

# Immunfluoreszcens vizsgálatok hegesedő kötőhártya-gyulladásokban

BAKOS NOÉMI VI. ÉVES ORVOSTANHALLGATÓ, FODOR ESZTER DR.

Semmelweis Egyetem, Szemészeti Klinika, Budapest  
(Igazgató: Prof. Nagy Zoltán Zsolt, egyetemi tanár)

**Célkitűzés:** Krónikus, hegesedő kötőhártya-gyulladás miatt gondozott betegcsoportban elvégzett immunfluoreszcens vizsgálatok eredményének felmérése.

**Betegek és módszerek:** 23 krónikus, hegesedő kötőhártya-gyulladással jelentkező beteg immunfluoreszcens vizsgálatának eredménye került áttekintésre retrospektív módon. A betegeknél minden esetben direkt immunfluoreszcens vizsgálat (DIF) történt kötőhártyamintából. 11 esetben indirekt immunfluoreszcens vizsgálat, egy esetben pedig salt-split-skin vizsgálat is történt.

**Eredmények:** A 23 betegen 30 alkalommal elvégzett DIF-tesztből 16 volt pozitív (53,3%). Ebből 13 esetben nyálkahártya pemphigoid (OcMMP) igazolódott, 4 esetben egyéb oculodermális kórkép (pemphigus vulgaris, paraneoplasziás-pemphigoid, bullosus pemphigoid és lineáris IgA-betegség). 14 esetben a mintában körjelző eltérés nem igazolódott. Az OcMMP-s betegek DIF-vizsgálata során lineáris IgG-lerakódás fordult elő a leggyakrabban (100%). Az IIF-teszt 11 esetben került elvégzésre és 4 esetben lett pozitív (36,4%).

**Megbeszélés:** A DIF alacsony szenzitivitása és specifitása nem teszi lehetővé, hogy csupán DIF-teszt alapján megállapítsuk vagy kizárjuk az OcMMP-t, ugyanakkor közelebb visz a diagnózishoz és a megfelelő terápia kiválasztásához, ezért krónikus, hegesedéssel járó kötőhártya-gyulladásban mindenképp ajánlott a DIF elvégzése a terápia beállítása előtt. Kiegészítő diagnosztikus vizsgálatként az IIF-vizsgálatot is érdemes elvégezni.

## Immunofluorescence testing in cicatrizing conjunctivitis

**Objectives:** The aim of the research is to assess the results of immunofluorescence tests carried out in the group of patients with cicatrizing conjunctivitis.

**Materials and methods:** Immunofluorescence test results of 23 patients with cicatrizing conjunctivitis were reviewed retrospectively. In all cases, patients underwent direct immunofluorescence testing from a conjunctival sample. Indirect immunofluorescence tests were performed in 11 cases, and salt-split-skin test was done in one case.

**Results:** The DIF test was performed 30 times in 23 patients and tested positive 16 times (53.3%). In 13 cases, mucous membrane pemphigoid was confirmed (OcMMP). In 4 cases, another oculodermmal disease was diagnosed (pemphigus vulgaris, paraneoplastic pemphigoid, bullous pemphigoid, linear IgA disease). In 14 cases, no pathological difference was confirmed in the sample. In OcMMP patients, linear IgG deposition occurred most frequently (100%) in DIF tests. The IIF test was carried out in 11 cases and tested positive in 4 cases (36.4%).

**Conclusion:** However, the low sensitivity and specificity of DIF does not enable us either the diagnosis or the exclusion of OcMMP based on a sole DIF test, but it brings the diagnosis and the right therapy up. Therefore, it is highly recommended to perform DIF in chronic conjunctivitis prior a commencing therapy. As an additional diagnostic test, the IIF test should also be performed.

### KULCSSZAVAK

ocularis mucosus membrán-pemphigoid, hólyagképződéssel járó autoimmun betegség, hegesedéssel járó kötőhártya-gyulladás, immunfluoreszcencia, szerológia

### KEYWORDS

ocular mucous membrane pemphigoid, blistering autoimmune disease, cicatrizing conjunctivitis, immunofluorescence, serology

Kézirat beérkezése: 2022. 03. 02. Közlésre elfogadva: 2022. 03. 17.

## Bevezetés

Az ocularis mucosus membrán pemphigoid (OcMMP) autoimmun betegség, amely a hegesedéssel járó kötőhártya-gyulladások közé tartozik. Az OcMMP a mucosus membrán pemphigoid (MMP) csoport tagja. Az MMP-n belül különböző altípusokat különítünk el a nyálkahártya-érintettség alapján. Érintheti az orális mucosát, az ocularis mucosát, a laryngealis mucosát, az oesophagealis mucosát, a trachealis mucosát, illetve a genitális és urogenitális mucosát. Előfordulhat monosite (egy terület), illetve multisite (több terület) érintettség is (16).

Az OcMMP incidenciája körülbelül 0,7-0,8/millió lakos/év (16). Az átlagéletkor a diagnózisakor 60,4–68,2 év. Az átlagos idő az első tünetektől a diagnózis megszületéséig 225 nap és 6,4 év között változik (16).

A fő antigének, amelyek kiváltják az immunválaszt a bazális membrán zónában találhatóak:  $\alpha$ 6-integrin,  $\beta$ 4-integrin, laminin 332, VII-es kollagén, BP180, BP230 (16). Az OcMMP immunpatológiai előrehaladása három elkülöníthető fázisból áll:

- a sérülés fázisa,
- az akut gyulladás és
- sejtosztódás fázisa, illetve a fibrózis fázisa (10).

Klinikailag gyakran nem specifikus krónikus kötőhártya-gyulladással kezdődik. Előrehaladott stádiumban már nem a gyulladással járó tünetek dominálnak, hanem a kötőhártya hegesedése és ennek a következményei: entrópium, canthus elsimulása, fornixrövidülés, symblepharon, ankyloblepharon, trichiasis, következményes látásromlással és akár vaksággal (16).

