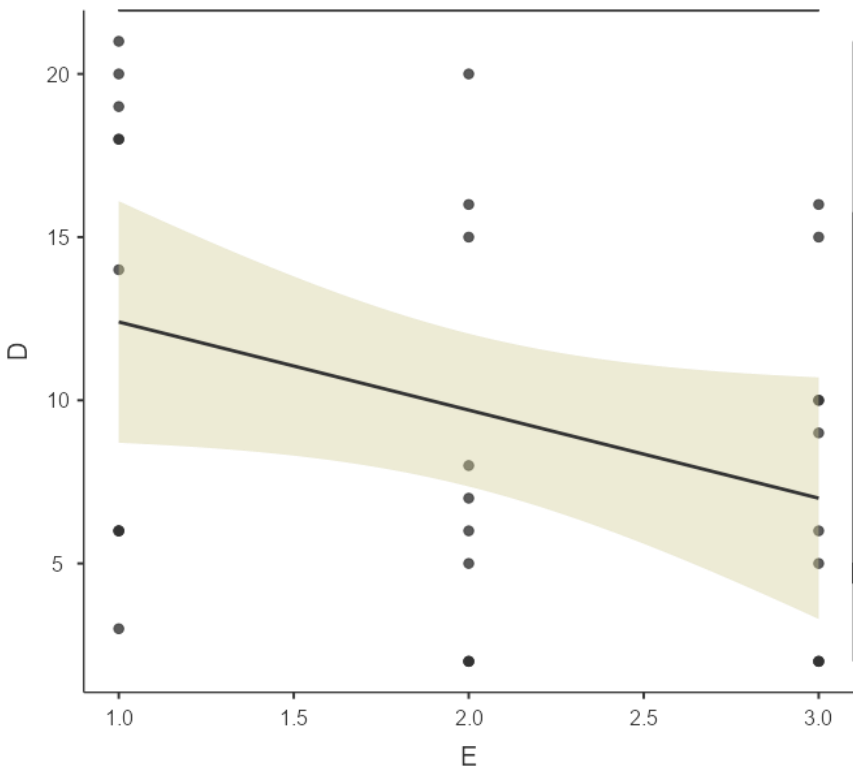
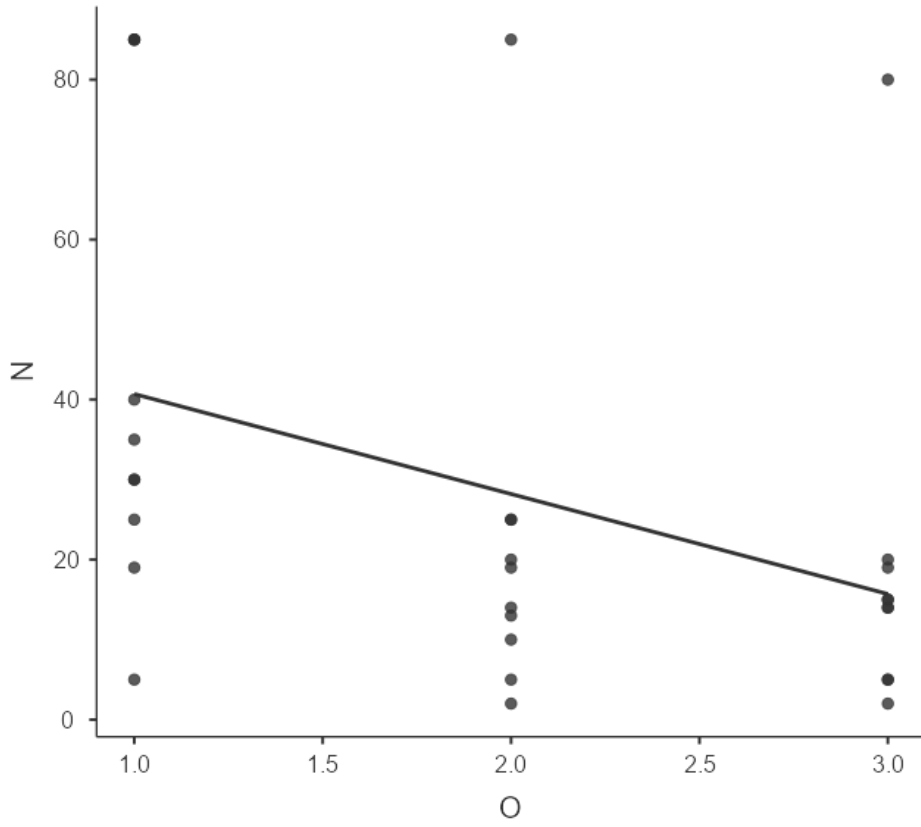


VAS baseline - VAS follow up



VAS end of treatment - VAS follow up





Paired Samples T-Test

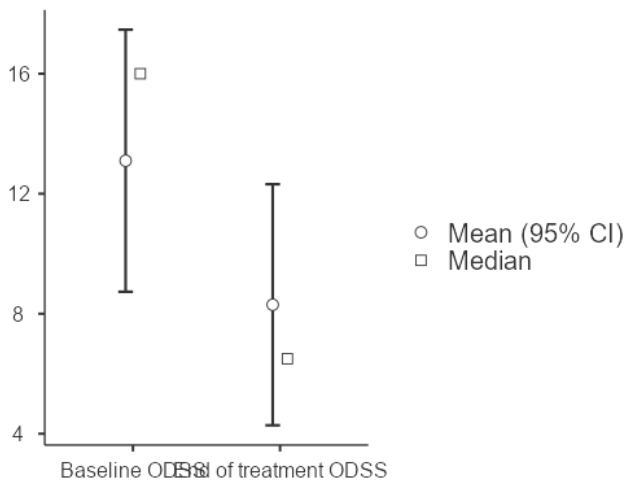
			statistic	df	p	Mean difference	SE difference
Baseline ODSS	End of treatment ODSS	Student's t	2.284	9.00	0.048	4.800	2.102
End of treatment ODSS	ODSS follow up(3mths)	Student's t	0.678	9.00	0.515	0.600	0.884
Baseline ODSS		Student's t	3.451	9.00	0.007	5.400	1.565

