الجمـــهوريـــة العربيـــة الســـوريـــة
وزارة التـــعليـــم الـعـالـي
جـامـعـة دمـشـــــق
كليـــــة الـــطـــب الـــبـــشـــــري
قسم الأمراض الجلدية والمنقولة بالجنس

دور اختبار لطاخة تزانك في تشخيص الآفات الجلديـــة التـآكـلـيـــــة والحـويـصـــلـيـــــة والـفـقـاعـيـــــة

أطروحة لنيل درجة الدكتوراه في الأمراض الجلدية والأمراض المنقولة بالجنس

إعداد : دانية الجارح

الأستاذ المشرف
أ.م.د. أيهم بدران

الأستاذ المشرف المشارك
م.د. أيمن صمون

٢٠٢٣ م

قرار لجنة الحكم Approval Page

تصريح خطي

أنا الموقع أدناه أصرح بعلمي الكامل وقبولي:

أ- أن كل ما ينتج عن البحث والأطروحة هو ملكية فكرية ومالية بالتشارك مع جامعة دمشق، وأنني ألتزم بأخذ موافقة الجامعة في حال رغبتي بنشر البحث أو الأطروحة أو جزء منها، نصاً أو مضموناً، خارج إطار الجامعة (من دور نشر أو مكتبات أو مواقع الكترونية وغيرها من وسائل النشر).

ب- أنه لا يوجد أي جزء من هذه الأطروحة اقتبس من عمل علمي آخر أو أنجز للحصول على شهادة أخرى في جامعة دمشق أو أي جامعة أو معهد تعليمي داخل أو خارج الجمهورية العربية السورية.

الاسم والتوقيع

دانية بشير الجارح

الأبحاث المنشورة المرتبطة بالبحث

تم نشر بحثين متعلقين بموضوع دراستنا في مجلة العلوم الطبية بجامعة دمشق، وهما بعنوان:

(تظاهرات سريرية مميزة للفقاعاني الفقاعي عند مريض مصاب بخزل شقي: تقرير حالة سريرية)

(دور نتائج الومضان المناعي المباشر المرتبطة بالملحقات الجلدية في تشخيص الأمراض الفقاعية المناعية)

شكر وتقدير Aknowledgment Page

أتوجه بجزيل الشكر والامتنان إلى من امتهنوا أشرف المهن واتصفوا بالحكمة

وأخص بالشكر من أكرمني بالإشراف على بحثي الأستاذ الفاضل الدكتور أيهم بدران

والأستاذ الفاضل الدكتور أيمن صمون

والشكر موصول للأساتذة أعضاء الهيئة التدريسية والمشرفين وطلاب الدراسات العليا والعاملين في مشفى

الأمراض الجلدية والزهرية

وأهدي هذا العمل المتواضع إلى وطني الغالي

وإلى والديّ الكريمين وزوجي الغالي وإخوتي الأحبة

فلولا دعمهم جميعاً لما أبصر هذا البحث النور

الملخص

خلفية البحث: تمثل الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية جزءاً مهماً من الأمراض النفاطية، وتترافق بمراضة ووفيات كبيرة لذلك من الضروري وضع التشخيص الصحيح والبدء بالعلاج الفوري. تقترح الأدبيات الطبية أن الدراسة الخلوية يمكن أن تفيد في تمييز الأمراض الفقاعية المناعية ضمن البشرة عن الأمراض الفقاعية المناعية تحت البشرة، وذلك يساعد في وضع التشخيص بوقت قصير وتكلفة قليلة. ويعد إثبات ترسب الأضداد باستعمال الومضان المناعي المباشر (DIF) المعيار الذهبي في تأكيد التشخيص، وإن استخدام اللطاخة الخلوية كركيزة للـDIF يمكن أن يسهم في صنع إجراء أكثر سرعة وسهولة.

هدف البحث: يهدف هذا البحث إلى تقييم حساسية ونوعية لطاخة تزانك في تمييز وتشخيص الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية كما يهدف إلى دراسة إمكانية استخدام DIF على لطاخة تزانك كاختبار مؤكد للفقاع الشائع.

الطرائق: أُجريت دراسة مقطعية مستعرضة على 30 مريضاً شُخّص لديهم أحد الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية، وذلك خلال عامي 2021–2022 في مشفى الأمراض الجلدية والزهرية. إذ حُسبت الحساسية والنوعية للطاخة تزانك في تشخيص هذه الأمراض والتمييز بينها. كما أُجري DIF على لطاخة تزانك وحُسبت الحساسية والنوعية وقُورنت نتائج DIF المطبق على اللطاخة مع DIF المطبق على الخزعة النسيجية.

النتائج: أظهرت اللطاخة الخلوية الروتينية وجود الخلايا منحلة الأشواك في جميع الأمراض الفقاعية داخل البشرة. كما أظهر DIF المطبق على اللطاخة الخلوية ترسب الأضداد المناعية على سطح الخلايا منحلة الأشواك في الأمراض الفقاعية داخل البشرة. بلغت الحساسية 100% وَالنوعية 100% للطاخة تزانك في تشخيص الفقاع في

الحالتين. تطابقت نتائج DIF على اللطاخة الخلوية مع نتائج DIF على الخزعة النسيجية بالنسبة لجميع الأضداد المدروسة عند مرضى الفقاع الشائع.

الاستنتاج: لطاخة تزانك هي اختبار مفيد في تمييز الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية. وهي إجراء بسيط وسهل التطبيق يعطي نتائج سريعة وموثوقية عالية، كما يمكن استخدامها كركيزة بديلة عن الخزعة النسيجية لإجراء DIF لتأكيد تشخيص الفقاع الشائع.

كلمات مفتاحية: الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية، الفقاع الشائع، لطاخة تزانك، الومضان المناعي المباشر.

فهرس المحتويات

فهرس المحتويات 1
فهرس الجداول 8
فهرس الصور 8
فهرس الرسوم التوضيحية 9
فهرس المخططات البيانية 12
الجزء التمهيدي (الإطار العام للبحث) 13
أولاً: مقدمة البحث: 14
ثانياً: مبررات الدراسة 15
ثالثاً: أهمية الدراسة 16
رابعاً: الفرضية 16
خامساً: التساؤلات: 16
سادساً: أهداف الدراسة 17
سابعاً: الدراسات السابقة 17
ثامناً: المنهج والأدوات 18
تاسعاً: محدوديات البحث 19
الجزء الأول (أدبيات الدراسة) 20
الفصل الأول: الدراسة الوبائية والسريرية 22
أولاً: الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية ضمن البشرة 22
1-1-1- لمحة تاريخية: 22
1-1-2- الوبائيات: 24
1-1-3- الآلية الإمراضية: 25
1-1-3-1- مستضدات الفقاع وفرضية تعويض الديسموغلين: 25
1-1-3-2- أضداد الفقاع: Pemphigus antibodies 26
1-1-3-3- انحلال الأشواك: Acantholysis 28
1-1-3-4- الوراثة: 29

1-1-3-5- العوامل البيئية: 29
1-1-4- الأمراض المرافقة: 30
1-1-5- تصنيف الفقاع: 31
1-1-6- المظاهر السريرية: 31
1-1-6-1- الفقاع الشائع: Pemphigus vulgaris 31
1-1-6-2- الفقاع التنبتي: Pemphigus vegetans 33
1-1-6-3- الفقاع الورقي: Pemphigus Foliaceus 34
1-1-6-4- الفقاع الحمامي: Pemphigus Erythematosus 35
1-1-6-5- الفقاع الحلئي الشكل: Pemphigus herpetiformis 35
1-1-6-6- الفقاع نظير الورمي: Paraneoplastic Pemphigus 36
1-1-6-7- فقاع IgA: Pemphigus IgA 37
1-1-6-8- الفقاع المحرض بالأدوية: Drug-Induced Pemphigus 38
1-1-7- التشخيص التفريقي: 39
1-1-8- سير المرض والإنذار : 40
1-1-9- الاختلاطات: 41
1-1-10- تقييم الشدة: 41
ثانياً: الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية تحت البشرة 42
1-2-1- الفقاعاني الفقاعي:Bullous pemphigoid 42
1-2-1-1- لمحة تاريخية: 43
1-2-1-2- الوبائيات: 43
1-2-1-3- الآلية الإمراضية: 44
1-2-1-4- الأمراض المرافقة: 47
1-2-1-5- التظاهرات السريرية: 47
1-2-1-6- الأنماط السريرية: 48
1-2-1-7- التشخيص التفريقي: 49
1-2-1-8- سير وإنذار المرض: 50

1-2-1-9- تقييم الشدة: 50
1-2-2- الجلاد الخطي IgA: 51
1-2-2-1- الوبائيات: 51
1-2-2-2- الآلية الإمراضية: 51
1-2-2-3- الأمراض المرافقة: 52
1-2-2-4- التظاهرات السريرية: 52
1-2-2-5- التشخيص التفريقي: 52
1-2-2-6- سير المرض والإنذار: 53
1-2-3- التهاب الجلد حلئي الشكل: Dermatitis herpetiformis 53
1-2-3-1- الوبائيات: 54
1-2-3-2- الآلية الإمراضية: 54
1-2-3-3- الأمراض المرافقة: 55
1-2-3-4- التظاهرات السريرية: 56
1-2-3-5- التشخيص التفريقي: 56
1-2-3-6- سير المرض والإنذار: 57
1-2-3-7- الاختلاطات: 57
الفصل الثاني: الدراسة النسيجية 58
أولا: الأمراض الفقاعية المناعية ضمن البشرة 58
2-1-1- الفقاع الشائع: 58
2-1-2- الفقاع التنبتي: 60
2-1-3- الفقاع الورقي: 61
2-1-4- الفقاع الحمامي: 62
2-1-5- الفقاع الحلئي: 63
2-1-6- الفقاع نظير الورمي: 63
2-1-7- فقاع IgA: 64
2-1-8- الفقاع المحرض دوائياً: 65

ثانياً: الأمراض الفقاعية المناعية تحت البشرة 66
2-2-1- الفقاعاني الفقاعي: 66
2-2-2- الجلاد الخطي IgA: 68
2-2-3- التهاب الجلد حلئي الشكل: 69
الفصل الثالث: الدراسة الومضانية المناعية 71
3-1- تاريخياً: 71
3-2- مبدأ الومضان: 72
3-3- أساسيات الومضان المناعي: 72
3-4- أنواع الومضان المناعي: 73
3-4-1- الومضان المناعي المباشر:(Direct immunofluorescence (DIF 73
3-4-1-1- تقنيات الخزعة: 74
3-4-1-2- نقل وتحضير العينات: 75
3-4-1-3- تخزين الشرائح: 76
3-4-1-4- أسباب السلبية الكاذبة: 76
3-4-2- الومضان المناعي اللامباشر: (Indirect immunofluorescence (IIF 76
3-4-3- الومضان المناعي اللامباشر للمتممة: 77
3-5- اختبار فصل الملح في الومضان المناعي:Salt-split skin test 77
3-6- الومضان المناعي في الأمراض الفقاعية المناعية ضمن البشرة: 79
3-6-1- الفقاع الشائع: 79
3-6-1-1- الومضان المناعي المباشر في الفقاع الشائع: 79
3-6-1-2- الومضان المناعي اللامباشر في الفقاع الشائع: 80
3-6-1-3- الإيجابية الكاذبة للتألق المناعي اللامباشر: 81
3-6-2- الفقاع التنبتي : 82
3-6-3- الفقاع الورقي: 82
3-6-4- الفقاع الحمامي: 83
3-6-5- الفقاع الحلئي: 83

3-6-6- الفقاع نظير الورمي: 84
3-6-7- فقاع IgA: 85
3-6-8- الفقاع المحرض بالأدوية: 85
3-7- الومضان المناعي في الأمراض الفقاعية المناعية تحت البشرة: 86
3-7-1- الفقاعاني الفقاعي: 86
3-7-2- الجلاد الخطي IgA: 87
3-7-3- التهاب الجلد الحلئي الشكل: 88
3-8- الومضان المناعي المباشر في الملحقات الجلدية: 89
3-9- الومضان المناعي المباشر في الأشعار: 92
3-10- مزايا الومضان المناعي: 93
3-11- سلبيات الومضان المناعي: 94
3-12- محددات تقنية الومضان المناعي: 95
الفصل الرابع: الدراسة الخلوية: 96
4-1- لمحة تاريخية: 96
4-2- تحضير عينات الفحص الخلوي: 97
4-2-1- أخذ العينات: 97
4-2-2- تثبيت العينات : 99
4-2-3- تلوين العينات : 99
4-3- دور اللطاخة الخلوية في تشخيص الآفات التآكلية أو الحويصلية أو الفقاعية: 100
4-4- دور اللطاخة الخلوية في تشخيص الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية: 103
4-4-1- الدراسة الخلوية في الأمراض الفقاعية المناعية في البشرة: 103
4-4-1-1- الموجودات الخلوية المميزة لمجموعة الفقاع: 103
4-4-1-2- الاختلافات الخلوية بين أنماط الفقاع: 106
4-4-2- الدراسة الخلوية في الأمراض الفقاعية المناعية تحت البشرة: 112
4-5- الومضان المناعي المباشر على اللطاخة الخلوية (لطاخة تزانك): 112
الجزء الثاني (منهجية الدراسة، وإجراءاتها) 118

الفصل الأول: أهداف ومبررات الدراسة 119
أولاً: مبررات الدراسة 119
ثانياً: أهمية الدراسة 120
ثالثاً: الفرضية 122
رابعاً: أهداف الدراسة 122
الفصل الثاني: منهج وأدوات الدراسة 123
أولاً: تصميم الدراسة 123
ثانياً: حساب حجم العينة 123
ثالثاً: معايير الاشتمال والاستبعاد 123
رابعاً: زمان ومكان الدراسة 124
خامساً: خطة الدراسة وخطوات العمل 124
سادساً: التحليل الإحصائي 126
1- الإحصاءات الوصفية لمتغيرات الدراسة: 126
2- الاستقلال والارتباط: 127
3- تقييم القيمة التشخيصية للطاخة الخلوية: 127
الفصل الثالث: نتائج الدراسة 128
أولاً: وصف عينة الدراسة: 128
ثانياً: نتائج الدراسة النسيجية لمرضى عينة الدراسة 134
ثالثاً: نتائج الومضان المناعي المباشر لمرضى عينة الدراسة 138
رابعاً: نتائج دراسة اللطاخة الخلوية (لطاخة تزانك) لمرضى عينة الدراسة 142
خامساً: نتائج الومضان المناعي المباشر على اللطاخات الخلوية لمرضى الدراسة 147
سادساً: العلاقة بين نتائج الومضان المناعي المباشر للخزعة النسيجية وللطاخة الخلوية 150
سابعاً: القيمة التشخيصية لاختبار اللطاخة الخلوية (لطاخة تزانك) 151
الفصل الرابع: مناقشة النتائج والمقارنة مع الدراسات العالمية 153
1- دور الخلايا منحلة الأشواك في تقييم اللطاخة الخلوية، وحساسيتها ونوعيتها 153
2- مقارنة وجود الخلايا منحلة الأشواك في كل من الخزعة النسيجية واللطاخة الخلوية 154

3- دور الرشاحة الالتهابية في تقييم اللطاخة الخلوية 155
4- حساسية ونوعية الومضان المناعي على اللطاخة الخلوية في تشخيص الفقاع 155
6- أنماط تألق الخلايا منحلة الأشواك في الومضان المناعي على اللطاخة الخلوية.....156
7- العلاقة بين الومضان المناعي على اللطاخة الخلوية وعلى الخزعة النسيجية 156
8- العوامل المساهمة في الوصول إلى النتائج المشجعة في دراستنا 157
الفصل الخامس: الاستنتاجات والتوصيات ومميزات ومحدوديات الدراسة 158
أولاً: الاستنتاجات 158
ثانياً: مميزات اللطاخة الخلوية بناء على دراستنا 159
ثالثاً: التوصيات 160
رابعاً: نقاط القوة 161
خامساً: محدوديات 161
سادساً: المقترحات 162
المراجع Bibliography 163
الملاحق 173

فهرس الجداول

الجدول 1 جدول: الأمراض منحلة الأشواك والموجودات المرافقة للخلايا منحلة الأشواك 102
الجدول 2 توزع أفراد العينة بحسب تصنيف الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية 129
الجدول 3 التوزع النسبي للمرضى بحسب الجنس بين الأمراض الفقاعية 130
الجدول 4 توزع مرضى العينة بين الإصابة للمرة الأولى وبين نكس مرض سبق تشخيصه.....131
الجدول 5 التوزع النسبي لعينة الدراسة حسب المرض والإصابة المخاطية 132
الجدول 6 التوزع النسبي للمرضى بحسب المخاطية المصابة 133
الجدول 7 توزع العينة حسب كون الخزعة النسيجية جلدية أم مخاطية 134
الجدول 8 توزع العينة بحسب مستوى الانفصال في الخزعة النسيجية 135
الجدول 9 الرشاحة الالتهابية المشاهدة بالخزعات المدروسة 136
الجدول 10 الخلايا منحلة الأشواك في الخزعة النسيجية 137
الجدول 11 نتيجة الومضان المناعي المباشر للخزعات النسيجية لمرضى الفقاع الشائع 138
الجدول 12 نتيجة الومضان المناعي المباشر للخزعات النسيجية للفقاعاني الفقاعي 140
الجدول 13 نتيجة الومضان المناعي المباشر للخزعات النسيجية للجلاد الخطي IgA 141
الجدول 14 نتيجة الومضان المناعي المباشر للخزعات النسيجية لالتهاب الجلد حلئي الشكل 141
الجدول 15 التوزع النسبي لأفراد عينة البحث بحسب مكان أخذ لطاخة تزانك 142
الجدول 16 التوزع النسبي لوجود الخلايا منحلة الأشواك في لطاخة تزانك 143
الجدول 17 التوزع النسبي لنمط الخلايا منحلة الأشواك في لطاخة تزانك 144
الجدول 18 الخلايا الالتهابية المشاهدة في اللطاخات الخلوية في الأمراض المختلفة 146
الجدول 19 التوزع النسبي لنتيجة الومضان المناعي على لطاخة تزانك في الفقاع الشائع 147
الجدول 20 نتائج الومضان المناعي على لطاخة تزانك في الفقاعاني الفقاعي 148
الجدول 21 نتائج الومضان المناعي على لطاخة تزانك في الجلاد الخطي IgA 148
الجدول 22 نتائج الومضان المناعي على لطاخة تزانك في التهاب الجلد حلئي الشكل 148
الجدول 23 نمط التألق في اللطاخات الخلوية التي أبدت تألقا مناعيا إيجابيا 149
الجدول 24 العلاقة بين الومضان المناعي على اللطاخة الخلوية و على الخزعة النسيجية 151

فهرس الصور

الصورة 1 فقاع شائع 32
الصورة 2 الفقاع الورقي 34
الصورة 3 فقاع حلئي 35
الصورة 4 فقاع نظير الورمي 37
الصورة 5 فقاع IgA 38
الصورة 6 فقاعاني فقاعي 48
الصورة 7 جلاد IgA الخطي 53
الصورة 8 التهاب جلد حلئي الشكل 56
الصورة 9 انحلال الأشواك 59
الصورة 10 فقاع شائع. 60
الصورة 11 فقاع ورقي 62
الصورة 12 الفقاع نظير الورمي 64
الصورة 13 فقاع IgA 65
الصورة 14 الفقاعاني الفقاعي 68
الصورة 15 جلاد IgA الخطي 68
الصورة 16 التهاب الجلد الحلئي..... 70
الصورة 17 DIF في الفقاع الشائع 80
الصورة 18 فقاع شائع 81
الصورة 19 فقاع نظير ورمي 85
الصورة 20 فقاعاني فقاعي 87
الصورة 21 جلاد IgA الخطي 88
الصورة 22 التهاب جلد حلئي الشكل 89
الصورة 23 DIF في الفقاع الشائع 91
الصورة 24 DIF في الفقاعاني الفقاعي 91
الصورة 25 DIF يظهر ترسب IgG بشكل شبكة في غمد جذر الشعرة الخارجي 93
الصورة 26 طرق أخذ العينات الخلوية 98
الصورة 27 فقاع شائع 102
الصورة 28 فقاع شائع: خلايا منحلة الأشواك 104
الصورة 29 الخلايا الالتهابية في الفقاع الشائع 105

الصورة 30 فقاع شائع 105
الصورة 31 فقاع ورقي 106
الصورة 32 فقاع حلئي 107
الصورة 33 إنتانات الحلأ 108
الصورة 34 خلايا عرطلة متعددة النوى 109
الصورة 35 قوباء فقاعية. 109
الصورة 36 قوباء فقاعية: خلايا منحلة الأشواك عسيرة التقرن 110
الصورة 37 داء هيلي هيلي: خلايا منحلة الاشواك 111
الصورة 38 DIF للطاخة تزانك يظهر ترسبIgG حول الخلايا منحلة الأشواك 114
الصورة 39 DIF للطاخة تزانك في الفقاع الشائع 116

فهرس الرسوم التوضيحية

الرسم التوضيحي 1 نظرية معاوضة الديسموغلين 26
الرسم التوضيحي 2 الجسيمات الرابطة في البشرة 27
الرسم التوضيحي 3 توضع مستضدات الفقاعاني الفقاعي في منطقة الغشاء القاعدي 45
الرسم التوضيحي 4 مبدأ الومضان 72
الرسم التوضيحي 5 تقنية الومضان المناعي 74
الرسم التوضيحي 6 موقع الانفصال في اختبار فصل الملح 78

فهرس المخططات البيانية

المخطط البياني 1 توزع أفراد العينة بحسب التشخيص النهائي 128
المخطط البياني 2 متوسط عمر أفراد العينة بالسنوات، للعينة ككل ولكل مرض على حدة 129
المخطط البياني 3 التوزع النسبي للمرضى بحسب الجنس 130
المخطط البياني 4 توزع مرضى العينة بين الإصابة للمرة الأولى وبين النكس 131
المخطط البياني 5 التوزع النسبي لعينة الدراسة حسب المرض والإصابة المخاطية 132
المخطط البياني 6 التوزع النسبي للمرضى بحسب المخاطية المصابة 133
المخطط البياني 7 توزع العينة بحسب مستوى الانفصال في الخزعة النسيجية 135
المخطط البياني 8 الرشاحة الالتهابية المشاهدة بالخزعات المدروسة 136
المخطط البياني 9 الخلايا منحلة الأشواك في الخزعة النسيجية 137
المخطط البياني 10 نتيجة الومضان المناعي المباشر للخزعات لمرضى الفقاع الشائع 139
المخطط البياني 11 نتيجة الومضان المناعي المباشر للخزعات لمرضى الفقاعاني الفقاعي 140
المخطط البياني 12 التوزع النسبي لأفراد عينة البحث بحسب مكان أخذ لطاخة تزانك 142
المخطط البياني 13 التوزع النسبي لوجود الخلايا منحلة الأشواك في لطاخة تزانك 143
المخطط البياني 14 التوزع النسبي لنمط الخلايا منحلة الأشواك في لطاخة تزانك 145
المخطط البياني 15 الخلايا الالتهابية المشاهدة في اللطاخات الخلوية 146
المخطط البياني 16 التوزع النسبي لنتيجة الومضان على لطاخة تزانك في الفقاع الشائع 147
المخطط البياني 17 نمط التألق في اللطاخات الخلوية التي أبدت تألقا مناعيا إيجابيا 149
المخطط البياني 18 منحنى ROC للطاخة الخلوية الروتينية 152
المخطط البياني 19 منحنى ROC للومضان المناعي على اللطاخة الخلوية 152

الجزء التمهيدي

الإطار العام للبحث

أولاً: مقدمة البحث:

الدراسة الخلوية هي طريقة تشخيصية تعتمد على دراسة مظهر وصفات ونوع الخلايا المفردة لوضع التشخيص والمعالجة الباكرة للأمراض. يسمى الفحص الخلوي في الأمراض الجلدية اختبار لطاخة تزانك ويستخدم في تشخيص العديد من الأمراض الحويصلية، الفقاعية، التآكلية، الحبيبومية، الورمية.

يركز هذا البحث على وظيفة اللطاخة في تشخيص الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية، التي تمثل مجموعة من الأمراض تتميز بوجود أضداد مناعية ذاتية موجهة ضد عناصر هيكلية في الجلد مسؤولة عن التماسك البشروي ما يؤدي إلى تفعيل آليات مناعية تسبب انفكاك الخلايا عن بعضها أو عن الغشاء القاعدي مشكّلَةً آفات تآكلية، حويصلية، وفقاعية. وتصنف هذه الأمراض ضمن مجموعتين رئيسيتين: الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية ضمن البشرة، والأمراض الفقاعية المناعية الذاتية تحت البشرة. وتترافق بمراضة ووفيات كبيرة إذا تركت دون معالجة أو عند تأخر المعالجة؛ لذلك من الضروري وضع التشخيص الصحيح والبدء بالعلاج الفوري. يعتمد وضع التشخيص اعتماداً أساسياً على الربط بين التظاهرات السريرية والصفات النسيجية والومضانية المناعية التي تميز بين هذه الأمراض.

تفيد الدراسة الخلوية في تمييز الأمراض الفقاعية المناعية ضمن البشرة (مجموعة الفقاع) عن الأمراض الفقاعية المناعية تحت البشرة بالفحص بالمجهر الضوئي لعينة خلوية مأخوذة من الآفات لتحري وجود الخلايا منحلة الأشواك (خلايا تزانك) المميزة لمجموعة الفقاع.

تقدم هذه الطريقة التشخيصية معلومات مهمة بوقت قصير وتكلفة قليلة وتسهم بوضع التشخيص السريع. على الرغم من ميزات هذه الطريقة إلا أنها لا تستخدم في الممارسة العملية على نطاق واسع، فضلاً عن كونها ليست نوعية لمجموعة الفقاع إذ تشاهد الخلايا منحلة الأشواك في أمراض أخرى. لذلك تعد هذه الدراسة ذات أهمية سواء من الناحية النظرية التي تضمنت جمع وتنسيق المعلومات الواردة في الأدب الطبي عن الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية وتظاهراتها السريرية والنسيجية والمناعية، وعن الدراسة الخلوية ووظيفتها في هذه الأمراض. وكذلك من الناحية العملية التي اعتمد البحث فيها على هذه الوسيلة التشخيصية فضلاً عن استخدام تلوينات خاصة لتكون أكثر موثوقية.

ثانياً: مبررات الدراسة

إن الفحص الخلوي (اختبار لطاخة تزانك) هو اختبار أولي سريع في تشخيص الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية والتمييز بينها، ويتميز بأنه إجراء سهل بسيط، فعال، غير مكلف، يعد عامل مساعد للفحص السريري، يُمكّن من الوصول للتشخيص السريع، كما أن الحصول على العينات غير مؤلم ولا يحتاج إلى تخدير، فضلاً عن أنه يُمكّن من أخذ عينات متعددة من آفات مختلفة ومن أماكن يصعب الحصول على خزعة نسيجية منها، ويظهر تفاصيل مورفولوجية للخلايا أفضل من التشريح المرضي. وعلى الرغم من أهمية هذا الاختبار إلا أنه لا يطبق كثيراً في الممارسة السريرية وما يزال استخدامه مقتصراً على تشخيص القليل من الأمراض.

ثالثاً: أهمية الدراسة

تسهم هذه الدراسة في تقييم وظيفة اللطاخة الخلوية في تشخيص الأمراض الفقاعية المناعية، والتفريق بين الأمراض الفقاعية المناعية ضمن البشرة والأمراض الفقاعية المناعية تحت البشرة، ودور الومضان المناعي المباشر المطبق على اللطاخة الخلوية في تأكيد التشخيص.

رابعاً: الفرضية

فرضية العدم: إن نتيجة الومضان المناعي المباشر المطبق على اللطاخة الخلوية لا تكفي لتشخيص المرض الفقاعي المناعي الذاتي، ولا يعد مكافئاً للومضان المناعي المباشر المطبق على الخزعة النسيجية

الفرضية البديلة: إن نتيجة الومضان المناعي المباشر المطبق على اللطاخة الخلوية تكفي لتشخيص المرض الفقاعي المناعي الذاتي، بشكل مكافئ للومضان المناعي المباشر المطبق على الخزعة النسيجية

خامساً: التساؤلات:

- هل تفيد لطاخة تزانك في التمييز بين الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية؟
- هل يمكن استخدام لطاخة تزانك كركيزة عوضاً عن الخزعة النسيجية الروتينية لإجراء الومضان المناعي المباشر؟

سادساً: أهداف الدراسة

تقييم حساسية ونوعية لطاخة تزانك في تمييز وتشخيص الأمراض الفقاعية المناعية. وتعزيز القيمة التشخيصية للطاخة باجراء ومضان مناعي مباشر، ودراسة فعاليته وموثوقيته في تشخيص الفقاع الشائع، واعتماده كبديل عن الخزعة النسيجية لتأكيد التشخيص في الفقاع الشائع.

سابعاً: الدراسات السابقة

- دراسة Arun Jose عام 2019:

أُجري فيها الومضان المناعي المباشر على مسحات تزانك الفموية والجلدية لدى 30 مريض فقاع شائع مثبت بالخزعة والومضان المباشر. بلغت الحساسية والنوعية 92%، 80% لـIgG و76%، 77% لـ C3 على التوالي، وكانت إيجابية وجود خلايا منحلة الأشواك في لطاخة تزانك الملونة بغيمزا 100%.

- دراسة Wenxiu He وزملاؤه عام 2021:

أُجري الومضان المناعي المباشر على لطاخة تزانك الفموية لدى 41 مريض فقاع شائع نمط مخاطي كان الومضان إيجابي عند 36 مريض حيث أظهر ترسب لـIgG أو C3 أو كلاهما لدى جميع المرضى وترسب لـ IgA و IgM لدى سبعة مرضى، بلغت حساسيتها 87.8% ونوعيتها 100%.

- دراسة Vijay Aithal عام 2007:

بلغت حساسية الومضان على لطاخة تزانك 40% بينما على الخزعة الجلدية 60%، لكن لم تستخدم سوى أضداد IgG في الومضان المباشر.

- دراسة Aneesh عام 2019:

شملت 38 مريضاً مصابين بأمراض فقاعية مناعية ذاتية، أُثبت التشخيص لديهم بإجراء الدراسة النسيجية والومضان المناعي المباشر. كما تم إجراء لطاخة تزانك للمرضى، فكانت حساسيتها 100% في تشخيص الأمراض الفقاعية ضمن البشرة.

ثامناً: المنهج والأدوات

دراسة مقطعية مستعرضة على 30 مريض ومريضة تم تشخيصهم بأحد الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية (شُخّص 15 مريضاً بالفقاع الشائع، 11 مريضاً بالفقاعاني الفقاعي، مريضين بالتهاب جلد حلئي الشكل، مريضين بالجلاد الخطي IgA) ممن انطبقت عليهم معايير الدخول في الدراسة، وذلك خلال عامي 2021–2022 في مشفى الأمراض الجلدية والزهرية. تم أخذ قصة سريرية وإجراء فحص سريري مفصل، تلاه إجراء خزعة نسيجية، وفُصلت الخزعة إلى جزئين أرسل أحدهما إلى مخبر التشريح المرضي، والثاني إلى مخبر الومضان المناعي. كما أُخذت العينات الخلوية لإجراء التلوين الروتيني والومضان المناعي المباشر.

تاسعاً: محدوديات البحث

- صغر حجم العينة بسبب التكلفة العالية والكمية المحدودة للأضداد المناعية المستخدمة المطبقة ضمن دراستنا الحالية وعدم توفرها ضمن المشفى. كذلك أدى استخدام المرضى لأدوية وعلاجات عشوائية قبل وضع تشخيص دقيق إلى استبعاد عدد كبير من المرضى المراجعين بالأمراض الفقاعية المناعية من الدراسة.
- عدم توفر الوسائل التشخيصية الضرورية لإثبات تشخيص الأمراض النفاطية الإنتانية حال دون تقييم حساسية ونوعية اللطاخة الخلوية والومضان على اللطاخة لتمييزها عن الأمراض الفقاعية المناعية.
- لم يكن هنالك تنوع في الأمراض الفقاعية ضمن البشرة، واقتصرت على الفقاع الشائع، لعدم مراجعة مرضى مصابين بها موافقين لمعايير الدخول في مدة الدراسة.

الجزء الأول

أدبيات الدراسة

الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية Immunobullous Diseases

تمثل الاضطرابات الفقاعية المناعية الذاتية مجموعة من الأمراض التي تتميز باستجابة مناعية ذاتية متواسطة بالأضداد تجاه عناصر هيكلية في الجلد مسؤولة إما عن الالتصاق بين الخلايا في البشرة أو الالتصاق بين البشرة والأدمة أو اللحمة، تسبب هذه الأضداد خلل في وظيفة الالتصاق هذه ما يؤدي إلى انفكاك الخلايا عن بعضها أو عن الغشاء القاعدي مشكلة نفاطات في الجلد أو الأغشية المخاطية. المستضدات المستهدفة من قبل هذه الأضداد هي بروتينات في الجسيمات الرابطة (مجموعة الفقاع) أو في أنصاف الجسيمات الرابطة ومنطقة الغشاء القاعدي (مجموعة الفقاعاني) أو الترانس غلوتاميناز النسيجي والبشروي (التهاب الجلد الحلئي). تصنف ضمن مجموعتين رئيسيتين: الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية ضمن البشرة والأمراض الفقاعية المناعية الذاتية تحت البشرة. تختلف هذه الأمراض عن بعضها في التظاهرات السريرية والنسيجية والمناعية، ويعد إثبات وجود الأضداد الذاتية المعيار الذهبي للتشخيص الذي يميزها عن باقي الأمراض التآكلية، الحويصلية، الفقاعية.

إن الطرائق التي يتم من بها إثبات وجود الأضداد الذاتية هي الومضان المناعي المباشر، الومضان المناعي اللامباشر، الترسيب المناعي، التبقيع المناعي، اختبار الإليزا enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). ويعد الومضان المناعي المباشر الاختبار الأكثر موثوقية وحساسية [1, 2].

الفصل الأول: الدراسة الوبائية والسريرية

أولاً: الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية ضمن البشرة
Intraepidermal immunobullous diseases

تتضمن هذه المجموعة عدد من الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية التي تكون الفقاعة فيها ضمن البشرة ويطلق عليها مصطلح الفقاع Pemphigus وهو اسم مشتق من كلمة pemphix اليونانية وتعني النفاطة أو الفقاعة، ويصف مجموعة من الأمراض الجلدية النفاطية المزمنة إذ تكون الأضداد الذاتية موجهة ضد سطح الخلايا الكيراتينية وترتبط مع المستضدات الهدف وهي الديسموغلينات Dsg 1 و3 (أفراد من عائلة الكادهيرين وهي جزيئات التصاق خلوية معتمدة على الكالسيوم تسهم في بنية الجسيمات الرابطة) يؤدي هذا الارتباط إلى فقدان التصاق خلية–خلية بعملية تسمى انحلال الأشواك [1, 3].

1-1-1- لمحة تاريخية:

- أطلق مصطلح الفقاع pemphigus لأول مرة في المدة بين 460–370 قبل الميلاد من قبل أبوقراط الذي عدد أنواعاً مختلفة من الحمى وذكر الفقاعاني كنوع من الحمى [4].
- وصف Mcbride الفقاع لأوّل مرة في عام 1777 وفي عام 1791 أطلق Wichmann مصطلح الفقاع على المرضى الذين لديهم فقاعات رخوة وقرحات فموية مؤلمة [4].
- في عام 1844 وصف Cazenave الفقاع الورقي لأول مرة كنمط سطحي من الفقاع ينتشر بسرعة [5].