A diagnosztika a mai napig nem könnyű feladat. Klinikailag sok hasonló oculodermális kórkép létezik (lineáris IgA-szindróma, pemphigus vulgaris, paraneoplasias pemphigoid stb.) (1. ábra), és a mindennapi gyakorlatban elérhető diagnosztikai vizsgálatok szenzitivitása nem elég magas. A diagnosztikus kétségek miatt késve kapják meg a betegek a megfelelő terápiát, emiatt súlyosabb stádiumban kerülhetnek először el-

látásra (7). A pontosabb és gyorsabb diagnosztikához hozzájárul az alapos anamnéziszfelvétel, klinikai vizsgálat, szerológia, immunfluoreszcens vizsgálatok elvégzése, esetleg ABC immunhisztokémiai analízis és autoantitest-detektálás (17, 1). A direkt immunfluoreszcencia-vizsgálat (DIF) napjainkban az elsőként ajánlott kiegészítő diagnosztikai teszt (17). Ugyanakkor alacsony specificitása és szenzitivitása nem teszi lehetővé, hogy csupán DIF-teszt alapján megállapítsuk vagy kizárjuk az OcMMP-t (12). Az indirekt immunfluoreszcens vizsgálat ritkábban pozitív, mint a DIF-vizsgálat, ugyanakkor pozitív esetén felállítható a diagnózis, ezért kiegészítő vizsgálatként érdemes elvégezni (5, 17).

## Célkitűzés

Jelen kutatás célja az intézetünkben hegesedő kötőhártya-gyulladás miatt gondozott betegcsoportokban elvégzett immunfluoreszcens diagnosztikai vizsgálatok eredményeinek felmérése.

## Anyagok és módszerek

A Semmelweis Egyetem Szemészeti Klinikájának beteganyagából 23 beteg adatait vizsgáltuk 2008 márciusától napjainkig retrospektív módon, azonos feltételek szerint, akik diagnosztikus célból nyálkahártya-biopszián (kötőhártya alsó áthajlás, szájnyalkahártya) estek át hegesedő kötőhártya-gyulladás miatt.

Rögzítettük a nemek és az életkor megoszlását a biopszia idejében, valamint a betegség által érintett extraocularis nyálkahártya és bőr érintettségét. Összegyűjtöttük a direkt immunfluoreszcens vizsgálatok, az indirekt immunfluoreszcens vizsgálatok és amennyiben SSST is készült, annak eredményeit. Az adatok gyűjtésére az e-MedSolution rendszert használtuk. A réslámpás képeket a Szemészeti Klinika készítette és szolgáltatta. A DIF-tesztek

a Bőr-, Nemikórtani és Bőronkológiai Klinika Immunfluoreszcencia laboratóriumában kerültek kiértékelésre. Az indirekt immunfluoreszcens vizsgálatok majomnyelcső-szöveten készültek és szintén Bőr-, Nemikórtani és Bőronkológiai Klinika Immunfluoreszcencia laboratóriuma értékelte ki őket.

## Biopsziafeldolgozás és analízis

### Direkt immunfluoreszcens vizsgálat

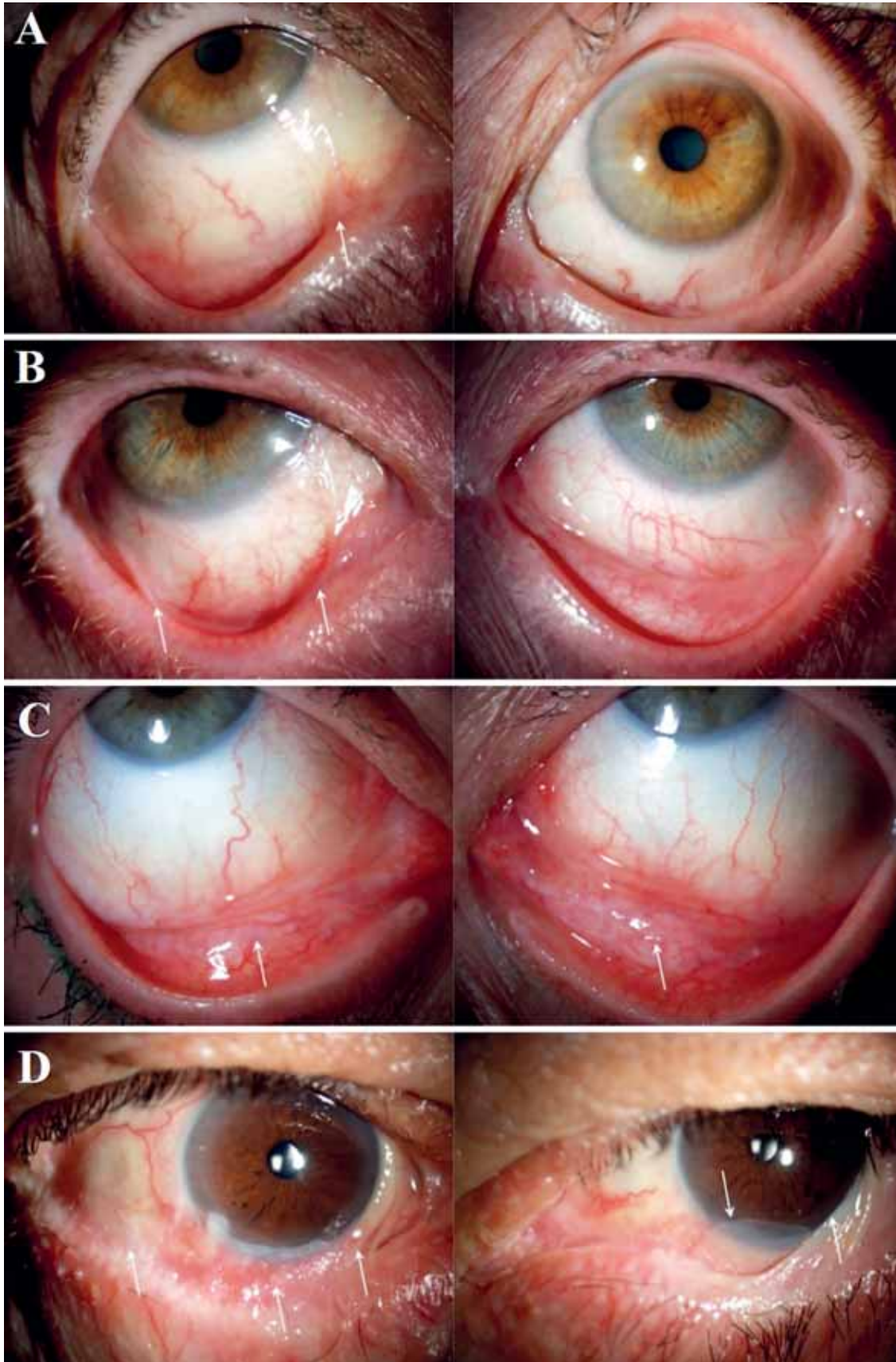
A mintavételt a betegek előzetes tájékoztatása után, a beleegyező nyilatkozat aláírását követően végeztük, a Helsinki Deklarációnak megfelelően. Felszíni érzéstelenítés (Novesine 0,4%-os szemcsepp, Oxibuprocain, Novartis) és subconjunctivális lidocain (20 mg/ml, EGIS) injekció után minden esetben az alsó áthajlás hegmentes részéből történt a kötőhártya-mintavétel.