Descriptives

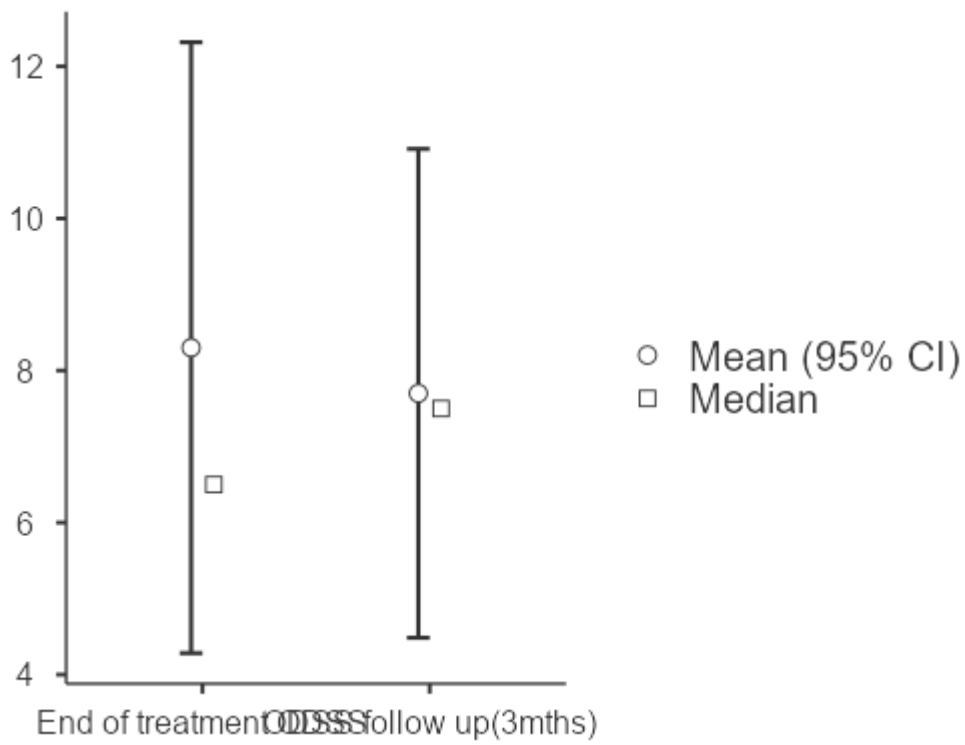
	N	Mean	Median	SD	SE
Baseline ODSS	10	13.10	16.00	7.05	2.23
End of treatment ODSS	10	8.30	6.50	6.48	2.05
End of treatment ODSS	10	8.30	6.50	6.48	2.05
ODSS follow up(3mths)	10	7.70	7.50	5.19	1.64
Baseline ODSS	10	13.10	16.00	7.05	2.23
ODSS follow up(3mths)	10	7.70	7.50	5.19	1.64

Plots

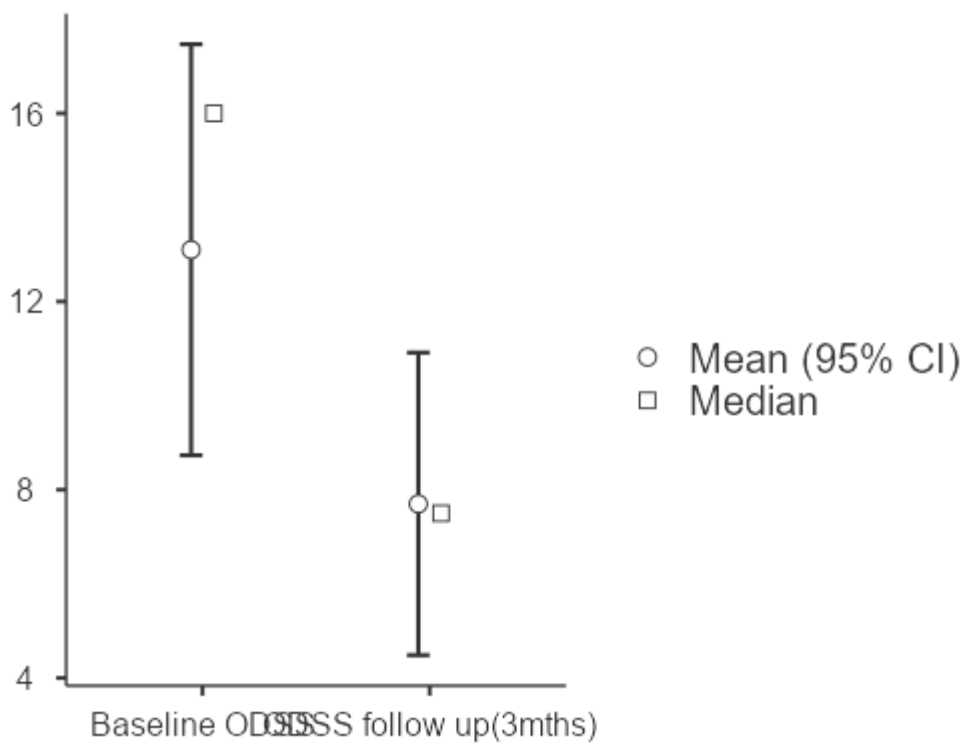
Baseline ODSS - End of treatment ODSS



End of treatment ODSS - ODSS follow up(3mths)



Baseline ODSS - ODSS follow up(3mths)



Paired Samples T-Test

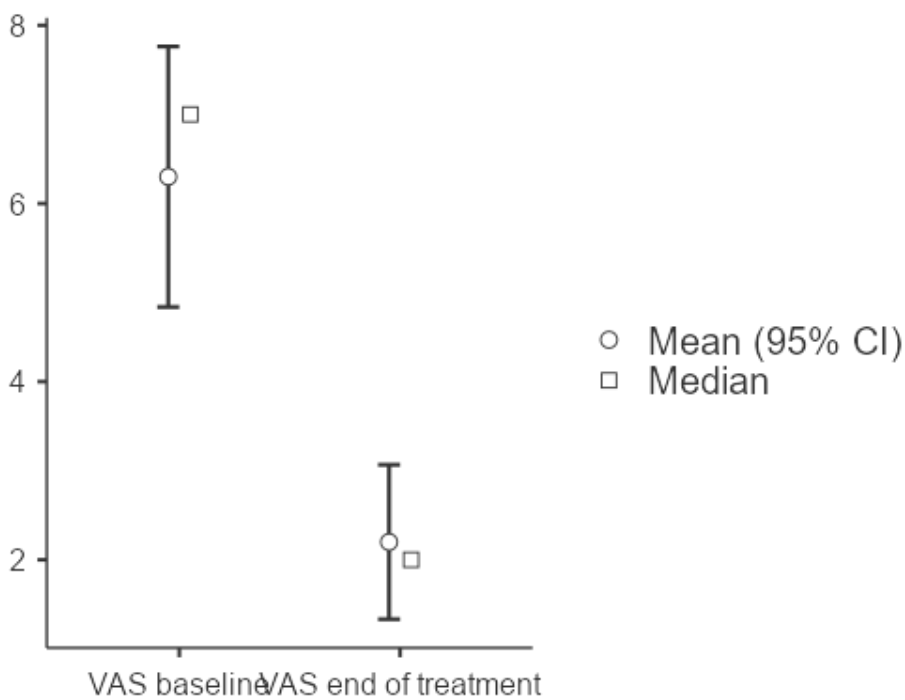
			statistic	df	p
VAS baseline	VAS end of treatment	Student's t	5.56	9.00	< .001
	VAS follow up	Student's t	8.12	9.00	< .001
VAS end of treatment		Student's t	1.00	9.00	0.343