- في عام 1868 ذكر Ferdinand von Hebra أن الفقاع مرض مزمن وهو أول من أطلق تسمية الفقاع الشائع [4, 5].
- في عام 1886 وصف Neumann المرض الذي يترافق مع نسيج حبيبي ثؤلؤلي بالفقاع التنبتي [6].
- في عام 1925 وصف Senear وUsher الفقاع الحمامي [5].
- في عام 1943 حدد Civatte انحلال الأشواك كعلامة نسيجية أساسية في الفقاع ووصف انحلال الأشواك وتشكل الفقاعة ضمن البشرة في كل من الفقاع الشائع والفقاع الورقي والتنبتي وأن هذه الموجودات تميز الفقاع عن باقي الأمراض الفقاعية الجلدية [7].
- في عام 1976 أثبت Schiltz وMichel أن الأضداد الذاتية في الفقاع ممرضة وقادرة على تكوين نفاطة في أنظمة زراعة الجلد [8].
- في عام 1982 كشف Anhalt وزملاؤه الأضداد الذاتية في الفقاع عن طريق الانتقال المنفعل للأضداد إلى الفئران حديثي الولادة [9].
- في ثمانينات القرن الماضي حُددت المستضدات المستهدفة في الفقاع باستخدام طرق كيميائية مناعية مثل الترسيب المناعي Immunoprecipitation والتبقيع المناعي immounoblotting [10].
- في أوائل التسعينات بيَّن عزل cDNA من مستضد الفقاع أنَّ الديسموغلينات هي المستضدات المستهدفة في الفقاع [11].

1-1-2- الوبائيات:

- ❖ يعدُّ وقوع الأمراض الفقاعية داخل البشرة قليلاً نسبياً، ويتراوح بين 0.05 و2.7 لكل مئة ألف في السنة [12, 13]، ويعد الفقاع الشائع النمط الأكثر شيوعاً من هذه المجموعة. يختلف معدل وقوع الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية من مكان لآخر حول العالم، كما يوجد تباين في وقوع الأنماط المختلفة حسب المناطق الجغرافية، فيعد الفقاع الشائع أكثر شيوعاً في أوروبا وأميركا والهند بينما الفقاع الورقي أشيع في البرازيل وتونس وإفريقيا.
  - يتراوح انتشار الفقاع الشائع بين 0.18 و6.9 حالة لكل مليون نسمة في جميع أنحاء العالم [13].
  - في المملكة المتحدة معدل الوقوع 0.58-0.80 لكل مئة ألف شخص في السنة [14].
  - في فرنسا نسبة الانتشار 1.7 حالة لكل مليون نسمة في السنة [15].
  - في تونس نسبة الانتشار 6.7 حالة لكل مليون في السنة [15].
  - في إيران معدل الوقوع 0.67 حالة لكل مليون نسمة في السنة [16].
  - في الهند معدل الوقوع 4,4 لكل مليون نسمة في السنة [17].
- ❖ العمر: يمكن أن يحدث الفقاع الشائع بأي عمر لكن يشاهد غالباً بين العقدين الرابع والسادس، يوجد اختلاف بين البلدان المختلفة، ففي إيران وجنوب الهند وباكستان يبدأ الفقاع الشائع بعمر أصغر(متوسط العمر 40 سنة).
- ❖ الجنس: يصاب كلا الجنسين بالتساوي على الرغم من أن الدراسات أظهرت نتائج متناقضة [17].

❖ العرق: سجل حدوث الفقاع الشائع عند مختلف الأعراق لكنه أكثر شيوعاً عند سكان البحر الأبيض المتوسط، سكان الهند وإيران، قد تؤدي العوامل الوراثية وظيفة مهمة في ذلك.

1-1-3- الآلية الإمراضية:

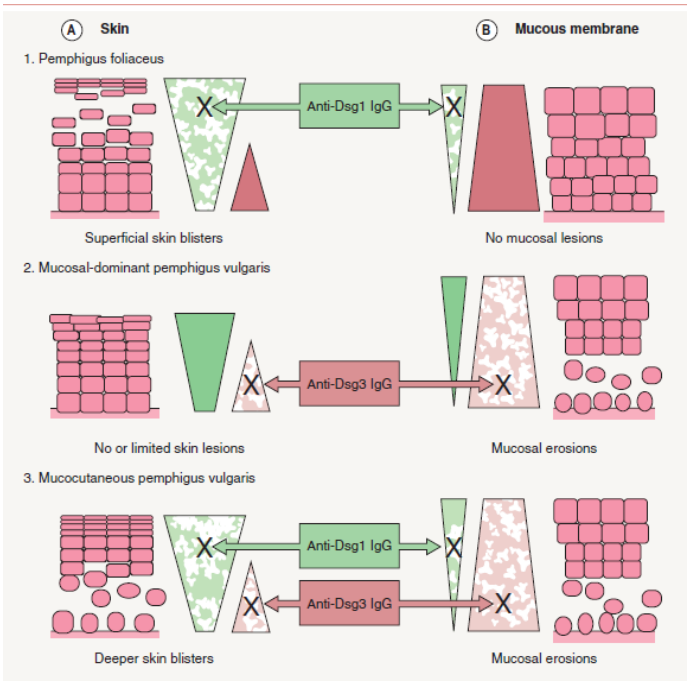
1-1-3-1- مستضدات الفقاع وفرضية تعويض الديسموغلين:

Pemphigus target antigens and the desmoglein compensation hypothesis

المستضدات الأساسية المستهدفة في الفقاع هي الديسموغلين1 و 3 والتي يتم التعبير عنها في الجلد والأغشية المخاطية. يختلف توزع هذين البروتينين باختلاف الظهارة ففي الجلد يوجد تعبير عالي Dsg1 بكامل البشرة بينما يوجد Dsg3 في الطبقة القاعدية وفوق القاعدية، أما في الظهارة الفموية يتم التعبير عن Dsg3 بكامل البشرة بينما يوجدDsg1 في الطبقات السفلية. يعمل هذين البروتينين عملاً تعاونياً، وبالتالي فإن أضداد Dsg1 غير قادرة على التأثير على المخاطية الفموية بينما تؤثر تأثيراً ملحوظاً على الجلد، إذ يوجد القليل منDsg3 للتعويض، وبالعكس أضداد Dsg3 تؤدي إلى إصابة شديدة بالمخاطية الفموية ويوجد القليل من Dsg1، وبالتالي فإن مرضى الفقاع الورقي الذين لديهم أضداد Dsg1 فقط لديهم فقاعات جلدية دون إصابة مخاطية، ومرضى الفقاع الشائع الذين لديهم أضداد Dsg3 هي المسيطرة تكون الإصابة المخاطية واضحة لديهم [1]. يلخص الرسم التوضيحي 1 فرضية تعويض الديسموغلين.

1-1-3-2- أضداد الفقاع: Pemphigus antibodies

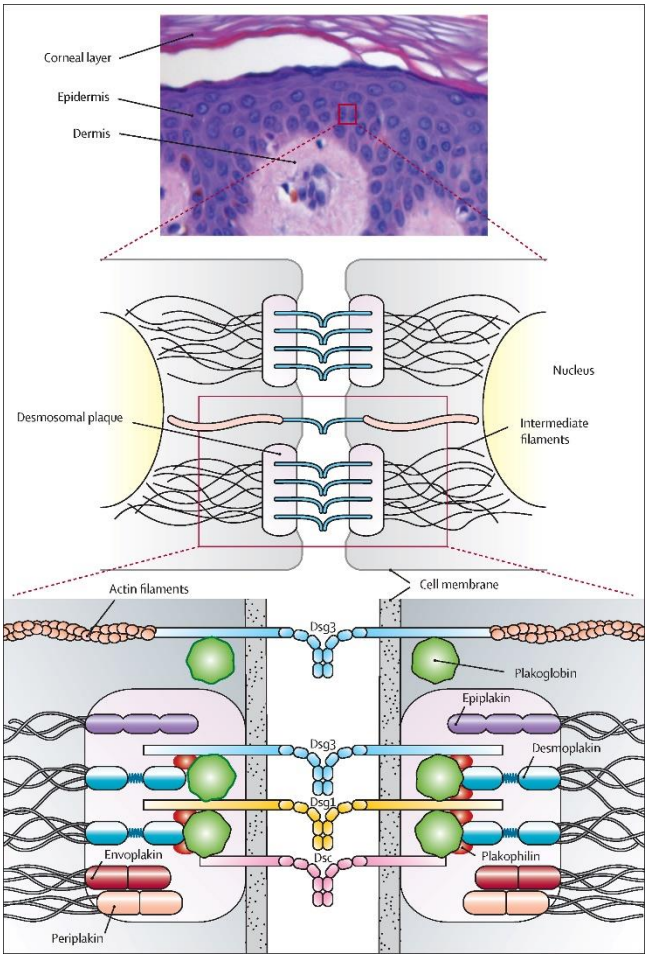
يعدُّ IgG الغلوبولين المناعي الأساسي في الفقاع والمثبت بالومضان المناعي المباشر وغير المباشر، وقد يوجد كل من IgA، IgM، IgE تواجداً أقل شيوعاً. تؤكد الأدلة أن IgG مسؤول عن إمراضية الفقاع، إذ توجد علاقة بين شدة المرض وعيارات الأضداد [18]، كما أن النقل المنفعل لأضداد IgG المنقاة من مصل مرضى الفقاع إلى الفئران تسبب تطور نفاطات مع مظاهر نسيجية ومناعية مميزة للفقاع [9]. يؤثر أيضاً IgG المنقى من مصل مرضى الفقاع مباشرةً على تفكك زروع الخلايا الكيراتينية في الزجاج.



الرسم التوضيحي 1 نظرية معاوضة الديسموغلين: 1-الفقاع الورقي: تظهر الفقاعة سطحية في الآفات الجلدية دون وجود إصابة مخاطية. 2-النمط المخاطي للفقاع الشائع: يحدث الانفصال فوق الطبقة القاعدية في الآفات المخاطية مع آفات جلدية محدودة أو معدومة. 3-النمط الجلدي المخاطي للفقاع الشائع: يحدث الانفصال فوق الطبقة القاعدية في الآفات الجلدية والمخاطية [2]

تدعم العديد من الأدلة دور Dsg 1 وDsg3 كأهداف للأضداد الممرضة في الفقاع، لكن هناك تورط لمستضدات مستهدفة أخرى، إذ إنَّ بعض المرضى لديهم فقاع فعال مترافق مع وجود أضداد بين الخلايا مثبتة بالدراسة الومضانية المناعية وسلبية أضداد الديسموغلين بفحص ELISA، قد يفسر ذلك بوجود أهداف غير

الديسموغلينات وأضداد تجاه الديسموكولينات، البلاكوغلوبين، E-cadherin، إضافة لمستقبلات الأستيل كولين، وقد وجدت أضداد مستقبلات الأستيل كولين عند 85% من مرضى الفقاع، إذ تضعف هذه الأضداد الجسيمات الرابطة (الرسم التوضيحي 2) عن طريق تحفيز فسفرة جزيئات الالتصاق ومنع عودة تجمع الجسيمات الرابطة. ويعدُّ الفقاع نظير الورمي دليل مميز على وجود أضداد تجاه العديد من المستضدات البشروية إضافة للديسموغلين 1و3 فتوجد أضداد تجاه بروتينات الجسيمات الرابطة مثل الديسموبلاكين 1و2، الإنفوبلاكين، البيريبلاكين فضلاً عن أضداد تجاه أنصاف الجسيمات الرابطة كمستضد الفقاعاني الفقاعي الأول 230 كيلو دالتون[1] .



الرسم التوضيحي 2 الجسيمات الرابطة في البشرة [28].

1-1-3-3- انحلال الأشواك: Acantholysis

الإمراضية الأساسية في الفقاع الشائع هي انفصال الخلايا الكيراتينية عن بعضها بعضاً، الذي يسمى انحلال الأشواك ولا يقتصر ذلك على الفقاع الشائع، إذ توجد في جميع الأنماط الفرعية بدرجة ما.

توجد العديد من الآليات المقترحة منها الخلل البنيوي المحدث بواسطة أضداد الديسموغلينات، تفعيل البروتياز وتعطيل مسارات الإشارات داخل الخلوية، الموت الخلوي المبرمج Apoptosis قد يؤدي وظيفةً أيضاً، ويمكن كشفه في آفات الفقاع الجلدية، كما يمكن تحريضه بواسطة أضداد مرضى الفقاع في زروع الخلايا الكيراتينية، إذ تستطيع أضداد الفقاع تحريض إفراز عوامل من الخلايا الكيراتينية التي تتدخل في الموت الخلوي المبرمج مثل Fas ligand، يشاهد الموت الخلوي المبرمج بوقت متأخر في آفات الفقاع المتطورة وبعد انحلال الأشواك.

أطلق مؤخراً مصطلح الانكماش الخلوي المبرمج apoptolysis للتعبير عن انحلال الأشواك وتخرب الخلايا الكيراتينية في الفقاع [19].

يقترح وجود سلسلة من الأحداث تتبع ارتباط الأضداد الذاتية بمستضدات الفقاع تسبب تفعيل مستقبلات عوامل النمو البشروية والبدء بشلال الموت الخلوي، انكماش الخلايا القاعدية، انحلال البروتينات الهيكلية وموت الخلية منحلة الأشواك.

يرافق انحلال الأشواك العديد من الأحداث على المستوى الهيكلي والجزيئي وما زالت الآلية الحقيقية بحاجة لمزيد من الدراسات للوصول لفهم كافٍ [1, 20].

1-1-3-4- الوراثة:

الفقاع هو اضطراب متعدد الجينات أي أنه يعتمد على الوجود المتزامن لجينات عدة. تترافق المورثات التالية1401/04 ,0402* HLA DRB1 و0503 * HLA DQB1 مع زيادة التعرض للفقاع الشائع. بينما تترافق04* HLA DRB1 مع الفقاع الورقي(النمطين الفرادي والمتوطن) و & 0404 ,0102 * HLA DRB1 1402/06 مع الفقاع الورقي المتوطن [1].

أُثبت الاستعداد الوراثي بالملاحظات التالية:

- تسجيل حالات عائلية.
- وجد عند40-60% من أقارب الدرجة الأولى لمرضى الفقاع أضداد الديسموغلين الجائلة في الدوران.
- زيادة انتشار أمراض المناعية الذاتية عند أقارب مرضى الفقاع الدرجة الأولى [20].

1-1-3-5- العوامل البيئية:

برزت وظيفة العوامل البيئية في إمراضية الفقاع بالتعرف على النمط المتوطن للمرض fogo selvagem في مناطق متعددة من العالم، ولا سيما في المناطق الريفية في البرازيل وتونس، وهو يشبه سريرياً ومناعياً الفقاع الورقي، لكن يميل لإصابة الأطفال وصغار البالغين. معظم المرضى يقطنون بجوار الأنهار ويعتقد أن للذبابة السوداء (*Simulium* spp) black flies دور في الإمراضية، وإن حوالي 50% من الأشخاص الطبيعين في المناطق الموبوءة لديهم أضداد الديسموغلين1 [21].

يعتقد أن للتدخين وظيفة وقائيَّة أو مفيدة في الفقاع، إذ إنَّ الخلايا الكيراتينية لها مستقبلات موسكارينية ونيكوتينية للأستيل كولين وقد تؤدي هذه المستقبلات وظيفةً في تنظيم التصاق الخلايا الكيراتينية ببعضها بعضاً.

قد تكون المبيدات الحشرية من العوامل المحرضة للفقاع إذ ازداد خطر الإصابة عند الأشخاص المعرضين.

يعتقد وجود علاقة بين الحمية والإصابة بالفقاع لكن لم تُثبت، كما يعتقد أن للثوم وظيفة محرضة لتطور المرض إذ يحرض حدوث انحلال أشواك في الزجاج [1].

1-1-4- الأمراض المرافقة:

يترافق الفقاع الشائع مع العديد من أمراض المناعة الذاتية ولا سيَّما أمراض الدرق والتهاب المفاصل االرثياني.

ومن الأمراض التي ذكر ترافقها مع الفقاع داء الغلوبولينات القرية cryoglobulinemia وداء الراصات الباردة cold agglutinin disease، سرطان الكلية، فرط بروتين الدم، الذئبة الحمامية الجهازية، الوهن العضلي الوخيم، ورم التيموس، الأمراض اللمفاوية التكاثرية.

كما أُثبت وجود كل من فيروس إيبشتاين بار وفيروس الحلأ وHHV 6 و8 في جلد مرضى الفقاع، وسجل وجود إنتان مرافق بالHIV عند مرضى الفقاع [1].

1-1-5- تصنيف الفقاع:

الفقاع الشائع _ الفقاع التنبتي _ الفقاع الورقي _ الفقاع الحمامي _ الفقاع الحلئي _ الفقاع نظير الورمي _ فقاع IgA _ الفقاع المحرض دوائياً.

1-1-6- المظاهر السريرية:

1-1-6-1- الفقاع الشائع: Pemphigus vulgaris

ينقسم إلى مجموعتين فرعيتين:

1-النمط المخاطي المسيطر mucosal-dominant type: تآكلات في الغشاء المخاطي مع إصابة جلدية خفيفة.

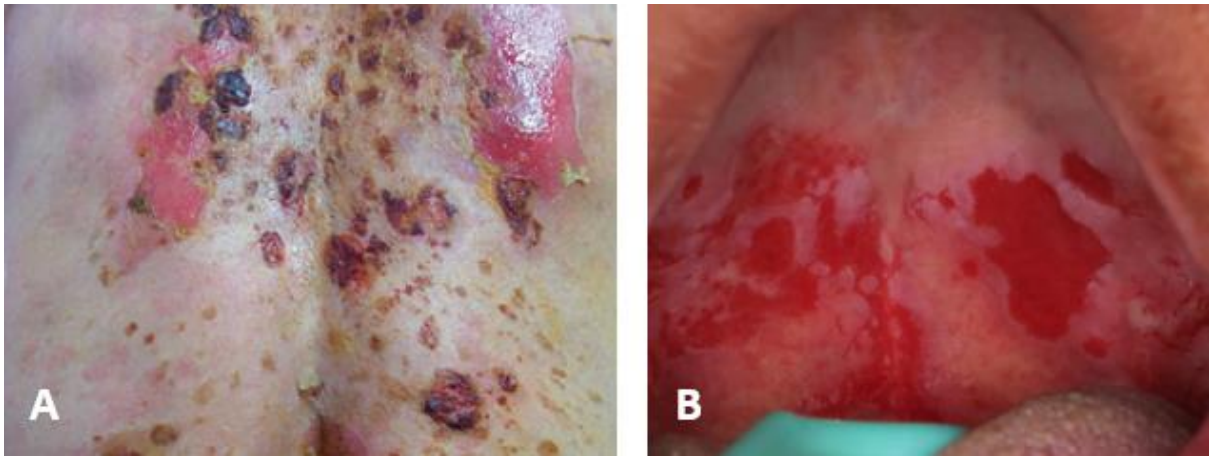
2- النمط المخاطي الجلدي mucocutaneous type: نفاطات وتآكلات جلدية واسعة فضلاً عن إصابة الغشاء المخاطي.

الإصابة المخاطية: تحدث الآفات الفموية عند جميع مرضى الفقاع الشائع يبدأ المرض بآفات فموية عند 50-80% من المرضى، تتطور الآفات الجلدية بعد أشهر أو قد تبقى التظاهرة الوحيدة للمرض [22, 23].

تظهر آفات الأغشية المخاطية كتآكلات مؤلمة، حدودها غير منتظمة، بطيئة الشفاء. تشاهد في أي مكان في تجويف الفم إلا أن المواقع الأكثر شيوعاً هي الغشاء المخاطي للشدق والحنك. قد تؤدي عندما تكون واسعة أو مؤلمة إلى انخفاض تناول الطعام أو السوائل عن طريق الفم. قد تمتد إلى الشفة القرمزية، وتؤدي إلى تشكل جلبات نزفية سميكة متشققة. النفاطات السليمة نادرة لأنها هشة وتتمزق بسهولة [20]. (الصورة 1)

تسبب إصابة الحلق بحة في الصوت وصعوبة في البلع، قد يصاب المريء أيضاً، وقد سجلت حالات من انسلاخ كامل البطانة. يمكن أن تظهر آفات في الملتحمة، الأنف، القضيب، الشرج، الإحليل، الفرج، عنق الرحم.

الإصابة الجلدية: تعد النفاطات الرخوة هي الآفات الجلدية الأولية للفقاع الشائع ، ويمكن أن تظهر في أي مكان على سطح الجلد، تنشأ على بشرة طبيعية أو على أرضية حمامية. تمتلئ بسائل رائق في البداية ولكن قد يصبح نزفي أو عكر أو مصلي. النفاطات هشة وسرعان ما تتمزق لتشكل تآكلات مؤلمة تنز وتنزف بسهولة، تتغطى بجلبات مع ميل ضئيل أو معدوم للشفاء. قد تبقى الآفات موضعة لكن غالباً ما تصبح واسعة منتشرة، تميل عادةً إلى إصابة الفروة، الوجه، الرقبة، أعلى الصدر، الظهر (الصورة 1). الحكة غير شائعة، يحدث الشفاء عادةً دون تندب لكن قد تحدث تبدلات صباغية في الآفات الشافية [2].



الصورة 1 فقاع شائع: (A) الإصابة الجلدية تآكلات وجلبات [24] (B) الإصابة الفموية تآكلات في الحنك الرخو [25].

من التظاهرات السريرية غير الشائعة للفقاع الشائع : لويحات متجلبة معزولة على الوجه أوالفروة – داحس – حثل أظافر– أورام دموية تحت الظفر– قرحات قدم – اكزيما عسر تعرق – ضخامة لسان [2].

يمكن أن يكون الفقاع الشائع قاتلاً دون علاج مناسب؛ لأن جزءًا كبيرًا من الجلد يفقد وظيفته كحاجز بشروي ما يؤدي إلى فقدان سوائل الجسم أو الإصابة بإنتانات جرثومية ثانوية.

كما يمكن أن يتظاهر الفقاع الشائع بآفات جلدية دون إصابة مخاطية، وقد يتحول سريرياً ومناعياً من الفقاع الشائع إلى الفقاع الورقي وبالعكس في سير المرض، كما يندخل الفقاع الشائع في الثنيات مع الفقاع التنبتي.

العلامات في الفقاع: تكون علامة نيكولسكي Nikolsky's sign إيجابية عندما يؤدي الضغط المماسي الثابت بواسطة الإصبع إلى حدوث تآكل حيث تنفصل البشرة السليمة ظاهرياً عن الأدمة، تشير إيجابيتها إلى فعالية شديدة للمرض، إلا أنها غير نوعية للفقاع. أما علامة أسبو هانسن Asboe Hansen sign أو نيكولسكي غير المباشرة indirect Nikolsky : فهي عندما يؤدي الضغط المطبق على مركز الفقاعة إلى حدوث امتداد محيطي [1, 2, 26].

1-1-6-2- الفقاع التنبتي: Pemphigus vegetans

هو نوع نادر من الفقاع الشائع، يُعتقد أنه يمثل نمط ارتكاسي من الجلد للأذية المناعية في الفقاع الشائع. وله نمطان فرعيان، هما: نمط نيومان الشديد Neumann type ، ونمط هالوبو الخفيف Hallopeau type.

يتميز بنفاطات رخوة تصبح تآكلات ثم تشكل تنبتات فطرانية أو أورام حليمومية وخاصة في المناطق المذحية وعلى فروة الرأس أو الوجه. يصيب البالغين بأعمار متوسطة، وعادة ما تكون إصابة المخاطية الفموية ثابتة [27].

1-1-6-3- الفقاع الورقي: Pemphigus Foliaceus

يتظاهر بتآكلات جلدية وسفية متجلبة على قاعدة حمامية غالباً دون إصابة مخاطية (الصورة 2).

بدء المرض مخاتل عادة مع آفات متجلبة مبعثرة عابرة تشخص قوباء غالباً تتوزع في المناطق الزهمية كالوجه وفروة الرأس وأعلى الجذع. تكون الحويصلات سطحية وهشة لذا تشاهد الوسوف والجلبات الناتجة فقط. قد يبقى المرض موضع لسنوات أو يتطور بسرعة إلى إصابة معممة وأحمرية.

علامة نيكولسكي إيجابية. من النادر جدًا أن يصاب الغشاء المخاطي بعكس الفقاع الشائع، لا يعاني المرضى من مرض شديد لكن يمكن أن تترافق الآفات الجلدية بحرقة وألم [2, 20].



الصورة 2 الفقاع الورقي: تآكلات متعددة على أرضية حمامية مع وسوف مميزة [2].

1-1-6-4- الفقاع الحمامي: Pemphigus Erythematosus

هو نمط موضع للفقاع الورقي وصف من قبل Senear وUsher.

الآفات الحمامية الوسفية على الأنف والوجنتين، التي تأخذ توزع طفح الفراشة تشبه الذئبة الحمامية الجلدية أو التهاب الجلد المثي، ويمكن أن تتحرض بالتعرض لأشعة الشمس، الآفات على الجذع سواء الموضعة أو المعممة تشبه الفقاع الورقي .

نادراً ما يتطور إلى ذئبة حمامية جهازية، قد يترافق مع وهن عضلي وخيم أو ورم توتي [1].

1-1-6-5- الفقاع الحلئي الشكل: Pemphigus herpetiformis

هو نوع نادر وغير نموذجي من الفقاع يشبه سريرياً التهاب الجلد حلئي الشكل، يتميز بعناقيد منتشرة من الحطاطات والحويصلات الحاكة على أرضية حمامية (الصورة 3)، سيره السريري سليم ويمكن أن يتطور إلى فقاع ورقي أو فقاع شائع [28].



الصورة 3 فقاع حلئي: حويصلات حلئية الشكل [53].

1-1-6-6- الفقاع نظير الورمي: Paraneoplastic Pemphigus

يترافق مع مجموعة متعددة من الأورام الكامنة الخبيثة والحميدة. الأورام الأكثر شيوعًا هي لمفوما لاهودجكن والابيضاض اللمفاوي المزمن يليها داء كاسلتمان، أورام التوتة الخبيثة والحميدة، الساركومات [29, 30]. يتطور المرض عند ثلثي المرضى في سياق الورم الكامن المعروف، أما باقي المرضى فلا تكون الأورام مشخصة عند تطور المرض الجلدي المخاطي، لذا يجب تحري وجود الأورام الخفية.

التظاهرة الأساسية هي التهاب الفم stomatitis الشديد والمقاوم للعلاج، يعد التظاهرة الأبكر للمرض. يتألف من تآكلات وتقرحات تصيب كامل مخاطية البلعوم الفموي وتمتد امتداداً مميَّزاً إلى الشفة القرمزية.

تكون الموجودات الجلدية متعددة الأشكال (الصورة 4)، تظهر على شكل بقع حمامية ونفاطات رخوة وتآكلات تشبه الفقاع الشائع، نفاطات متوترة تشبه الفقاعاني الفقاعي، آفات تشبه الحمامى عديدة الأشكال، اندفاعات حزازانية.

تميز النفاطات والآفات الشبيهة بالحمامى عديدة الأشكال في الراحتين والأخمصين الفقاع نظير الورمي عن الفقاع الشائع الذي تكون إصابة الراحتين والأخمصين فيه غير شائعة. يسيطر الاندفاع الحزازاني على الآفات النفاطية في الشكل المزمن للمرض. معظم المرضى لديهم التهاب ملتحمة غشائي كاذب pseudomembranous conjunctivitis شديد قد يسبب ندبات وعتامات [2].

قد تظهر آفات في البلعوم الأنفي والمري والمهبل والشفرين والقضيب وحول الشرج والثنيات [31]. بعض المرضى يصابون بالتهاب القصبات الهوائية الساد والذي قد يكون قاتلاً بسبب القصور التنفسي.



الصورة 4 فقاع نظير الرومي: (A) تآكلات وجلبات نزفية ممتدة إلى الشفتين والمخاطية الأنفية[2] (B) الإصابة الجلدية [70].

1-1-6-7- فقاع IgA: Pemphigus IgA

وُصِفَ نمطان مميَّزان:

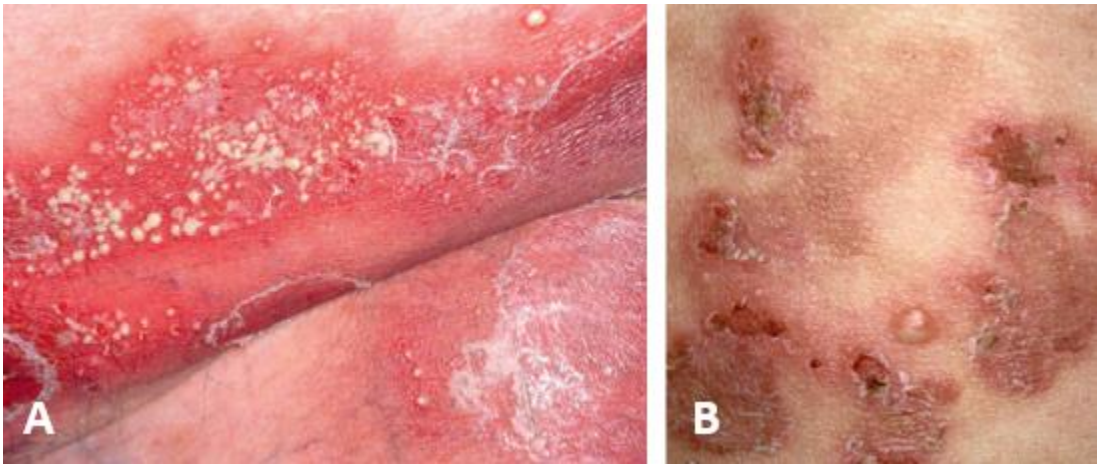
_ الجلاد البثري تحت الطبقة المتقرنة (subcorneal pustular dermatosis (SPD .

_ الجلاد المحب للعدلات ضمن البشرة (intraepidermal neutrophilic dermatosis (IND [32]

يتظاهر كلا النمطين على شكل حويصلات رخوة أو بثرات على جلد حمامي أو طبيعي، تجتمع البثرات بشكل حلقي أو دائري مع قشور في وسط الآفة، يعد الشكل المشابه لعباد الشمس علامة مميزة للنمط المحب للعدلات ضمن البشرة (الصورة 5).[33]

يحدث عادة عند البالغين. المواقع الأكثر شيوعًا للإصابة هي الإبط والمغبن لكن يمكن أن تظهر الآفات أيضًا على الجذع والأطراف القريبة والوجه، وغالباً ما تكون حاكة. الإصابة المخاطية غير شائعة [2]. بعض الحالات لا يمكن تمييزها عن داء سنيدون ويلكنسون، وقد يشبه أيضاً الفقاع الورقي أو الفقاع حلئي الشكل.

أشيع الترافقات في النمط تحت الطبقة المتقرنة هي اعتلال غاما وحيد النسيلة بال IgA [1]. ترتبط بعض الحالات بالخمج بالHIV، أدواء الأمعاء الالتهابية، التهاب المفاصل الرثياني، الأدوية الحاوية على الثيول.



الصورة 5 فقاع IgA (A) الجلاد البثري تحت الطبقة المتقرنة (B) الجلاد المحب للعدلات ضمن البشرة [2].

1-1-6-8- الفقاع المحرض بالأدوية: Drug-Induced Pemphigus

نادر الحدوث، معظم الحالات تترافق مع الأدوية الحاوية على مجموعة الثيول thiol كالبنسلامين. قد يكون محدث بأدوية غير حاوية على مجموعة الثيول (كمثبطات الأنزيم القالب للأنجيوتنسين والغلبنكلاميد)، أو الأدوية التي تحتوي مجموعة الفينول (كالسيفالوسبورينات- الريفامبيسين- البيريتينول- الفينوباربيتال- الأسبرين) [34]. ممكن أن يحدث فقاع شائع أو ورقي.

يعد البنسلامين المسبب الأكثر شيوعاً للفقاع المحرض بالأدوية، يُشاهد الفقاع الورقي أكثر من الفقاع الشائع. يحدث لدى 3–10% من المرضى الذين يتلقون الدواء بعد حوالي سنة من التعرض. يميل للحدوث عند الأفراد المصابين بأمراض المناعة الذاتية الأخرى كالتهاب المفاصل الرثياني ما يشير إلى أن خلل التنظيم المناعي قد يكون عاملاً مسبباً وقد تؤدي العوامل الوراثية وظيفةً أيضاً، إذ سُجّل زيادة في تكرار HLA–B15 في الفقاع المحرض البنسلامين [35].

على الرغم من أن معظم المرضى لديهم الأضداد الذاتية نفسها الموجودة في الفقاع إلا أن بعض الأدوية تحرض انحلال الأشواك دون إنتاج الأضداد. قد يكون سحب الدواء كافٍ لإحداث الهجوع لدى بعض المرضى وقد يتطلب بعض المرضى معالجة بالستيروئيدات والأدوية المثبطة للمناعة [1].

1–1–7– التشخيص التفريقي:

- **الفقاع الشائع:** تشبه الآفات المخاطية التهاب الفم الحلئي الحاد، الحمامى عديدة الأشكال الكبرى أو متلازمة ستيفن جونسون، قرحات القلاع، الحزاز المسطح، الذئبة الحمامية الجهازية، فقاعاني الأغشية المخاطية. يكون التشخيص أقل صعوبة عندما يراجع المرضى بآفات جلدية، لكن يجب استبعاد الأنماط الأخرى للفقاع، الفقاعاني وأنماطه، الجلاد الخطي IgA، الحمامى عديدة الأشكال.
- **الفقاع التنبتي:** يجب تمييزه في الثنيات عن الإنتانات المزمنة أو داء هيلي هيلي (الفقاع العائلي الحميد). الآفات مفرطة التقرن قد تشابه الأورام الجلدية.

- **الفقاع الورقي:** يتشابه مع التهاب الجلد المثي أو القوباء الفقاعية، الأنماط الأخرى للفقاع، الجلاد البثري تحت الطبقة المتقرنة، الذئبة الحمامية الجلدية تحت الحادة.
- **الفقاع الحمامي:** يجب تمييزه عن التهاب الجلد المثي والذئبة الحمامية الجلدية المزمنة.
- **الفقاع نظير الورمي:** يشمل الفقاع الشائع، فقاعاني الأغشية المخاطية، الحمامى عديدة الأشكال أو متلازمة ستيفن جونسون، داء الطعم ضد المضيف، الحزاز المسطح، الإنتانات الفيروسية، انتانات الحلأ البسيط المستمرة، التهاب الفم الناتج عن العلاج الكيماوي والذي يكون عادة محدد بمدة 7–14 يوم.
- **فقاع IgA:** يشمل التشخيص التفريقي الجلاد البثري تحت الطبقة المتقرنة الكلاسيكي (داء سنيدون – ويلكنسون)، الفقاع الورقي، القوباء الفقاعية، التهاب الجلد الحلئي، الجلاد الخطي IgA، الصداف البثري [1–3].

1–1–8– سير المرض والإنذار :

يتميز الفقاع بأنواعه بسير مزمن مع متوسط مدة الإصابة 10 سنوات [36]. يوجد اختلاف كبير بمدة المرض بين المرضى تتدخل العديد من العوامل بذلك منها:

– الموقع وشدة المرض الأولي.

– يترافق وجود إصابة فموية مع عامل إنذار سيّئ.

– يترافق وجود أضداد الديسموغلين 1و3 معاً مع مرض أكثر فعالية.

– البدء بعمر أبكر والأصل الآسيوي تترافق مع فعالية أطول للمرض.