A mintát a feldolgozásig PBS (pH=7,4) transzportfolyadékban tároltuk 4 °C-on, maximum 24-48 óráig. Az immunológiai laboratóriumban a mintákat -20 °C-on kriogélbe (cryomatrix) ágyasztuk. Feldolgozáskor az előkészített mintát 3 oldalról körbevágták és leválasztották a tárgylemezről, alumíniumlapra ragasztották, rögzítették a cryotome-ban, majd 8 db, 2-10 mikrométer vastag szeletet vágtak -20 °C-on. Két-két metszet került egy tárgylemezre. Szárítás és jelölés után FITC-vel konjugált, nyúlban termelt humán IgA, IgG, IgM, C3 (kötőhártyaminta esetén IgG4 is) ellenes antitestekkel inkubálták 30 percig, sötétben, szobahőmérsékleten. PBS-es mosás után 1:1 arányú glicerines PBS-t cseppentettek a metszetre, majd ráhelyezték a fedőlemezt. Ezután mikroszkóp alatt kiértékelték a mintákat.

### Indirekt immunfluoreszcens vizsgálat

A betegtől vett 2-5 ml teljes vérminta centrifugálása után a savót használták fel a vizsgálatához, hogy

1. ábra: Réslámpás képek. A: OcMMP-s beteg; B: OcMMP; C: Pemphigus vulgaris; D: Lineáris IgA-dermatosis. A réslámpás képeken megfigyelhető a különböző oculoder-malis kórképek nagymértékű hasonlósága, ezért is fontosak a kiegészítő vizsgálatok



azonosítsák a keringő antitesteket. Antigén-szubsztrátnak majomoesophagust használtak. Első lépésben a szubsztrátokat elárasztották 30 mikroliter 0,1-es és 0,01-os higítású savóval, majd 30 percig inkubálták pára kamrában szobahőmérsékleten, majd kétszer 10 percig leöblítették PBS-sel (TWEEN20). Ezt követően a mintát 30 percig, sötétben, szobahőmérsékleten inkubálták 30 mikroliter FITC-hez kötött másodlagos antitesttel (IgG). Ezután a szöveteket még kétszer

lemosták 10 percig PBS-sel (TWEEN20), végül glicerines fedőréteg és fedőlemez került a mintákra, és mikroszkóp alatt kiértékelésre kerültek.

### Salt-split skin technika

A vizsgálathoz majombőr-mintát használtunk, egy éjszakára 1M NaCl-oldatba áztattuk. A direkt immunfluoreszcens vizsgálat során a mintákat humán IgA-, IgG-, IgM-immunglobulin és C3-komp-

lement elleni savóval reagáltattuk, amely antitestek FITC-hez voltak konjugálva.

A minta negatív amennyiben nem látunk festődést egyetlen antiszérum esetén sem, pozitív, amennyiben festődést látunk bármelyik antiszérum hozzáadása után. Előfordulhat lineáris festődés a BMZ-ben, intercelluláris festődés, „shaggy” festődés, szemcsés festődés, vaszkuláris festődés és egyéb. A festődésmintázat és a lerakódás segít a diagnózis felállításában.

1. táblázat: A kutatás eredményei táblázatban összefoglalva. DIF- és IIF-vizsgálatoknál (-) jel a negativitást jelenti. Szemműtét és glaukóma esetén (+) jel a betegség fennállását jelenti

	Sorszám	Nem	Kor	DIF	IIF	Extraocularis érintettség	Szemműtét	Glaukóma	
OcMMP	1.	F	49	C3, IgG		száj			
	2.	N	80	IgG, IgA	-	száj, gége, bél			
	3.	F	73	C3, IgA, IgG					
	4.	N	59	C3, IgG	-	száj, orr; bőr			
	5.	F	66	C3, IgG				+	
	6.	N	89	C3, IgG	IgG	bőr			
	7.	F	51	IgG					
	8.	N	86	IgG			+		
	9.	F	68	C3, IgA, IgG					
	10.	N	65	IgG					
	11.	F	79	C3, IgA, IgG	-	száj, garat, íny, bőr		+	
	12.	N	84	C3, IgG, IgG4, IgA	-	száj			
	13.	F	68	C3, IgG, IgG4, IgA		orr			
Egyéb diagnózis	Pemphigus vulgaris	14.	N	67	Intercell. C3, IgG	IgG	száj, íny, garat		
	Paraneoplasziás pemphigoid	15.	N	72	-	IgG	orr; száj, bőr		+
	Bullosus pemphigoid	16.	N	75	IgG	IgG	száj		
	Lineáris IgA-dermatosis	17.	F	73	IgA	-	száj, bőr; garat, here	+	
Nincs diagnózis		18.	N	73	-			+	
		19.	N	80	-	-		+	+
		20.	N	66	-			+	
		21.	N	78	-			+	+
		22.	N	77	-			+	
		23.	N	64	-				

## Eredmények

### Kutatási populáció

A 23 fős csoportból 15 nő volt (65,2%) és 8 férfi (34,8%). Az OcMMP-csoportban 6 nő volt (46,2%) és 7 férfi (53,8%). Azok között, akik esetében más diagnózis derült ki, 3 nő és 1 férfi volt. Az egyelőre diagnózis nélküli csoport tagjai (6 eset) mind nők.