Descriptives

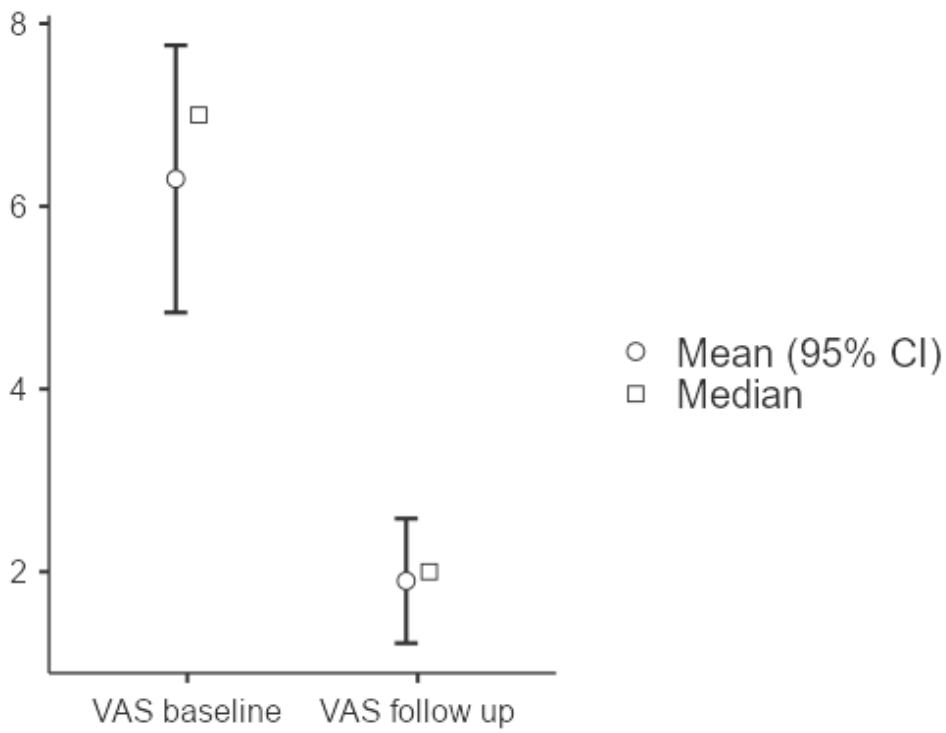
	N	Mean	Median	SD	SE
VAS baseline	10	6.30	7.00	2.36	0.746
VAS end of treatment	10	2.20	2.00	1.40	0.442
VAS baseline	10	6.30	7.00	2.36	0.746
VAS follow up	10	1.90	2.00	1.10	0.348
VAS end of treatment	10	2.20	2.00	1.40	0.442
VAS follow up	10	1.90	2.00	1.10	0.348