1-1-9- الاختلاطات:

الاختلاطات الأكثر شيوعاً للفقاع الشائع هي الإنتانات الثانوية التي قد تتطور إلى إنتان دم إن لم تعالج وقد تؤدي إلى الموت [37]. كما تشاهد اختلاطات نتيجة للمعالجة الطويلة بالستيروئيدات ومثبطات المناعية كارتفاع الضغط الشرياني، تثبيط المحور الكظري، احتباس السوائل، تخلخل العظام، الداء السكري، الساد، الزرق، زيادة حدوث الإنتانات وعودة تفعيل السل [38].

1-1-10- تقييم الشدة:

وُضعت معايير موضوعية محددة لتقييم سير المرض أو استجابته للعلاج. وتستخدم العديد من أنظمة التقييم مثل مقياس مساحة وفعالية الفقاع Pemphigus Area and Activity Score، مقياس فعالية الفقاع Pemphigus Activity score، مؤشر فعالية الفقاع Pemphigus Disease Activity Index (PDAI)، مقياس شدة الاضطرابات الجلدية الفقاعية المناعية الذاتية Autoimmune Bullous Skin Disorder Intensity Score(ABSIS) [39].

يعدُّ PDAI وABSIS أكثر استخداماً. يجمع مشعر PDAI بين المرض الجلدي والمخاطي ويساعدفي تقييم عدد وحجم الآفات وفي تقييم فرط التصبغ التالي للالتهاب [39]. ويتميز مقياس ABSIS بأنه يعتمد على التقييم الكمي والنوعي للآفات الجلدية والمخاطية فضلاً عن ذلك فهو يراقب الحالة السريرية للمريض مع الوقت.

ثانياً: الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية تحت البشرة
Subepidermal immunobullous diseases

تتضمن هذه المجموعة عدد من الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية التي تكون الفقاعة فيها تحت البشرة وتشمل أمراض الفقاعاني pemphigoid diseases والتهاب الجلد حلئي الشكل herpetiformis dermatitis، تتشارك هذه الأمراض ببعض السمات السريرية كالفقاعات المتوترة والتآكلات إضافة لسلبية علامة نيكولسكي (على عكس الفقاع) لكنها متغايرة من ناحية التظاهرات السريرية، المستضدات المستهدفة، نوع الأضداد الذاتية، والدراسة المناعية كما تختلف اختلافاً كبيراً من ناحية الإنذار والعلاج لذا من المهم وضع التشخيص الصحيح.

تتضمن مجموعة الفقاعاني كل من الفقاعاني الفقاعي، فقاعاني الأغشية المخاطية، جلاد IgA الخطي، الفقاعاني الحملي، الحزاز المسطح الفقاعاني، فقاعاني anti-p200، الذئبة الحمامية الفقاعية، انحلال البشرة الفقاعي المكتسب، الفقاعاني الندبي [1]. وسنتطرق هنا للأمراض الأكثر شيوعاً ضمن هذه المجموعة.

1-2-1- الفقاعاني الفقاعي: Bullous pemphigoid

يعدُّ المرض الأكثر شيوعاً ضمن مجموعة الأمراض الفقاعية المناعية تحت البشرة، ويشكل أيضاً المرض الفقاعي المناعي الذاتي الأكثر تكراراً عموماً [1].

1-2-1-1- لمحة تاريخية:

– ميَّزه Walter Lever عن الفقاع لأول مرة عام 1953، الذي عدَّ وجود الانفصال ضمن البشرة وفقدان الالتصاق بين الخلايا الكيراتينية (انحلال الأشواك)العلامة النسيجية المميزة للفقاع، بينما أطلق مصطلح الفقاعاني على الحالات التي يكون فيها الانفصال تحت البشرة [40].

– بعد عقد من الزمن أثبت Jordon وزملاؤه وجود أضداد ذاتية جائلة في الدوران ومرتبطة بالأنسجة موجهة ضد بروتينات الوصل البشروي الأدمي عند مرضى الفقاعاني الفقاعي [41].

1-2-1-2- الوبائيات:

تتراوح معدلات الوقوع بين 2.5 و66 حالة جديدة لكل مليون نسمة في السنة. سجلت معدلات الوقوع الأكثر انخفاضاً في رومانيا (2.5 لكل مليون في السنة)، الكويت (2.6 لكل مليون في السنة)، بولندا (4.5 لكل مليون في السنة)، سنغافورة (7.6 لكل مليون في السنة). بينما تراوحت معدلات الوقوع في اسكتلندا وإيطاليا وألمانيا وسويسرا بين 10و14 لكل مليون في السنة، وسجلت معدلات وقوع أعلى 22–24 حالة جديدة لكل مليون في السنة في فرنسا والولايات المتحدة الأمريكية. أما المعدلات الأعلى 66 لكل مليون في السنة سجلت في المملكة المتحدة [1].

العمر: الفقاعاني الفقاعي هو مرض كبار السن، يتراوح العمر الوسطي لبدء المرض بين 69 و 83 سنة. يزداد معدل الوقوع زيادةً ملحوظةً مع زيادة العمر ليصبح 190–312 لكل مليون في السنة عند الأشخاص الأكبر من 80 سنة [12, 14].

الجنس: لوحظ زيادة طفيفة عند الإناث إذ إنَّ 52–60% من مرضى الفقاعاني الفقاعي من الإناث، لكن مع تقدم العمر يصبح أكثر عند الرجال.

1-2-1-3- الآلية الإمراضية:

يعد الفقاعاني الفقاعي مرض متواسط بالمناعة مرتبط مع استجابة خلطية وخلوية موجهة ضد اثنين من المستضدات الذاتية المميزة جيداً، هما:

-BP180 والمعروف أيضاً بمستضد الفقاعاني الفقاعي الثاني BPAG2 أو الكولاجين 17: وهو بروتين عابر للغشاء ذو مجال كولاجيني كبير خارج الخلية.

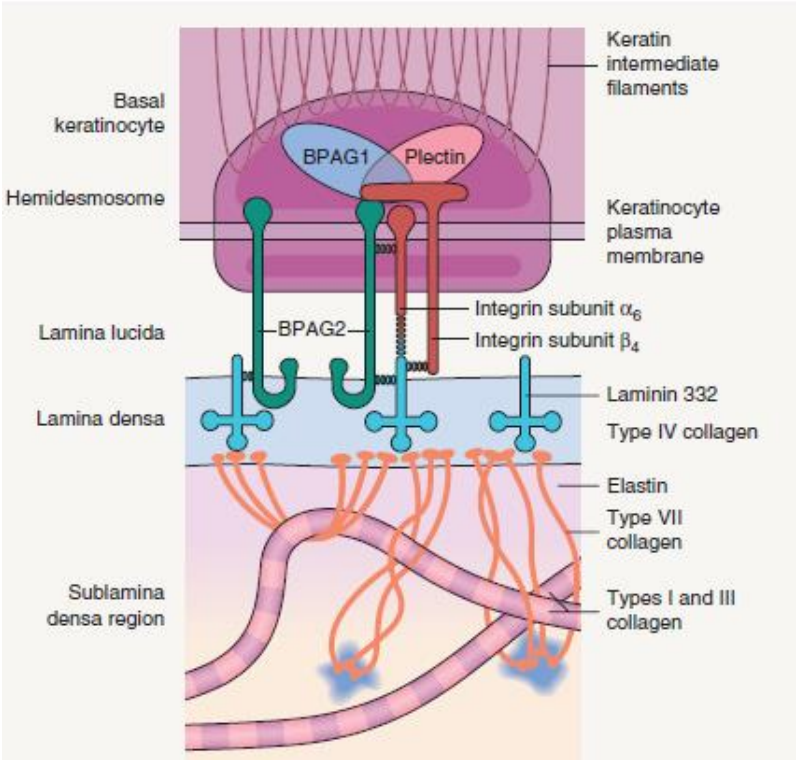
-BP230 أو الشكل isoforme الظهاري لمستضد الفقاعاني الفقاعي الأول BPAG1e: وهو بروتين سيتوبلازمي ينتمي إلى عائلة البلاكين [42].

هذان المستضدان هما من مكونات أنصاف جسيمات الوصل الموجودة في منطقة الغشاء القاعدي، وهي معقدات التصاق تعزز الالتصاق الظهاري اللحمي في الظهارة المطبقة وغيرها من الظهارات المعقدة (الرسم التوضيحي 3).

- **الاستجابات الخلطية والخلوية:**

جميع مرضى الفقاعاني الفقاعي تقريباً لديهم أضداد ذاتية جائلة في الدوران IgG ترتبط مع BP180 وبالتحديد مع المجال غير الكولاجيني NC16A الذي يقع خارج الخلية بالقرب من المجال العابر للغشاء وهي المنطقة المسيطرة مناعياً، وتوجد أيضاً مواقع مستضدية إضافية في المجالين داخل وخارج الخلايا للمستضد

BP180 مُيّزت بنسبة تصل ل70% في مصل مرضى الفقاعاني الفقاعي. لدى مرضى الفقاعاني الفقاعي أيضاً رد فعل مناعي مهم للمستضد BP230 وترتبط الأضداد الذاتية الموجهة ضده بالنهاية C لهذا المستضد.



الرسم التوضيحي 3 توضع مستضدات الفقاعاني الفقاعي في منطقة الغشاء القاعدي [2].

يطور مرضى الفقاعاني الفقاعي رد فعل ذاتي بالخلايا التائية استجابة لكلا المستضدين يؤدي ذلك إلى تحفيز الخلايا البائية لإنتاج الأضداد الذاتية. تكون الخلايا التائية إيجابية CD4 وتنتج سيتوكينات الخلايا التائية المساعدة Th1(الإنترفيرون غاما) و Th2(الإنترلوكين 4-5-13)، ترتبط سيتوكينات Th2وTh17 ارتباطاً أساسياً بالآلية الإمراضية للفقاعاني الفقاعي وتوجد في مصل المرضى وضمن الآفات [43].

يعد تحت النمط IgG4 من النظائر الأساسية للأضداد الذاتية المضادة للBP180 . ينتج من ارتباط الأضداد الذاتية بمستضداتها الهدف تكوين النفاطة تحت البشرة عبر سلسلة من الأحداث التي تتواسط فيها

مستقبلات FC إذ يؤدي تشكيل معقد الضد مستضد إلى تفعيل المتممة وتوظيف الخلايا الالتهابية وتحرير أنزيمات البروتياز الخاص بها والتي تتضمن: matrix metalloproteinase-9 ميتالوبروتيناز المطرق الخلوي، إيلاستاز العدلات، بروتياز الخلايا البدينة تسبب هذه الأنزيمات تحلل مختلف بروتينات المطرق خارج الخلوي فضلاً عن مستضد الفقاعاني الفقاعي 180. يسهم ارتشاح الخلايا المناعية الفطرية (البالعات ، العدلات ، الخلايا البدينة ، الحمضات) في تخرب الأنسجة عن طريق تحرير السيتوكينات المحرضة للالتهاب: انترلوكين 4-5-8-17-eotaxin ما يعزز الاستجابة الالتهابية [44].

يمكن للأضداد الذاتية لBP180 تضخيم الاستجابة الالتهابية عن طريق تحفيز الخلايا الكيراتينية مباشرة للتعبير عن السيتوكينات الالتهابية، كما تقلل الأضداد الذاتية IgG من BP180 ضمن أنصاف الجسيمات الواصلة ما يسهم إسهاماً مستقلاً عن المتممة بإضعاف التماسك البشروي الأدمي. قدمت العديد من النماذج الحيوانية دليل قوي أن الأضداد الذاتية المضادة لBP180 هي المسببة للمرض وضرورية لبدء المرض بينما تسهم الأضداد الذاتية المضادة لBP230 إسهاماً ثانوياً في تخرب الأنسجة[2] .

- **الوراثة:** بعض أليلات HLA-II أكثر انتشار عند مرضى الفقاعاني الفقاعي إذ يوجد ترابط مهم مع DQB1*0301 [45].
- **العوامل المحرضة:** توجد العديد من العوامل المحرضة المتهمة في بدء الفقاعاني الفقاعي منها الرض، الحروق، المعالجة الشعاعية، الأشعة فوق البنفسجية والتي تتضمن (ضوء الشمس، UVA1، PUVA، المعالجة الضوئية الحركية)، اللقاح وخاصة لقاح الإنفلونزا [1].

1-2-1-4- الأمراض المرافقة:

يُعاني حوالي ثلث إلى نصف مرضى الفقاعاني الفقاعي من أمراض عصبية ونفسية كداء باركنسون، التراجع المعرفي، الصرع، التصلب الحدبي، الاضطراب ثنائي القطب، السكتات الدماغية [46]. كما سجل ترافق الفقاعاني الفقاعي مع الصداف، الأمراض المناعية الذاتية، السرطان [1].

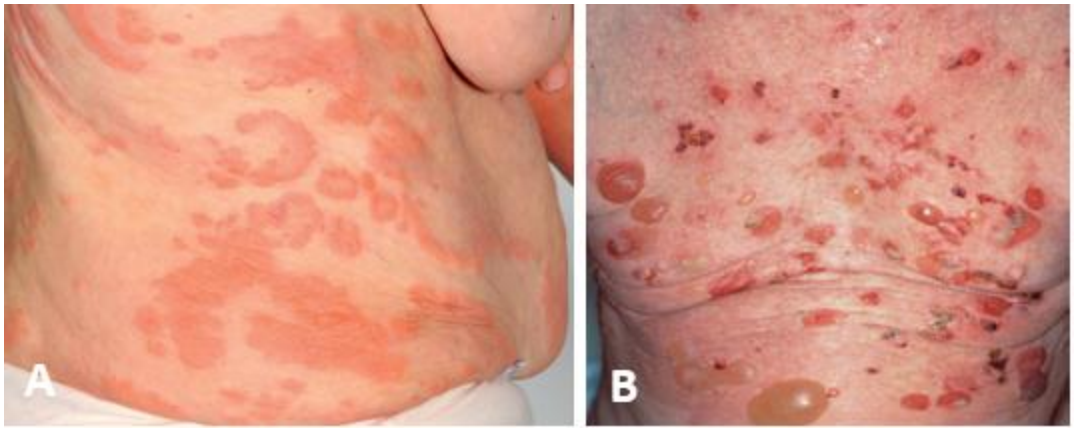
1-2-1-5- التظاهرات السريرية:

المرحلة غير الفقاعية: عادة تسبق هذه المرحلة تطور الفقاعات المتوترة المعممة، قد تستمر لأسابيع عدة أو أشهر. غالباً ما تكون التظاهرات الجلدية في هذه المرحلة متعددة الاشكال مع حكة خفيفة إلى شديدة معندة قد تترافق مع تسحجات، آفات أكزيمائية، حطاطية، مع أو بدون آفات شروية (الصورة 6). قد تبقى هذه الموجودات الجلدية غير النوعية العلامات الوحيدة للمرض.

المرحلة الفقاعية: تتميز بوجود حكة شديدة مترافقة مع حويصلات وفقاعات واسعة الانتشار تظهر على جلد طبيعي ظاهرياً أو حمامي إضافة لحطاطات ولويحات شروية مرتشحة تأخذ أحيانًا شكلاً حلقياً. تتوزع الآفات توزعاً متناظراً وتفضل الجوانب العاطفة للأطراف والبطن. تكون النفاطات متوترة يتراوح قطرها بين 1-4 سم، تحتوي على سائل صاف قد يصبح مدمى، قد تستمر لعدة أيام وتترك مناطق متآكلة ومتجلبة. تشفى الآفات بدون ندبات مع تبدلات تالية للالتهاب كفرط ونقص التصبغ وحمامى قد تستمر لعدة أسابيع أو أشهر. (الصورة 6)

تظهر الآفات الفموية في 10-20% من الحالات ونادراً ما يصاب الغشاء المخاطي للعينين والأنف والبلعوم والمريء والمنطقة الشرجية التناسلية. توجد الحكة دائماً. تكون علامة نيكولسكي سلبية.

يشاهد فرط حمضات الدم المحيطي عند حوالي 50%من المرضى [1, 2, 47, 48].



الصورة 6 فقاعاني فقاعي: A– المرحلة غير الفقاعية: لويحات حمامية شروية B– المرحلة الفقاعية: فقاعات متوترة وتآكلات [2].

1-2-1-6- الأنماط السريرية:

حوالي 20% من مرضى الفقاعاني يكون لديهم نمط غير كلاسيكي وقت التشخيص [47].

تم وصف العديد من الأنماط السريرية منها: نمط عسر التعرق، النمط المشابه للأكال العقيدي، النمط المشابه للأكال، الأحمرية، النمط الشبيه بالأكتيمة المواتية، النمط المشابه للمذح، الحطاطي، الأكزيمائي، المشابه للحطاطاني اللمفاني، التنبتي، الحويصلي، الفقاعاني المشابه لانحلال البشرة النخري السمي. بعض الأنماط كالفقاعاني المشابه للأكال، الحطاطي، الإكزيمائي، الحويصلي والأحمرية ممكن أن تتطور لاحقاً إلى النمط الكلاسيكي.

الفقاعاني الحملي: هو نمط من أنماط الفقاعاني الفقاعي يتظاهر خلال فترة الحمل [1].

الفقاعاني الفقاعي الموضع: يكون المرض موضع في أجزاء محددة من الجسم غالباً في الطرفين السفليين وبالأخص المنطقة أمام الظنبوب، الثنيات، الراحتين، الأخمصين، المنطقة التناسلية، السرة، حول الفوهات ونواسير التحال الدموي. قد تبقى الآفات موضعة وقد تتطور إلى النمط الكلاسيكي للفقاعاني الفقاعي.

الفقاعاني الفقاعي في الطفولة: توجد ذروتين لحدوث الفقاعاني الفقاعي عند الأطفال في السنة الأولى من الحياة (الفقاعاني الفقاعي الوليدي) وحوالي عمر 8 سنوات.

العديد من الحالات عند الولدان تكون مسبوقة باللقاح، وتتوضع الآفات لديهم عادة في الأطراف وخاصة الراحتين والأخمصين أما الأطفال الأكبر سناً فتصاب المناطق التناسلية في حوالي نصف الحالات. يكون الإنذار جيد ويحدث الهجوع في أسابيع لأشهر قليلة من العلاج [49].

الفقاعاني الفقاعي المحرض بالأدوية: قد تؤدي بعض الأدوية إلى ظهور الفقاعاني الفقاعي إذ يعمل الدواء كعامل محرض عند المرضى الذين لديهم استعداد وراثي للمرض عن طريق تعديل الاستجابة المناعية أو تغيير الخصائص المستضدية للغشاء القاعدي البشروي.

يوجد الكثير من الأدوية المتهمة منها:المدرات (الفوروسميد والسبيرونولاكتون)، مضادات الالتهاب اللاستيروئيدية (إيبوبروفين والديكلوفيناك الموضعي)، الصادات الحيوية (الأموكسيسيلين والسبيرونولاكتون)، مثبطات الأنزيم الحاصر للأنجيوتنسين، مثبطات العامل المنخر للورم، إيويد البوتاسيوم [50].

يشاهد عودة ظهور آفات الفقاعاني الفقاعي بعد عودة إعطاء الدواء في بعض الأدوية كالفوروسميد، بينما لم يوجد دليل قوي على الترافق مع باقي الأدوية. قد يؤدي إيقاف الدواء المتهم إلى التحسن [2].

1-2-1-7- التشخيص التفريقي:

يجب تمييزه عن باقي الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية.

المرحلة غير الفقاعية أو الأنماط غير النموذجية يجب تمييزها عن الاندفاعات الدوائية الموضعة والمعممة، التهاب الجلد التماسي والأليرجائي، الشري، الأكال، التهاب الأوعية الشروي، ارتكاس لدغ الحشرات، الجرب، النخالية الحزازانية.

1-2-1-8- سير وإنذار المرض:

الفقاعاني الفقاعي غير المعالج ذو سير مزمن محدد لذاته. يحدث الهجوع خلال عدة أشهر أو قد يستمر لعدة سنوات، مدة المرض عادة 3-6 سنوات.

النكس شائع ويحدث عند حوالي نصف المرضى، يكون أشيع عند المرضى الين لديهم إصابة واسعة الانتشار، خرف، عيارات عالية من الأضداد في المصل. يتراوح معدل الوفيات في السنة الأولى بين 10-40%. لدى مرضى الفقاعاني الفقاعي لديهم خطورة تطور إنتان رئوي وصمات.

1-2-1-9- تقييم الشدة:

يتم استخدام مشعر مساحة مرض الفقاعاني الفقاعي BP Disease Area Index الذي يعتمد على تسجيل شدة كل من: 1-الآفات الجلدية النموذجية والغير نموذجية في 12 منطقة من الجسم 2-الآفات المخاطية 3- الحكة [1].

1-2-2- الجلاد الخطي IgA:

هو أكثر الأمراض الفقاعية المناعية شيوعاً عند الأطفال والولدان. مُيّز عن التهاب الجلد حلئي الشكل لأول مرة عام 1975 من قبل Chorzelski و Jablonska بالموجودات المناعية [51, 52].

1-2-2-1- الوبائيات:

معدل الوقوع الحقيقي غير معروف. بلغ معدل الوقوع 0.25-1 لكل مليون في السنة في أوروبا وسنغافورة والكويت [12].

العمر: يوجد ذروتان لبدء المرض تحت عمر الخمس سنوات وبين 60-65 من العمر.

يتشابه المرض من الناحية النسيجية والمناعية عند الأطفال والبالغين على الرغم مع وجود اختلاف في بعض المظاهر السريرية. يطلق عادة على النمط الطفلي الداء الفقاعي المزمن في الطفولة. عادة ما يكون جلاد IgA الخطي عند البالغين محرض بالأدوية.

الجنس: يوجد ميل خفيف لإصابة الإناث.

1-2-2-2- الآلية الإمراضية:

يوجد نمطين مميزين بناء على ترسبات IgA المحددة بالمجهر الالكتروني المناعي: نمط الصفيحة النيرة وهو النمط الغالب ونمط تحت الصفيحة الكثيفة.

يتوضع الغلوبولين المناعي في نمط الصفيحة النيرة في الصفيحة النيرة ويؤدي إلى تشكل النفاطات في منطقة الغشاء القاعدي، ترتبط الأضداد الممرضة IgA مع المستضد 97kDa والذي يمثل المجال الخارجي

المشقوق للBPAG2 ويطلق عليه LABD97، أما المستضد النوعي لنمط تحت الصفيحة الكثيفة فهو غير معروف [2].

العوامل المحرضة: الأدوية ويعدُّ الفانكومايسين هو الأكثر شيوعاً، إضافة لمضادات الالتهاب اللاستيروئيدية والبنسيلينات، الرض، الإنتانات، اللقاح، التعرض للأشعة فوق البنفسجية.

1-2-2-3- الأمراض المرافقة:

سجل ترافقه مع العديد من الأمراض منها الأمراض المعدية المعوية كداء كرون والتهاب الكولون التقرحي، اعتلال الأمعاء الحساس للغلوتين بنسبة تتراوح بين (0-24%)، أمراض المناعة الذاتية، الإنتانات، الخباثات [2].

1-2-2-4- التظاهرات السريرية:

تتشابه الآفات عند الأطفال والبالغين وتتضمن فقاعات متوترة، حويصلات، لويحات شروية، تآكلات، غالباً ما تأخذ الفقاعات والحويصلات شكل حلقي وتتوضع على حواف الآفة لتشكل ما يسمى عقد اللؤلؤ، الحكة تتراوح بين شديدة لغائبة.

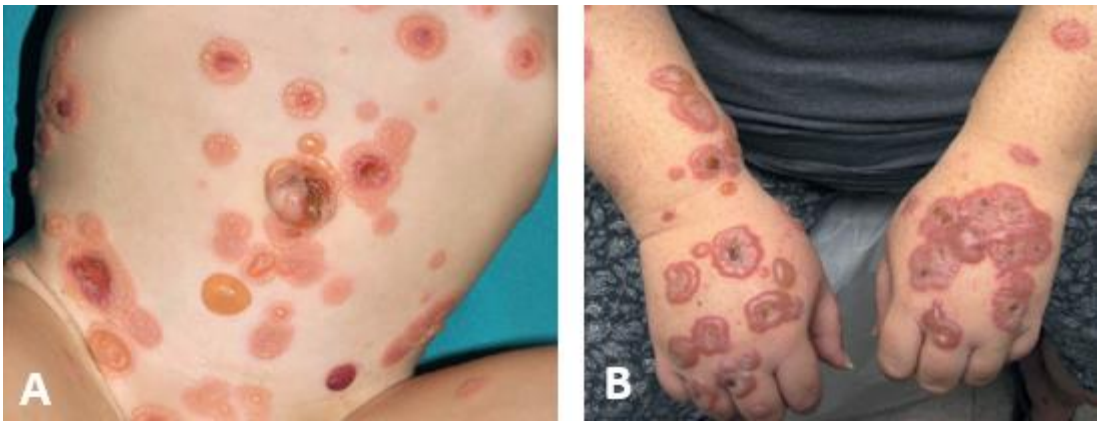
تظهر الآفات عند الأطفال ظهوراً مفاجئاً أكثر من البالغين وتفضل المناطق حول الفم وحول العجان إضافة لباقي المناطق كالجذع والأطراف والتي تكون إصابتها أساسية عند البالغين [53]. (الصورة 7)

الإصابة المخاطية شائعة (70% من المرضى) وخاصة المخاطية الفموية. تشفى الآفات بدون ندبات.

1-2-2-5- التشخيص التفريقي:

- عند الأطفال: القوباء الفقاعية، انحلالات البشرة الفقاعية الوراثية.

- عند البالغين: الحمامى عديدة الأشكال اللانموذجية، التهاب الجلد العصبي، الأكال. فضلاً عن باقي الأمراض الفقاعية تحت البشرة في كلا الفئتين.



الصورة 7 جلاد IgA الخطي: فقاعات متوترة بشكل حلقي مع تجلب مركزي: A– عند طفل B– عند بالغ [2].

1-2-2-6- سير المرض والإنذار:

يستجيب المرضى استجابةً جيدةً غالباً على المعالجة. يمكن أن يحدث النكس بعد 2–4 سنوات وغالباً ما يكون أقل شدة من الهجمة الأولى للمرض. معظم الأطفال يحدث لديهم هجوع تام في سنتين، ونادراً ما يستمر المرض لبعد البلوغ. أما جلاد IgA المحرض بالدواء يشفى في 4–8 أسابيع من إيقاف الدواء وقد تستمر بعض الحالات لأشهر [2].

1-2-3- التهاب الجلد حلئي الشكل: Dermatitis herpetiformis

وصفه Duhring في 1884 لأول مرة [54].

1-2-3-1- الوبائيات:

أكثر شيوعاً عند الأشخاص من شمال أوروبا، وهو غير شائع عند الآسيويين والأفريقيين والأميركان. تتراوح نسبة الانتشار بين 1.2-39.2 لكل 100 ألف نسمة، ومعدل الوقوع 0.4-2.6 لكل 100 ألف نسمة في السنة [55].

العمر: يبدأ غالباً عند البالغين في العقد الرابع من العمر، لكن سجلت حالات من الطفولة حتى الشيخوخة.

الجنس: أشيع عند الرجال من النساء [56].

1-2-3-2- الآلية الإمراضية:

يحدث كل من التهاب الجلد حلئي الشكل والاعتلال المعوي الحساس للغلوتين بسبب الاستجابة المناعية الذاتية لأضدادIgA تجاه الترانس غلوتاميناز.

يعد الترانس غلوتاميناز النسيجي tissue transglutaminase (tTG) المستضد الأساسي في الاعتلال المعوي الحساس للغلوتين أما في التهاب الجلد حلئي الشكل فإن المستضد المسيطر هو الترانس غلوتاميناز البشروي epidermal transglutaminase 3 (TG3). يمتلك كلا البروتينين تماثل كبير بالمجال الأنزيمي ويتم التعبير عنهما في البشرة الطبيعية، إذ يعد TG3 ضروري في الروابط التصالبية والحفاظ على الطبقة القرنية.

سلسلة الأحداث التي تؤدي للالتهاب والحكة غير واضحة تماماً تتضمن الفرضيات تحرر TG3 من الخلايا الكيراتينية إلى الأدمة الحليمية حيث يمكنها الارتباط بأضداد IgA الجائلة في الدوران أو أن المعقد المكون

من TG3 وIgA يترسب في الجلد يلي ذلك الارتشاح بالعدلات والذي يؤدي إلى الالتهاب وحدوث الانفصال ضمن الصفيحة النيرة [2].

الوراثة: يوجد ترافق بين التهاب الجلد حلئي الشكل وأنماط محددة من HLA وخاصة HLA-DQ2 وبدرجة أقل HLA DQ8 [57].

العوامل البيئية: العامل الأساسي في إمراضية الاعتلال المعوي الحساس للغلوتين والتهاب الجلد حلئي الشكل هو الحمية الحاوية على الغلوتين والغليادين [58].

من العوامل البيئية الأخرى التعرض للإيودين الذي يؤدي إلى اشتداد المرض، أما التدخين فقد يسبب تخفيف المرض.

1-2-3-3- الأمراض المرافقة:

يترافق مع الاعتلال المعوي الحساس للغلوتين في أكثر من 90% من المرضى وهو الأكثر شيوعاً، وتختلف شدة الاعتلال المعوي عند مرضى التهاب الجلد حلئي الشكل اختلافاً كبيراً، وقد يترافق مع مرض خفيف أو صامت سريرياً لذا يجب تحري الإصابة المعوية المرافقة لدى جميع المرضى، يتحسن كلا المرضين باتباع حمية خالية من الغلوتين ويحدث نكس عند عدم الالتزام بها. كما أنه يترافق مع خطورة عالية لتطور لمفوما الأمعاء الدقيقة يحمي الالتزام بالحمية الخالية من الغلوتين من تطور اللمفوما. يترافق أيضاً مع أمراض المناعة الذاتية الأخرى والأكثر شيوعاً هو أمراض الدرق المناعية الذاتية [1, 2].

1-2-3-4- التظاهرات السريرية:

العرض الأساسي لدى مرضى التهاب الجلد الحلئي هي الحكة، وقد توجد أعراض الاعتلال المعوي المرافق كالإسهال والانتفاخ وباقي الأعراض الهضمية [59].

الآفات الوصفية هي حطاطات حمامية وحويصلات بشكل مجموعات حلئية الشكل تأخذ توزع متناظر وتتوضع على السطوح الباسطة في المرفقين، الركبتين، الذراعين، الظهر، الإلية، الفروة [56, 58, 60] (الصورة 8) من النادر مشاهدة حويصلات سليمة بسبب الحكة الشديدة وغالباً ما يراجع المرضى بتسحجات، تشفى الآفات عادة دون ندبات [61]. قد تصاب الأغشية المخاطية، وقد تتطور فرفريات في الراحتين والأخمصين.



الصورة 8 التهاب جلد حلئي الشكل: حطاطات وحويصلات حمامية متسحجة [144].

1-2-3-5- التشخيص التفريقي:

الأكزيما، الجرب، لدغ الحشرات، التهاب الأوعية الشروي، الفقاعاني الفقاعي، الجلاد الخطي IgA.

1-2-3-6- سير المرض والإنذار:

التهاب الجلد حلئي الشكل هو مرض مزمن يتطلب اتباع حمية خالية من الغلوتين لمدة طويلة، تستجيب الآفات الجلدية عادة للمعالجة بالدابسون. يمكن أن يحدث هجوع بعد الأربعين من العمر. قد يحدث هجوع عفوي في حوالي 10% من المرضى لكن غالب حالات الهجوع السريري مرتبطة بالحمية الخالية من الغلوتين [62].

المرضى الذين يستجيبون باتباع الحمية لديهم إنذار جيد وبإمكانهم تخفيض أو إيقاف المعالجة بالدابسون أما المرضى الذين لديهم اعتلال معوي حساس للغلوتين ولا يستجيبون للحمية الغذائية لديهم إنذار سيئ.

1-2-3-7- الاختلاطات:

تتعلق الاختلاطات المرتبطة بالتهاب الجلد حلئي الشكل بالاعتلال المعوي الحساس للغلوتين والخطورة المرافقة للمفوما الأمعاء الدقيقة. يؤدي الاعتلال المعوي إلى سوء امتصاص وبالتالي فقر دم ونقص وزن وتخلخل عظام وقصر قامة عند الأطفال [1, 2].

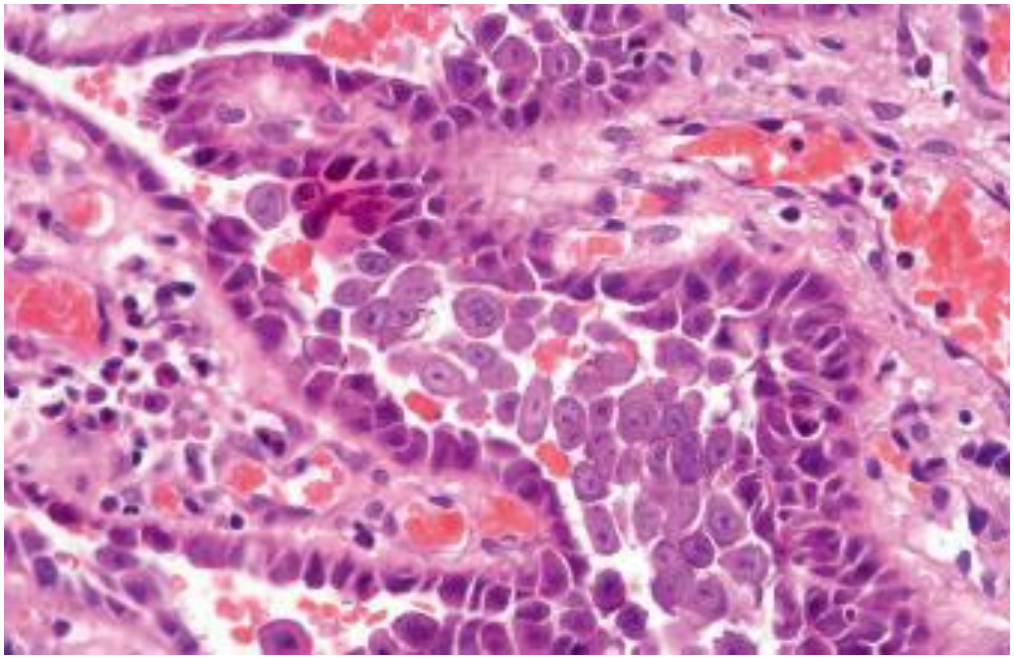
الفصل الثاني: الدراسة النسيجية

تفضل الخزعات المأخوذة من الآفات الحديثة من أجل الفحص النسيجي الروتيني. تؤخذ الآفة كاملة إذا كانت صغيرة أما في الآفات الكبيرة فيجب أن تتضمن الخزعة حافة الحويصل أو الفقاعة إضافة للمحيط الالتهابي. يجب أن تحتوي الخزعة في الآفات المخاطية على الحافة الفعالة للمنطقة العارية لأنه من النادر وجود نفاطات سليمة [2].