A medián életkor a mintavétel idejében 70 év volt (min. 45, max. 85), Az OcMMP-sek körében 61 év (min. 45, max. 85), az egyéb diagnózisú betegek között 71,5 év (min. 60, max. 74) és a nem diagnosztizáltak esetében 73,5 év (min. 64, max. 77). 13 páciens DIF-pozitivitással igazolt OcMMP-s (56,5%), 1 páciens pemphigus vulgaris (4,3%), 1 páciens paraneoplasias pemphigoidos (4,3%), 1 páciens lineáris IgA-dermatosis (4,3%), 6 beteg továbbra is diagnózisra vár (26,1%). Az ocularis MMP-populációból 5 betegnek volt szájnyalakahártya-érintettsége (38,5%), 2-nek ornyálkahártya-érintettsége (15,4%), 1-1-1-1 betegnek, garat-, íny-, bél-, gége érintettsége (7,7-7,7-7,7-7,7%) és 3-nak bőr érintettsége (23,1%). A nem OcMMP diagnózisúak közül 4-nek volt szájnyalakahártya-érintettsége, 1-1-1-nek ornyálkahártya-, íny- és hereérintettsége és 2-2-nek garat- és bőrérintettsége.

Akik esetében még nem született diagnózis semmilyen extraocularis érintettséggel nem rendelke-

nek (1. táblázat és 2. táblázat). 22 betegnek volt kétoldali szemérintettsége (95,7%) és egynek féloldali (4,3%).

### Direkt immunfluoreszcencia-eredmények

Minden betegnél készült direkt immunfluoreszcens vizsgálat, de 4 esetben ismételt vizsgálatra is szükség volt, 2 esetben kötőhártyából, 1 esetben szájnyalakahártyából, 1 esetben bőrből történt az ismételt mintavétel. A DIF-teszt összesen 30-szor került elvégzésre és 16-szor lett pozitív (53,3%). Ezek során a C3, IgG, IgA és IgM jelenlétét vizsgálták, egyes minták esetében az IgG4-et is.

Az OcMMP-s betegek tesztjei közül a bazális membrán zónában 13 esetben volt látható lineáris IgG-lerakódás (100%), 9 esetben volt lineáris C3-komplement-lerakódás (69,2%), 6 esetben volt lineáris IgA-lerakódás (46,2%) és 2 esetben volt lineáris IgG4-lerakódás (2. ábra).

A 4 egyéb diagnózist kapott beteg DIF-vizsgálata is mutatott eltéréseket. A pemphigus vulgarisos beteg DIF-tesztjén tipikus intercelluláris IgG- és C3-lerakódás figyelhető meg. A paraneoplasias pemphigoidos beteg tesztjén lineáris IgG-lerakódás volt észlelhető a bazális membrán mentén (3. ábra). A bullosus pemphigoidos beteg tesztjén lineáris IgG-lerakódás volt a bazális

membrán zónában. Az IgA-dermatosisal rendelkező beteg tesztjén pedig lineáris IgA-lerakódás detektálható szintén a bazális membrán mentén (4. ábra, 1. táblázat, 3. táblázat).

### Indirekt immunfluoreszcencia-eredmények

Az IIF-teszt 11 esetben került elvégzésre és 4 esetben lett pozitív (36,4%), 1 esetben OcMMP-s betegnél, 3 esetben nem OcMMP-s betegnél. A 11 teszt 10 beteghez tartozik (1. táblázat és 3. táblázat).

### Salt-split skin teszt eredménye

Salt-split skin tesztet 1 esetben végeztünk, a paraneoplasias pemphigoidos beteg esetén. Lineáris epidermalis festődés figyelhető meg rajta (5. ábra).