Plots

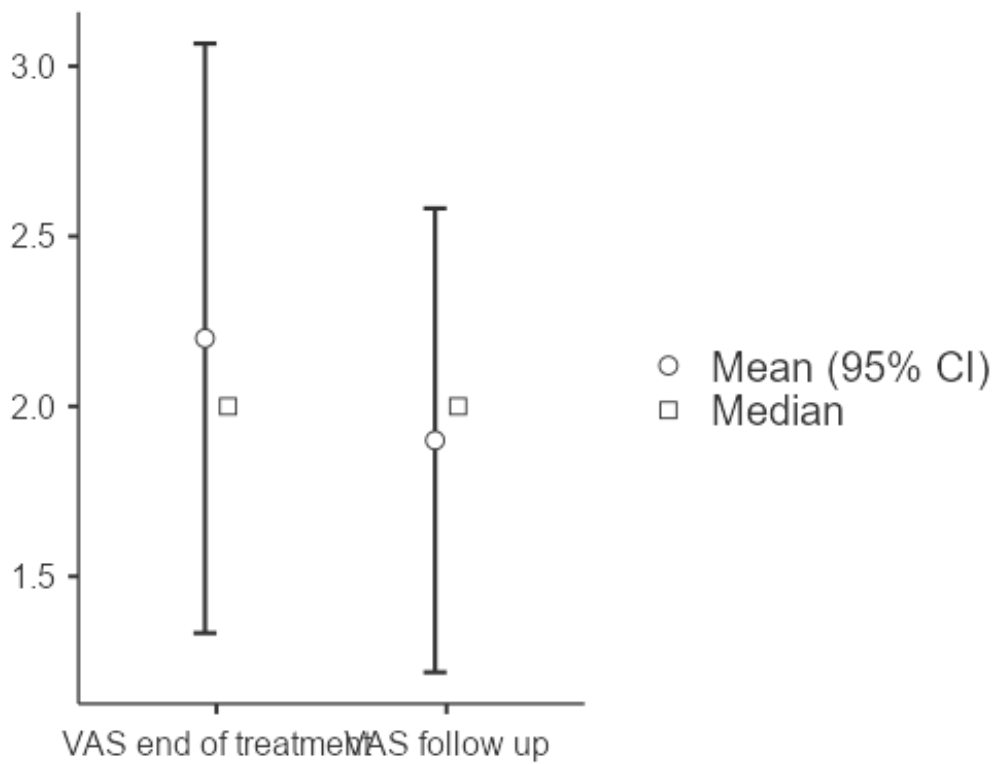
VAS baseline - VAS end of treatment

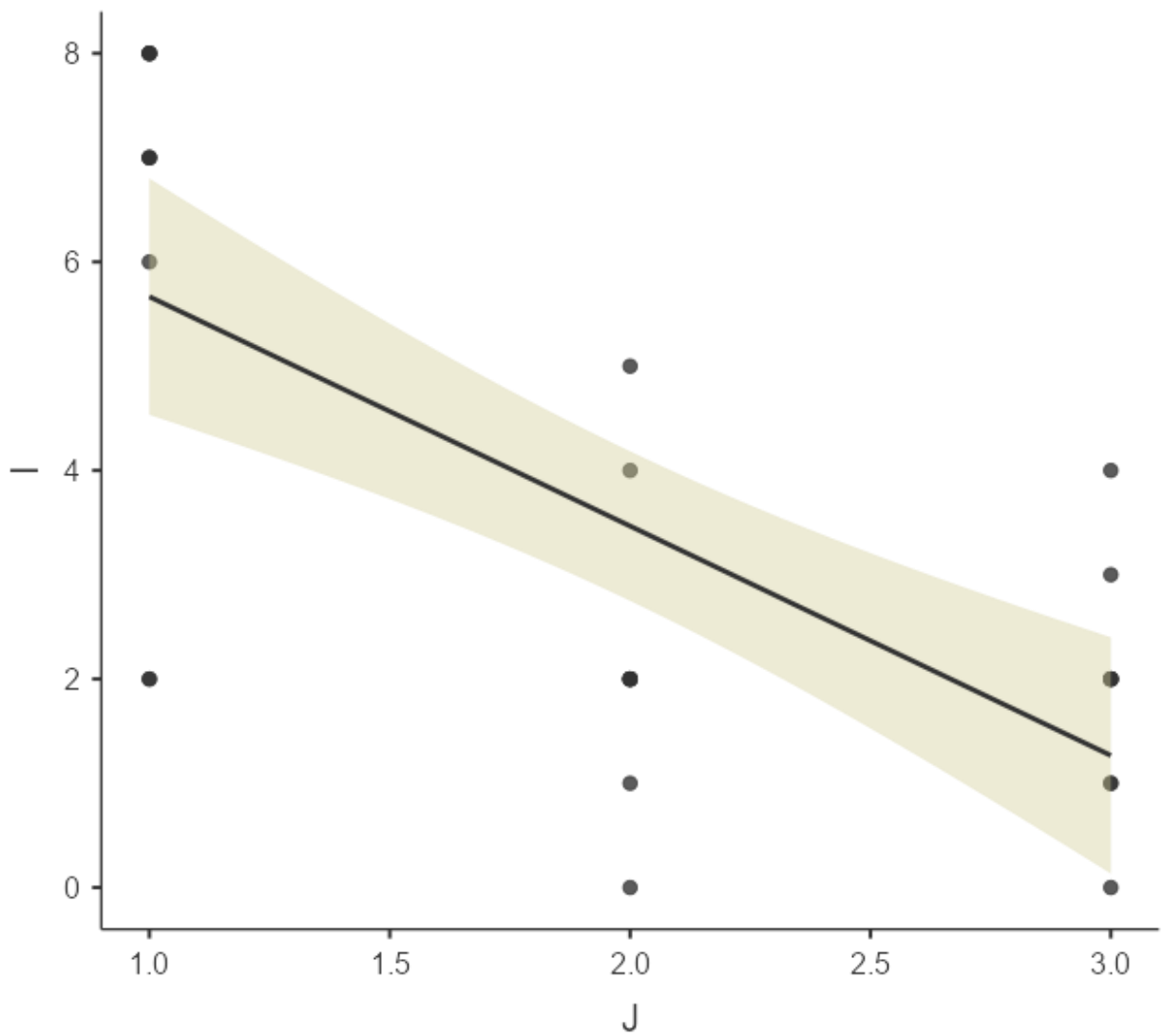
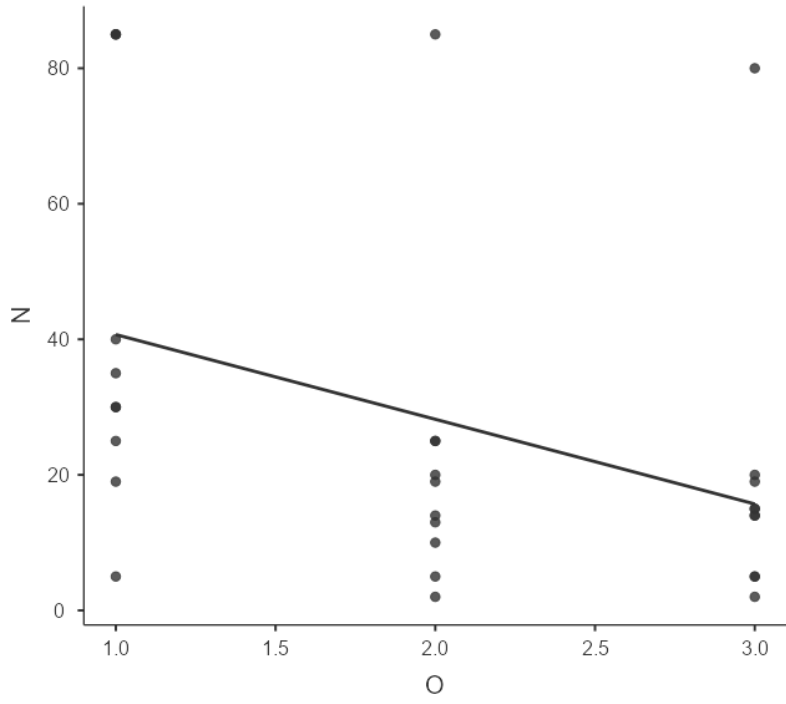


VAS baseline - VAS follow up



VAS end of treatment - VAS follow up





Paired Samples T-Test

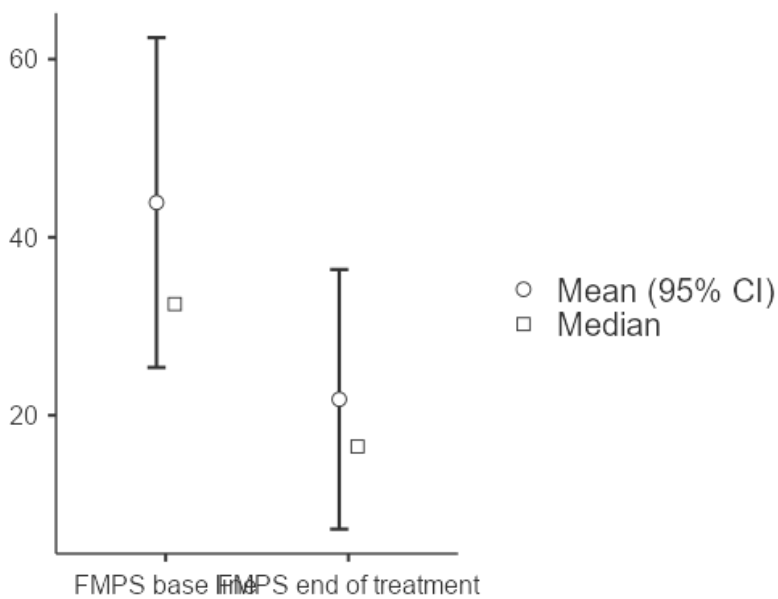
			statistic	df	p	Mean difference	SE difference
FMPS base line	FMPS end of treatment	Student's t	2.62	9.00	0.028	22.10	8.44
	FMPS follow up	Student's t	3.15	9.00	0.012	25.00	7.93
FMPS end of treatment		Student's t	2.13	9.00	0.062	2.90	1.36

