

V. DISCUSION

En esta investigación, nosotros analizamos autoanticuerpos en los sueros de 43 pacientes con HG, cuyo diagnóstico fue confirmado por características clínicas típicas y unión en vivo de C3 a lo largo de la ZMB. Con IF indirecta de piel humana normal, los sueros de HG tuvieron títulos mucho más bajos de anticuerpos anti-ZMB, comparados con títulos de sueros de PA. En el presente estudio, los anticuerpos anti-ZMB fueron detectados en sólo 56% de los sueros de HG en un título menor a 1:40. Estos hallazgos son consistentes con reportes previos [16,17] en los que los anticuerpos anti-ZMB fueron negativos o detectados en un título bajo.

Shornick [16] sugirió que el depósito de complemento a lo largo de la ZMB cutánea es el “sine qua non” para el diagnóstico de HG y es demostrable en todos los casos de HG esencialmente. Nuestros resultados confirmaron plenamente esta observación en HG. El factor HG, sin embargo, fue detectado en solamente alrededor de la mitad de los sueros de HG con IF del complemento usando tanto piel normal como la seccionada con NaCl 1 M. Este resultado fue de alguna manera inesperado ya que estudios previos han señalado que la IF del complemento es un test bastante sensible para el diagnóstico de HG [9]. Sin embargo, la sensibilidad de nuestra técnica de IF del complemento resultó ser suficientemente sensible, ya que el 69% de los sueros de PA mostraron igualmente reactividad positiva a la IF del complemento. En contraste, la

IF indirecta de piel seccionada con NaCl 1M probó ser un método más sensible y detectó anticuerpos anti-ZMB en 81% de los sueros de HG, sugiriendo que esta técnica igualmente debería ser útil en el diagnóstico de HG.

Con el immunoblotting de extractos epidérmicos humanos normales, los sueros de HG reaccionaron más frecuentemente con PA180 que con PA230. Esto confirma un reporte previo [5] que el PA180 es el mayor antígeno en HG. Recientemente, Kirtschig et al. [18] reportaron un caso severo de HG con anticuerpos IgG que se unían a una proteína 200 kD en extractos epidérmicos, aunque esta proteína no fue caracterizada posteriormente. Nuestro estudio no mostró reactividad específica con ninguna proteína de alrededor de 200 kD en ningún suero de HG.

El immunoblotting, usando una proteína de fusión conteniendo al dominio NC16a del PA180, mostró ser muy sensible y específico. Mientras que ninguno de los sueros de pénfigo y control normal mostró reactividad positiva, el 79% de los sueros de HG reaccionó con esta proteína de fusión. Este número fue comparable con los resultados de la IF de piel seccionada con NaCl 1 M. Nosotros creemos, sin embargo, que el immunoblotting de esta proteína de fusión es superior a la IF para el diagnóstico de HG, porque mostró bandas de proteína claras y distintivas en los blots, comparado con la reactividad relativamente débil con el lado epidérmico por IF. Nuestros hallazgos apoyan la hipótesis previa que los autoanticuerpos contra este sitio antigénico bien definido en el ectodominio PA180 podrían jugar un rol importante en la patogénesis de HG [7,8, 19].

Aunque PA230 fue detectado por 26% de los sueros de HG con inmunoblotting de extractos epidérmicos, solamente 5% de los sueros detectó una proteína de fusión conteniendo al dominio terminal C de PA230. Esto podría explicarse por el bajo título de anticuerpos anti-PA230 en los sueros de

HG. Por otro lado, previamente [15] y en este estudio, se ha mostrado que la mitad de los sueros de PA detectó esta proteína de fusión. Así, la menor reactividad de los sueros de HG con PA230 podría indicar alguna diferencia en la fisiopatología entre PA y HG.

En conclusión, para confirmar un diagnóstico de HG usando sueros, la IF indirecta de piel seccionada con NaCl 1M y el inmunoblotting usando una proteína de fusión conteniendo al dominio NC16a del PA180 parecen ser las técnicas más sensibles para el diagnóstico de HG. Particularmente, la proteína de fusión PA180 debería ser útil si se aplicara a una técnica más conveniente, tal como un ELISA, en el futuro. Sin embargo, nosotros queremos resaltar la importancia de la IF directa en el sustento del diagnóstico en HG.