أولا: الأمراض الفقاعية المناعية ضمن البشرة

2-1-1- الفقاع الشائع:

أولى التبدلات النسيجية هي التسفنج بالحمضات أو السفاج في البشرة السفلية، يمثل هذا السفاج حقيقةً المرحلة الأبكر لانحلال الأشواك أكثر من كونه سفاج حقيقي (والذي هو تجمع السوائل خارج الخلوية ضمن البشرة). يسبب انحلال الأشواك تشكل شق يتطور إلى نفاطات تتوضع توضعاً أساسياً فوق الطبقة القاعدية (الصورة 9). تختلف كميات أضداد الديسموغلين 1و3 عند بعض المرضى الأمر الذي يؤدي إلى مستويات مختلفة من انحلال الأشواك [63]. غالباً ما يمتد انحلال الأشواك إلى ظهارة الملحقات والتي تفيد في تشخيص الحالات التي لا يظهر فيها سقف الفقاعة. تكون أرضية الجوف مبطنة بصف واحد من الخلايا القاعدية السليمة يسمى هذا الشكل الوصفي حجارة المقابر row of tombstones إذ تفقد الخلايا الكيراتينية القاعدية الاتصال مع بعضها وتبقى متصلة بقوة مع الأدمة (الصورة 10)



الصورة 9 انحلال الأشواك: الخلايا الكيراتينية مدورة منفصلة عن بعضها وتتبارز الحليمات الأدمية بشكل زغابات [70]

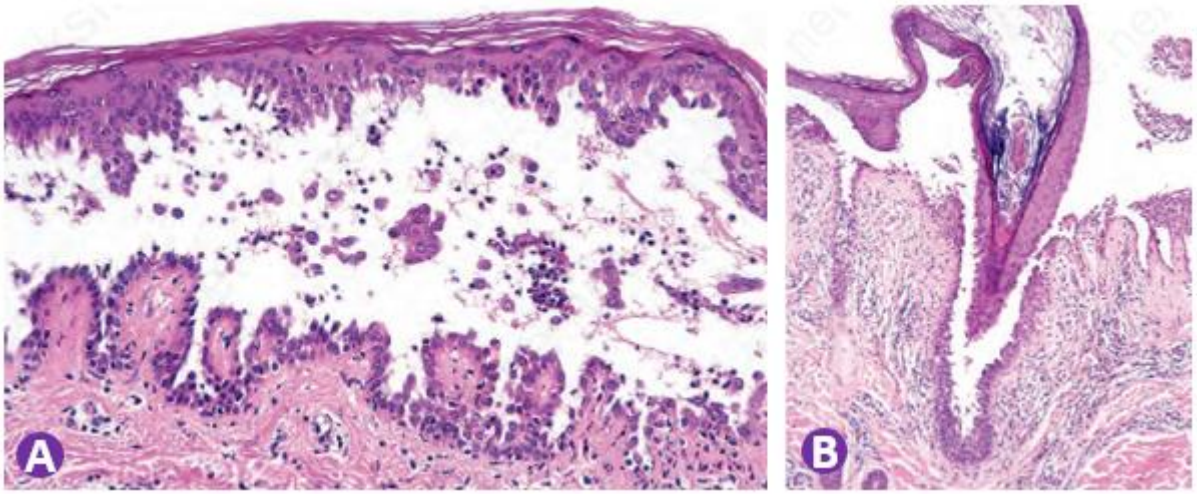
يحوي عادة جوف الفقاعة قليل من الخلايا الالتهابية ولا سيما الحمضات، كما توجد رشاحة التهابية لمفاوية مزمنة متوسطة حول وعائية في الأدمة تترافق مع وذمة أدمية، وعند وجود تسفنج بالحمضات قد ترتشح العديد من الحمضات في الأدمة. قد تكون الرشاحة الالتهابية في بعض الحالات خفيفة أو غائبة لا سيَّما في المراحل الباكرة [20].

العديد من التغيرات النسيجية تترافق مع زيادة عمر الآفة منها: تطور ارتكاس بالخلايا الالتهابية المختلطة يحتوي على عدلات ولمفاويات وخلايا بالعة وإيوزينات ـ حدوث تآكل وتقرح بسبب عدم ثباتية سقف الفقاعة ـ وجود عدة طبقات من الخلايا الكيراتينية في قاعدة الفقاعة بسبب حدوث هجرة وتكاثر للخلايا الكيراتينية ـ نمو البشرة نحو الأسفل ما يؤدي لظهور الزغابات [63].

تكون آفات الأغشية المخاطية متشابهة نسيجياً مع الآفات الجلدية.

التشخيص التفريقي النسيجي للفقاع الشائع:

- داء دارييه: يتميز بوجود عسر تقرن على شكل أجسام الحبيبات وكوربس.
- داء هيلي هيلي: يتميز بمنظر الجدار المتصدع ولا يحدث انحلال الأشواك في الظهارة الجريبية الذي يشاهد عادة في الفقاع الشائع. فضلاً عن أن هذين المرضين ليس لهما نمط نوعي في الومضان المناعي المباشر.
- الجلاد الحال للأشواك العابر(داء غروفر): خاصة النمط المشابه للفقاع والذي لا يمكن تمييزه نسيجياً عن الفقاع الشائع لكن الآفات الصغيرة سريرياً وسلبية الومضان المناعي تميزه بسهولة [64].



الصورة 10 فقاع شائع: (A) فقاعة فوق الطبقة القاعدية في البشرة مع منظر حجارة المقابر وزغابات (B) انفصال بظهارة الجراب الشعري [70].

2-1-2- الفقاع التنبتي:

على الرغم من أن الفقاع التنبتي أحد أنماط الفقاع الشائع إلا أنه يظهر سمات نسيجية مختلفة.

يوجد انحلال أشواك فوق الطبقة القاعدية لكن يكون خفياً وغير واضح عادة بسبب تكاثر الظهارة الكيراتينية والتي تظهر أحياناً كفرط تنسج ظهاري كاذبpseudoepitheliomatous hyperplasia .

يتميز بوجود رشاحة التهابية غزيرة تحوي العديد من الإيوزينات فضلاً عن وجود خراجات مجهرية داخل البشرة. يعد التسفنج بالحمضات سمة بارزة. قد توجد كريستالات سداسية إيوزينية 10–40 ميكرو متر Charcot–Leyden ضمن الخراجات المجهرية الغنية بالإيوزينات [64].

التشخيص التفريقي:

- بسبب التداخل النسيجي مع الفقاع الشائع يدخل في التشخيص التفريقي الأمراض التي ذُكرت في الفقاع الشائع.
- الإنتانات الجرثومية والفطرية التي تترافق مع فرط تنسج ظهاري كاذب وخراجات مجهرية.
- الأدواء الهالوجينية لكن لا يوجد فيها انحلال أشواك [64].
- تقيح الجلد التنبتي pyodermatitis vegetans خاصة عند المرضى الذين لديهم إصابة فموية، يترافق عادة مع أدواء الأمعاء الالتهابية، تكون العدلات أكثر شيوعاً أما انحلال الأشواك وخراجات الإيوزينات داخل البشرة فهي نادرة ويكون الومضان المناعي المباشر سلبي [63].

2–1–3– الفقاع الورقي:

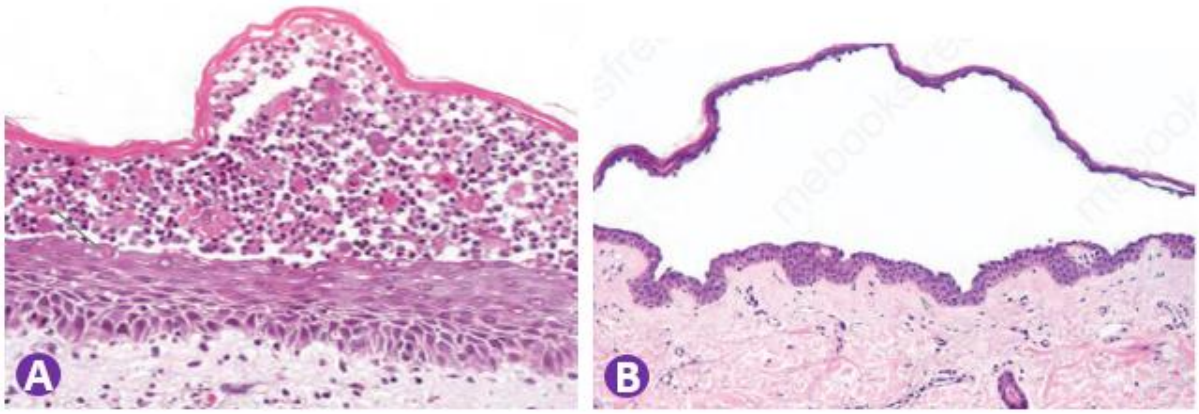
يتظاهر الفقاع الورقي نسيجيا بأحد ثلاثة أنماط :

1–السفاج بالحمضات

2–فقاعة تحت الطبقة المتقرنة مع قليل من الخلايا الكيراتينية منحلة الأشواك.

3–فقاعة تحت الطبقة المتقرنة مع خلايا كيراتينية حبيبية عسيرة التقرن [63].

تكون الفقاعات في الفقاع الورقي سطحية لذا تكون هشة وغالباً ما يكون سقف الفقاعة غير موجود بسبب تقشره قبل أو بعد إجراء الخزعة. قد يظهر فحص الأجربة الشعرية في هذه الحالات انحلال أشواك موضع. من الصعب ملاحظة انحلال الأشواك لكن يمكن أن يوجد قليل من الخلايا منحلة الأشواك متصلة بسقف أو أرضية الفقاعة [64] (الصورة 11).



الصورة 11 فقاع ورقي: A– فقاعة تحت الطبقة المتقرنة تحوي العديد من العدلات والخلايا منحلة الأشواك B– فقاعة تحت الطبقة المتقرنة مع قليل من الخلايا منحلة الأشواك بسقف الفقاعة [70].

تتوضع الشقوق أو الفقاعات في البشرة العلوية عادة لكن يمكن أن تحدث أيضاً في الطبقة الحبيبية أو في جميع أنحاء البشرة [65]. تحوي الفقاعات أحياناً العديد من الخلايا الالتهابية الحادة ولا سيَّما العدلات ما يجعل تمييزه صعب عن الأدواء البثارية تحت الطبقة المتقرنة كالقوباء الفقاعية وإنتانات الفطور الجلدية والمبيضات والصداف البثري والجلاد البثري تحت الطبقة المتقرنة (الصورة 11).

2-1-4- الفقاع الحمامي:

التبدلات النسيجية مشابهة للفقاع الورقي.

2-1-5- الفقاع الحلئي:

الموجودات النسيجية متنوعة وغير نوعية لذا يتطلب وضع التشخيص إجراء خزعات نسيجية عدة. يعد التسفنج بالحمضات الأكثر نموذجية للمرض، وقد تكون رشاحة العدلات هي المسيطرة. يوجد أيضاً بثرات وحويصلات داخل البشرة، خراجات مجهرية بالعدلات في الأدمة الحليمية. يوجد عادة خلايا منحلة الأشواك.

التشخيص التفريقي:

_ فقاع IgA يتم التمييز بينها بالدراسة الومضانية المناعية.

_ ارتكاسات فرط الحساسية والإنتانات عندما يكون التسفنج بالحمضات مسيطر نسيجياً [64].

2-1-6- الفقاع نظير الورمي:

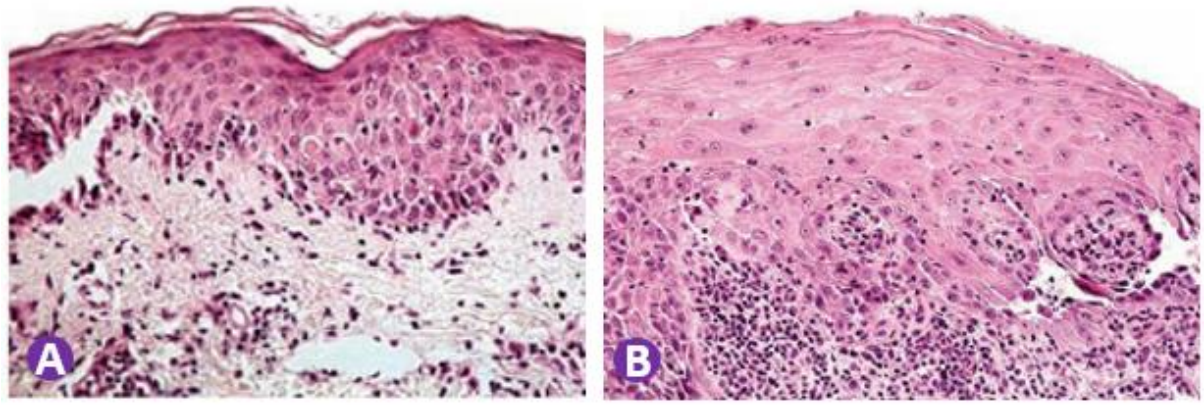
تتنوع التظاهرات النسيجية بناء على تنوع التظاهرات السريرية، إذ تظهر الآفات ترافق بين التظاهرات المشابهة للحمامى عديدة الأشكال والمشابهة للحزاز المسطح والمشابهة للفقاع والمشابهة للفقاعاني.

الموجودات الوصفية هي انحلال الأشواك فوق الطبقة القاعدية مع تشكل شق أو فقاعة (قد يشمل أحياناً ظهارة الملحقات) يترافق مع تبدلات الوُجيهة interface changes وتنكس تميعي بالخلايا القاعدية، فضلاً عن وجود خلايا عسيرة التقرن وانسلال الخلايا اللمفاوية للبشرة. يوجد عادة تسفنج إضافة لوجود رشاحة التهابية مزمنة حزازانية وحول وعائية في الأدمة العلوية وسلس الصباغ. قد يتظاهر فقط بالتهاب الوُجيهة الحزازاني dermatitis lichenoid interface دون انحلال أشواك. تتوضع الفقاعة تحت البشرة في النمط المشابه للفقاعاني

(الصورة 12)

كما تشاهد تبدلات مشابهة لانحلال الأشواك ومشابهة لالتهاب القصبات الساد في الظهارة المبطنة للقصبات التنفسية. عادة ما تشاهد أنماط نسيجية مختلفة في عدة خزعات لنفس المريض [63, 64].

التشخيص التفريقي: التهابات الجلد الخلالية (الاندفاع الدوائي، الحزاز المسطح، الحمامى عديدة الأشكال، داء الطعم ضد المضيف) _ الأنماط الأخرى للفقاع [64].



الصورة 12 الفقاع نظير الورمي: (A) النمط المشابه للحمامى عديدة الأشكال (B) النمط المشابه للحزاز المسطح [144].

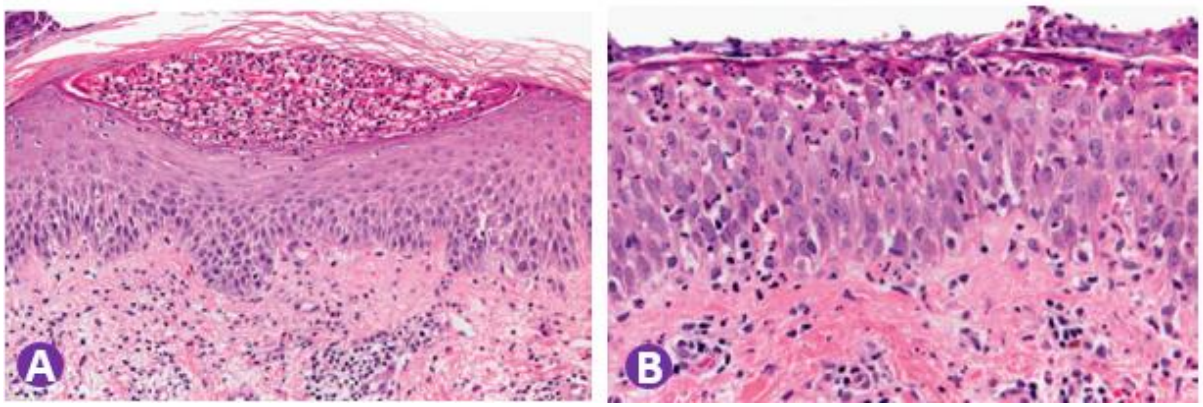
2-1-7- فقاع IgA:

يشاهد نمطين نسيجيين حسب النمط السريري (الصورة 13):

- الجلاد البثري تحت الطبقة المتقرنة (SPD): تتوضع الحويصلات تحت الطبقة المتقرنة وتترافق مع رشاحة بالعدلات.
- الجلاد المحب للعدلات ضمن البشرة (IND): تتوضع البثرات في جميع طبقات البشرة تحتوي أعداد متفاوتة من العدلات، قد تشمل الإصابة الأجربة الشعرية [64].

يوجد عادة انحلال أشواك لكن تكون قليلة. بعض المرضى لديهم موجودات نسيجية مشابهة للفقاع الشائع أو الورقي. ذكر وجود خراجات مجهرية بالعدلات في الأدمة الحليمية تترافق أحياناً مع تسفنج بالعدلات. وأحياناً توجد رشاحة حول وعائية سطحية مؤلفة من العدلات واللمفاويات والناسجات وأحياناً حمضات.

يتضمن التشخيص التفريقي: الجلاد البثري تحت الطبقة المتقرنة، القوباء الفقاعية، الفقاع الورقي [64].



الصورة 13 فقاع IgA : (A) نمط الجلاد البثري تحت الطبقة المتقرنة (B) نمط الجلاد المحب للعدلات ضمن البشرة [2].

2-1-8- الفقاع المحرض دوائياً:

تكون الموجودات في الآفات الباكرة غير نوعية كالسفاج، خطل التقرن، الرشاحة الأدمية. أما الآفات المتطورة تكون متطابقة مع الفقاع الشائع أو الورقي، ويشاهد أحياناً تسفنج بالحمضات بوضوح [63].

ثانياً: الأمراض الفقاعية المناعية تحت البشرة

2-2-1- الفقاعاني الفقاعي:

تتميز الآفات الباكرة بوذمة في الأدمة الحليمية تترافق مع رشاحة حول وعائية لمفاوية فقيرة أو غنية بالخلايا إضافة لرشاحة واضحة بالحمضات. تتوضع الفقاعة عند الوصل البشروي الأدمي [66] (الصورة 14).

في النمط الغني بالخلايا cell-rich pattern والذي يترافق سريرياً بالفقاعات التي تظهر على جلد حمامي قد تتطور خراجات حليمية بالحمضات مع العديد من الحمضات الخلالية وحول الأوعية مترافقة مع اللمفاويات والقليل من العدلات بالأدمة السطحية والعميقة.

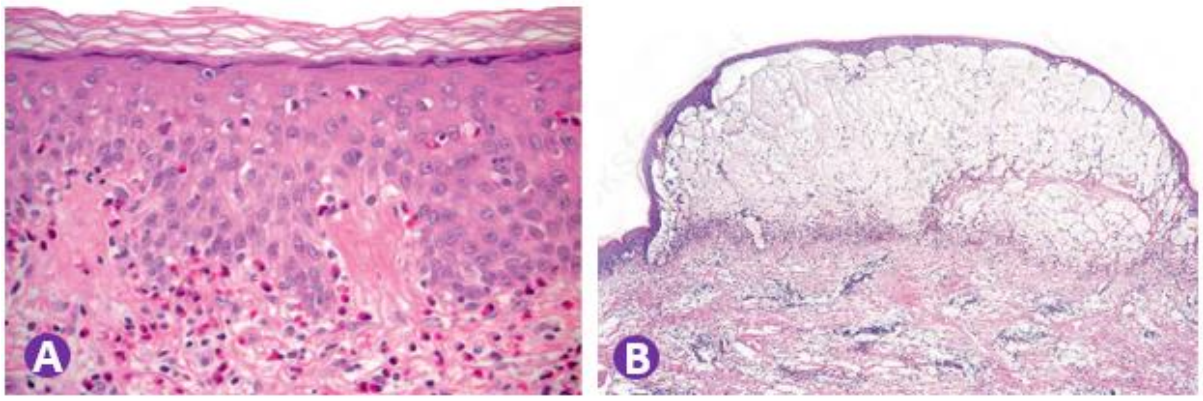
أما النمط الفقير بالخلايا cell-poor pattern يشاهد عندما تتطور الفقاعات على جلد سليم يوجد عادة رشاحة لمفاوية حول وعائية قليلة مع قليل من الحمضات تنتشر في جميع أنحاء الأدمة وبالقرب من البشرة ويحتوي جوف الفقاعة على قليل من الخلايا الالتهابية.

قد يشاهد تسفنج بالحمضات في البشرة المجاورة وقد تملك الآفات الباكرة مظاهر نسيجية مشابهة لالتهاب النسيج الخلوي بالحمضات (متلازمة ويلز) إذ تشاهد علامة اللهب (الصورة 14). تكون الفقاعات وحيدة الجوف وتحتوي سوائل الوذمة ومصل وفيبرين إضافة للخلايا الالتهابية. ومن الموجودات النموذجية في الفقاعاني الفقاعي هو بروز الحليمات الأدمية ضمن جوف الفقاعة معطية شكل يشبه الإكليل festooning. وقد تؤدي هجرة وتجدد البشرة في الآفات القديمة إلى توضع الفقاعة ضمن البشرة [63, 64].

- الفقاعاني الحويصلي أو متعدد الأشكال: يتميز بحويصلات تحت البشرة مع مظاهر مشابهة للفقاعاني الفقاعي أو التهاب الجلد الحلئي أو كلاهما، قد تشاهد في هذا النمط الخراجات المجهرية بالعدلات في الأدمة الحليمية.
- الفقاعاني التنبتي: يشبه الفقاع التنبتي يتميز بالشواك غالبا مع فرط تنسج ظهاري كاذب، وذمة بالأدمة الحليمية، فقاعة تحت بشروية، مع رشاحة التهابية مكونة من الحمضات واللمفاويات والناسجات وأحياناً عدلات.
- الفقاعاني العقيدي: يعطي مظاهر الآفات الأكالية التي تتميز بفرط التقرن، الشواك، التليف الأدمي، رشاحة أدمية حول وعائية باللمفاويات والحمضات إضافة للفقاعات النموذجية للفقاعاني الفقاعي [64].

التشخيص التفريقي: يدخل في التشخيص التفريقي الأمراض التي تؤدي إلى تسفنج بالحمضات.

- الفقاعاني الحملي: لا يمكن التمييز بينهما نسيجياً لكن في الفقاعاني الحملي تحوي الرشاحة الالتهابية عدلات أكثر وتخرب أكثر في الخلايا القاعدية.
- انحلال البشرة الفقاعي المكتسب (النمط الالتهابي): لا يمكن التمييز بينهما بالفحص النسيجي وقد يحوي انحلال البشرة الفقاعي المكتسب رشاحة عدلات أكثر.
- فقاعات السكري: غير التهابية، تتوضع تحت البشرة وتترافق عادة مع التليف.
- التهاب الجلد الحلئي: خاصة الآفات المتقدمة لأنها قد تحوي حمضات [63].



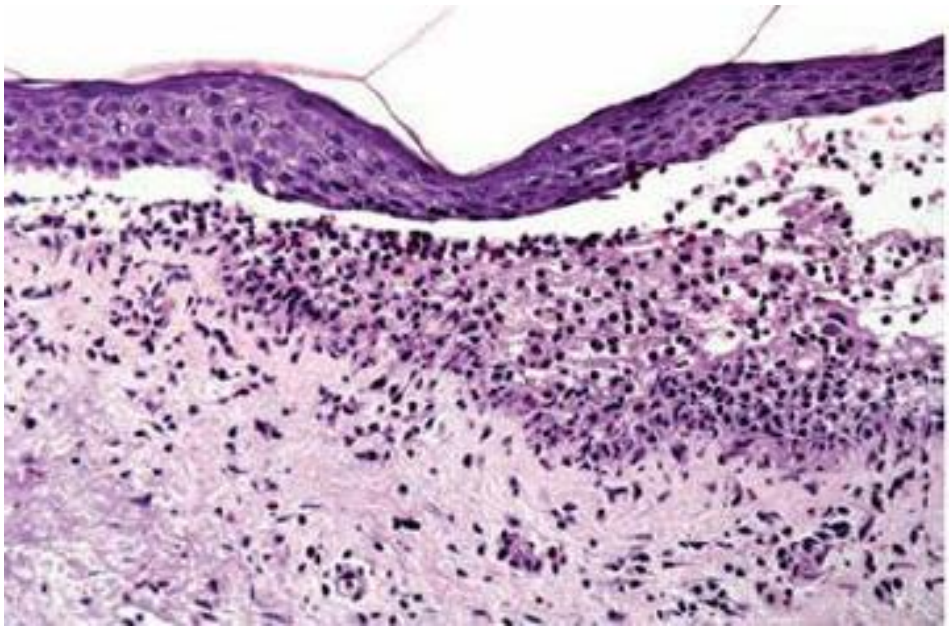
الصورة 14 الفقاعاني الفقاعي: (A) الطور الشروي للفقاعاني الفقاعي تسفنج بالحمضات [2]. (B) فقاعة تحت بشروية [70].

2-2-2- الجلاد الخطي IgA:

يتميز عادة بمظاهر نسيجية مشابهة لالتهاب الجلد الحلئي مع ميل أقل لتشكل الخراجات المجهرية بالعدلات وأكثر نحو وجود رشاحة بالعدلات على طول الوصل البشروي الأدمي (الصورة 15).

وقد يأخذ أحياناً شكل نسيجي مشابه للفقاعاني الفقاعي أو شكل مختلط بين المرضين [67, 68].

التشخيص التفريقي: التهاب الجلد الحلئي، الفقاعاني الفقاعي، انحلال البشرة الفقاعي المكتسب.



الصورة 15 جلاد IgA الخطي: فقاعة تحت بشروية مع العديد من العدلات [144]

2-2-3- التهاب الجلد حلئي الشكل:

العلامة النسيجية المميزة هي الخراجات المجهرية بالعدلات في الأدمة الحليمية التي تشاهد في الآفات الحمامية الباكرة أو في المناطق المجاورة للفقاعات في الآفات المتطورة ثم تتطور حويصلات صغيرة تحت البشرة تؤدي إلى تشكل فقاعات تحت بشروية متعددة الحجرات، تصبح بعد يوم ليومين وحيدة الحجرة بسبب فقد الاتصال بين الاستطالات البشروية والأدمة [69].

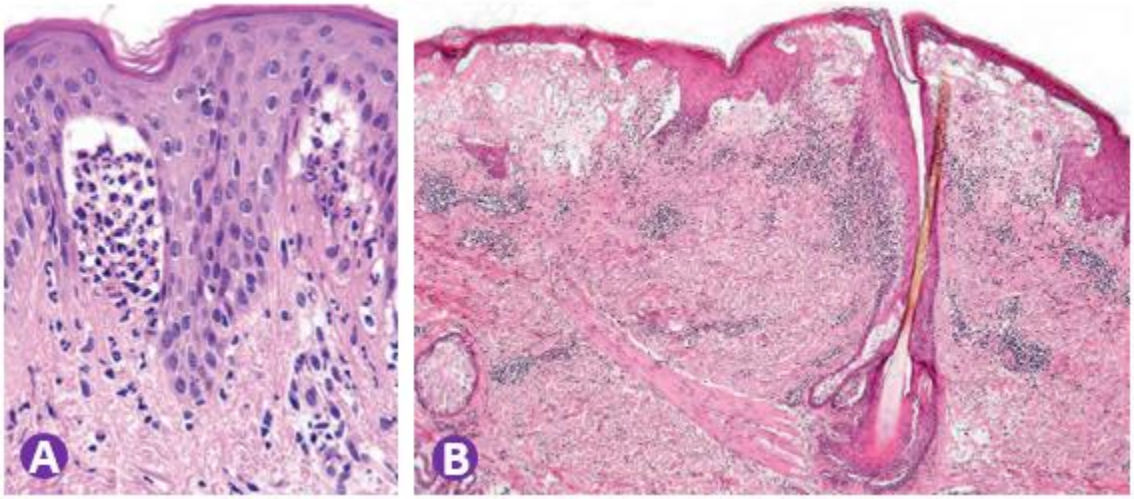
يحتوي جوف الفقاعة على سائل الوذمة، شبكة من الفيبرين، العديد من عديدات النوى. لا تبرز الأدمة الحليمية ضمن جوف الفقاعة عكس الفقاعاني الفقاعي. توجد رشاحة التهابية مختلطة في الأدمة تتألف من اللمفاويات والناسجات والكثير من العدلات (الصورة 16).

من المميز أيضاً وجود تكسر كريات بيض Leukocytoclasis وغبار نووي لكن لا يوجد التهاب أوعية بالرغم من وجود وذمة في بطانة الأوعية الدموية.

توجد الحمضات بأعداد كبيرة أحياناً لكن تتأخر 24-48 ساعة بعد العدلات.

قد يظهر أحياناً انحلال أشواك والذي يؤدي إلى التباس مهم.

التشخيص التفريقي: تشاهد خراجات العدلات المجهرية في الأدمة الحليمية المترافقة مع حويصلات تحت البشرة وعدلات مسيطرة في التهاب الجلد الحلئي إضافة للعديد من الأمراض منها: الفقاعاني الحويصلي، الذئبة الحمامية الفقاعية، جلاد IgA الخطي [64].



الصورة 16 التهاب الجلد الحلئي: (A) خراجات العدلات المجهرية في الأدمة الحليمية
(B) فقاعات تحت بشروية متعددة الحجرات [70]

الفصل الثالث: الدراسة الومضانية المناعية
Immunofluorescence

تمتلك تقنيات الومضان المناعي القدرة على تحديد تفاعلات الضد والمستضد على المستوى تحت الخلوي.

تتطلب هذه التفاعلات ارتباط غير عكوس مع واسم معروف من أجل التعرف عليها [70].

3-1- تاريخياً:

- في عام 1941 طور Coons وزملاؤه لأول مرة تقنية الومضان المناعي بمركب مضيء أزرق (بيتا إنتراسين) ما أمكن من رؤية المستضدات المجهرية والأضداد والعناصر الأخرى في المقاطع النسيجية أو اللطاخات الخلوية [71].

- بدأ علم الأمراض المناعي التشخيصي في الأمراض الجلدية في عام 1963 بإثبات ترسب المتممة والغلوبولينات المناعية على الوصل البشروي الأدمي في اختبار شريط الذأب الجلدي في الذئبة الحمامية الجهازية [72].

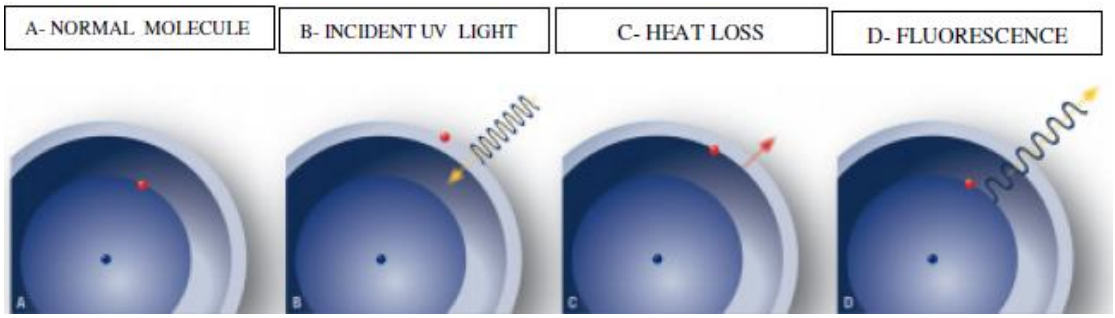
- في عام 1964 أثبت Beutner وJordon وجود الأضداد في المصل عند مرضى الفقاع بواسطة الومضان المناعي غير المباشر [73].

- وفي عام 1971أثبت Jordon وآخرون توضع أضداد IgG في المسافات بين الخلايا في البشرة بواسطة الومضان المناعي المباشر على الآفة والجلد حول الآفة [74].

3-2- مبدأ الومضان:

الومضان هو الضوء المنبعث من الجزيء بحالته المفردة singlet state وذلك أثناء عودته إلى حالته الأساسية ground state بعد امتصاص الفوتون من مصدر خارجي (الرسم التوضيحي 4).

يكون الإلكترون ضمن الجزيء في حالته الأساسية ثم يُثار بواسطة ضوء عالي الطاقة (ضوء الأشعة فوق البنفسجية) ما يؤدي لوصوله إلى حالة طاقية أعلى. بسبب عدم قدرة الإلكترون على الحفاظ على حالته الطاقية العالية يقوم بخفضها إلى حالة طاقية أدنى عن طريق فقدان الطاقة بالحرارة ثم يعود الإلكترون تلقائياً إلى حالته الأساسية الأصلية وتنبعث الطاقة المتبقية كضوء بطول موجد أطول وطاقة أقل مسبب الومضان [75].



الرسم التوضيحي 4 مبدأ الومضان [176]

3-3- أساسيات الومضان المناعي:

في هذه التقنية تتلون الأضداد أو المستضدات أو معقدات الضد –مستضد مع الأضداد المقابلة الموسومة بملون تألقيfluorochrome وتشاهد تحت المجهر الومضاني المزود بمصدر بخار الزئبق أو ضوء الزينون إضافة لمثير مناسب ومرشحات [76].

الملونات الومضانية fluorochromes هي مواد قادرة على امتصاص ضوء بطول موجة معين (الضوء المرئي أو الأشعة فوق البنفسجية) والوصول إلى حالة طاقية أعلى غير مستقرة ثم إعادة إصدار ضوء بطول موجة أطول عند العودة التلقائية إلى حالتها الأصلية [70, 77]. وتشمل الملونات الومضانية المستخدمة حالياً:

-الفلوريسيئين إيزوثيوسيانات Fluorescein Isothiocyanate (FITC) : ينتج تألق بلون أخضر

-رباعي ميتيل الرودامين إيزوثيوسيانات Tetramethyl Rhodamine isothiocyanate (TRITC): ينتج تألق أحمر اللون.

-Phycoerythrin: ينتج تالق أحمر اللون [77].

ترتبط (FITC) بالأضداد عن طريق الارتباط بالثيوكاربامايد دون أن تؤثر على قدرتها على الارتباط بالمستضد.

3-4- أنواع الومضان المناعي:

1-الومضان المناعي المباشر.

2-الومضان المناعي اللامباشر.

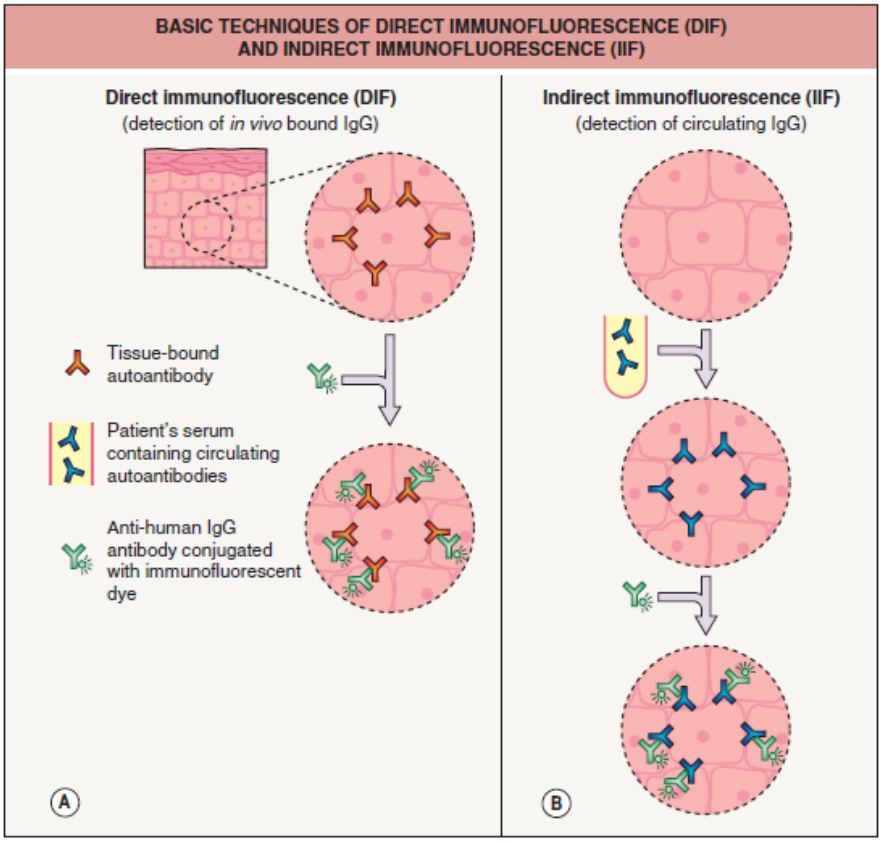
3-الومضان المناعي اللامباشر للمتممة.