Descriptives

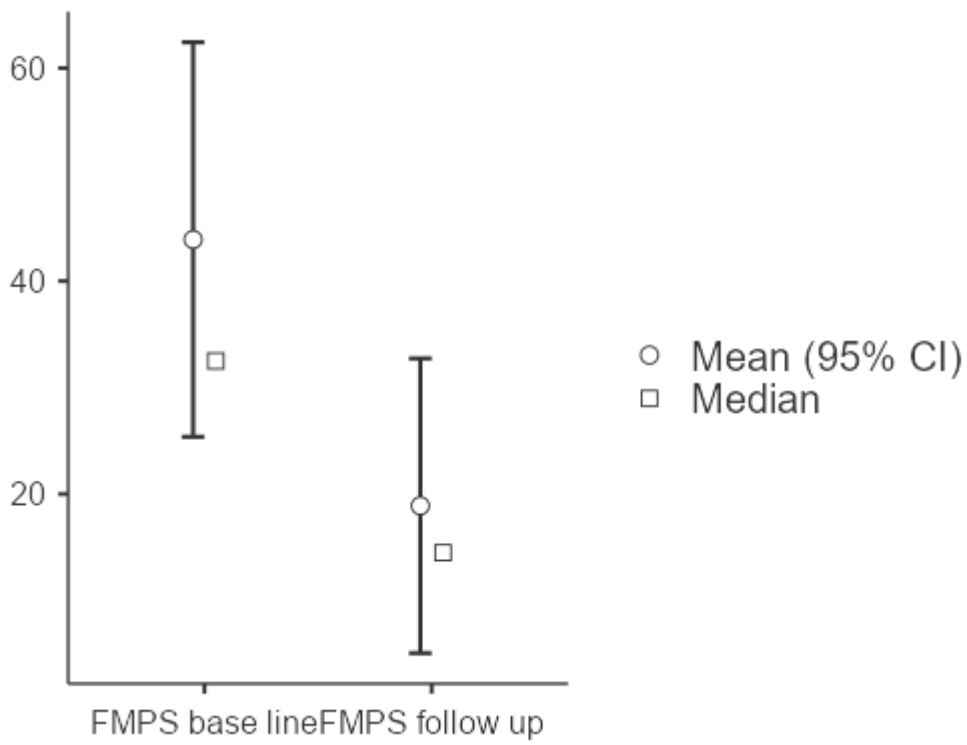
	N	Mean	Median	SD	SE
FMPS base line	10	43.9	32.5	29.9	9.45
FMPS end of treatment	10	21.8	16.5	23.5	7.44
FMPS base line	10	43.9	32.5	29.9	9.45
FMPS follow up	10	18.9	14.5	22.3	7.06
FMPS end of treatment	10	21.8	16.5	23.5	7.44
FMPS follow up	10	18.9	14.5	22.3	7.06

Plots

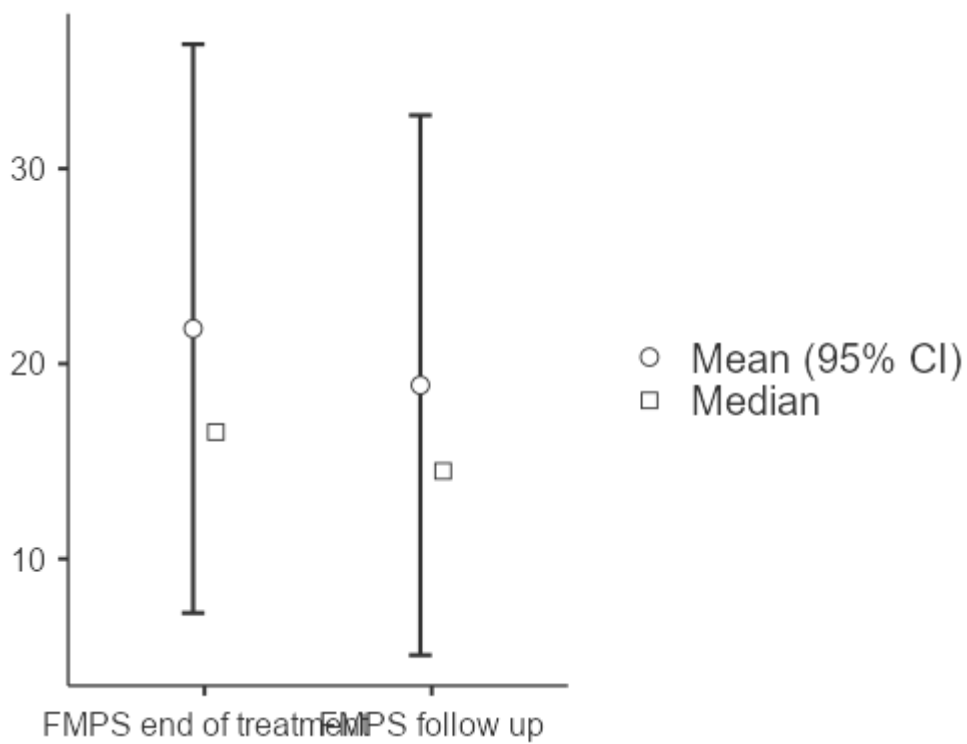
FMPS base line - FMPS end of treatment



FMPS base line - FMPS follow up



FMPS end of treatment - FMPS follow up



DISCUSSIONE

Le lesioni della mucosa orale in corso di MBA sono tra le più difficili da gestire e tendono a recidivare con maggiore frequenza rispetto alle lesioni cutanee⁴⁸. Così, spesso, i pazienti che hanno raggiunto un buon controllo della patologia a livello cutaneo continuano a presentare lesioni della mucosa orale che determinano un notevole impatto nella loro qualità di vita a causa della difficoltà nella deglutizione, del sanguinamento frequente e dell'impossibilità ad eseguire un'accurata igiene orale, che crea così un circolo vizioso peggiorando ulteriormente la situazione poiché il tartaro rappresenta un continuo stimolo infiammatorio. Nella maggior parte dei casi si decide pertanto di adottare una terapia steroidea topica quotidiana associata alla terapia sistemica (immunosoppressore se necessario e terapia steroidea a dosaggio variabile).