### Megbeszélés, következtetések

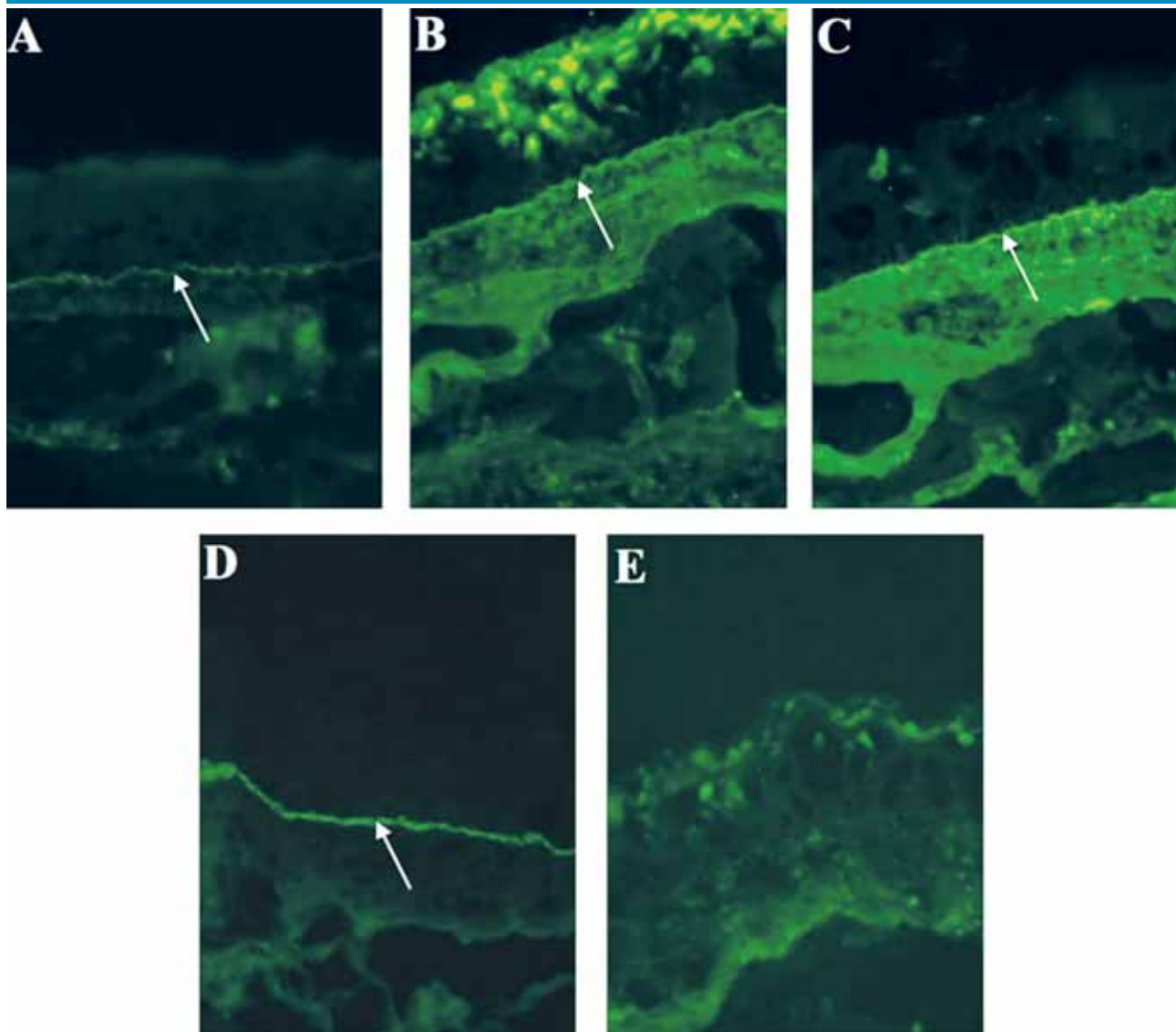
Az OcMMP egy látást veszélyeztető autoimmun betegség, amely hosszú távú szisztémás gyulladáscsökkentő terápiát igényel a progresszió mérséklése céljából. A betegség általában progresszív hegesedő kötőhártya-gyulladásként jelentkezik, és a differenciáldiagnózisa kihívást jelent a szemészek számára. Kötőhártya-biopszia szükséges (annak eredménytelensége esetén szájnyalakahártya-, esetleg bőrmintavétel) a diagnózis felállításához, továbbá a megfelelő terápia kiválasztásához. A szisztémás terápia számos mellékhatást okozhat, főleg idősebb korosztályban, ezért is ideális a biopszia által bizonyított diagnózis, amely megalapozottabb kezelést tesz lehetővé.

A vizsgálati csoportunkban a férfiak gyakrabban érintettek az OcMMP-ben (53,8%). Radford és munkatársai kutatásában szintén férfi többség volt (58%) (14). Az autoimmun betegségekben viszont általában női túlsúly figyelhető meg (13). Ez a betegség többnyire az idősebb korosztályt érinti (14, 16), ebben

2. táblázat: Nem, kor, extraocularis érintettség és DIF-pozitivitás a vizsgált csoportban

	Összesen (n=23)	Ocularis MMP (n=13)	Egyéb diagnózis (n=4)	Nem diagnosztizált (n=6)
Nem (nő)	15 (65,2%)	6 (46,2%)	3	6
Kor, medián (évek)	70	61	71,5	73,5
Kor, tartomány (évek)	45–85	45–85	60–74	64–77
Extraocularis érintettség, nyálkahártya	10 (43,5%)	6 (46,2%)	4	0
Extraocularis érintettség, bőr	5 (21,7%)	3 (23,1%)	2	0
DIF +	16 (69,6%)	13 (100%)	3	0

2. ábra: OcMMP-s beteg kötőhártyamintájának DIF eredményei. A: C3 jelölés – pozitív, B: IgA jelölés – pozitív, C: IgG jelölés – pozitív, D: IgG4 jelölés – pozitív, E: IgM jelölés – negatív



a kutatásban a medián életkor az OcMMP-diagnózis felállításának idején 61 év volt, az életkori megoszlás pedig 45 és 85 év között változott.

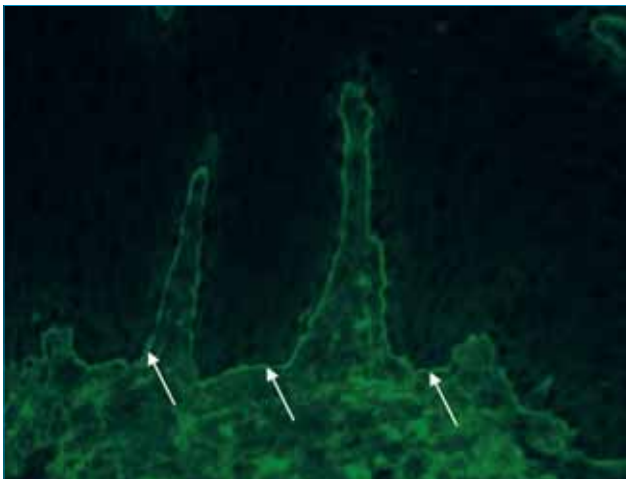
Három csoportra osztottuk a 23 fős betegpopulációt a DIF-vizsgálat eredménye alapján: OcMMP-s betegek; nem OcMMP-s, egyéb oculodermalis kórképben szenvedő betegek; és a vizsgálat idejében definitív diagnózissal nem rendelkező betegek. Ez utóbbi csoportban továbbra is törekszünk diagnosizálásra. A felosztásunk oka az, hogy az OcMMP messze a leggyakoribb szemészeti érintettséggel járó kór-

kép az összes oculodermalis kórkép közül és önmagában is gyakoribb az előfordulása a többi kórképhez képest. Egy beteg mindaddig progresszívnek tekintendő, amíg az ellenkezőjét nem tudtuk igazolni. DIF-negativitás esetén ismétljük a mintavételt kötőhártyából. További negativitás esetén ismétljük szájnálkahártyából. Ha ez sem vezet eredményre, elvégezzük az IIF- és SSST-vizsgálatokat (17).