3-4-1- الومضان المناعي المباشر: Direct immunofluorescence (DIF)

يؤدي وظيفةً تشخيصيةً مهمةً في العديد من الأمراض الجلدية المخاطية الالتهابية والمناعية الذاتية منها:

الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية، التهاب الجلد الحلئي، الذئبة الحمامية الجهازية، فرفرية هينوخ شونلاين. وله

وظيفة أيضاً كإجراء تشخيصي لكن أقل أهمية في جلادات أخرى كالتهاب الجلد والعضلات، البورفيرية، الحزاز المسطح، التهابات الأوعية [78]. تتألف هذه الطريقة من مرحلة واحدة إذ تكون الأضداد النوعية للجزيء الهدف موسومة بصبغة متألقة. تُستخدم أضداد الغلوبولين المناعي الموسومة بالFITC لكشف الأضداد الموجودة في الجسم الحي والمرتبطة بالمستضد الهدف في الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية [79, 80]. الرسم التوضيحي (5).



الرسم التوضيحي 5 تقنية الومضان المناعي: A: الومضان المناعي المباشر B: الومضان المناعي اللامباشر [2]

3-4-1-1- تقنيات الخزعة:

العينات المثالية في الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية هي المأخوذة من المنطقة الملتهبة غير النفاطية حول الآفة. تعد الخزعات المخرمية punch biopsy 3–4 مم كافية عادة. عدا في التهاب الجلد الحلئي يجب

إجراء الخزعة من الجلد السليم سريرياً المجاور مباشرة للحمامى لتجنب السلبية الكاذبة وتفضل أيضاً الخزعة الكاشطة الواسعة العميقة shave biopsy للحصول على عدد أكبر من الحليمات الأدمية بسبب وجود مناطق سلبية بين الترسبات الحليمية [63].

3-4-1-2- نقل وتحضير العينات:

يجب الحصول على نسيج طازج من أجل الدراسة الومضانية المناعية والمحافظة على رطوبته وتجميده بسرعة، إذ توضع العينات ضمن شاش مبلل بمحلول ملحي ووضعها في وعاء محاط بالثلج ثم تنقل إلى مختبر قريب خلال 24- 48 ساعة لتجنب تخرب الأنسجة أو توضع في وسط ناقل هو وسط ميشيل (وهو عبارة عن محلول سلفات الأمونيوم الموقي معتدل الحموضة إذ تبقى العينات ضمنه مدة أسبوعين على الأقل في درجة حرارة الغرفة وقد تبقى من شهر وحتى 6 أشهر دون أن تفقد خصائصها) [81-83]. ثم تُوجَّه العينات وتُثبَّت ويمكن إجراء تثبيت سريع لعينات الجلد في مرحلة التجميد بواسطة خليط درجة حرارة التبريد المثالية المتوفر تجارياً optimum cooling temperature (OCT) mixture [70]. وبعدها تُقطَّع العينات بوساطة جهاز قطع الشرائح المجمدة cryostat وهو حجرة فولاذية مبردة ذات درجة حرارة من -5 حتى -30 درجة مئوية، تحتوي على مشراح دقيقmicrotome ونظام تدوير الهواء المضاد للضباب [64].

تتراوح درجة الحرارة المثالية لقطع الجلد بين -25 حتى -35 درجة مئوية، وتكون سماكة القطع 6 ميكرومتر. تُحضن المقاطع المجمدة مع أضداد IgA،IgG ، IgM، C3، C5b-9، الفيبرينوجين. ترتبط هذه

الأضداد مع واسم متألق مثل fluorescein isothiocyanate (FITC) ليسمح برؤيتها بستخدام المجهر الومضاني [78].

3-4-1-3- تخزين الشرائح:

يمكن للكواشف المضادة للخفوت antifade reagents أن تحافظ على تألق شرائح الومضان المناعي المباشر المحفوظة بدرجة حرارة 2-8 درجة مئوية لمدة شهر على الأقل، وفي إحدى الدراسات بلغت مدة الحفظ 4-9 أشهر. كما أظهرت العديد من الدراسات أن المحافظة على الموجودات التشخيصية للشرائح في درجة حرارة الغرفة قد تمتد حتى 5 سنوات [81, 84].

3-4-1-4- أسباب السلبية الكاذبة:

- أخذ العينات من الآفات النفاطية يعد السبب الأشيع للنتائج السلبية الكاذبة إذ يحدث تنكس ثانوي للمستضدات والمعقدات المناعية. كما أن أخذ العينات من مكان بعيد عن النفاطة يسبب سلبية كاذبة أيضاً.
- عندما تكون العينة من آفة تم استهلاك المتفاعلات المناعية فيها خاصة في الآفات القديمة.
- عندما تؤخذ العينات في مرحلة باكرة حيث تكون المتفاعلات المناعية تحت مستوى عتبة الكشف.

3-4-2- الومضان المناعي اللامباشر: Indirect immunofluorescence (IIF)

يتألف هذا الإجراء من مرحلتين، ويستخدم لكشف الأضداد الجائلة في الدوران في مصل المريض.

الأضداد النوعية للجزيء الهدف في هذا الاختبار هي: أضداد أولية غير موسومة، والضد الثانوي هو ضد الغلوبولين المناعي والذي يكون موجه ضد الجزء الثابت للضد الأولي وموسوم بصبغة متألقة [79, 80].

يستخدم أيضاً في تشخيص الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية لتقييم وجود الأضداد الذاتية الجائلة في الدوران ومعايرتها وتحديد توضع المستضدات في الجلد إذ تُحضن الركيزة مع مصل المريض أولاً ثم تُضاف أضداد الغلوبولين المناعي الموسومة بالFITC لكشف الأضداد الممرضة.

الركائز الأشيع استخداماً في الومضان اللامباشر هي: مري خنزير غينيا– مري القرد– الجلد البشري السليم [63, 77].

3-4-3- الومضان المناعي اللامباشر للمتممة:

Complement Indirect immunofluorescenc

هو نوع آخر من الومضان المناعي اللامباشر، يتألف من ثلاث مراحل: إذ يُحضن مصل المريض مع الركيزة ثم تُضاف المتممة وتُضاف بعدها أضداد المتممة الموسومة بالفلوروسيئين لكشف وجود المتممة في النسيج.

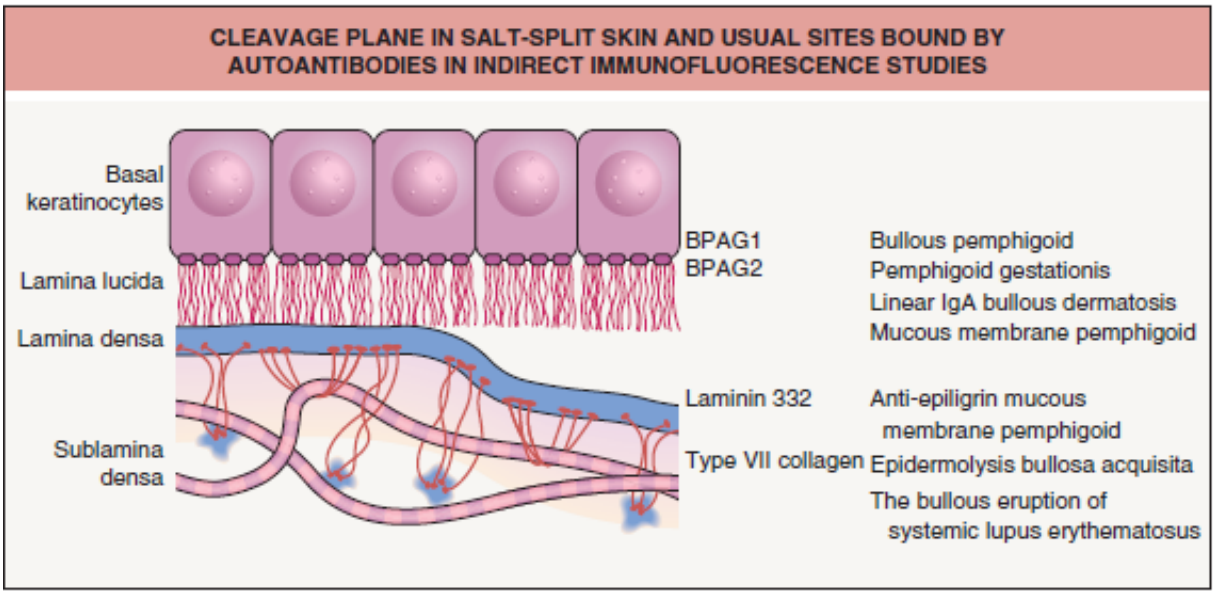
ينحصر التطبيق العملي لهذا الاختبار في تشخيص الفقاعاني الحملي [85].

3-5- اختبار فصل الملح في الومضان المناعي: Salt-split skin test

يعد اختبار فصل الملح أداة تشخيصية مهمة. طبق لأول مرة عام 1984 إذ استخدم الجلد الطبيعي كركيزة لفحص مصل المريض في تقنية فصل الملح اللامباشر [86].

كما يمكن إجراء اختبار فصل الملح المباشر على الجلد حول الآفات.

يُحضن الجلد الطبيعي أو جلد المريض في 1مل NaCl من 48–72ساعة بدرجة حرارة–4، ثم يُجرى إزاحة للبشرة جانبياً بمقدار 1 ملم تحت المجهر باستخدام ملقط جراحي بحيث تبقى متصلة بالأدمة من الجوانب. يؤدي ذلك لحدوث انفصال في مستوى الصفيحة النيرة lamina lucida للغشاء القاعدي (الرسم التوضيحي 6) وتبقى أنصاف الجسيمات الرابطة على الجانب البشروي والبروتينات المتوضعة عميقاً مثل الكولاجين السابع VII collagen والإيبيلغرين epiligrin على الجانب الأدمي للانفصال الصنعي [63].



الرسم التوضيحي 6 موقع الانفصال في اختبار فصل الملح [2]

يفيد هذا الاختبار في تمييز الأمراض الفقاعية تحت البشروية التي تترافق مع ترسبات مناعية في منطقة الغشاء القاعدي إذ تتوضع الأضداد في الفقاعاني (الفقاعاني الفقاعي، الفقاعاني الحملي، فقاعاني الأغشية المخاطية) في الجانب البشروي بينما في انحلال البشرة الفقاعي المكتسب والذئبة الحمامية الجهازية الفقاعية تكون الأضداد في الجانب الأدمي [64].

3-6- الوضان المناعي في الأمراض الفقاعية المناعية ضمن البشرة:

3-6-1- الفقاع الشائع:

3-6-1-1- الوضان المناعي المباشر في الفقاع الشائع:

يعدُّ الوضان المناعي المباشر المعيار الذهبي المؤكد لتشخيص الفقاع وهو أكثر دقة من الاختبارات المصلية[87]. تتراوح حساسيته بين 95% من الحالات تتضمن الحالات الباكرة والحالات ذات الآفات القليلة جداً وحتى 100% في المرض الفعال، يبقى إيجابي بعد الهدأة السريرية للمرض [63, 85].

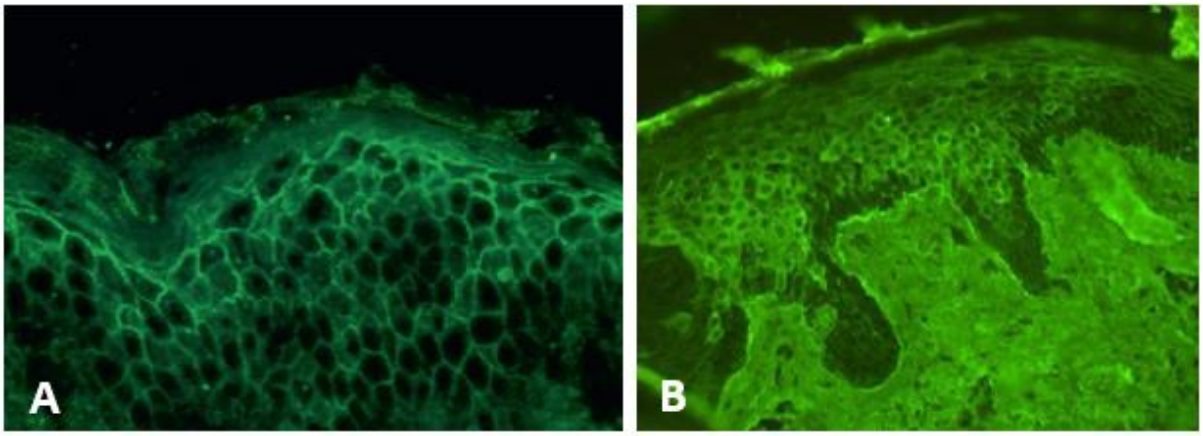
تظهر نتائج DIF ترسبات للIgG أو C3 أو كليهما حول الخلايا الكيراتينية في البشرة بشكل الشبكة net-like أو chicken-wire [88] أوبشكل نقطي يوصف بقطرات الندى على شبكة العنكبوت dew drops on a spider web [81, 89]. يعد النمط المختلط الخطي والنقطي شائع ويشاهد في 62% من الحالات بينما يشاهد النمط النقطي فقط في 27% من الحالات [81, 90] (الصورة 17).

تكون أضداد IgG إيجابية في 100%من الحالات وC3 في 50-100% [85]، قد توجد أضداد IgA وIgM لكن بدرجة أقل [1]. تشاهد تحت الأنماط IgG1 وIgG4 عند المرضى الذين لديهم مرض فعال، لكن IgG4 هي الممرضة [91, 92]. (الصورة 18)

تتعلق شدة الوضان المناعي المباشر بفعالية المرض، لكن مع ذلك قد يكون الوضان إيجابياً لدى مرضى في طور الهجوع السريري [85]. يعدُّ الوضان المناعي المباشر السلبي مؤشراً على الهجوع المناعي عند

مرضى الفقاع الشائع، وإن تكرار سلبية الومضان المناعي المباشر في الهجوع السريري يمكن عدُّه علامةً على شفاء المرض وإمكانية إيقاف العلاج عند هؤلاء المرضى [93, 94].

تُعدُّ الإيجابية الكاذبة للتألق المناعي المباشر نادرة جداً، لكن يمكن أن يشاهد تألقاً غير نوعياً بين الخلايا في كل من: الصداف، التهاب الجلد السفاجي، القوباء الفقاعية، البشرة المجاورة للقرحات، يحدث ثانوياً في العديد من الأمراض التي فيها رشح من المصل إلى المسافة بين الخلايا، ويكون غالباً IgA، IgM، فيبرينوجين، ألبومين [63].



الصورة 17 DIF في الفقاع الشائع: A– يظهر ترسب IgG بين الخلايا في البشرة [70] B– ترسب C3 في البشرة [200]

3-6-1-2- الومضان المناعي اللامباشر في الفقاع الشائع:

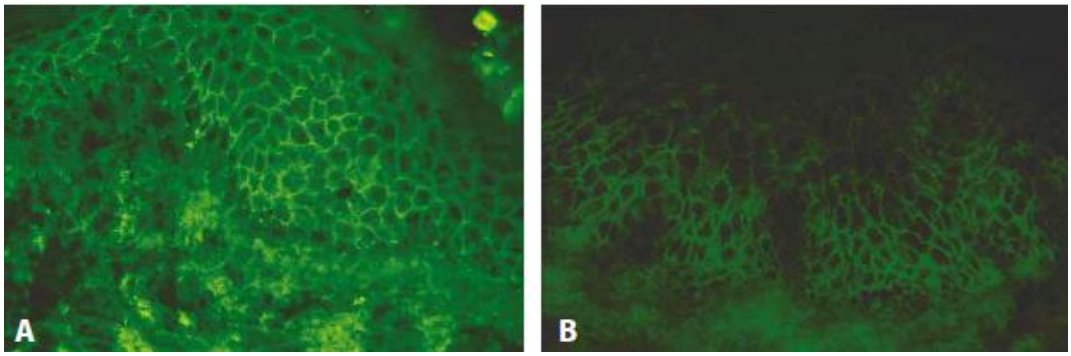
تُكشف أضداد IgG الجائلة في الدوران بهذه الطريقة بنسبة 80–90%. يعدُّ مري القرد الركيزة المثالية المستخدمة في الفقاع الشائع [63]. يستخدم الومضان اللامباشر استخداماً كبيراً في مراقبة الفعالية المصلية، وثبت أن عيارات الأضداد في مصل المريض ترتبط بشدة المرض. (الصورة 18)

تكون تحت الأنماط IgG1 وIgG4 هي المسيطرة، وبدرجة أقل IgG3 [95]. تنخفض عيارات IgG4 أثناء الهجوع بينما تستمر IgG1 في الدوران [87, 91] وغالباً ما ترتفع عيارات IgG4 قبل النكس [91]. وجد Judd وLever أن إعطاء جرعات عالية من الستيروئيدات يومياً يؤدي إلى التحسن السريري فضلاً عن انخفاض واضح في عيارات الأضداد الجائلة في الدوران، لكن لا يوجد ارتباط يمكن التنبؤ به بين فعالية المرض وعيارات الأضداد بالIIF عندما لا يتلقى المرضى العلاج بالستيروئيدات [96].

3-6-1-3- الإيجابية الكاذبة للتألق المناعي اللامباشر:

هذه الأضداد ليست نوعية تماماً وقد توجد في العديد من الحالات معطية تألق إيجابي كاذب كما في الحروق الشديدة، الرضوض، الارتكاسات الدوائية للبنسيلين، بعد المعالجة الشعاعية [64].

كما يمكن أن يحدث في كل من: انحلال البشرة النخري السمي، الفقاعاني الفقاعي، الوهن العضلي الوخيم، الذئبة الحمامية الجهازية، الحزاز المسطح، الفقاعاني الندبي، وعند المرضى الذين لديهم أضداد موجهة ضد زمر الدم A وb [63]. قد توجد أضداد ذاتية للديسموغلين دون وجود مرض فقاعي عند أقارب مرضى الفقاع الشائع [97]، ومرضى السحار السيليسي silicosis [98].



الصورة 18 فقاع شائع ترسب IgG على سطح الخلايا البشروية A-DIF B-IIF [188]

3-6-2- الفقاع التنبتي :

بما أنه يعد أحد أنواع الفقاع الشائع يترافق كلا تحت النمطين بترسب IgG و C3 في المسافة بين الخلايا في الومضان المباشر إضافة لوجود أضداد الفقاع الجائلة في الدوران [99].

يتميز الفقاع التنبتي بالأضداد الموجهة للديسموغلين3 [100, 101]، كما وصفت أضداد موجهة للديسموكولين 1و2 والبيريبلاكين [102, 103].

3-6-3- الفقاع الورقي:

يظهر الومضان المناعي المباشر ترسب أضداد IgG عادة وC3 أحياناً في المسافة بين الخلايا في البشرة. يظهر أيضاً الومضان اللامباشر أن مصل المرضى يحوي أضداد IgG التي تترسب بين الخلايا في البشرة الطبيعية في 60-70% من الحالات [104, 105].

الركيزة المستخدمة مري القرد عادة، لكن بسبب السلبية الكاذبة العالية لهذه الركيزة في الفقاع الورقي يمكن استخدام الجلد البشري السليم في الحالات المشتبهة مع سلبية الومضان [63].

يشاهد الومضان أكثر في البشرة السطحية يتوافق ذلك مع مستوى الانفصال بينما يظهر مرضى الفقاع الشائع ميل أكثر للبشرة السفلية على الرغم من ذلك لا يمكن وضع التشخيص بناء على اختلاف توزع أماكن الومضان المناعي [64, 106].

3-6-4- الفقاع الحمامي:

لدى المرضى سمات مناعية لكل من الذئبة الحمامية والفقاع، إذ توجد ترسبات مناعية لل IgG و C3 بين الخلايا في البشرة وفي منطقة الغشاء القاعدي إضافة إلى وجود أضداد النوى الجائلة في الدوران [2]. يوجد الترسب على الوصل عادة في الجلد المعرض للضياء لكن قد يشاهد عند بعض المرضى في الجلد غير المعرض للضياء [64].

يظهر الومضان اللامباشر باستخدام مري القرد كركيزة ترسب IgG بين الخلايا في 80% من الحالات.

تتعرف الأضداد على الديسموغلينات إضافة لمستضدات Ro وLa وDNA ثنائي الطاق [1].

تشاهد أضداد النوى في 30-8-% من الحالات [63].

3-6-5- الفقاع الحلئي:

تعد الدراسة الومضانية المناعية الأكثر موثوقية لوضع التشخيص لأن التظاهرات السريرية والنسيجية تكون عادة غير نموذجية. يظهر كل من DIF وIIF ترسبIgG على سطح الخلايا الكيراتينية بدرجة أساسية في البشرة العلوية. أغلب المرضى يكون الديسموغلين1 هو المستضد الهدف، بعض المرضى لديهم أضداد تجاه الديسموغلين3 [107 ,28].

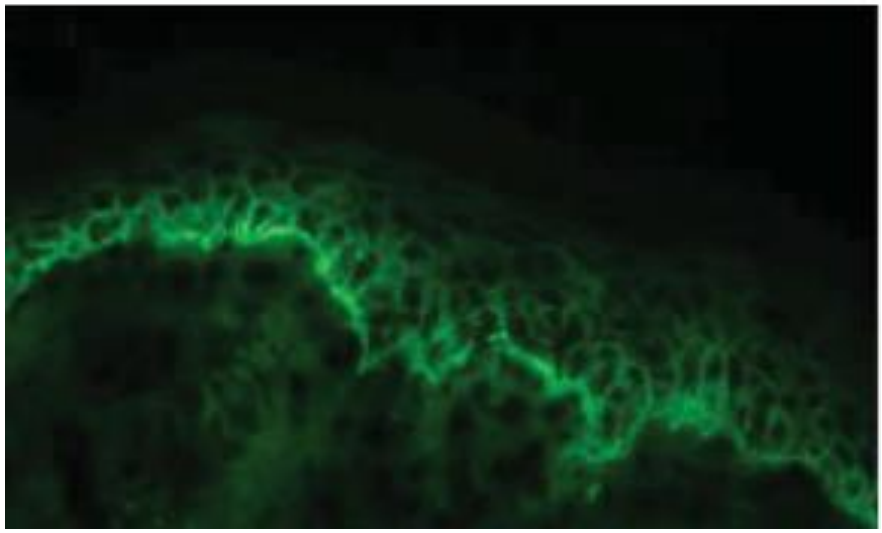
3-6-6- الفقاع نظير الورمي:

يتميز DIF في هذا النمط بالتوضعات المناعية على سطح الخلايا البشروية والتي قد تترافق مع وجود ترسبات خطية أو حبيبية للIgG أو C3 أو كلاهما في منطقة الغشاء القاعدي [81].

تكون الأضداد موجهة تجاه العديد من المستضدات وهي: بروتينات متعددة من عائلة البلاكين (الديسموبلاكين1و2، الإنفوبلاكينenvoplakin ، البيريبلاكينperiplakin ، مستضد الفقاعاني الفقاعي الأول)، الديسموغلينات 1و3، مثبط البروتياز 1-like-macroglobulin-2-alpha [108-110].

يمكن لهذه التفاعلات المناعية أن تكون محددة بالوصل أو بالمسافة بين الخلايا [111]. تترسب أضداد IgG بكامل سماكة البشرة بينما تكونC3 في الطبقات السفلية فقط [109, 112]. تتراوح حساسية DIF للفقاع نظير الورمي بين 27-41% [108, 113] (الصورة 19). سجل أيضاً ترسب للغلوبولينات المناعية وخاصة أضداد epiplakin في الظهارة التنفسية [114, 115].

يظهر IIF أضداد جائلة في الدوران ويملك حساسية ونوعية عالية في تأكيد الفقاع نظير الورمي [116]، وتعد ظهارة مثانة الجرذ الركيزة الأشيع استخداماً، إذ تتميز الظهارة الانتقالية بأنها غنية بالبلاكين لذا تمتلك نوعية عالية للفقاع نظير الورمي [117, 118].



الصورة 19 فقاع نظير ورمي: ترسب C3 بين الخلايا في البشرة وفي منطقة الغشاء القاعدي في DIF [183]

3-6-7- فقاع IgA:

يتميز النمط SPD لفقاع IgA بترسب IgA بين الخلايا في البشرة العلوية إضافة لوجود أضداد IgA الجائلة في الدوران والتي ترتبط أيضاً بالبشرة العلوية. أما في النمط IND تترسب أضداد IgA في البشرة السفلية وأيضاً أضداد IgA الجائلة في الدوران. يمكن أن تتوضع الأضداد بكامل سماكة البشرة عند بعض المرضى.

تكون الأضداد من تحت النمط IgA1 وبعيارات منخفضة عادةً [64]. لا توجد المتممة وIgM [119].

أما IgG فهو غير موجود عادة، لكن توجد حالات نادرة لفقاع لانموذجي مع أضداد IgG وIgA معاً يمثل نمطاً غير نموذجي لفقاع IgA [120, 121].

3-6-8- الفقاع المحرض بالأدوية:

تبلغ إيجابية DIF حوالي 90% من مرضى الفقاع المحرض بالأدوية [122]. ويظهر IIF أضداد IgG الجائلة في الدوران في 70%من الحالات. تكون عيارات الأضداد منخفضة عادة ولا ترتبط بشدة المرض[63].

3-7- الوضان المناعي في الأمراض الفقاعية المناعية تحت البشرة:

3-7-1- الفقاعاني الفقاعي:

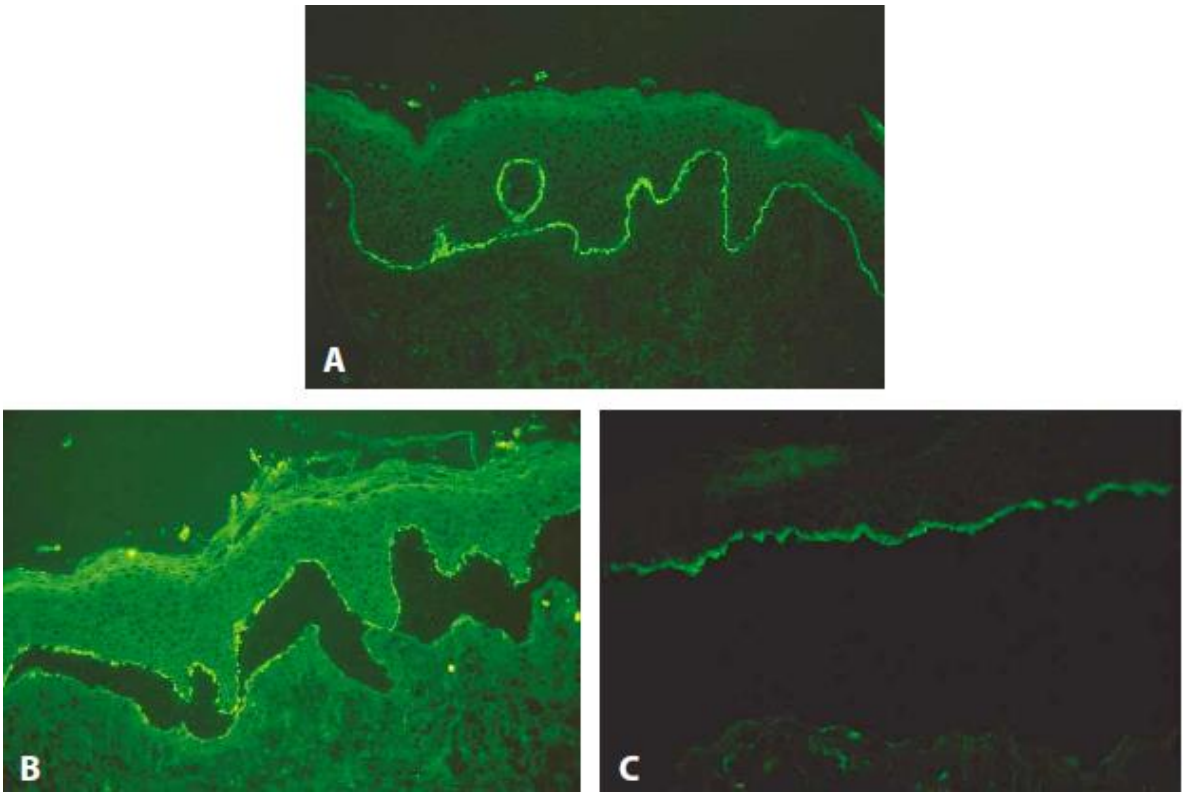
يظهر DIF ترسب خطي للغلوبولين المناعي IgG أو C3 أو كلاهما على الوصل البشروي الأدمي تبلغ حساسيته >90% ونوعيته98% [123-125]. قد توجد في بعض الأحيان IgM وIgA وIgE [126]. يكون نمط التسنن بال DIF في الفقاعاني الفقاعي بشكل حرف n (n-serration) يميزه عن النمط u الموجود في الأمراض غير الفقاعانية [127] (الصورة 20).

يظهر IIF أضداد IgG الجائلة في الدوران موجهة لمنطقة الغشاء القاعدي في 75-80% من الحالات يمكن أن ترتفع الحساسية إلى 90%باستخدام فصل الملح، يعد تحت النمط IgG4 هو الأكثر شيوعاً [64].

تظهر الدراسات الحديثة أن الأضداد الموجهة لمستضد الفقاعاني الفقاعي الثاني BP180 في المصل ترتبط مع فعالية المرض [128, 129]. فضلاً عن ذلك فالأضداد الذاتية الموجهة لBP180 وبدرجة أقل لBP230 ترتبط مع السير السريري عند مرضى الفقاعاني الفقاعي المعالجين موضعياً، وتستخدم لمراقبة فعالية العلاج [130]. كما ترتبط عيارات أضداد IgE بشدة المرض وبوجود الآفات الشروية والحمامية [131].

في الدراسة المناعية باستخدام تقنية فصل الملح اللامباشر ترتبط أضداد الفقاعاني بالجانب السفلي للخلايا الكيراتينية القاعدية (سقف الفقاعة) في 80% من الحالات وترتبط بحوالي 20% من الحالات بالخلايا القاعدية

السفلية (سقف الفقاعة) والجانب العلوي للأدمة (أرضية الفقاعة)، كما توجد أضداد IgG في اختبار فصل الملح المباشر في سقف الفقاعة أو في السقف والأرضية [63].



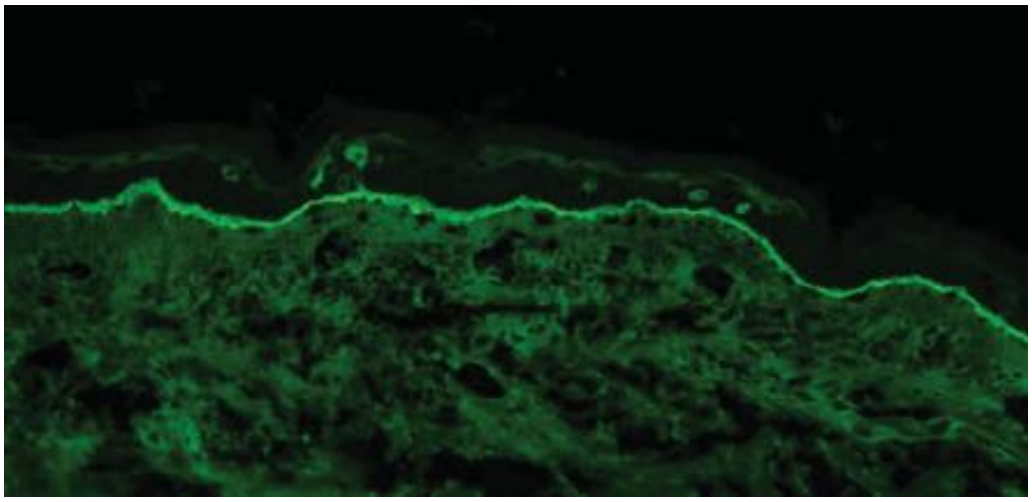
الصورة 20 فقاعاني فقاعي: A– ترسب C3 على طول الوصل البشروي الأدمي في DIF B –ترسب IgG على الجانب البشروي وبدرجة قليلة على الجانب الأدمي في اختبار فصل الملح باستخدام DIF C –ترسب IgG على الجانب البشروي في اختبار فصل الملح باستخدام IIF [188]

3-7-2- الجلاد الخطي IgA:

يظهر DIF ترسب خطي متجانس للIgAعلى طول الغشاء القاعدي في 100% من الحالات. قد يوجد IgG وأحياناً IgM وC3. يعد الجلد غير المصاب ولا سيَّما من الظهر المكان المفضل للخزعة (الصورة 21). توجد عيارات منخفضة من أضداد IgA الجائلة في الدوران في حوالي 30% من الحالات. أغلب الحالات يكون تحت النمط IgA1 هو المسيطر [64, 132].

قد يزيد اختبار فصل الملح الحساسية ويرفع عيارات الأضداد، وممكن أن تتوضع أضداد IgA المضادة للغشاء القاعدي على الجانب البشروي للانفصال أو الأدمي أو كلاهما [133].

عندما توجد ترسبات للIgG وIgA معاً على الوصل البشروي الأدمي في الومضان المناعي المباشر وغير المباشر يسمى الداء الفقاعي IgG/IgA، لم يُعد حتى الآن كمرض مستقل أو هو ضمن طيف الفقاعاني الفقاعي وجلاد IgA الخطي [134–136].



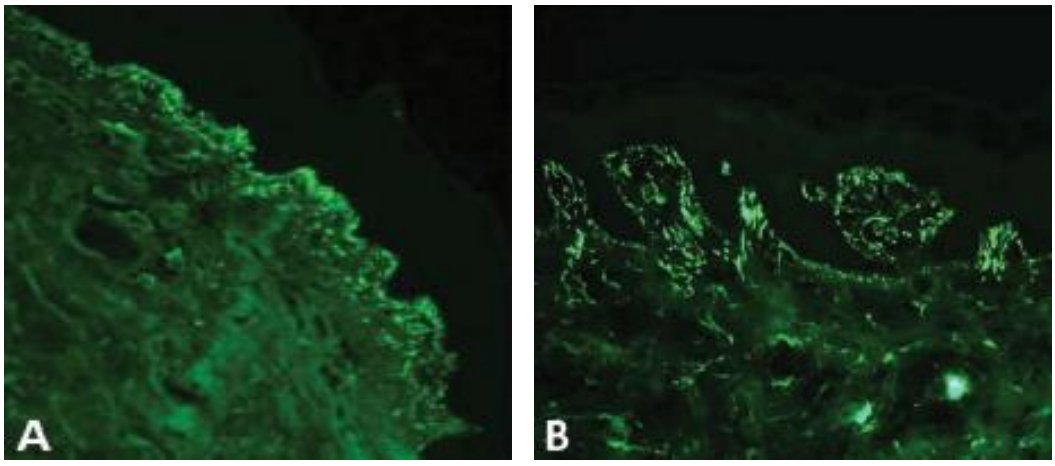
الصورة 21 جلاد IgA الخطي ترسب IgA بشكل خطي على طول الغشاء القاعدي في DIF [183]

3-7-3- التهاب الجلد الحلئي الشكل:

يظهر الومضان المناعي المباشر توضع حبيبي للIgA في منطقة الغشاء القاعدي وفي الأدمة الحليمية والذي يعد نوعي لالتهاب الجلد الحلئي [81] (الصورة 22). كما يمكن أن يشاهد النمط الخطي الحبيبي وفي هذه الحالات يجب الانتباه لوجود التحبب حتى لا يحصل التباس مع جلاد IgA الخطي. سجل حديثاً النمط الليفي (الشرائط الخطية) لترسب IgA [137–139].

يترسب IgA أيضاً في جدر الأوعية الدموية وحول الأجربة الشعرية وعلى طول منطقة الغشاء القاعدي للملحقات الجلدية [140].