Recentemente il PRP è diventato uno dei protagonisti nell'approccio terapeutico di numerose condizioni dermatologiche estremamente diverse tra loro per presentazione e meccanismo d'azione: acne, alopecia androgenetica e telogen effluvium, ulcere cutanee e ustioni, rughe, melasma⁴⁹. Questa metodica, infatti, viene sfruttata in diversi ambiti grazie alla sua ormai nota capacità riparativa, strutturale e funzionale, e alla sua capacità di stimolare la proliferazione e la rigenerazione tissutale⁵⁰.

Si tratta inoltre di una tecnica sicura che finora non ha mostrato alcun effetto collaterale⁴⁸.

Attualmente il PRP è stato approvato anche per le lesioni aperte cutanee e mucose e, da quel momento, è stato possibile utilizzarlo anche presso il nostro Centro con

maggiore facilità, anche grazie alla collaborazione con il Centro Trasfusionale.

Attualmente abbiamo utilizzato il gel piastrinico su 10 pazienti affetti da MBA e, nonostante il numero ridotto, è stato possibile effettuare una prima valutazione circa l'efficacia ma anche i limiti di tale trattamento.

In Letteratura i lavori relativi all'utilizzo del PRP in pazienti con patologia bollosa sono pochi e vi sono solo due studi pilota sull'utilizzo di questa metodica in pazienti affetti da MBA, in entrambi i casi poi si trattava esclusivamente di pazienti affetti da PV e il PRP veniva somministrato tramite iniezioni intralesionali^{48,51}.

Poiché era la prima volta che utilizzavamo questa metodica, per ridurre al minimo i fattori confondenti circa la sua reale efficacia, abbiamo deciso di selezionare pazienti con interessamento esclusivo della mucosa orale e con quadro stabile, in modo tale da non aver bisogno di modificare la terapia sistemica a causa di un possibile peggioramento in altre sedi. Pertanto abbiamo selezionato principalmente pazienti affetti da MMP e solo un caso di PV, che però presentava un quadro stabile da circa un anno (dopo ultima somministrazione di rituximab risalente appunto a 12 mesi prima). In questo modo è stato possibile valutare l'effettiva capacità del gel piastrinico di riparare le lesioni esistenti ed eventualmente prevenire le nuove lesioni. I pazienti sono inoltre stati sottoposti a dosaggio anticorpale sia durante la visita di screening sia al follow up a 3 mesi ma purtroppo nella maggior parte dei casi la ricerca del titolo è stata negativa già in partenza, come spesso accade nei casi di MMP, dove possono essere coinvolte molecole di adesione diverse da BP180 e 230 che non possono però essere dosate presso i nostri Laboratori.

I pazienti selezionati effettuavano sia terapie steroidee topiche che terapie sistemiche (dapstone e/o steroidi), nessuno effettuava terapie immunosoppressive. I pazienti in terapia con dapstone hanno mantenuto invariato il dosaggio, mentre, ad eccezione di 3 pazienti che hanno presentato una risposta ridotta o addirittura un peggioramento in un caso, le terapie steroidee topiche e/o sistemiche sono state ridotte e/o sospese, riducendo quindi di fatto gli effetti collaterali legati a tali trattamenti nel lungo periodo.

Tutti i pazienti hanno mostrato un rapido miglioramento della sintomatologia dolorosa con conseguente miglioramento della qualità della vita notevole, compresi i pazienti che hanno mostrato poca o nessuna risposta clinica. Nella maggior parte dei casi la riduzione del dolore è stata evidente già dopo le prime due sedute di trattamento per poi mantenersi stabile fino al termine della terapia.

Questo dato è perfettamente in linea con i dati presenti in Letteratura^{48,51}.

Per quanto riguarda la risposta clinica al trattamento, vi è stato un miglioramento statisticamente significativo dei valori dell'ODSS, nonostante non vi sia stata risposta parziale e nulla in due pazienti e addirittura un peggioramento in un paziente. Da questo punto di vista, il dato interessante è che tale valore non è migliorato in due categorie di pazienti: quelli con scarsa igiene dentale e in caso di parodontite severa sottostante. Questo dato può essere d'aiuto nella scelta del paziente da selezionare per questa terapia, sebbene sia necessario considerare che la riduzione della sintomatologia dolorosa, presente anche in questi pazienti clinicamente non responders, ha comunque un impatto importante nella loro qualità di vita e porta

indubbiamente ad una maggiore capacità di sopportare la pulizia dentale.

Quest'ultimo dato è stato evidenziato tramite la valutazione dell'indice di placca, possibile grazie alla collaborazione con la Clinica Odontoiatrica, che si è ridotto in tutti i pazienti, indice quindi di una migliore igiene.

Gli studi effettuati finora con il PRP evidenziano come difetto, oltre alla mancanza di studi randomizzati controllati, anche la non standardizzazione di tale metodica, effettuata in modo diverso (velocità e numero delle centrifugazioni, dosaggio per singola iniezione) a seconda dei diversi Centri⁴⁹. In questo senso l'utilizzo del gel piastrinico fornito sempre dallo stesso Centro Trasfusionale che deve seguire precise regole nazionali sull'utilizzo di emocomponenti, ci ha permesso di avere un prodotto standardizzato, eliminando le differenze che si potrebbero altrimenti creare.

Sicuramente il nostro è un campione estremamente ridotto di pazienti, ma il notevole successo sulla riduzione della sintomatologia dolorosa con conseguente miglioramento della qualità di vita di pazienti affetti da una patologia decisamente invalidante, ci fa essere ottimisti sul fatto di avere un'ulteriore possibilità terapeutica, di basso costo e pressochè priva di effetti collaterali. Anche quest'ultimo fattore è di grande importanza in quanto permette il trattamento anche in pazienti con comorbidità che possono limitare l'uso della terapia steroidea sistemica o immunosoppressiva (diabete, osteoporosi severe, storia di neoplasie).

Ovviamente l'obiettivo di questa terapia non è il controllo della patologia come avviene per le terapie sistemiche, ma è più corretto valutare il gel piastrinico come un'alternativa valida all'utilizzo cronico degli steroidi topici, come possibilità di

ridurre il dosaggio delle terapie sistemiche o in monoterapia nelle forme ormai stabilizzate con un quadro clinico limitato.

Il suo utilizzo sarebbe potenzialmente applicabile anche alle forme cutanee, ma richiederebbe medicazioni più avanzate e un dispendio di tempo spesso non compatibile con la pratica ambulatoriale né con gli impegni del paziente.