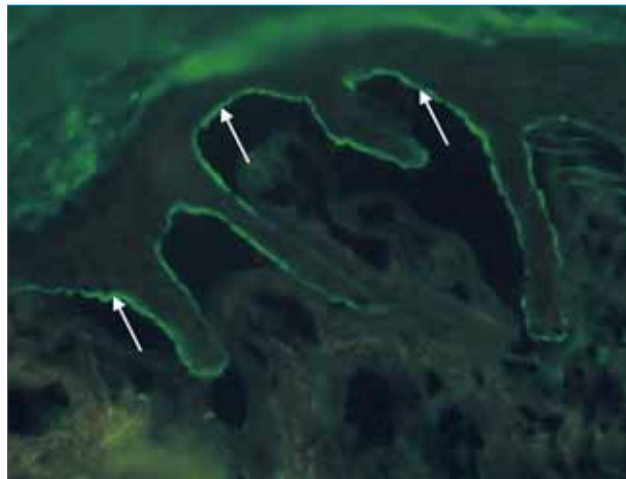
Ebből a betegcsoportból, 23 esetből 13 betegnél lett OcMMP a végső diagnózis (56,5%), tehát a hegesedő kötőhártya-gyulladásért nagy százalékban az OcMMP tehető felelőssé.

A direkt immunfluoreszcencia-vizsgálat napjainkban az elsőként ajánlott kiegészítő diagnosztikai teszt (17). Ennek megfelelően a mi betegpopulációnkban is minden esetben elvégeztük. Összesen 30 DIF-teszt készült, amelyből 16 lett pozitív (53,3%). A DIF alacsony szenzitivitása és specificitása (12) nem teszi lehetővé, hogy csupán DIF-teszt alapján megállapítsuk vagy kizárjuk az OcMMP-t, ugyanakkor közelebb visz a diagnózishoz és a megfelelő terápia kiválasztásához, ezért krónikus kötőhártya-gyulladásban mindenképp ajánlott a DIF elvégzése a terápia beállítása előtt.

3. ábra: Paraneoplasias pemphigoid DIF-tesztje, lineáris immunfluoreszcens festődés a bazális membrán mentén (nyilak)



5. ábra: Paraneoplasias pemphigoid SSST-je majombőrön. Lineáris festődés a bazális membrán mentén az epidermalis oldalon (nyilak)



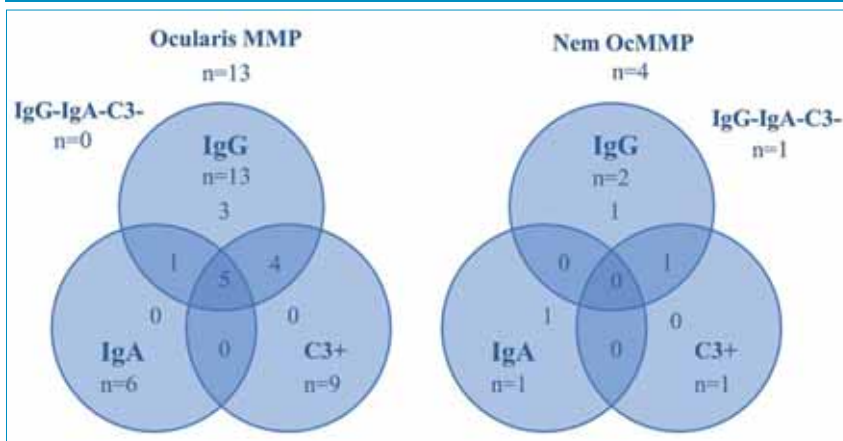
Ez a kutatás az OcMMP-s betegek körében azt találta, hogy az IgG-lerakódás fordult elő leggyakrabban (100%), majd következett a C3 (69,2%), végül pedig az IgA (46,2%). C3 komplement- és IgA-antitest-lerakódás nem fordult elő önmagában, csak IgG-antitesttel együtt, vagy mindhárom együttesen. IgG, C3-komplementtel együtt gyakrabban volt jelen, mint IgG-, IgA-antitesttel.

Frith és munkatársai lineáris IgG-, IgA-, IgM- vagy C3-lerakódást az esetek 46%-ában regisztráltak (9). Bernauer és munkatársai lineáris C3- vagy immunoglobulin-lerakódást az OcMMP-s betegek 50%-ában találtak. Továbbá azt figyelték meg, hogy IgA-lerakódás fordul elő a leggyakrabban (91%), majd a C3 (54%), végül az IgG (45%) (3). Chan és munkatársai szintén magasabb arányú IgA-lerakódást figyeltek meg, és kisebb arányú IgG-, C3-lerakódást (6). Mehra és munkatársai az IgG-lerakódást figyelték meg leggyakrabban (47,1%), ezután az IgA (25,5%), majd a C3-lerakódást (14,7%) (12). A mintavétel helye (lézionális, nem lézionális) szintén befolyásolja a DIF-teszt pozitivitását, Mehra és munkatársai magasabb szenzitivitásúnak és specifitásúnak találták azokat a mintákat, amelyeket nem lézionális területről nyertek, és még magasabb értékeket kaptak nem lé-

zionális bőrmintákra (12). Schmidt és munkatársai azt javasolják, hogy amennyiben lehetséges a biopsziát ne gyulladt kötőhártyából vegyék, mivel ez csökkenti a szenzitivitást (17). Dart és munkatársai azt találták, hogy a nem lézionális bőr hasonló eredményekkel szolgál, mint a nem gyulladt kötőhártya, továbbá a buccából nyert minta pozitív lehet, amikor a kötőhártyaminta negatív (7). Saját beteganyagunkban a 13 OcMMP-s betegből 11-nek elsősre pozitív lett a DIF-tesztje, 1 betegnek másodjára lett pozitív, 1 betegnek pedig csak negyedik alkalommal. Több egyidejű mintavétel, illetve a mintavétel ismétlése növelheti a diagnózis felállításának valószínűségét (18).