يمكن أن يكون الومضان إيجابي حتى في الجلد السليم لذا يفيد DIF حتى عند نقص الموجودات السريرية [62]. قد تبقى أضداد IgA موجودة بعد المعالجة بالدابسون لكن تختفي أحياناً بعد حمية طويلة خالية من الغلوتين. عادة لا توجد باقي الغلوبولينات المناعية لكن يمكن وجود C3 [64].



الصورة 22 التهاب جلد حلئي الشكل DIF: (A) ترسب IgA بشكل حبيبي في الحليمات الأدمية والغشاء القاعدي

3-8- الومضان المناعي المباشر في الملحقات الجلدية:

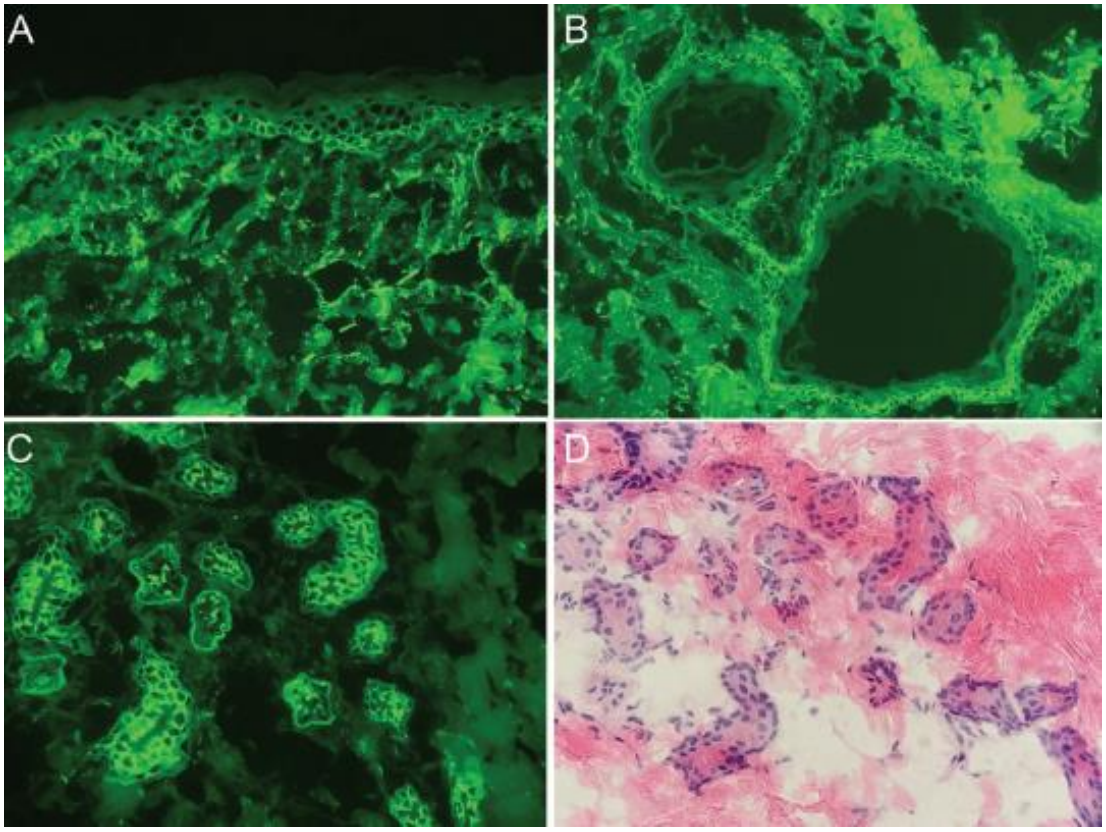
توجد المستضدات المستهدفة في العديد من الأمراض الفقاعية المناعية في الظهارة حول الأجربة وفي الغدد والأقنية العرقية المفرزة والمفترزة إضافة إلى وجودها في البشرة أو الوصل البشروي الأدمي [141, 142]. وقد أثبتت العديد من الدراسات التوزع التشريحي للجسيمات الرابطة وأنصاف الجسيمات الرابطة ضمن الأجربة

الشعرية، كما أثبتت التوزع التشريحي للعديد من بروتينات الوصل البشروي الأدمي: plectin, BP230, laminin 332, type VII collagen BP180, α6β4 integrin

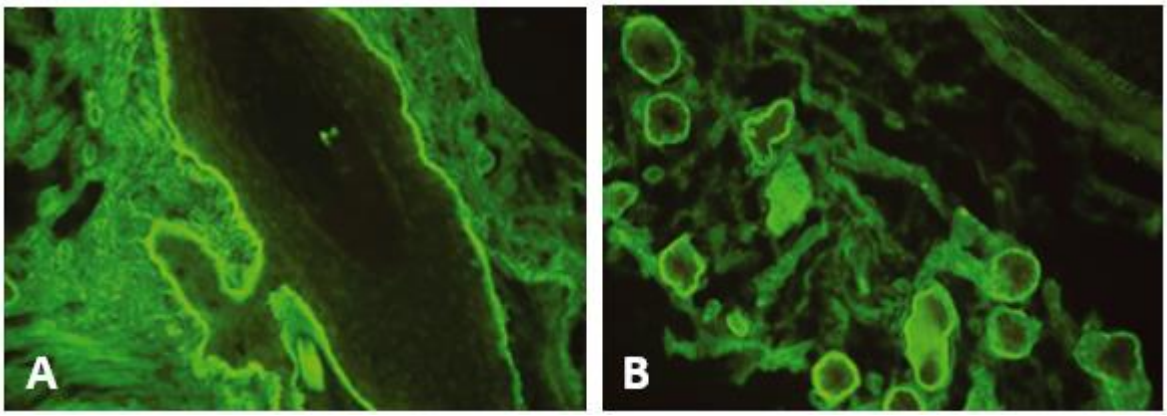
وأظهرت أن التعبير عن هذه البروتينات مشابه لما هو عليه في الوصل بين ظهارة الجراب الشعري واللحمة [143]. كما توجد الجسيمات الرابطة وأنصاف الجسيمات الرابطة والبروتينات المكونة لها في الغدد والأقنية العرقية المفرزة والمفترزة. أثبتت الدراسات أن الأضداد الذاتية في الفقاعاني الفقاعي وفي الفقاع الورقي المتوطن تتعرف على المحددات المستضدية للغدد العرقية المفرزة [144–146].

إن نتائج الومضان المناعي المباشر المرتبطة بالملحقات الجلدية تسهم في الحساسية التشخيصية للتألق المناعي المباشر في الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية وتفيد خاصة في الحالات التي لا يمكن فيها تقييم البشرة أو الوصل البشروي الأدمي [88, 143, 147] (الصورة 23). كما أن النمط التشخيصي للتألق المناعي في الملحقات قد يستمر في السلايدات المؤرشفة حتى 5سنوات [88].

بلغت حساسية الومضان المناعي المباشر حول الأجربة الشعرية والغدد العرقية في إحدى الدراسات 85% في الأمراض الفقاعية تحت البشروية، 100% في الفقاع والذئبة، 25% في التهاب الجلد الحلئي [147]. وفي دراسة أخرى بلغت الحساسية للIgG في كل من البشرة والأجربة الشعرية والغدد المفرزة 90%، 91.3%، 82.5% على التوالي في الفقاع الشائع و77.1%، 76%، 70.8% على التوالي في الفقاعاني الفقاعي (الصورة 24)، بينما كانت الحساسية الC3 كانت 72.5%، 78.3%، 65% في الفقاع الشائع، و97.9%، 84%، 85.4% في الفقاعاني الفقاعي [88].



الصورة 23 DIF في الفقاع الشائع يظهر ترسب C3 بين الخلايا : A– في البشرة B– ظهارة الأجربة الشعرية C– ظهارة الغدد المفرزة D– مقاطع H&E لإثبات وجود الغدد المفرزة [193]

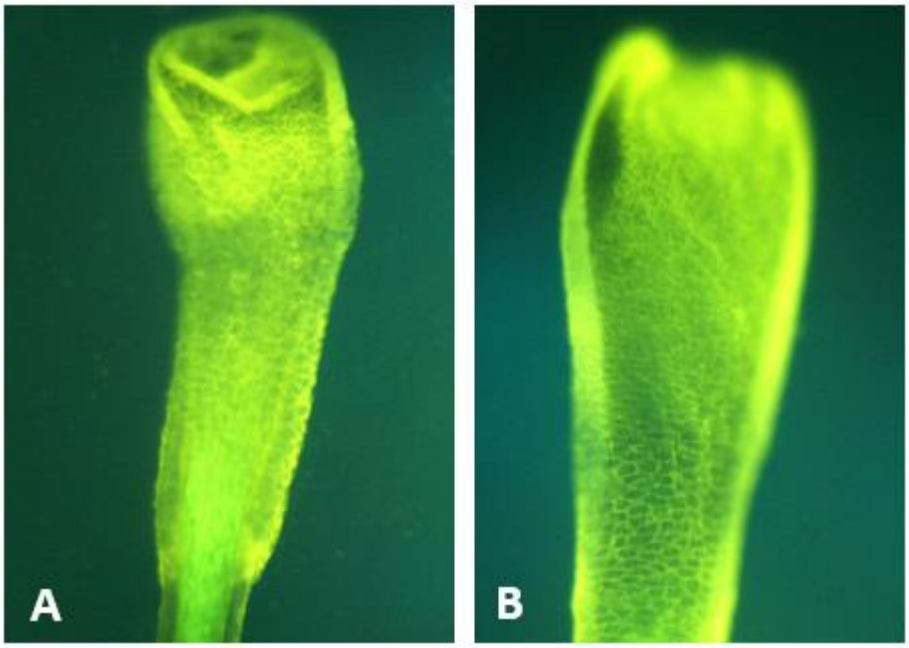


الصورة 24 DIF في الفقاعاني الفقاعي: A– ترسب خطي لـ IgG حول الأجربة الشعرية B– حول الغدد العرقية [250].

3-9- الوضان المناعي المباشر في الأشعار:

أثبت Wilson وزملاؤه أن غمد الجذر الخارجي لجراب الشعرة outer root sheath(ORS) وخلايا المطرق في البصلة الأدمية matrix cells في الفروة تكون غنية بالمستضد الهدف في الفقاع، وقد يكون هذا السبب في إصابة الفروة [148]. تبين حديثاً أن ORS والذي يتشابه هيكلياً مع الخلايا الكيراتينية البشروية يظهر موجودات إيجابية في الوضان المناعي المباشر وتتراوح حساسيته بين 85-100% [149-151]. إذ أثبت Schaerer وTrueb لأول مرة أن النمط النوعي للفقاع في الوضان المناعي المباشر يشاهد في غمد الجذر الخارجي لجراب الشعرة في الأشعار المقطوفة plucked hair (الصورة 25) وكانت النتائج إيجابية عند 100%من المرضى [150]. أثبتت دراسة أخرى مشابهة وجود انحلال أشواك في الجراب الشعري إضافة للترسبات المناعية النوعية للفقاع في غمد الجذر الخارجي ومطرق الجراب الشعري في الخزعات المدروسة [148].

كما أظهرت إحدى الدراسات موجودات وصفية لل DIF في غمد الجذر الخارجي لأجربة أشعار طور الراحة وطور النمو عند 100% من المرضى بغض النظر عن وجود إصابة في الفروة، وأثبتت أن النتائج الإيجابية لل DIF تشاهد أيضاً في أشعار الجسم [149]. لذا قد تستخدم الأجربة الشعرية كركيزة مناسبة للوضان المناعي المباشر [151].



الصورة 25 DIF يظهر ترسب IgG بشكل شبكة في غمد جذر الشعرة الخارجي:
A– أشعار طور النمو في الفقاع الشائع B– أشعار طور الراحة في الفقاع الورقي [255]

من الركائز الأخرى التي يمكن استخدامها لإجراء الومضان المناعي المباشر اللطاخة الخلوية (لطاخة تزانك) وستُذكر مفصَّلةً في قسم الدراسة الخلوية.

3-10- مزايا الومضان المناعي:

- يستخدم في التشخيص المخبري للعديد من الأمراض الجلدية.
- مفيد في تصنيف العديد من الأمراض المناعية الذاتية المتشابهة سريرياً.
- أداة أساسية لتأكيد التشخيص في الحالات الغير نموذجية سريرياً.
- يمكن استخدام عيارات الأضداد الجائلة في الدوران المحددة بالومضان المناعي اللامباشر كعامل إنذاري ومؤشر لفعالية المرض والاستجابة للعلاج عند مرضى الفقاع.
- يمكن بواسطته رسم خرائط المستضد التي لها وظيفة مهمة في تصنيف انحلالات البشرة الوراثية.

3-11- سلبيات الوومضان المناعي:

- إجراء غالي الثمن فضلاً عن ذلك فهو يتطلب تجهيزات خاصة من مخبر مجهز بجهاز قطع الشرائح المجمدة cryostat وثلاجة ذات تجميد عميق لتخزين العينات ومجهر ومضاني مع فنيين مدربين تدريباً جيداً ومشرح مرضي ذو خبرة بقراءة وتفسير نتائج الومضان المناعي.
- لا يمكن تخزين الشرائح الملونة في الومضان المناعي المباشر لمدة طويلة إذ يخمد الومضان في الشرائح بسرعة عند تعرضها لأشعة الشمس.
- إمكانية حدوث إيجابية كاذبة في الومضان المباشر واللامباشر.
- لا يمكن باستخدام الومضان المناعي التمييز بين أنماط الفقاع المختلفة (باستثناء فقاع IgA والفقاع نظير الورمي عندما تكون التوضعات المناعية في البشرة والوصل) إذ تتشارك جميعها في وجود الأضداد بشكل شبكي في المسافة بين الخلايا في البشرة، يتم التمييز بين هذه الأمراض باستخدام طريقة الإليزا enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ويُكشف بواسطتها عن الأضداد الذاتية الخاصة بمستضدات محددة، وتمتلك حساسية أعلى من الومضان المناعي اللامباشر [2].

3-12- محددات تقنية الومضان المناعي:

- التبييض الضوئيPhotobleaching :

يشير إلى التفاعل الكيميائي الضوئي الذي يسبب تخريب الملون الومضاني في العينة بواسطة الأنواع الأوكسيجينية التفاعلية reactive oxygen specie، يمكن إنقاصه عن طريق تخفيض شدة ضوء الإثارة ومدَّته باستخدام تركيز منخفض من الملون الومضاني وإضافة مزيلات الأوكسجين الأحادي singlet oxygen scavengers

- الومضان الذاتي Autofluorescence :

يحدث بسبب الأنزيمات المساعدة للفلافين flavin coenzymes و نيكليوتيدات البيريدين المنخفضة.

ويزيد التثبيت مع الألدهيدات وخاصة الغلوتارالدهيدglutaraldehyde من الومضان الذاتي.

_تداخل الومضان Fluorescence Overlap :

قد تتداخل إشارات الانبعاث أحياناً عندما يُصدر أكثر من لون واحد متألق [176] .

الفصل الرابع: الدراسة الخلوية:

4-1- لمحة تاريخية:

يعدُّ علم الخلايا التشخيصي علم حديث نسبياً وهو وسيلة تشخيصية تعتمد على دراسة تبدلات الصفات الشكلية التي تطرأ على الخلايا في المرض [24, 152, 153]، وقد استخدمت هذه الطريقة في تشخيص الأمراض المختلفة منذ منتصف القرن التاسع عشر [153, 154].

يعدُّ George Papanicolaou مؤسس علم الخلية التقشري exfoliative cytology. استخدم هذا العلم في الأمراض الجلدية لأول مرة من قبل الفرنسي Arnault Tzanck عام 1947 في الفقاع وإنتانات الحلأ [155-158]. وصف تزانك خلايا منحلة الأشواك لتشخيص الفقاع وخلايا عرطلة متعددة النوى وخلايا منحلة الأشواك لتشخيص إنتانات الحلأ كما وصف فيما بعد الموجودات الخلوية لبعض الأورام الجلدية وعمل مع Darier وCivatte على تصنيف الأمراض الفقاعية قبل اكتشاف الومضان المناعي لذلك سمي الفحص الخلوي المجرى للأمراض الجلدية باسم تزانك [155, 159]. أجريت فيما بعد العديد من الدراسات على لطاخة تزانك كما نشر VincenzoRuoccoأطلس للموجودات الخلوية للأمراض الجلدية في عام 1980 [160, 161]. ومنذ ذلك الوقت استخدم علم الخلية في تشخيص العديد من الأمراض الحويصلية، الفقاعية، التآكلية، الحبيبومية، الورمية. وأطلق على المسحة الخلوية اسم مسحة أو لطاخة تزانك Tzanck smear [158, 162-164] .

يعتمد التشخيص الخلوي المجهري على البحث عن الموجودات بالفحص المجهري والتي هي حجر الأساس بالتشخيص. تصنف نتائج الفحص الخلوي لأربع فئات: الخلايا–العوامل الممرضة –نموذج تجمع الخلايا –البنية خارج الخلوية [24].

4-2- تحضير عينات الفحص الخلوي:

تُحضَّر عينات الفحص الخلوي عبر ثلاث مراحل أساسية:

4-2-1- أخذ العينات:

تُؤخذ العينات بطرائق عدة (الصورة 26) حسب موقع ونمط الآفات :

1–كشط الجلد skin scraping: لأخذ مواد من آفات بثرية أو حويصلية فقاعية أو تآكلية.

يجب اختيار الآفات الحديثة لأن الآفات القديمة وإن كانت سليمة قد تؤدي إلى تشخيص خاطئ، إذ تختلط الموجودات الأساسية مع الإنتان الثانوي أو التنكس الخلوي أو تجدد البشرة في قاعدة الآفة.

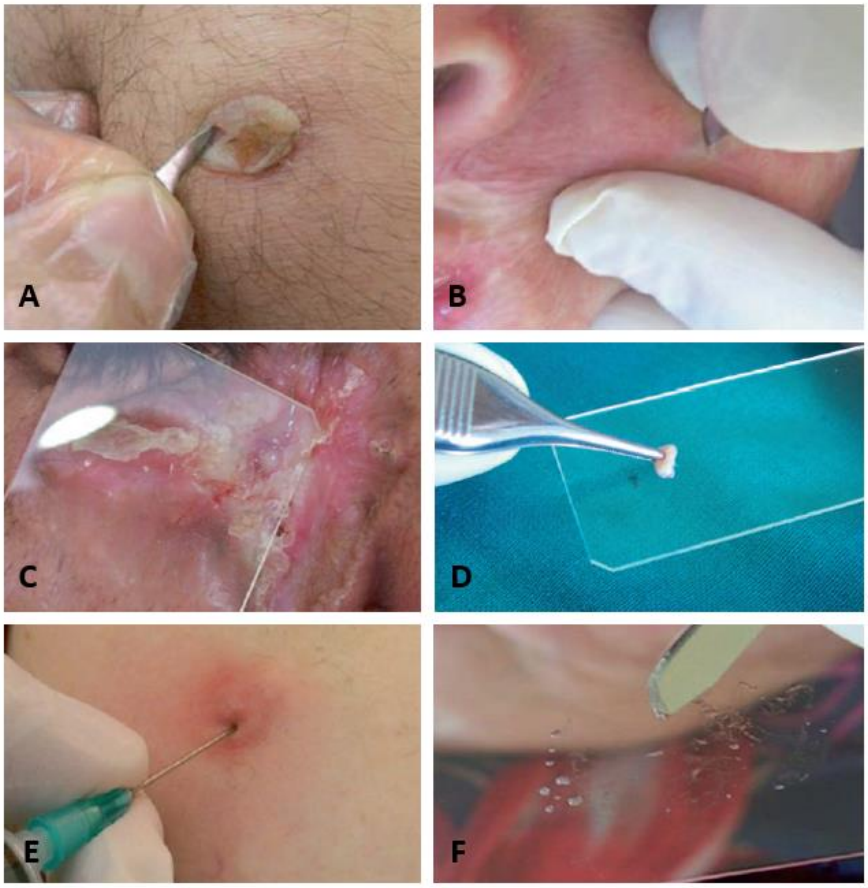
تُعقَّم الآفة أولاً بالكحول، ثم يُزال سقف الآفة بواسطة شفرة قياس 15، تُمسح المحتويات السائلة بلطف بواسطة قطنة دون لمس القاعدة. يجب أن لا تتضمن العينات المأخوذة محتويات الفقاعة أو الحويصل أو البثرة لأنها تقوم بغمر وإخفاء الخلايا الظهارية والالتهابية. تُكشط بعد ذلك قاعدة الآفة بالحافة الحادة للشفرة وتُستخدم فرشاة أو أداة كليلة للغشاء المخاطي الفموي لأنها تسبب نزفاً أقل. تُمد المواد الخلوية المأخوذة مباشرة على شكل طبقة رقيقة على شريحة مجهرية Microscope slide. تُزال الجلبة في الآفات المتجلبة بلطف بواسطة الملقط ثم تُكشط قاعدة الآفة.

2–كشط الأدمة dermal scraping أو لطاخة الجلد الشقية slit skin smear:

تُستخدم لأخذ العينات من الآفات الصلبة الحطاطية العقيدية والورمية .

3–لطاخة اللمس أو الانطباع touch smear: تُستخدم لتشخيص بعض الأمراض الإنتانية والتنشؤية.

4–الرشف بإبرة دقيقة fine needle aspiration: تُفضل هذه الطريقة لأخذ عينات من الكيسات أو العقيدات تحت الجلد [24, 153, 165].



الصورة 26 طرق أخذ العينات الخلوية: A– كشط الجلد B– اللطاخة الشقية C,D– اللطاخة الانطباعية E– الرشف بإبرة دقيقة F– مد المواد المأخوذة على شريحة مجهرية [53]

4-2-2- تثبيت العينات :

يجب تثبيت العينات مباشرة للوقاية من ضياع المواد الخلوية أثناء عملية التلوين ولمنع حدوث التأثيرات الصنعية والطرق المستخدمة الأكثر شيوعاً في الأمراض الجلدية:

1-التجفيف بالهواء: عند استخدام (Giemsa, MGG, Wright, Diff-Quik) Romanowsky stains الملونات الأكثر استخدام في الدراسة الخلوية الجلدية، مع تجنب التجفيف المفرط لأنه يؤدي لتورم الخلايا وفقدان التفاصيل النووية.

2-التثبيت بالكحول: عند التلوين بـ(Pap) papanicolaou stain أو hematoxylin_eosin (H&E)[24, 153].

4-2-3- تلوين العينات :

يجب تلوين العينات بسرعة حتى لا يحدث انكماش للخلية وتتبدل الخصائص الخلوية.

يعدُّ ملون غيمزا من الملونات الشائعة الاستخدام في الدراسة الخلوية الجلدية، يتألف من ثلاثة محاليل: ميتانول (مثبت)-الإيوزين والتيازين (الملونات الفعالة). من ميزات هذا الملون أنه يظهر التفاصيل السيتوبلاسمية والنووية جيداً لكن تصعب رؤية الجسيمات الاشتمالية الفيروسية ويحتاج إلى وقت طويل (30-45 دقيقة). يلون النواة باللون الأزرق والسيتوبلاسما باللون الزهري.

ومن التلوينات المستخدمة أيضاً في الفحص الخلوي الروتيني:

Wright ،Diff-Quick ،May- Grünwald-Giemsa

أما التلوينات الأخرى Papnicolaou، hematoxylin–eosin فتحتاج لوقت طويل وتستخدم في الدراسة النسيجية أكثر من الخلوية، لكن يستخدم Papanicolaou استخداماً خاصاً؛ لإثبات وجود الجسيمات الفيروسية الاشتمالية لتشخيص الثآليل وباقي الإنتانات الفيروسية.

كما يمكن إجراء تلوينات خاصة : مثل تلوين غرام في الإنتانات الجرثومية، التلوين المقاوم للحمض في إنتانات المتفطرات، حمض شيف الدوري PAS في إنتانات الفطور العميقة.

فضلاً عن التلوينات المناعية الومضانية التي تستخدم في التشخيص التفريقي للأمراض منحلة الأشواك والتي سنتحدث عنها مفصَّلاً [24, 153, 157].

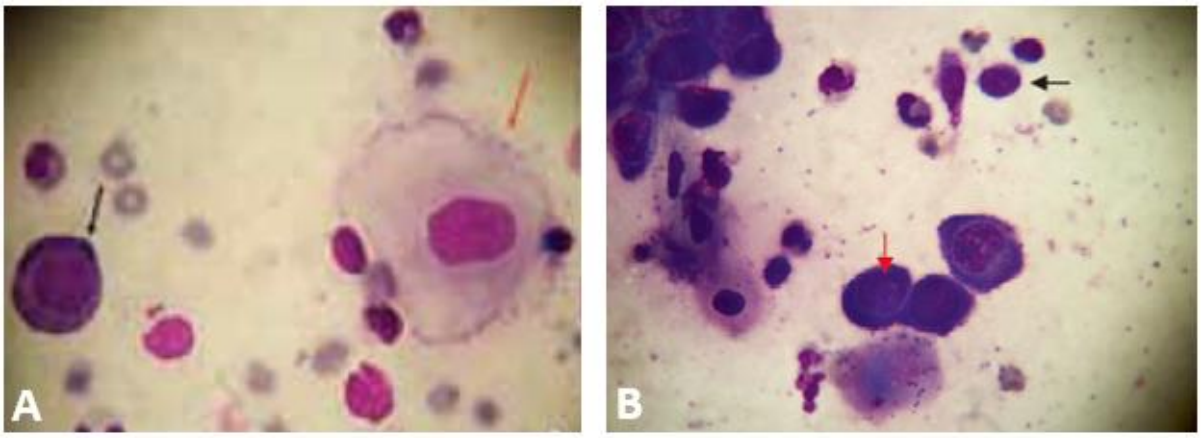
4-3- دور اللطاخة الخلوية في تشخيص الآفات التآكلية أو الحويصلية أو الفقاعية:

تعتمد اللطاخة الخلوية في الأمراض التي تتظاهر بآفات تآكلية أو حويصلية أو فقاعية على الآلية الإمراضية لانحلال الأشواك acantholysis (وهي كلمة يونانية akantha تعني شوكة وlysis تعني انحلال) يستخدم هذا المصطلح في أمراض بدئية في الجلد والأغشية المخاطية تتميز بحدوث انفصال الخلايا الكيراتينية عند جسيماتها الرابطة ما يؤدي إلى فقدان التماسك بين خلايا البشرة بسبب تخرب الجسور بينها. تبقى الخلايا سليمة لكن غير متصلة ببعضها وتميل لتصبح مستديرة إضافة لحدوث شقوق داخل البشرة وحويصلات وفقاعات [64, 158, 164].

يوجد طيف واسع من الاضطرابات التي تتميز بانحلال الأشواك ابتداءً من الاضطرابات الوراثية كداء داريه وهيلي هيلي (إذ تؤدي طفرة في مضخة الكالسيوم لعدم ثباتية الجسيمات الرابطة) إلى الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية في البشرة (مجموعة الفقاع) والتي تقوم فيها الأضداد الذاتية بتخريب الجسيمات الرابطة.

يمكن أن تتخرب الجسيمات الرابطة تخرباً ثانوياً تالي للوذمة الشديدة سواء داخل الخلية (سفاج) أو خارج الخلية (التنكس البالوني المشاهد في إنتانات فيروسية متعددة) لكن هذه الحالات لا تندرج ضمن تصنيف انحلال الأشواك [64].

الخلية منحلة الأشواك أو خلية تزانك النموذجية (الصورة 27) هي خلية كيراتينية تنكمش سيتوبلاسماها فتصبح الخلية مدورة تتميز بنواة ضخمة مع نوية غائبة أو مبهمة وسيتوبلاسما وفيرة محبة للأساس تكون أغمق عند الغشاء الخلوي معطية شكل mourning edged حيث تتكثف السيتوبلاسما في المحيط مؤدية لتشكل هالةً حول النواة. تكون نسبة النواة للسيتوبلاسما أعلى على حساب النواة. قطرها حوالي 2–2.5 ضعف حجم الخلية اللمفاوية [24, 158].



الصورة 27 فقاع شائع: A – خلية منحلة الأشواك (السهم الأسود) مقابل خلية كيراتينية طبيعية (السهم الأحمر)

B–خلية منحلة الاشواك (السهم الأحمر) مقابل خلية لمفاوية (السهم الأسود) [257].

الخلايا منحلة الاشواك هي من الموجودات النسيجية والخلوية التي توجد في أمراض مختلفة إنتانية ومناعية ووراثية وورمية. من الممكن أحياناً التمييز بين هذه الأمراض بالموجودات المرافقة للخلايا منحلة الأشواك [24] (الجدول 1 الأمراض منحلة الأشواك والموجودات المرافقة للخلايا منحلة الأشواك).

الجدول 1 جدول: الأمراض منحلة الأشواك والموجودات المرافقة للخلايا منحلة الأشواك [53]

المرض	الموجودات المرافقة للخلايا منحلة الأشواك
الإنتانات الحلئية	خلايا عرطلة متعددة النوى والجسيمات الاشتمالية داخل النواة
القوباء الفقاعية	خلايا منحلة الأشواك عسيرة التقرن، مكورات، عدلات
متلازمة الجلد السمطي بالعنقوديات	خلايا منحلة الأشواك عسيرة التقرن

داء داريه	الأجسام المدورة والحبيبات
داء هيلي هيلي	لا يوجد توضع IgG حول الخلايا منحلة الأشواك بالفحص الومضاني المناعي
داء غروفر	خلايا منحلة الأشواك عسيرة التقرن
السرطانة شائكة الخلايا (نمط منحل الأشواك)	انقسامات خيطية في الخلايا الكيراتينية، لانموذجية خلوية
الفقاع	توضع IgG حول الخلايا منحلة الأشواك بالفحص الومضاني المناعي

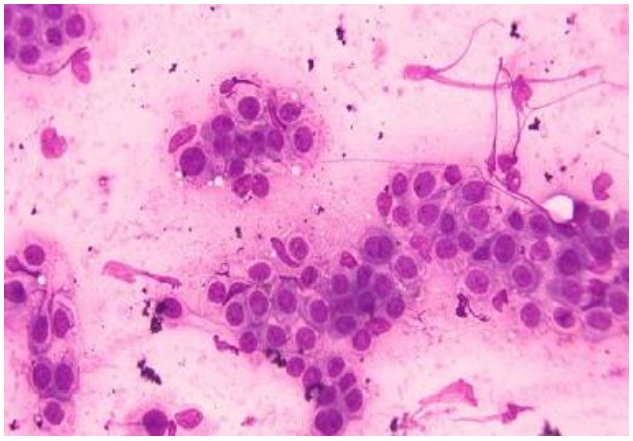
4-4- دور اللطاخة الخلوية في تشخيص الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية:

4-4-1- الدراسة الخلوية في الأمراض الفقاعية المناعية في البشرة:

تعدُّ الآفات الحديثة المكان الأفضل لأخذ العينات الخلوية للوصول إلى التشخيص الصحيح للفقاع. يشاهد خلايا منحلة الأشواك Acantholytic cells إضافة للخلايا الشائكة السطحية والعديد من الخلايا الالتهابية.

4-4-1-1- الموجودات الخلوية المميزة لمجموعة الفقاع:

يتميز الفقاع بوجود العديد من الخلايا منحلة الأشواك المفردة أو الملتصقة مع بعضها مشكلة كتل ضعيفة الالتصاق clumps مدورة أو بيضوية غالباً ذات سطح أملس أو يحوي نتوءات سيتوبلاسمية تشبه أسنان المنشار sawtooth-like. السيتوبلاسما محبة للأساس وأغمق في المحيط. أبرز صفاتها وجود نواة كبيرة مفرطة الكروماتين مركزية التوضع تحوي من 2-5 نويات واضحة [24, 153] (الصورة 28).

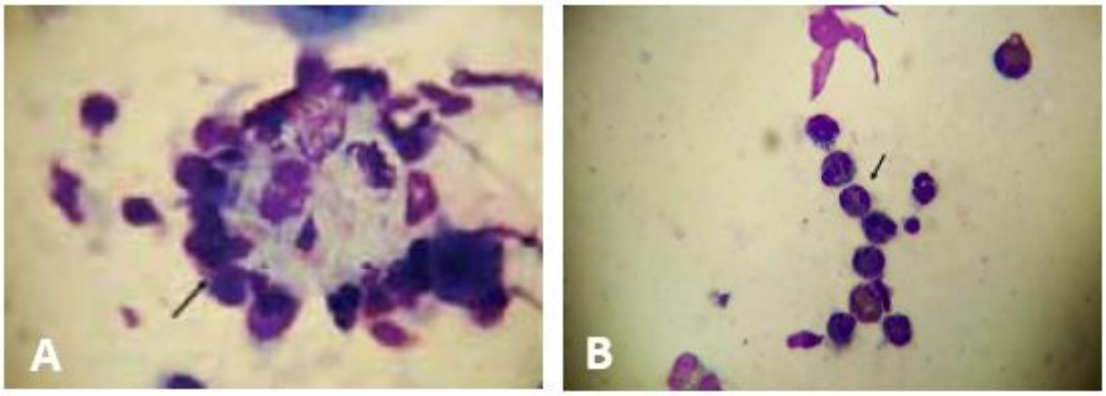


الصورة 28 فقاع شائع: خلايا منحلة الأشواك [200]

تكون الخلايا الالتهابية في الفحص الخلوي غزيرة في الفقاع وتتكون بدرجة أساسية من العدلات والإيوزينات، تأخذ أحياناً أشكال متعددة بناء على وجود جزيئات الالتصاق كشكل السلسلة streptocytes أو شكل الوردة Sertoli's rosette cells.

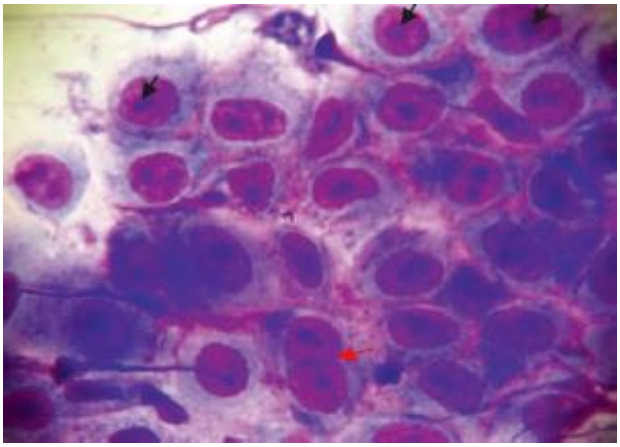
Sertoli's rosette cells: تنتظم الكريات البيضاء عديدة النوى واللمفاويات بشكل حلقي حول الخلية الظهارية. وهي غير نوعية لمرض محدد فمن الممكن مشاهدتها في الفقاع إضافة للعديد من الأمراض التآكلية الحويصلية الفقاعية إذ سجلت لدى 25% من مرضى الإنتانات الحلئية و10% لدى مرضى لديهم أمراض تآكلية حويصلية فقاعية أخرى (الصورة 29).

Streptocytes: تنتظم الخلايا الالتهابية بشكل مشابه لسلاسل المكورات العقدية. وصفت لأول مرة عند مرضى الفقاع إلا أنها غير نوعية إذ يمكن مشاهدتها في العديد من الإنتانات والأمراض الالتهابية [24, 161, 165-167].



الصورة 29 الخلايا الالتهابية في الفقاع الشائع: B: Streptocytes [257] A : Sertoli’s rosette cells [269].

يشاهد في الفقاع عدد كبير من الخلايا الكيراتينية مزدوجة النواة مع نواة كبيرة مفرطة الكروماتين تشبه الخلايا الخبيثة، تحدث هذه التبدلات اللانموذجية بسبب زيادة الانقسام الناتج عن تجدد الظهارة الشائكة، لذا قد تتشابه الموجودات الخلوية للفقاع مع الخباثات [24, 167, 168] (الصورة 30).