Ulteriori studi con campioni di pazienti più ampi e un follow-up più lungo sono sicuramente necessari, in quanto, sebbene i risultati raggiunti si siano mantenuti a 3 mesi, vi è una concreta possibilità che vi possano essere successive recidive con necessità di periodici cicli di trattamento.

BIBLIOGRAFIA

1. Daniel BS, Murrell DF. Review of autoimmune blistering diseases: the Pemphigoid diseases. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2019 Sep;33(9):1685-1694. Udey MC, Stanley JR. Pemphigus: diseases of anti-desmosomal autoimmunity. *JAMA* 1999; 282:572.
2. Schmidt E, Kasperkiewicz M, Joly P. Pemphigus. *Lancet*. 2019 Sep 7;394(10201):882-894.
3. Ramos-e-Silva M, Ferreira A, Jacques Cd. Oral involvement in autoimmune bullous diseases. *Clin Dermatol*. 2011 Jul-Aug;29(4):443-54.
4. Wang EQ, Radjenovic M, Castrillón MA, Feng GHY, Murrell DF. The effect of autoimmune blistering diseases on work productivity. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2018 Nov;32(11):1959-1966.
5. Krain RL, Kushner CJ, Tarazi M, Gaffney RG, Yeguez AC, Zamalin DE, Pearson DR, Feng R, Payne AS, Werth VP. Assessing the Correlation Between Disease Severity Indices and Quality of Life Measurement Tools in Pemphigus. *Front Immunol*. 2019 Nov 6;10:2571.
6. Kouris A, Platsidaki E, Christodoulou C, Armyra K, Korkoliakou P, Stefanaki C, Tsatovidou R, Rigopoulos D, Kontochristopoulos G. Quality of life, depression, anxiety and loneliness in patients with bullous pemphigoid. A case control study. *An Bras Dermatol*. 2016 Sep-Oct;91(5):601-603.

7. Bernard P, Antonicelli F. Bullous Pemphigoid: A Review of its Diagnosis, Associations and Treatment. *Am J Clin Dermatol*. 2017 Aug;18(4):513-528.
8. Kridin K. Subepidermal autoimmune bullous diseases: overview, epidemiology, and associations. *Immunol Res*. 2018 Feb;66(1):6-17.
9. Liu YD, Wang YH, Ye YC, Zhao WL, Li L. Prognostic factors for mortality in patients with bullous pemphigoid: a meta-analysis. *Arch Dermatol Res*. 2017 Jul;309(5):335-347.
10. Milani-Nejad N, Zhang M, Kaffenberger J. The association between bullous pemphigoid and neurological disorders: a systematic review. *Eur J Dermatol*. 2017 Oct 1;27(5):472-481.
11. Ungprasert P, Wijarnpreecha K, Thongprayoon C. Risk of venous thromboembolism in patients with bullous pemphigoid: A systematic review and meta-analysis. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2018 Jan-Feb;84(1):22-26.
12. Tan CW, Pang Y, Sim B, Thirumoorthy T, Pang SM, Lee HY. The association between drugs and bullous pemphigoid. *Br J Dermatol*. 2017 Feb;176(2):549-551.
13. Schmidt E, Zillikens D. Pemphigoid diseases. *Lancet*. 2013 Jan 26;381(9863):320-32.
14. Murrell DF, Marinovic B, Caux F, Prost C, Ahmed R, Wozniak K, Amagai M, Bauer J, Beissert S, Borradori L, Culton D, Fairley JA, Fivenson D, Jonkman MF, Marinkovich MP, Woodley D, Zone J, Aoki V, Bernard P, Bruckner-

- Tuderman L, Cianchini G, Venning V, Diaz L, Eming R, Grando SA, Hall RP, Hashimoto T, Herrero-González JE, Hertl M, Joly P, Karpati S, Kim J, Chan Kim S, Korman NJ, Kowalewski C, Lee SE, Rubenstein DR, Sprecher E, Yancey K, Zambruno G, Zillikens D, Doan S, Daniel BS, Werth VP. Definitions and outcome measures for mucous membrane pemphigoid: recommendations of an international panel of experts. *J Am Acad Dermatol.* 2015 Jan;72(1):168-74.
15. Carey B, Setterfield J. Mucous membrane pemphigoid and oral blistering diseases. *Clin Exp Dermatol.* 2019 Oct;44(7):732-739.
16. Kridin K, Kneiber D, Kowalski EH, Valdebran M, Amber KT. Epidermolysis bullosa acquisita: A comprehensive review. *Autoimmun Rev.* 2019 Aug;18(8):786-795.
17. Juratli HA, Sárdy M. Linear IgA bullous dermatosis. *Hautarzt.* 2019 Apr;70(4):254-259.
18. Lammer J, Hein R, Roenneberg S, Biedermann T, Volz T. Drug-induced Linear IgA Bullous Dermatitis: A Case Report and Review of the Literature. *Acta Derm Venereol.* 2019 May 1;99(6):508-515.
19. Colmant C, Camboni A, Dekeuleneer V, Marot L, Dachelet C, Baeck M. Linear IgA dermatosis in association with angioimmunoblastic T-cell lymphoma infiltrating the skin: A case report with literature review. *J Cutan Pathol.* 2020 Mar;47(3):251-256.

20. Kridin K, Ahmed AR. Anti-p200 Pemphigoid: A Systematic Review. *Front Immunol.* 2019 Oct 22;10:2466.
21. Hübner F, Langan EA, Recke A. Lichen Planus Pemphigoides: From Lichenoid Inflammation to Autoantibody-Mediated Blistering. *Front Immunol.* 2019 Jul 2;10:1389.
22. Kridin K. Pemphigus group: overview, epidemiology, mortality, and comorbidities. *Immunol Res.* 2018 Apr;66(2):255-270.
23. Rashid H, Lamberts A, Diercks GFH, Pas HH, Meijer JM, Bolling MC, Horváth B. Oral Lesions in Autoimmune Bullous Diseases: An Overview of Clinical Characteristics and Diagnostic Algorithm. *Am J Clin Dermatol.* 2019 Dec;20(6):847-861.
24. Messersmith L, Krauland K. Pemphigus Vegetans. 2020 Jul 2. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan–. PMID: 31424813
25. Maruta CW, Miyamoto D, Aoki V, Carvalho RGR, Cunha BM, Santi CG. Paraneoplastic pemphigus: a clinical, laboratorial, and therapeutic overview. *An Bras Dermatol.* 2019 Oct 17;94(4):388-398.
26. Amber KT, Valdebran M, Grando SA. Paraneoplastic autoimmune multiorgan syndrome (PAMS): Beyond the single phenotype of paraneoplastic pemphigus. *Autoimmun Rev.* 2018 Oct;17(10):1002-1010.
27. Kartan S, Shi VY, Clark AK, Chan LS. Paraneoplastic Pemphigus and Autoimmune Blistering Diseases Associated with Neoplasm: Characteristics,