Az összes elkészített DIF-teszt közül, 6-ot nem lehetett megfelelően értékelni, mivel 3 esetben lízis volt megfigyelhető, 1 esetben nem tartalmazott hámot a minta, 2 esetben pedig túl kicsi volt a minta. Ebből 4 esetben rebiopszia történt, 2 esetben új mintavétel még nem történt, de a továbbiakban tervezett. Egyes centrumok között különbségek figyelhetőek meg a DIF-teszt diagnosztikus relevanciája között, amely gyakran a mintavétel sebészi technikájának és a minta kezelésének különbségére vezethető vissza. A kötőhártya-epithelium egy nagyon finom szövet, könnyen roncsolható és leválasztható az alatta fekvő strómáról, értékelhetetlenné

4. ábra: DIF-teszt eredmények Venn-diagramon ábrázolva



3. táblázat: A pozitív DIF-teszteken az antitestek megoszlása és az IIF-tesztek eredményei

	OcMMP (n=13)	Nem OcMMP (n=4)
DIF, C3-lerakódás	9 (69,2%)	1
DIF, IgG-lerakódás	13 (100%)	2
DIF, IgA-lerakódás	6 (46,2%)	1
IIF, IgG-lerakódás	1	3

téve a mintát (1). Emellett a betegség természete szerint a bazális membrán széttöredezés miatt eleve hiányozhat a mintából (8). A minta tárolása hűtőben, 4 °C-on maximum 48 óráig lehetséges, mivel hosszabb idő alatt a sejtpusztulás mértéke olyan nagy, hogy az analízishez nem marad elegendő élő sejt. A minta analízise több okból lehet sikertelen. Lehetséges okok a nem megfelelő méretű vagy minőségű minta (elegendő epithelium és BMZ kell, hogy jelen legyen), a minta eltérő kezelése (gyorsfagyasztás, Michel-transzport médium, sós gézlapokra helyezés, majd késleltetett fagyasztás), továbbá nem megfelelő antitestek alkalmazása. A technika reprodukálhatósága elengedhetetlen a megbízható diagnózisalkotáshoz. A patológiai laboratórium szintén kulcsszerepet játszik a kötőhártya-biopszia feldolgozásában. A patológusoknak jártasnak kell lenniük ezeknek az apró és sérülékeny mintáknak a kezelésében, hogy megőrizték az anatómiai integritást a megfelelő elemzéshez (1). *Anesi és munkatársai* javasolják az avidin-biotin-komplex immunoperoxidáz (ABC) immunhisztokémiai analízis elvégzését, amely növeli a szenzitivitást diagnózisalkotás során, amikor a DIF-biopszia negatív vagy nem egyértelmű (1).

Az SSST szintén akkor használatos, ha bizonytalanság van, tovább növeli a diagnózishoz jutás esélyét. SSST során ép emberi bőrt, vagy majombőrt használunk, ellenben az IIF-teszthez majomoesophagust

használunk szubsztrátként. Ez magyarázhatja a SSST szignifikánsan magasabb pozitivitását OcMMP-s pácienseknél, IIF-fel szemben (17). Indirekt immunfluoreszcens vizsgálat 11 alkalommal készült és 4 esetben lett pozitív. Ebből 1 alkalommal OcMMP-s beteg szérumból, 3 alkalommal pedig más betegséggel diagnosztizált betegek szérumból (pemphigus vulgaris, bullosus pemphigoid, paraneoplasias pemphigoid). *Arbache és munkatársai* az IIF-vizsgálat eredményeit kutatták és azt találták, hogy fontos diagnosztikus eszköz az autoimmun betegségek diagnosztizálásához. Pemphigusos betegeknél nagyobb arányban mutat pozitivitást, mint pemphigoidos betegeknél (2). Kiegészítő diagnosztikus vizsgálatként érdemes elvégezni.

A nem OcMMP-s betegcsoportban, arányaiban gyakrabban fordult elő bőr- és egyéb nyálkahártya-érintettség. Pemphigus vulgarisban a bőr-érintettség hólyagokban vagy erythemás területekben nyilvánul meg, különösen a fejbőrön, arcon, hónaljban, törzsön és az ágyékon. OcMMP-ben a bőrléziók ritkák és a nyálkahártya-manifestációk után jelennek meg, továbbá gyakrabban érintik a fejet, nyakat és a felsőtestet (15). A szájüreg, különösen a buccalis nyálkahártya, lágyszájpad és ajkak érintettek elsőként a pemphigus vulgarisos betegek 50-80%-ában, és az MMP-s betegek 90%-ában (4). Abban a csoportban, akiknél nem született diagnózis, egyáltalán nem fordult

elő extraocularis érintettség. Monosite OcMMP-ben (csak a szemet érintő MMP) a negatív DIF-eredmények régóta problémát jelentenek (7).

Figyelemre méltó, hogy az OcMMP-s páciensek 7,7%-ának anamnézisében szerepel szemészeti műtét, illetve 15,4%-ban szerepel glaukóma. A betegcsoportunkban az egyik beteg anamnézisében szemészeti műtét mellett maródásos sérülés (hipós víz is fröccsent a szemébe) is szerepel. Ezek a betegség triggerelésében lehetnek fontosak. Felmerül ugyanis egy olyan mechanizmus, ahol a kötőhártya sérülése következtében, bazális membránepitópok szabadulnak fel, amelyek aztán neoantigénekként viselkednek, és autoimmun folyamatot indítanak be, MMP-t eredményezve (7). A szemműtétek direkt traumával járnak, a glaukómás betegeknél a tartósítószer tartalmazó készítmények állandó használata szintén károsíthatja a BMZ-t, illetve nehezítheti a differenciáldiagnózist (7). A kezelésben használatos lokális és szisztémás szteroid is mellékhatásként szekunder glaukómát okoz arra hajlamos betegeknél (11).