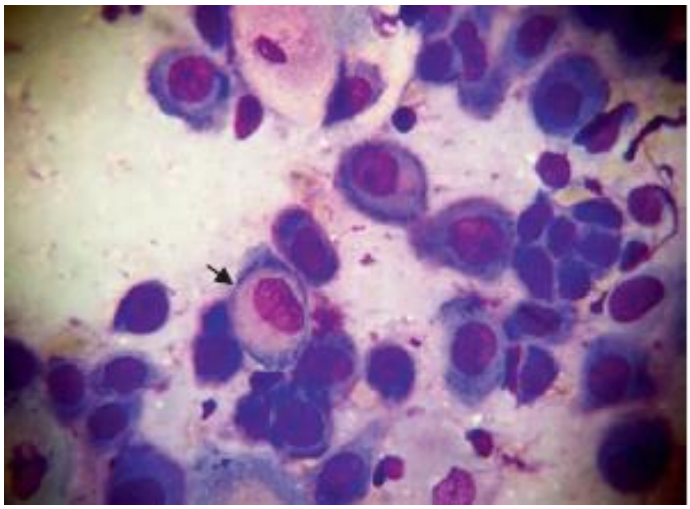


الصورة 30 فقاع شائع: نويات واضحة (الأسهم السوداء) وخلايا كيراتينية مزدوجة النواة (السهم الأحمر) [53]

يحدث تلوث جرثومي في الآفات التآكلية في كثير من الأحيان لذا عند أخذ العينات من الآفات القديمة يمكن مشاهدة موجودات ثانوية للإنتان. وقد تشاهد خلايا عرطلة متعددة النوى نمط الجسم الأجنبي foreign body–type التي تقوم ببلعمة الخلايا منحلة الأشواك [24, 153].

4-4-1-2- الاختلافات الخلوية بين أنماط الفقاع:

ذكرت بعض الاختلافات الخلوية بين أنماط الفقاع، ففي الفقاع التنبتي تكون الموجودات الخلوية مطابقة للفقاع الشائع مع وجود خلايا التهابية أكثر وخاصة الحمضات. أما في الفقاع الورقي والحمامي: تكون السيتوبلاسما في بعض الخلايا منحلة الأشواك زهرية هيالينية بسبب عسر التقرن dyskeratosis [24] (الصورة 31).

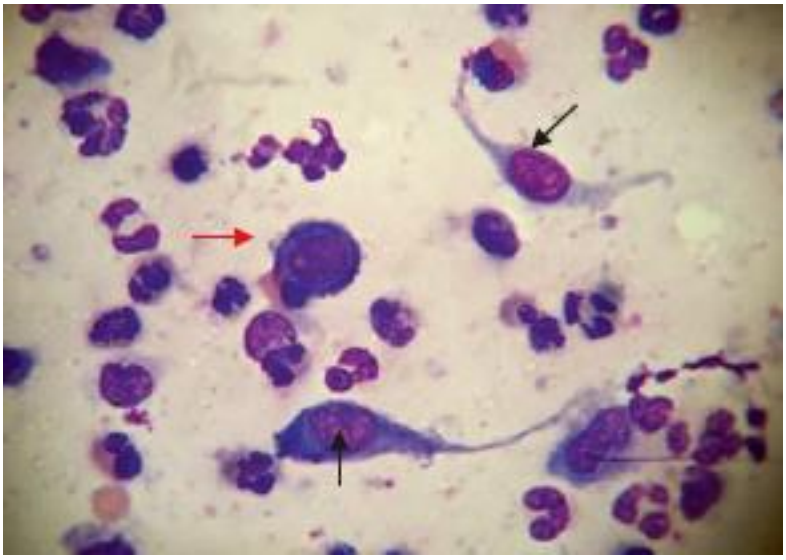


الصورة 31 فقاع ورقي: خلية عسيرة التقرن (السهم) [53]

في الفقاع الحلئي تشاهد العديد من الخلايا الشرغوفية tadpole cells وتكون الخلايا منحلة الأشواك قليلة عكس الفقاع الشائع الذي تكون فيه الخلايا الشرغوفية قليلة والخلايا منحلة الأشواك كثيرة. والخلايا الشرغوفية tadpole cells: هي خلايا كيراتينية تشاهد في التهاب الجلد السفاجي تأخذ سيتوبلاسماها شكل الذيل بسبب الانضغاط الناتج عن السفاج الشديد داخل البشرة فتصبح مشابهة ليرقات الضفادع. عادة يكون لها ذيل واحد لكن

يمكن أن يوجد ذيلين وتكون بأطوال وأشكال مختلفة. تشاهد في العديد من الأمراض التآكلية والحويصلية والفقاعية [24, 153, 165].

تختلط موجودات الفقاع الحلئي مع الأكزيما التي تتميز أيضاً بكثرة الخلايا الشرغوفية وغالباً ما يتأخر التشخيص الخلوي والنسيجي للفقاع الحلئي لعدة سنوات (الصورة 32)، لذا من المهم فحص كامل اللطاخة لأن الخلايا منحلة الأشواك تكون قليلة ويجب تأكيد التشخيص بالدراسة الومضانية المناعية [24, 160]. وفي فقاع IgA يوجد ترسب لأضداد IgA حول الخلايا الكيراتينية بفحص الومضان المناعي عكس باقي أنماط الفقاع [24, 168].

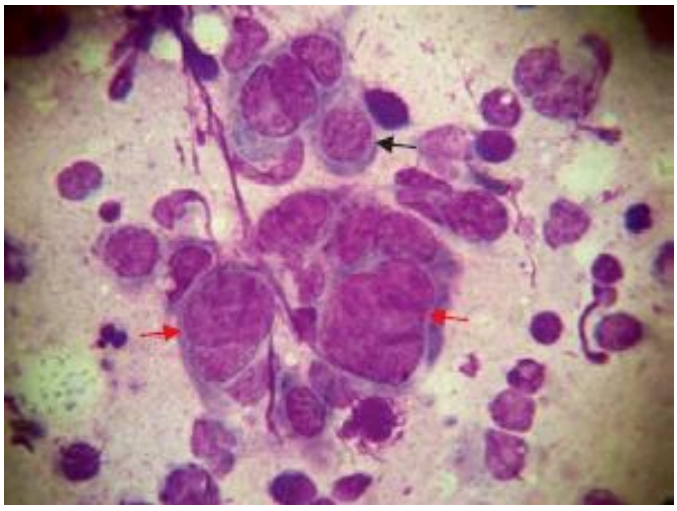


الصورة 32 فقاع حلئي: خلية منحلة الأشواك (السهم الأحمر) مترافقة مع خلايا شرغوفية (الأسهم السوداء) [53]

4-4-1-3- التشخيص التفريقي الخلوي للفقاع:

الإنتانات الحلئية: تتميز عن الفقاع بوجود الخلايا العرطلة متعددة النوى multinucleated giant cells إضافة للخلايا منحلة الأشواك. تعدُّ الجسيمات الاشتمالية داخل النووية (Cowdry A type) التي تأخذ شكل

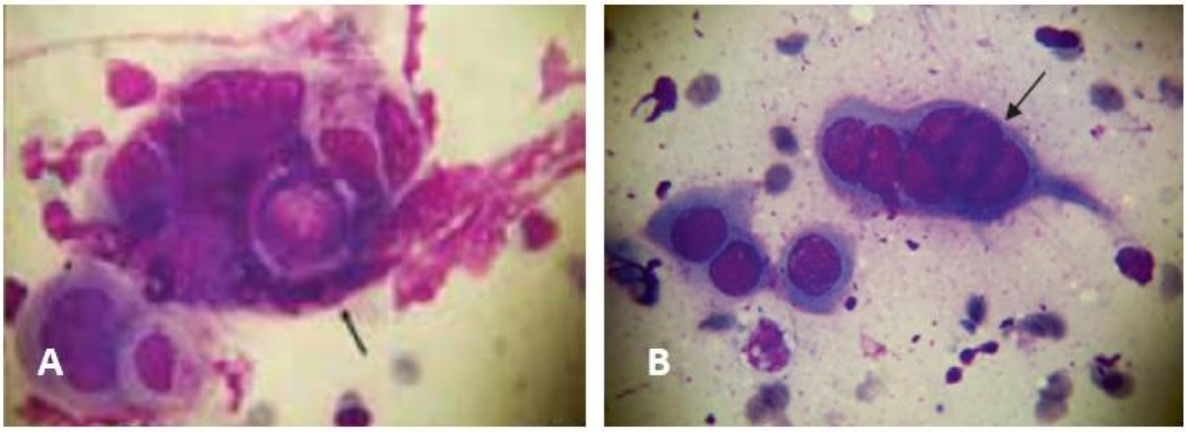
البيض في السلة من الموجودات الوصفية للحلأ لكن من الصعب رؤيتها بالملونات الخلوية الروتينية وعادة ما تشاهد بسهولة بتلوين بابا نيكولا Papanicolaou stain (الصورة 33).



الصورة 33 إنتانات الحلأ: خلية منحلة الأشواك (السهم الأسود) مترافقة مع خلايا عرطلة متعددة النوى (الأسهم الحمراء) [53]

multinucleated giant cells: هي خلايا كيراتينية تحوي ثلاث نوى أو أكثر تبدو ملتصقة مع بعضها مشكلة نواة مخلوية Syncytial nuclei. تأخذ هذه الخلايا أحجام مختلفة وممكن أن يصل حجمها من ضعفين لعشرة أضعاف حجم الخلية الكيراتينية الطبيعية. قد تحوي هالة حول النواة. قد تختلط الإنتانات الحلئية مع الفقاع عند أخذ المسحات الخلوية من آفات الفقاع المزمنة إذ تشاهد بعض الخلايا العرطلة متعددة النوى نمط الجسم الأجنبي التي تبتلع الخلايا منحلة الأشواك والتي تشبه الخلايا الكيراتينية العرطلة متعددة النوى المشاهدة في الإنتانات الحلئية، في مثل هذه الحالات نُميّز بينهما بالدراسة المناعية الومضانية [24, 153, 165] (الصورة 34)

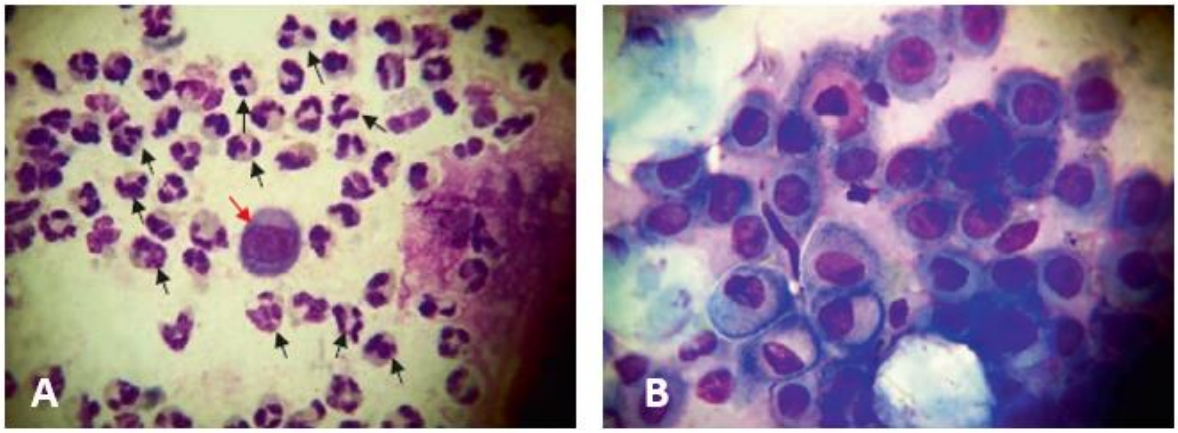
.



الصورة 34 خلايا عرطلة متعددة النوى: A– فقاع شائع [257] B– حلأبسيط [53]

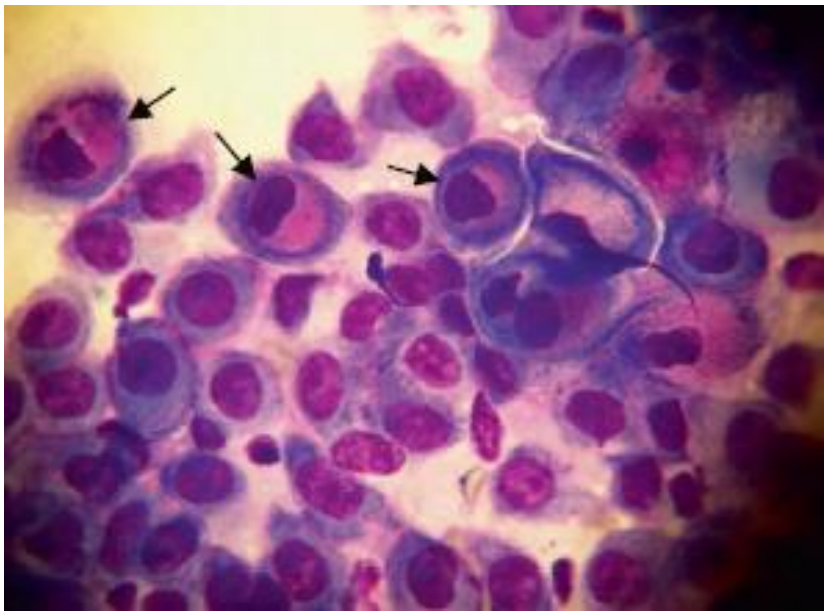
القوباء الفقاعية bullous impetigo: يشاهد بالفحص الخلوي خلايا منحلة الأشواك إضافة لوجود المكورات والعدلات. قد تختلط مع الفقاع خاصة في الآفات المتقوبئة حيث تشاهد المكورات فضلاً عن الخلايا منحلة الأشواك (الصورة 35).

متلازمة الجلد السمطي بالعنقوديات staphylococcal scalded skin syndrome (ssss): يتميز الفقاع عنها بأن الفحص الخلوي يظهر خلايا التهابية غزيرة بينما متلازمة الجلد السمطي بالعنقوديات تشاهد خلايا منحلة الأشواك فقط دون خلايا التهابية أو مكورات (الصورة 35).



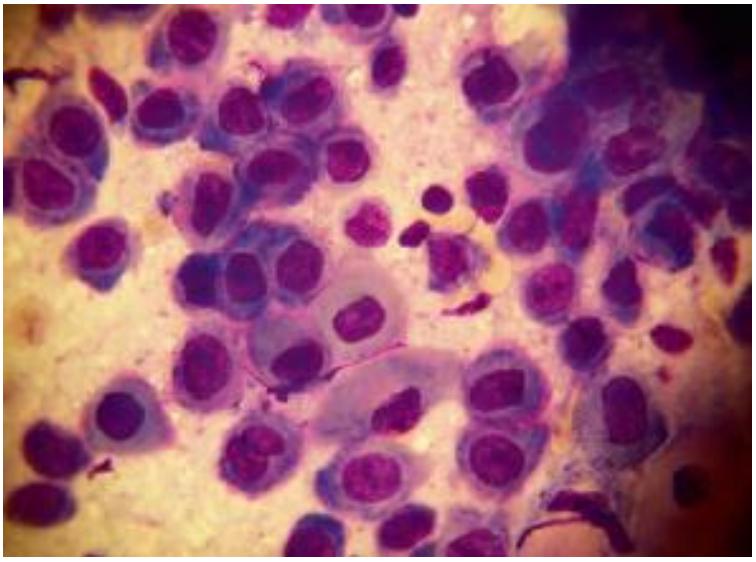
الصورة 35 قوباء فقاعية: (A) خلية منحلة الأشواك (السهم الأحمر) مترافقة مع عدلات (الأسهم السوداء)، (B) متلازمة الجلد السمطي بالعنقوديات: خلايا منحلة أشواك [53].

قد تكون بعض الخلايا منحلة الأشواك في القوباء الفقاعية ومتلازمة الجلد السمطي بالعنقوديات عسيرة التقرن dyskeratotic acantholytic cells وهي خلايا كيراتينية منواة إلا أنها تحوي كيراتين ضمن السيتوبلاسما لذا تأخذ السيتولوبلاسما اللون الزهري بتلوين غيمزا، وهي نفس الخلايا عسيرة التقرن المشاهدة في الفحص النسيجي. يمكن أن يكون عسر التقرن Dyskeratosis موضع أو شامل لكامل السيتوبلاسما أو محيط بالنواة. توجد في الإنتانات كالقوباء وssss وفي داء داريه وداء غروفر وبعض الأورام [24, 153, 158] (الصورة 36).



الصورة 36 قوباء فقاعية: خلايا منحلة الأشواك عسيرة التقرن[53]

داء هيلي هيلي: يشبه الفقاع سريرياً ونسيجياً وخلوياً. يحوي الفحص الخلوي خلايا منحلة أشواك فقط وتكون الخلايا الالتهابية في داء هيلي هيلي قليلة أوغائبة ويعد كشف توضع الغلوبولين المناعي والمتممة حول الخلايا الكيراتينية مؤشر خلوي للفقاع وغياب هذه التوضعات مؤشر لداء هيلي هيلي [24, 169] (الصورة 37).



الصورة 37 داء هيلي هيلي: خلايا منحلة الاشواك [53]

داء غروفر (الجلاد الحال للأشواك العابر): يشاهد في الفحص الخلوي موجودات مشابهة لداء دارييه إذ توجد خلايا منحلة الأشواك فضلاً عن الخلايا منحلة الأشواك عسيرة التقرن والأجسام المدورة والحبيبات. في بعض الحالات تشاهد خلايا منحلة أشواك فقط لذا قد يختلط بالتشخيص مع الفقاع ونُميّز بينهما بالدراسة الومضانية المناعية.

الأجسام المدورة والحبيباتcorps ronds and grains: تمثل مراحل الموت الخلوي apoptotic stage للخلايا منحلة الأشواك إذ تنكمش الخلية منحلة الأشواك تدريجياً نتيجة للموت الخلوي المبرمج .

– Corps ronds: هي خلايا كيراتينية ذات نواة تغلظية pyknotic محاطة بهالة واضحة وقد يشاهد عسر تقرن حول النواة.

– Grains: هي أصغر الخلايا المستميتة apoptotic cells، ذات حجم صغير وتأخذ شكل حبات الرمان [24, 170].

إن النقطة الأكثر أهمية في تمييز الفقاع عن باقي الأمراض منحلة الأشواك في الفحص الخلوي هو ترسب IgG والمتممة بالدراسة الومضانية المناعية لذا في الفحص الخلوي للآفات التآكلية الحويصلية الفقاعية إذا كانت الخلايا منحلة الأشواك إيجابية لكن الخلايا العرطلة متعددة النوى والأجسام المدورة والحبيبات سلبية يجب إجراء تألق مناعي مباشر [24].

4-4-2- الدراسة الخلوية في الأمراض الفقاعية المناعية تحت البشرة:

يشاهد في الفحص الخلوي في الأمراض الفقاعية تحت البشرة عادة خلايا التهابية وخلايا كيراتينية دون وجود خلايا منحلة الأشواك. هذه الموجودات الخلوية غير نوعية ولا تفيد في تشخيص هذه الأمراض إلا أنها تفيد في استبعاد الفقاع بسهولة [24, 153].

تشاهد العديد من الإيوزينات في الفقاعاني الفقاعي دون وجود خلايا منحلة الأشواك [24, 158].

4-5- الومضان المناعي المباشر على اللطاخة الخلوية (لطاخة تزانك):

تُستخدم اللطاخة الخلوية في هذه الطريقة كركيزة للومضان المناعي المباشر عوضاً عن الخزعة النسيجية، ويعد إثبات ترسب الأضداد المناعية على سطح الخلايا البشروية في اللطاخة الخلوية معيار تشخيصي مؤكد في الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية ضمن البشرة.

وهي طريقة سهلة وسريعة، إذ تُؤخذ العينات الخلوية من الآفات وتوضع على شرائح زجاجية ثم تُحضن مع الأضداد الموسومة بالفلوريسيئين وتُفحص بعد ذلك باستخدام المجهر الومضاني.

تعد الخلايا منحلة الأشواك من الموجودات النموذجية للأمراض الفقاعية المناعية الذاتية ضمن البشرة (مجموعة الفقاع) في لطاخة تزانك إلا أنها تشاهد في أمراض جلدية أخرى إذ تبلغ نوعيتها 43.4% [153, 165].

لذا يستخدم الومضان المناعي المباشر على لطاخة تزانك لتمييز الفقاع عن باقي الأمراض منحلة الأشواك ولوضع التشخيص المؤكد والسريع إذ يظهر تفاعل مناعي نموذجي يتوضع حول الخلايا منحلة الأشواك [25, 153, 171–173]، يزيد بالتالي نوعية الفحص الخلوي للفقاع من 43%حتى 100% [24, 153].

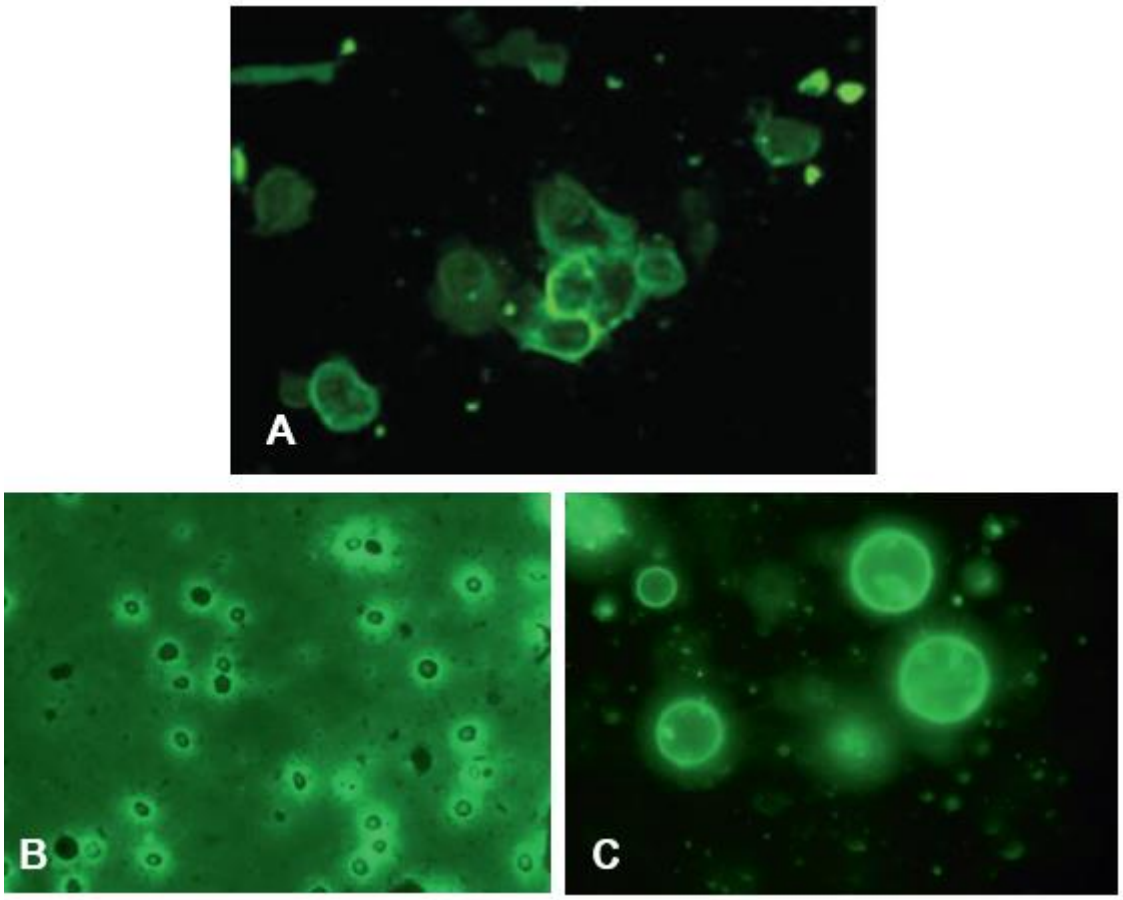
أثبت لأول مرة فائدة تطبيق DIF على لطاخة تزانك في الفقاع الفموي عام 1981 في دراسة أجراها Acosta AE وزملاؤه [168].

يعطي الومضان المناعي المباشر على اللطاخة في الفقاع نمط حلقي مميز منتظم حول الغشاء الخلوي بلون أخضر ساطع بسبب ترسب الIgG أو C3 أو كلاهما على سطح خلايا تزانك المفردة. أو تترسب الأضداد في المسافة بين الخلايا فيعطي مظهر يشبه عنقود العنب grape–like أو شكل الأوراق sheets–like أو السلسلة string–like عندما تشكل خلايا تزانك كتل كثيفة clumps أو يعطي شكل شبكة صيد السمك Fishnet.

قد توجد أضداد IgA،IgM أيضاً (الصورة 38).

لا يمكن التمييز بين أنماط الفقاع بالومضان المناعي المباشر على اللطاخة الخلوية إذ تظهر جميعها ترسب الأضداد على سطح الخلايا وفي المسافة بين الخلايا وتعطي تألق حلقي أو شبكي، باستثناء فقاع IgA الذي يتميز بترسب IgA فقط. تتشابه موجودات اللطاخة الخلوية الفموية والجلدية.

أما الأمراض الفقاعية المناعية تحت البشرة فلا يعطي الومضان المناعي المباشر المطبق على لطاخة تزانك أي تألق نوعي [25, 168, 174].



الصورة 38 DIF للطاخة تزانك يظهر ترسبIgG حول الخلايا منحلة الأشواك
(A) فقاع شائع [272] (B) فقاع ورقي (C) فقاع حلئي [53]

أجريت القليل من الدراسات منها:

دراسة Arun Jose عام 2019 التي أُجري فيها الومضان المناعي المباشر على مسحات تزانك الفموية والجلدية لدى 30 مريض فقاع شائع مثبت بالخزعة والومضان المباشر. بلغت الحساسية والنوعية 92%،

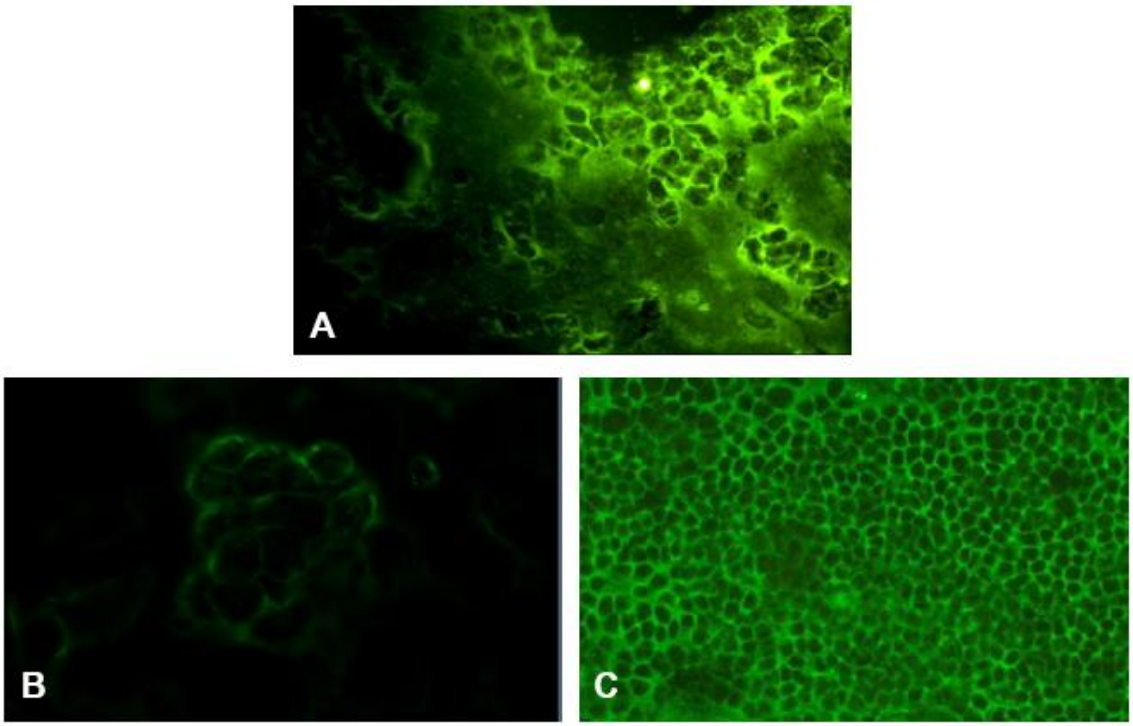
80% للIgG و76%، 77% لـ C3 على التوالي، وكانت إيجابية وجود خلايا منحلة الأشواك في لطاخة تزانك الملونة بغيمزا 100% [174] (الصورة 39).

وفي دراسة Wenxiu He وزملاؤه عام 2021 أُجري الومضان المناعي المباشر على لطاخة تزانك الفموية لدى 41 مريض فقاع شائع نمط مخاطي كان الومضان إيجابي عند 36 مريض حيث أظهر ترسب للIgG أو C3 أو كلاهما لدى جميع المرضى وترسب لـ IgA وIgM لدى سبعة مرضى، بلغت حساسيتها 87.8% ونوعيتها 100% [25].

أما دراسة Vijay Aithal عام 2007 فقد بلغت حساسية الومضان على لطاخة تزانك 40% بينما على الخزعة الجلدية 60%، لكن لم تستخدم سوى أضداد IgG في الومضان المباشر [168].

وفي دراسة Durdu عام 2008 كان الومضان المناعي على اللطاخة الخلوية إيجابي عند 100% من المرضى [165].

كما قارن Kehkshan Tahir وزملاؤه عام 2018 بين الومضان المناعي المطبق على لطاخة تزانك والمطبق على الأشعار في تشخيص الفقاع الشائع كانت النتائج إيجابية بنسبة 76% في اللطاخة و90% في أشعار طور النمو، و67% في كلاهما [171].



الصورة 39 DIF للطاخة تزانك في الفقاع الشائع: A–B– ترسب IgG بين الخلايا C– ترسب C3 بين الخلايا [200].

❖ ميزات الومضان المناعي المباشر على لطاخة تزانك:

- طريقة سريعة ولا تحتاج لوقت طويل إذ إنَّ الوقت الكلي للإجراء يستغرق 75 دقيقة مقارنة بالومضان المناعي المباشر على الخزعات الذي يحتاج 72 ساعة والفحص النسيجي الذي يحتاج 96 ساعة [25].
- اقتصادية وغير مكلفة وتعد تكلفتها أقل من تكلفة الومضان المناعي المباشر الروتيني ب10 أضعاف ومن الفحص النسيجي بـ 14 ضعف [25].
- تبقى لطاخة تزانك المجففة بالهواء في درجة حرارة الغرفة حتى 10 أيام دون أن تتبدل إيجابية DIF وذلك عكس الخزعة الجلدية التي يجب تجميدها مباشرها بعد الخزع أو حفظها في وسط ناقل [168, 175].
- قد يفيد الومضان على اللطاخة في إنذار المرض وخاصة في طور الهجوع لكن ذلك غير مؤكد حتى الآن ولا يوجد دراسات حوله.

❖ السلبية الكاذبة للومضان المناعي المباشر على لطاخة تزانك:

- قد تحدث سلبية كاذبة عند مرضى الفقاع الشائع خفيف الشدة إذ تكون ردة فعل الأضداد الذاتية والمستضدات ضعيفة وتؤدي إلى تعبير ضعيف بالومضان المناعي [25].
- قد تتعلق السلبية الكاذبة بطريقة الحصول على خلايا تزانك بواسطة الكشط والتي تعتمد على التقنية المستخدمة من قبل الباحثين [25].
- قد يحدث تألق غير نوعي في خلفية بعض المسحات التي تظهر التهاب شديد والذي يمثل بروتينات المصل المتسربة خارج الأوعية بسبب الالتهاب [168].

الجزء الثاني

منهجية الدراسة، وإجراءاتها

الفصل الأول: أهداف ومبررات الدراسة

أولاً: مبررات الدراسة

تضم الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية مجموعة متغايرة من الأمراض المتواسطة بالمناعة تتصف كل منها بمظاهر سريرية وموجودات نسيجية ومناعية مميزة، تختلف هذه الأمراض عن بعضها بعضاً اختلافاً كبيراً من ناحية الإنذار والعلاج. تصنف إلى مجموعتين أساسيتين: الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية في البشرة (الفقاع)، والأمراض الفقاعية المناعية الذاتية تحت البشرة. الفقاع هو مرض فقاعي مناعي ذاتي شديد يصيب غالباً الجلد والمخاطيات ويعد الفقاع الشائع النمط الأكثر شيوعاً ضمن هذه المجموعة وهو مرض خطير يمكن أن يكون قاتلاً [20].

تمثل الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية قسماً مهماً من الأمراض التي تتظاهر بآفات تآكلية وحويصلية وفقاعية والتي قد تكون التهابية أو إنتانية أو وراثية أو مناعية ذاتية، تشترك جميعها بشكل الآفات إلا أنها تختلف كثيراً في الآلية الإمراضية والتظاهرات السريرية وطرق التشخيص والعلاج.

يفيد الفحص الخلوي أو اختبار لطاخة تزانك كاختبار أولي سريع في تشخيص هذه الأمراض والتمييز بينها، إذ تقدم لطاخة تزانك معلومات مهمة عن التبدلات التي تطرأ على الخلايا في الأمراض المختلفة، فضلاً عن وظيفتها في تحديد العديد من العوامل الممرضة. وعلى الرغم من أهمية هذا الاختبار إلا أنه لا يطبق كثيراً في الممارسة السريرية وما يزال استخدامه محدوداً في القليل من الأمراض، وذلك لعوامل عدة منها: سهولة الحصول على الخزعات، توفر الاختبارات التشخيصية المتطورة كتفاعل البلمرة التسلسلي PCR وهي مفيدة بالتأكيد إلا أن

تكلفتها عالية، عدم التأكيد على أهميته وتعليمه تعليماً كافياً في البرامج التدريبية، غياب أقسام مخصصة لعلم الخلايا أو المسحات الخلوية في أكثر كتب الأمراض الجلدية شيوعاً، وأخيراً التوجه إلى تطوير تقنيات حديثة تقدم طرق تشخيصية غير غازية كالمجهر متحد البؤر الحي لكنها غير متاحة على نطاق واسع على أية حال، ولا تزال فائدتها السريرية غير معروفة.

مع ذلك يبقى للطاخة تزانك العديد من المميزات: فهي إجراء سهل بسيط، فعال، غير مكلف، يعد عامل مساعد للفحص السريري، يُمكّن من الوصول للتشخيص السريع، كما أن الحصول على العينات غير مؤلم ولا يحتاج إلى تخدير، فضلاً عن أنه يُمكّن من أخذ عينات متعددة من آفات مختلفة ومن أماكن يصعب الحصول على خزعة نسيجية منها، ويظهر تفاصيل مورفولوجية للخلايا والعوامل الممرضة أفضل من التشريح المرضي.

وقد أكدت العديد من الدراسات السابقة الحساسية العالية للطاخة تزانك الروتينية في تشخيص الفقاع، لكن القليل من الدراسات استخدمت التلوينات المناعية على لطاخة تزانك وأثبتت دورها التشخيصي المؤكد والنوعي في الفقاع، إذ تزداد الفعالية التشخيصية للطاخة تزانك عند إجراء ومضان مناعي مباشر، ويمكن اعتمادها كبديل عن الفحص النسيجي أو بديل عن التقنيات التشخيصية المعيارية [25, 165, 168, 174].