- Diagnosis, Associated Neoplasms, Proposed Pathogenesis, Treatment. *Am J Clin Dermatol.* 2017 Feb;18(1):105-126.
28. Ormond M, McParland H, Thakrar P, Donaldson ANA, Andiappan M, Cook RJ, Escudier ME, Higham J, Hullah E, McMillan R, Taylor J, Shirlaw PJ, Challacombe SJ, Setterfield JF. Validation of an Oral Disease Severity Score (ODSS) tool for use in oral mucous membrane pemphigoid. *Br J Dermatol.* 2020 Jul;183(1):78-85.
29. Boehncke WH, Brembilla NC. Autoreactive T-Lymphocytes in Inflammatory Skin Diseases. *Front Immunol.* 2019 May 29;10:1198.
30. Messingham KN, Crowe TP, Fairley JA. The Intersection of IgE Autoantibodies and Eosinophilia in the Pathogenesis of Bullous Pemphigoid. *Front Immunol.* 2019 Oct 4;10:2331.
31. Pollmann R, Schmidt T, Eming R, Hertl M. Pemphigus: a Comprehensive Review on Pathogenesis, Clinical Presentation and Novel Therapeutic Approaches. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2018 Feb;54(1):1-25.
32. Furue M, Kadono T. Pemphigus, a pathomechanism of acantholysis. *Australas J Dermatol.* 2017 Aug;58(3):171-173.
33. Kim JH, Kim SC. Paraneoplastic Pemphigus: Paraneoplastic Autoimmune Disease of the Skin and Mucosa. *Front Immunol.* 2019 Jun 4;10:1259.
34. Kershenovich R, Hodak E, Mimouni D. Diagnosis and classification of pemphigus and bullous pemphigoid. *Autoimmun Rev.* 2014 Apr-May;13(4-5):477-81.

35. Saschenbrecker S, Karl I, Komorowski L, Probst C, Dährich C, Fechner K, Stöcker W, Schlumberger W. Serological Diagnosis of Autoimmune Bullous Skin Diseases. *Front Immunol.* 2019 Aug 20;10:1974.
36. Amber KT, Murrell DF, Schmidt E, Joly P, Borradori L. Autoimmune Subepidermal Bullous Diseases of the Skin and Mucosae: Clinical Features, Diagnosis, and Management. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2018 Feb;54(1):26-51.
37. Melchionda V, Harman KE. Pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus: an overview of the clinical presentation, investigations and management. *Clin Exp Dermatol.* 2019 Oct;44(7):740-746.
38. Maruta CW, Miyamoto D, Aoki V, Carvalho RGR, Cunha BM, Santi CG. Paraneoplastic pemphigus: a clinical, laboratorial, and therapeutic overview. *An Bras Dermatol.* 2019 Oct 17;94(4):388-398.
39. Buonavoglia A, Leone P, Dammacco R, Di Lernia G, Petruzzi M, Bonamonte D, Vacca A, Racanelli V, Dammacco F. Pemphigus and mucous membrane pemphigoid: An update from diagnosis to therapy. *Autoimmun Rev.* 2019 Apr;18(4):349-358.
40. Feliciani C, Joly P, Jonkman MF, Zambruno G, Zillikens D, Ioannides D, Kowalewski C, Jedlickova H, Kárpáti S, Marinovic B, Mimouni D, Uzun S, Yayli S, Hertl M, Borradori L. Management of bullous pemphigoid: the European Dermatology Forum consensus in collaboration with the European

- Academy of Dermatology and Venereology. *Br J Dermatol*. 2015 Apr;172(4):867-77.
41. Di Lernia V, Casanova DM, Goldust M, Ricci C. Pemphigus Vulgaris and Bullous Pemphigoid: Update on Diagnosis and Treatment. *Dermatol Pract Concept*. 2020 Jun 29;10(3):e2020050.
42. Kaegi C, Wuest B, Schreiner J, Steiner UC, Vultaggio A, Matucci A, Crowley C, Boyman O. Systematic Review of Safety and Efficacy of Rituximab in Treating Immune-Mediated Disorders. *Front Immunol*. 2019 Sep 6;10:1990.
43. Kridin K, Ahn C, Huang WC, Ansari A, Sami N. Treatment Update of Autoimmune Blistering Diseases. *Dermatol Clin*. 2019 Apr;37(2):215-228.
44. Joly P, Roujeau JC, Benichou J, Picard C, Dreno B, Delaporte E, Vaillant L, D'Incan M, Plantin P, Bedane C, Young P, Bernard P; Bullous Diseases French Study Group. A comparison of oral and topical corticosteroids in patients with bullous pemphigoid. *N Engl J Med*. 2002 Jan 31;346(5):321-7.
45. Wu PI, Diaz R, Borg-Stein J. Platelet-Rich Plasma. *Phys Med Rehabil Clin N Am*. 2016 Nov;27(4):825-853.
46. Gazzetta Ufficiale. DECRETO 1 agosto 2019. Modifiche al decreto 2 novembre 2015, recante: «Disposizioni relative ai requisiti di qualità e sicurezza del sangue e degli emocomponenti». (19A05957) (GU Serie Generale n.226 del 26-09-2019).
47. Emer J. Platelet-Rich Plasma (PRP): Current Applications in Dermatology. *Skin Therapy Lett*. 2019 Sep;24(5):1-6.

48. El-Komy MHM, Saleh NA, Saleh MA. Autologous platelet-rich plasma and triamcinolone acetonide intralesional injection in the treatment of oral erosions of pemphigus vulgaris: a pilot study. *Arch Dermatol Res*. 2018 May;310(4):375-381.
49. Merchán WH, Gómez LA, Chasoy ME, Alfonso-Rodríguez CA, Muñoz AL. Platelet-rich plasma, a powerful tool in dermatology. *J Tissue Eng Regen Med*. 2019 May;13(5):892-901.
50. Zhang M, Park G, Zhou B, Luo D. Applications and efficacy of platelet-rich plasma in dermatology: A clinical review. *J Cosmet Dermatol*. 2018 Oct;17(5):660-665.
51. EL-Komy MH, Hassan AS, Abdel Raheem HM, Doss SS, EL-Kaliouby M, Saleh NA, Saleh MA. Platelet-rich plasma for resistant oral erosions of pemphigus vulgaris: A pilot study. *Wound Repair Regen*. 2015 Nov-Dec;23(6):953-5.