Ennek a kutatásnak a korlátai, hogy retrospektív és alacsony a betegszám. Ennek ellenére, ha figyelembe vesszük az OcMMP alacsony incidenciáját, és Magyarország alacsony népesség számát, relatíve nem kevés betegről van szó.

## Nyilatkozat

*A szerzők kijelentik, hogy eredeti közleményük megírásával kapcsolatban nem áll fenn velük szemben pénzügyi vagy egyéb lényeges összeütközés, összeférhetetlenségi ok, amely befolyásolhatja a közleményben bemutatott eredményeket, az abból levont következtetéseket vagy azok értelmezését.*



## IRODALOM

1. Anesi SD, Eggenschwiler L, Ferrara M, Artornsombudh P, Walsh M, Foster CS. Reliability of Conjunctival Biopsy for Diagnosis of Ocular Mucous Membrane Pemphigoid: Redetermination of the Standard for Diagnosis and Outcomes of Previously Biopsy-Negative Patients. *Ocul Immunol Inflamm* 2021; 29(6): 1106–1113. <https://doi.org/10.1080/09273948.2020.1716988>
2. Arbache ST, Nogueira TG, Delgado L, Miyamoto D, Aoki V. Immunofluorescence testing in the diagnosis of autoimmune blistering diseases: overview of 10-year experience. *An Bras Dermatol* 2014; 89(6): 885–889. <https://doi.org/10.1590/abd1806-4841.20143221>
3. Bernauer W, Elder MJ, Leonard JN, Wright P, Dart JK. The value of biopsies in the evaluation of chronic progressive conjunctival cicatrization. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1994; 232(9): 533–537. <https://doi.org/10.1007/BF00181996>
4. Buonavoglia A, Leone P, Dammacco R, et al. Pemphigus and mucous membrane pemphigoid: An update from diagnosis to therapy. *Autoimmun Rev* 2019; 18(4): 349–358. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2019.02.005>
5. Chan LS, Ahmed AR, Anhalt GJ, et al. The first international consensus on mucous membrane pemphigoid: definition, diagnostic criteria, pathogenic factors, medical treatment, and prognostic indicators. *Arch Dermatol* 2002; 138: 370–379. <https://doi.org/10.1001/archderm.138.3.370>
6. Chan LS, Yancey KB, Hammerberg C, et al. Immune-mediated subepithelial blistering diseases of mucous membranes. Pure ocular cicatricial pemphigoid is a unique clinical and immunopathological entity distinct from bullous pemphigoid and other subsets identified by antigenic specificity of autoantibodies. *Arch Dermatol* 1993; 129(4): 448–455. <https://doi.org/10.1001/archderm.129.4.448>
7. Dart JK. The 2016 Bowman Lecture Conjunctival curses: scarring conjunctivitis 30 years on. *Eye (Lond)* 2017; 31(2): 301–332. <https://doi.org/10.1038/eye.2016.284>
8. Fodor E, Nagy ZS. Az ocularis mucosus membrán pemphigoid legújabb vonatkozásai. Összefoglaló közlemény. *Szemészet* 2018; 155(1): 35–45.
9. Frith PA, Venning VA, Wojnarowska F, Millard PR, Bron AJ. Conjunctival involvement in cicatricial and bullous pemphigoid: a clinical and immunopathological study. *Br J Ophthalmol* 1989; 73(1): 52–56. <https://doi.org/10.1136/bjo.73.1.52>
10. Georgoudis P, Sabatino F, Szentmary N, et al. Ocular Mucous Membrane Pemphigoid: Current State of Pathophysiology, Diagnostics and Treatment. *Ophthalmol Ther* 2019; 8(1): 5–17. [doi:10.1007/s40123-019-0164-z](https://doi.org/10.1007/s40123-019-0164-z)
11. Kersey JP, Broadway DC. Corticosteroid-induced glaucoma: a review of the literature. *Eye (Lond)* 2006; 20(4): 407–416. <https://doi.org/10.1038/sj.eye.6701895>
12. Mehra T, Guenova E, Dechent F, et al. Diagnostic relevance of direct immunofluorescence in ocular mucous membrane pemphigoid. *J Dtsch Dermatol Ges* 2015; 13(12): 1268–1274. <https://doi.org/10.1111/ddg.12716>
13. Ngo ST, Steyn FJ, McCombe PA. Gender differences in autoimmune disease. *Front Neuroendocrinol* 2014; 35(3): 347–369. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2014.04.004>
14. Radford CF, Rauz S, Williams GP, Saw VP, Dart JK. Incidence, presenting features, and diagnosis of cicatrizing conjunctivitis in the United Kingdom. *Eye (Lond)* 2012; 26(9): 1199–1208. <https://doi.org/10.1038/eye.2012.119>
15. Ramos-e-Silva M, Ferreira A, Jacques CD. Oral involvement in autoimmune bullous diseases. *Clin Dermatol* 2011; 29(4): 443–454. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2011.01.015>
16. Rashid H, Lamberts A, Borradori L, et al. European guidelines (S3) on diagnosis and management of mucous membrane pemphigoid, initiated by the European Academy of Dermatology and Venereology – Part I. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2021; 35(9): 1750–1764. <https://doi.org/10.1111/jdv.17397>
17. Schmidt E, Rashid H, Marzano AV, et al. European Guidelines (S3) on diagnosis and management of mucous membrane pemphigoid, initiated by the European Academy of Dermatology and Venereology –Part II. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2021; 35(10): 1926–1948. <https://doi.org/10.1111/jdv.17395>
18. Shimanovich I, Nitz JM, Zillikens D. Multiple and repeated sampling increases the sensitivity of direct immunofluorescence testing for the diagnosis of mucous membrane pemphigoid. *J Am Acad Dermatol* 2017; 77: 700–705.e3. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2017.05.016>

## LEVELEZÉSI CÍM

Bakos Noémi, e-mail: noemi.bakos97@gmail.com