ثانياً: أهمية الدراسة

- إن الفقاع الشائع الذي يعتبر أشيع الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية ضمن البشرة، هو مرض مناعي ذاتي مهدد للحياة يبدأ بالمخاطية ثم يصيب باقي الجسم، وإذا لم يعالج باكراً فإن الإصابة تصبح معممة وتؤدي إلى الوفاة. وعلى الرغم من أن الستيروئيدات الفموية هي الخط الأول في علاج الفقاع الشائع إلا أن المعالجة

طويلة الأمد بالستيروئيدات الفموية تترافق مع العديد من التأثيرات الجانبية [176, 177]. فضلاً عن ذلك فإنه حتى مع المعالجة الجهازية يبقى معدل الوفيات في الفقاع الشائع أعلى 2.4 مرات من عامة السكان، وتتعلق الوفيات بأكثر من 70% من الحالات بالتأثيرات الجانبية للستيروئيدات [178–180]. لذلك فإن التشخيص الدقيق والباكر ضروري لبدء العلاج والسيطرة الباكرة على المرض، وبالتالي تجنب الوفاة والاختلاطات الناجمة عن المرض أو عن معالجاته.

- تبدأ الاصابة لدى حوالي 50–80% من مرضى الفقاع الشائع في المخاطية الفموية مع أو بدون آفات جلدية، ويعاني جميع مرضى الفقاع الشائع تقريباً من آفات في المخاطية الفموية [22, 23]. إن الحصول على الخزعات من الأنسجة الفموية لإجراء الفحص النسيجي والومضان المناعي المباشر من أجل تأكيد التشخيص صعب في هذه المنطقة فضلاً عن هشاشية المخاطية الفموية وخاصة في هذا المرض؛ لذا فإن وجود ركائز بديلة عن الخزعة النسيجية لإجراء الومضان المناعي المباشر يعد ذو أهمية خاصة في هذه المناطق.
- يعد الفقاع الشائع أكثر شيوعاً في المناطق الشرقية وحول البحر المتوسط نسبة إلى الولايات المتحدة وبريطانية، وبالتالي يمكن اعتبار سورية من البلدان التي يشاهد فيها معدل وقوع مرتفع نسبيا للمرض؛ لذا تعد هذه الدراسة مهمة وهي الأولى من نوعها في سورية. وتزداد أهميتها لعدم توافر المخابر المزودة بالتجهيزات اللازمة لإجراء الومضان المناعي المباشر في كثير من المناطق، وخاصة في المناطق البعيدة عن المدن الكبرى. كما يمكن لهذه الطريقة أن تخفف العبء الاقتصادي والمادي، وتوفر الكثير من الوقت اللازم لإجراء الومضان المناعي المباشر الروتيني.

- إن الأدب الطبي يفتقر لمزيد من الأبحاث والدراسات التي تدرس القيمة التشخيصية للطاخة الخلوية الروتينية، وللومضان المناعي المباشر على اللطاخة في تشخيص الفقاع.

ثالثاً: الفرضية

صممت الدراسة الحالية للإجابة عن الأسئلة البحثية التالية:

- ما هي الموجودات المميزة للطاخة تزانك في الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية؟
- ماهو دور لطاخة تزانك في تشخيص الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية؟
- هل تفيد لطاخة تزانك في التمييز بين الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية؟
- ما هو دور الومضان المناعي المباشر على لطاخة تزانك في تشخيص الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية؟ وهل يعد معياراً مؤكداً للتشخيص؟
- هل يمكن استخدام لطاخة تزانك كركيزة عوضاً عن الخزعة النسيجية الروتينية لإجراء الومضان المناعي المباشر؟

رابعاً: أهداف الدراسة

صُمّمت هذه الدراسة لتقييم الدقة التشخيصية للطاخة تزانك في تشخيص الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية ومعرفة جدوى وفعالية هذه المقاربة التشخيصية السريعة وسهلة التطبيق في الممارسة السريرية. إذ تهدف إلى:

- توصيف موجودات لطاخة تزانك في الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية

- تقييم حساسية ونوعية لطاخة تزانك في تمييز وتشخيص هذه الأمراض
- تعزيز القيمة التشخيصية للطاخة باجراء ومضان مناعي مباشر، ودراسة فعاليته وموثوقيته في تشخيص الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية ضمن البشرة، واعتماده كبديل عن الخزعة النسيجية لتأكيد التشخيص في الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية ضمن البشرة.

الفصل الثاني: منهج وأدوات الدراسة

أولاً: تصميم الدراسة

دراسة مقطعية مستعرضة

ثانياً: حساب حجم العينة

حُسب حجم العينة بالطرق الإحصائية بالاعتماد على الموقعhttps://www.openepi.com وفق المعادلة الآتية:

$$\text{Sample size } n = [DEFF*Np(1-p)]/\ [(d^2/Z^2_{1-\alpha/2}*(N-1)+p*(1-p)]$$

من أجل قوة دراسة 95 % ومعدل خطأ 5% , كان حجم العينة 30 مريض ومريضة على الأقل.

ثالثاً: معايير الاشتمال والاستبعاد

- **معايير الاشتمال في الدراسة:** المرضى الذين لديهم آفات تآكلية أو حويصلية أو فقاعية ظهرت خلال فترة أقل من ثلاثة أيام، وشُخّص لديهم أحد الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية، من أي فئة عمرية والذين لم يتلقوا معالجة في 3 أشهر الماضية، ووافقوا على الدخول بالرسالة.

- **معايير الاستبعاد في الدراسة:**

1. المرضى الذين تلقوا علاج جهازي بالستيروئيدات أو مثبطات المناعية في 3 أشهر الماضية أو طبقوا علاج موضعي بالستيروئيدات على الآفات خلال الأسابيع الثلاثة الأخيرة.
2. وجود علامات لإنتان ثانوي على الآفات البدئية .

رابعاً: زمان ومكان الدراسة

أجريت الدراسة في مشفى الأمراض الجلدية والزهرية التابع لجامعة دمشق، وامتدت خلال عامي 2021-2022

خامساً: خطة الدراسة وخطوات العمل

بعد شرح موضوع الدراسة وكيفيتها، والحصول على الموافقة المستنيرة من جميع المرضى للدخول بالدراسة أُخذت قصة سريرية وأُجري فحص سريري مفصل شمل المعلومات التالية: العمر- الجنس – السوابق المرضية والعائلية والدوائية – مدة الإصابة – شكل الآفات – توزع الآفات – توضع الآفات – وجود إصابة مخاطية – الأعراض المرافقة .

أُجريت خزعة نسيجية incisional biopsy بعد اختيار آفة حديثة لا تحوي علامات إنتان موضعي ولم يطبق عليها أي علاج موضعي، تضمنت الخزعة الحويصل أو جزء من الفقاعة مع الجلد المجاور للآفة. بعد ذلك فُصلت الخزعة إلى جزئين (عدا عند التوجه السريري لالتهاب الجلد حلئي الشكل، فقد أُجريت خزعتين نسيجيتين

للمريض: إحداهما من الآفة، والأخرى من الجلد السليم المجاور للحمامى)، وُضع الجزء الذي يحوي الآفة في الفورمول وأُرسل إلى قسم التشريح المرضي للتلوين بالهيماتوكسيلين إيوزين وإجراء الفحص النسيجي. أما الجزء الآخر وهو الجلد المجاور للآفة فأُرسل إلى مخبر الومضان المناعي لإجراء الومضان المناعي المباشر، حيث وُضعت العينة في محلول ملحي ثم أُجريت عملية القطع مباشرة بواسطة جهاز قطع الشرائح المجمدة (LEICA CM1900) وتم الحصول على مقاطع سماكتها 4–6 ميكرون، وُضعت المقاطع المجمدة على 4 شرائح مجهرية، جُفّفت المقاطع بالهواء ثم وُضعت بالأسيتون مدة 15 دقيقة، ثم غُمرت بالمحلول الموقي PBS (phosphate buffered saline) لمدة 20 دقيقة، ثم أُضيف لكل شريحة ضد من الأضداد الموسومة بالفلوريسيئين المضادة لكل من IgG, IgA, IgM, C3 (30 µm من كل ضد) وحُضنت في الظلام لمدة ساعة، غُمرت بعدها بالمحلول الموقي PBS مدة 10 دقيقة، ثم أُضيفت قطرة من محلول Buffered Glycerol وفُحصت بالمجهر الومضاني. سُجل موقع ونمط التألق المناعي لكل ضد من الأضداد. بالنتيجة وُضع التشخيص المؤكد عند المرضى بالاعتماد على مشاركة نتائج التشريح المرضي مع نتائج الومضان المناعي المباشر.

أما الدراسة الخلوية فقد أُخذت العينات الخلوية بطريقة الكشط scraping بعد اختيار الاندفاع النفاطي الحديث والسليم. مُسحت الآفة بشاش مبلل بالكحول ثم أُجري شق بسقف الفقاعة أو الحويصل بواسطة شفرة جراحية قياس 15، جُفّفت المحتويات السائلة وكُشطت قاعدة الآفة، مُدّت العينات الخلوية المأخوذة على شريحة مجهرية وجُفّفت بالهواء ثم لُوّنت بملون غيمزا لمدة 15 دقيقة غُسلت بعدها بالماء ثم فُحصت بالمجهر الضوئي ووُصفت

الموجودات الخلوية: من ناحية وجود الخلايا منحلة الأشواك ونمطها (خلايا مفردة، خلايا متكتلة، خلايا بشكل الغمد) ووجود الخلايا الالتهابية ونوعها.

طُبّق الومضان المناعي المباشر على لطاخة تزانك بعد أخذ العينات الخلوية من أربعة آفات مختلفة بنفس الطريقة السابقة ووضعها على أربعة شرائح مجهرية ثم جُفّفت بالهواء وأُضيف لكل شريحة ضد من الأضداد الموسومة بالفلوريسيئين المضادة لكل من IgG, IgA, IgM, C3 (10 µm من كل ضد) وحُضنت في الظلام لمدة 30 دقيقة، غُمرت بعدها بالمحلول الموقي PBS مدة 10 دقائق، ثم أُضيفت قطرة من محلول Buffered Glycerol وفُحصت بالمجهر الومضاني، سُجل وجود التألق ونمطه (حلقي، بشكل عنقود العنب) لكل ضد من الأضداد.

سادساً: التحليل الإحصائي

أُجري تبويب وتحليل البيانات المجموعة باستخدام الحزمة الإحصائية للعلوم الاجتماعية (SPSS Statistical Package for the Social Sciences) النسخة 25 وبرنامج Microsoft Excel 2013

1- الإحصاءات الوصفية لمتغيرات الدراسة:

استعملت أدوات الإحصاء الوصفي من جداول ومخططات لوصف العينة وخصائصها ومعرفة النسب المئوية والتكرارات للمتغيرات.

2- الاستقلال والارتباط:

قُورنت نتائج الومضان المناعي المباشر على لطاخة تزانك مع الومضان المناعي المباشر على الخزعة النسيجية باستخدام اختبار Pearson Chi-Square لاختبار العلاقة بين متغيرين نوعيين، مع حُسبان أنه يوجد فرق إحصائي مهم عند مستوى دلالة إحصائية 0.05 وهو المستوى المعتمد في الدراسات، وبالتالي يمكن إعطاء القرار الاحصائي حسب قيمة .P-value=Sig كما يلي: في حال كانت قيمة الدلالة الإحصائية أكبر من 0.05 فلا يوجد فروق جوهرية في تقييم الفروق والعلاقات، أما في حال قيمة الدلالة الإحصائية أصغر من 0.05 يوجد فروق جوهرية إحصائية في تقييم الفروق والعلاقات.

3- تقييم القيمة التشخيصية للطاخة الخلوية:

تم القيام بذلك بحساب الحساسية والنوعية، تعرف الحساسية (Sensitivity) بأنها قدرة الاختبار التشخيصي على تحديد المرضى المصابين بالمرض تحديداً صحيحاً، ويتم حسابها بالمعادلة التالية:

الحساسية= الإيجابية الحقيقية/ الإيجابيات الحقيقية + السلبيات الكاذبة

أما النوعية (Specificity) فهي قدرة الاختبار على تحديد المرضى الذي ليس لديهم المرض تحديداً صحيحاً. ويتم حسابها بالمعادلة التالية:

النوعية= السلبيات الحقيقية/ السلبيات الحقيقية + الإيجابيات الكاذبة

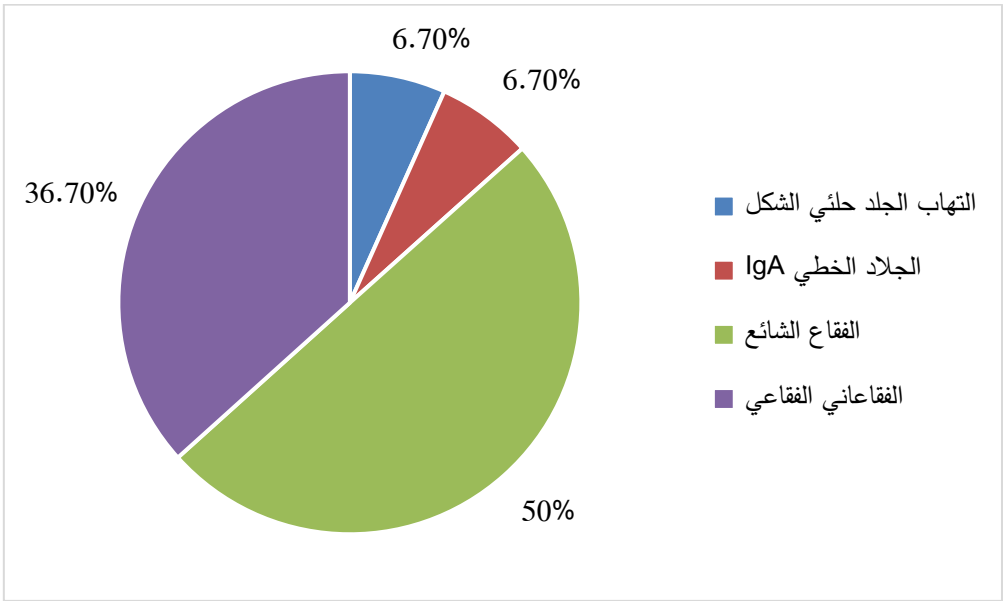
ثم تم إنشاء منحنى ROC (receiver operating characteristic curve) وحساب المساحة تحت المنحنى AUC (Area under the ROC Curve) لمعرفة الفعالية التشخيصية للطاخة الخلوية.

الفصل الثالث: نتائج الدراسة

أولاً: وصف عينة الدراسة:

شملت عينة الدراسة 30 مريضاً ومريضة، وهم المرضى الذين راجعوا المشفى في العامين 2021م وَ2022م و توافرت لديهم شروط الإدخال في هذه الدراسة.

كان **التشخيص النهائي** للمرضى المشمولين بالدراسة بناء على نتيجة الخزعة النسيجية والومضان المناعي المباشر كالتالي: فقاع شائع عند 15 مريضاً (50 %)، وفقاعاني فقاعي عند 11 مريضاً (36.7 %)، التهاب جلد حلئي الشكل عند اثنين من المرضى (6.7 %)، جلاد خطي IgA عند اثنين من المرضى (6.7 %). كما في المخطط البياني 1.



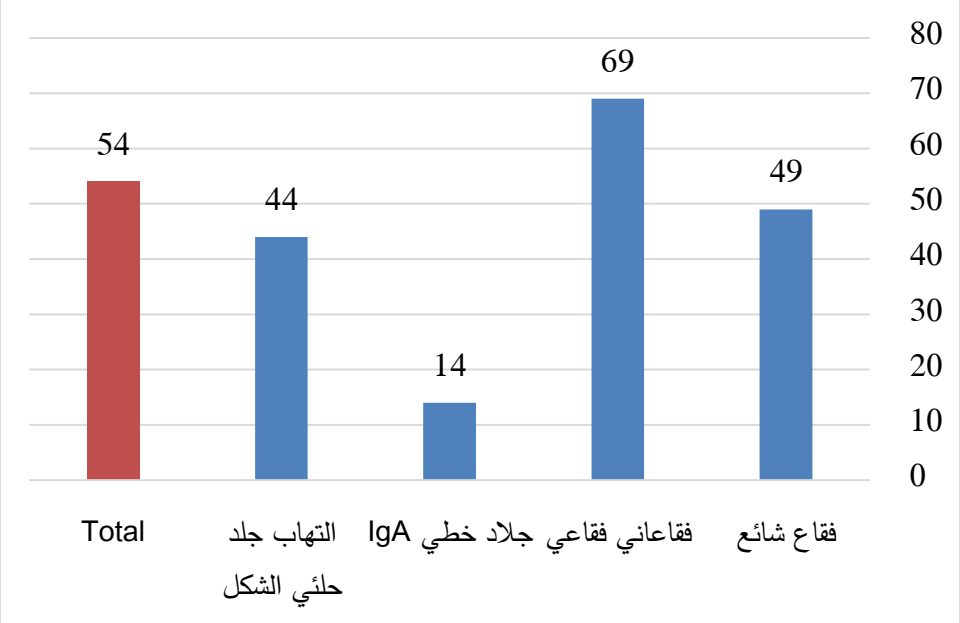
المخطط البياني 1توزع أفراد العينة بحسب التشخيص النهائي

وعليه يكون نصف المرضى ضمن مجموعة الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية ضمن البشرة، والنصف الآخر ضمن مجموعة الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية تحت البشروية. وهو ما يوضحه الجدول 2

الجدول 2 توزع أفراد العينة بحسب تصنيف الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية

التصنيف الرئيس	المرض	عدد المرضى	المجموع	النسبة المئوية
أمراض فقاعية ضمن البشرة	الفقاع الشائع	15	15	50.0%
أمراض فقاعية تحت بشروية	الفقاعاني الفقاعي	11	15	50.0%
	التهاب الجلد حلئي الشكل	2		
	الجلاد الخطي IgA	2		
Total			30	100.0%

من ناحية **العمر** كان متوسط عمر أفراد العينة بالمجمل 54 سنة. كما حُسبت متوسطات أعمار المرضى لكل مرض على حدة، فكان متوسط عمر المرضى في الفقاع الشائع 49 سنة، وفي الفقاعاني الفقاعي 69 سنة، وفي الجلاد الخطي IgA 14 سنة، وفي التهاب الجلد حلئي الشكل 44 سنة، وهو ما يوضحه المخطط البياني 2.

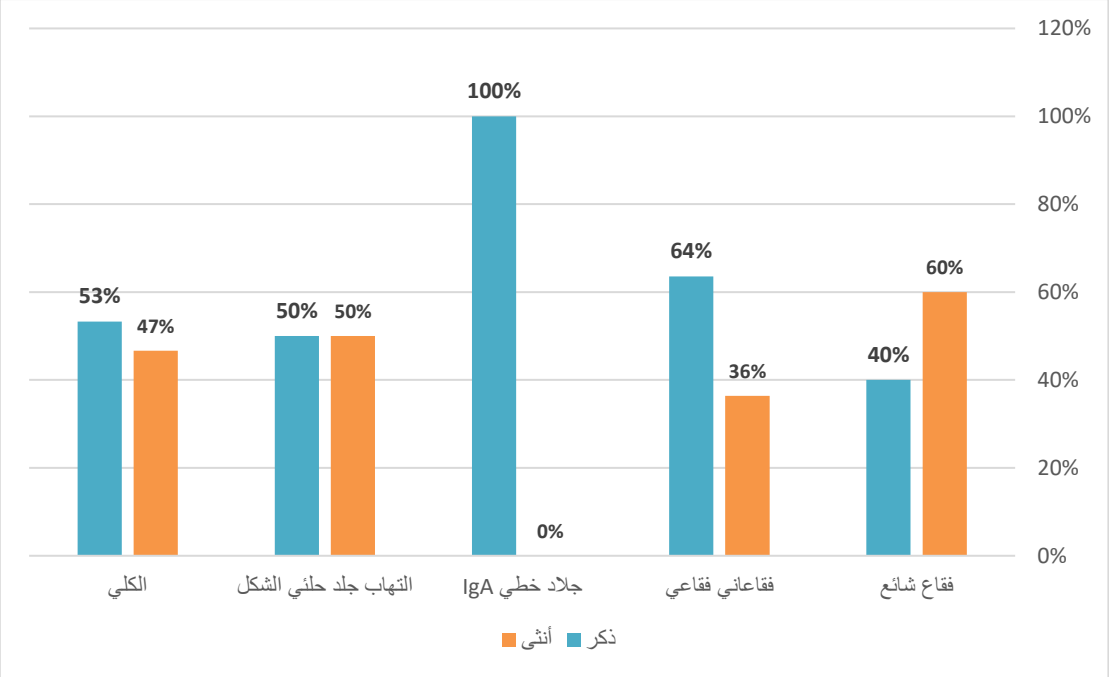


المخطط البياني 2 متوسط عمر أفراد العينة بالسنوات، للعينة ككل ولكل مرض على حدة

أما من ناحية **الجنس** فكان عدد المرضى الذكور في عينة الدراسة 16 مريضا وهو ما يعادل 53.3% من حجم العينة، وكان عدد المريضات الإناث 14 مريضة وهو ما يعادل 46.7% من حجم العينة. ويوضح الجدول 3 وَ المخطط البياني 3 التوزع النسبي لمرضى العينة حسب الجنس لكل مرض من الأمراض على حدة.

الجدول 3 التوزع النسبي للمرضى بحسب الجنس بين الأمراض الفقاعية المشخصة المختلفة

	التشخيص									
	فقاع شائع		فقاعاني فقاعي		جلاد خطي IgA		التهاب جلد حلئي الشكل		Total	
	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%
أنثى	9	60.0%	4	36.4%	0	0.0%	1	50.0%	14	46.7%
ذكر	6	40.0%	7	63.6%	2	100.0%	1	50.0%	16	53.3%
Total	15	100.0%	11	100.0%	2	100.0%	2	100.0%	30	100.0%

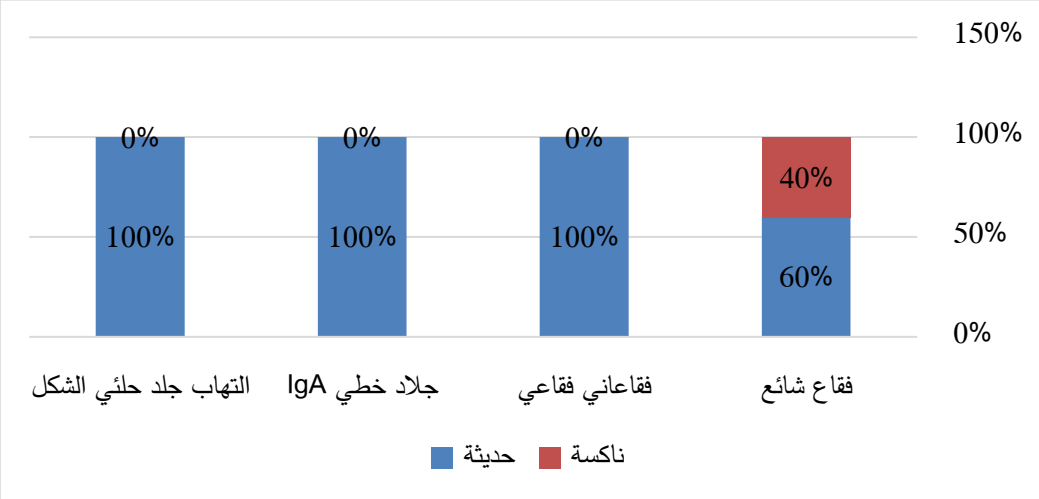


المخطط البياني 3 التوزع النسبي للمرضى بحسب الجنس بين الأمراض الفقاعية المشخصة المختلفة

من ناحية كون الإصابة **تشخص للمرة الأولى أم كانت إصابة ناكسة** لدى المرضى الذين شملتهم عينة الدراسة، كان المرض يشخص للمرة الأولى لدى 9 من أصل 15 مريضا في مجموعة الفقاع الشائع، فيما كانت الإصابة ناكسة عند 6 مرضى بعد فترة تفاوتت مدتها من الشفاء التام السريري. فيما كان يشخص للمرة الأولى لدى كل المرضى الذين شملتهم المجموعات الثلاث المتبقية (الفقاعاني الفقاعي، جلاد خطي IgA، التهاب الجلد حلئي الشكل). هذا يعني أن 80% من مرضى العينة ككل عانوا من مرض فقاعي مناعي ذاتي للمرة الأولى، فيما كان 20% من المرضى يعانون من النكس. وهو ما يوضحه الجدول 4 ، وَالمخطط البياني 4.

الجدول 4 توزع مرضى العينة بين الإصابة للمرة الأولى عند الدخول في الدراسة، وبين نكس مرض سبق تشخيصه

	التشخيص								Total	
	فقاع شائع		فقاعاني فقاعي		جلاد خطي IgA		التهاب جلد حلئي الشكل			
	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%
حديثة	9	60.0%	11	100.0%	2	100.0%	2	100.0%	24	80.0%
ناكسة	6	40.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	6	20.0%
Total	15	100.0%	11	100.0%	2	100.0%	2	100.0%	30	100.0%

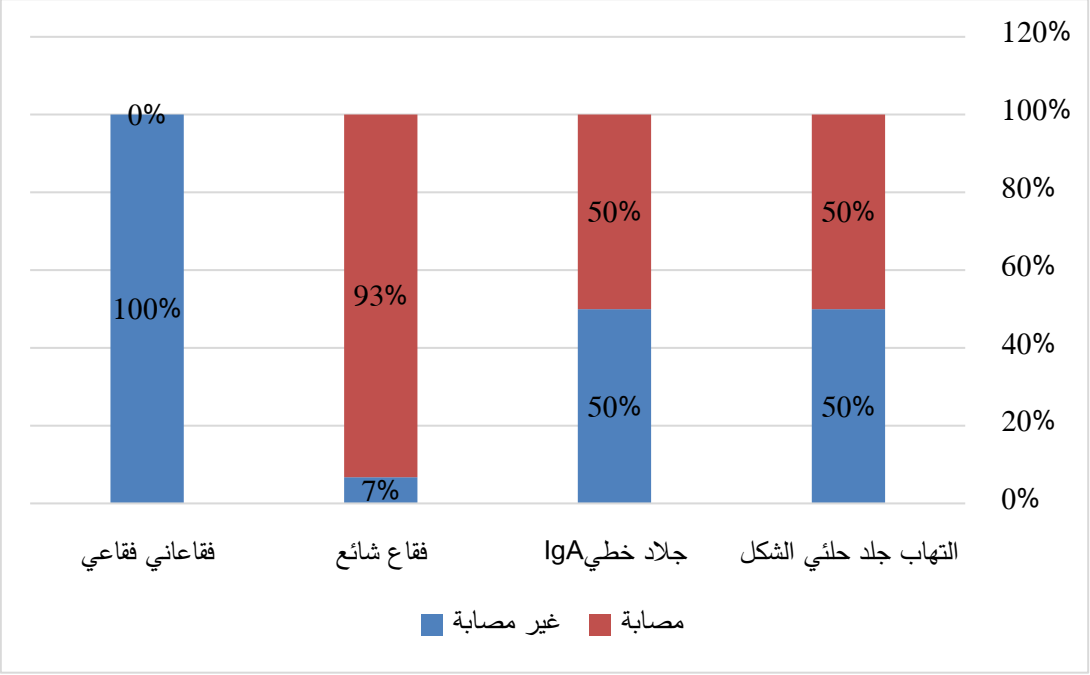


المخطط البياني 4 توزع مرضى العينة بين الإصابة للمرة الأولى عند الدخول في الدراسة، وبين نكس مرض سبق تشخيصه

سجلت إصابة **الأغشية المخاطية** لدى الغالبية العظمى من مرضى الفقاع الشائع (93.3%) ولدى نصف المرضى في كل من الجلاد الخطي IgA والتهاب الجلد حلئي الشكل. فيما لم تسجل أي إصابة مخاطيات لدى مرضى الفقاعاني الفقاعي. وهو ما يوضحه الجدول 5 ، وَالمخطط البياني 5.

الجدول 5 التوزع النسبي لعينة الدراسة حسب المرض والإصابة المخاطية

	المرض									
	فقاع شائع		فقاعاني فقاعي		جلاد خطي IgA		التهاب جلد حلئي الشكل		Total	
	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%
غير مصابة	1	6.7%	11	100%	1	50.0%	1	50.0%	14	46.7%
مصابة	14	93.3%	0	0.0%	1	50.0%	1	50.0%	16	53.3%
Total	15	100%	11	100%	2	100%	2	100%	30	100%

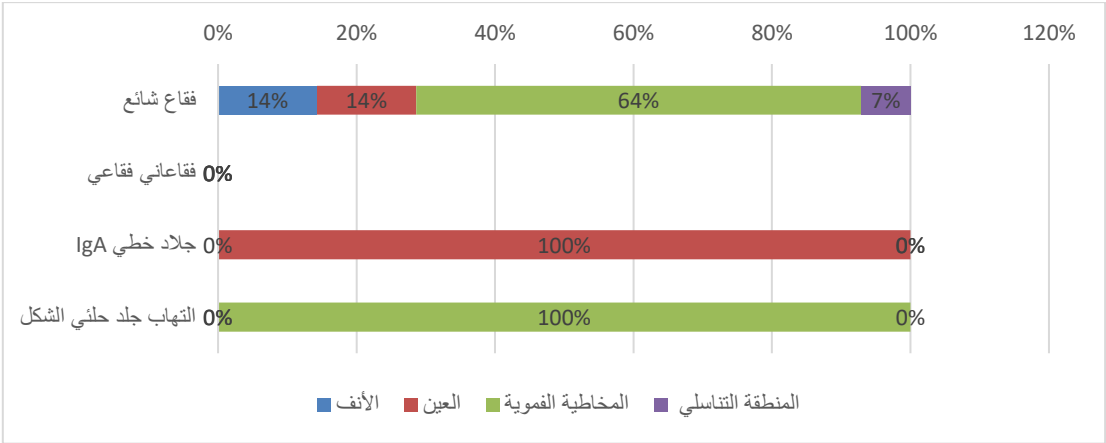


المخطط البياني 5 التوزع النسبي لعينة الدراسة حسب المرض والإصابة المخاطية

كانت **الإصابة المخاطية** لدى 9 من مرضى الفقاع الشائع على حساب المخاطية الفموية، لدى مريضين على حساب مخاطية الأنف، لدى مريضين على حساب الملتحمة، ولدى مريض واحد على حساب المخاطية التناسلية. وكانت إصابة مريض الجلاد الخطي IgA في الملتحمة، في حين كانت إصابة مريض التهاب الجلد الحلئي على حساب المخاطية الفموية. إن كلا من الجدول 6 ، وَالمخطط البياني 6 يوضحان التفاصيل سابقة الذكر ما بين المرضى الذين سجلت لديهم إصابة مخاطيات في عينة الدراسة.

الجدول 6 التوزع النسبي للمرضى الذين عانوا من إصابة مخاطيات بحسب المخاطية المصابة

الأغشية المخاطية المصابة	فقاع شائع		فقاعاني فقاعي		جلاد خطي IgA		التهاب جلد حلئي الشكل		Total	
	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%
الأنف	2	14.3%	0	0%	0	0%	0	0%	2	12.5%
العين	2	14.3%	0	0%	1	100%	0	0%	3	18.8%
المخاطية الفموية	9	64.3%	0	0%	0	0%	1	100%	10	62.5%
المنطقة التناسلية	1	7.1%	0	0%	0	0 %	0	0%	1	6.3%
Total	14	100%	0	100%	1	100%	1	100%	16	100%



المخطط البياني 6 التوزع النسبي للمرضى الذين عانوا من إصابة مخاطيات بحسب المخاطية المصابة

ثانياً: نتائج الدراسة النسيجية لمرضى عينة الدراسة

أُخذت **خزعات نسيجية** لجميع المرضى لإجراء دراسة نسيجية، وفق التوصيات المتعارف عليها لأخذ الخزعة للمرضى حسب التوجه السريري، فأخذت الآفة كاملة ما أمكن، أو تضمنت حافة الفقاعة على الأقل إضافة للمحيط الالتهابي. واحتوت الخزعة في الآفات المخاطية على الحافة الفعالة للمنطقة المتآكلة. كانت جميع الخزعات في هذه الدراسة جلدية عدا خزعتين (من مخاطية الفم) لاثنين من مرضى الفقاع الشائع (الجدول 7).

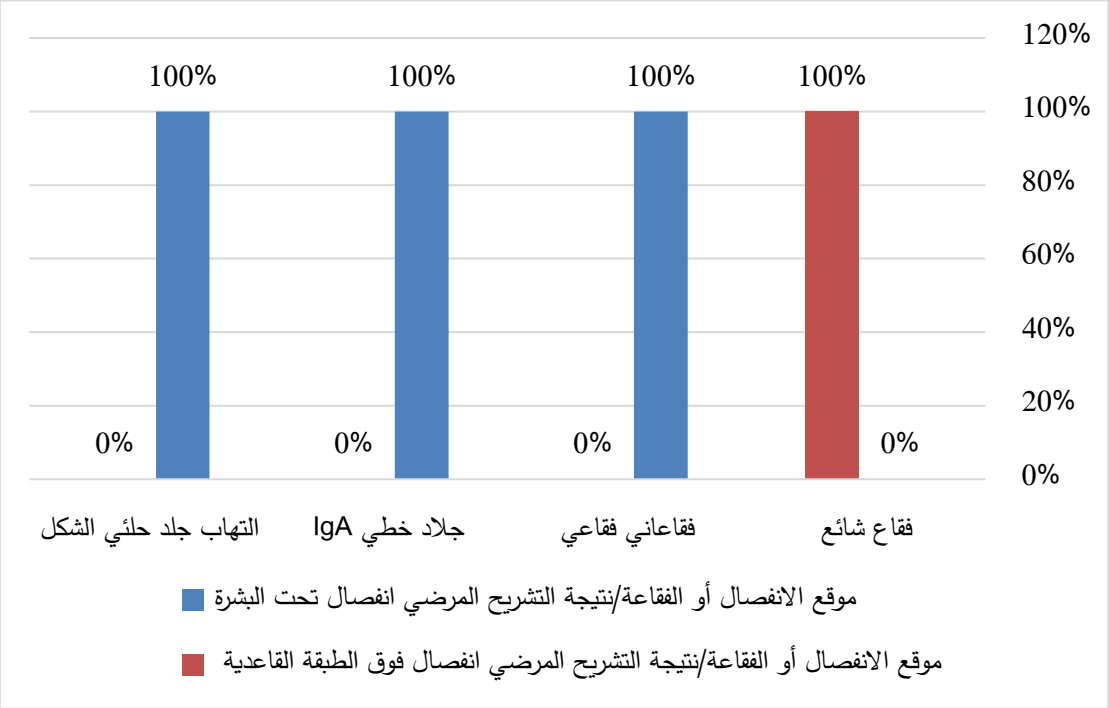
الجدول 7 توزع العينة حسب كون الخزعة النسيجية جلدية أم مخاطية

		المرض									
		فقاع شائع		فقاعاني فقاعي		جلاد خطي IgA		التهاب جلد حلئي الشكل		Total	
		العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%
مكان الخزعة	الجلد	13	86.7%	11	100%	2	100%	2	100%	28	93.3%
	مخاطية الفم	2	13.3%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	2	6.7%
	Total	15	100%	11	100%	2	100%	2	100%	30	100%

عند إجراء الدراسة النسيجية لوحظ **الانفصال البشروي** داخل البشرة (فوق الطبقة القاعدية) لدى جميع مرضى الفقاع الشائع (100 %) فيما كان تحت البشرة (تحت الطبقة القاعدية) لدى بقية المرضى (فقاعاني فقاعي، الجلاد الخطي IgA والتهاب الجلد حلئي الشكل). كما يوضح الجدول 8 والمخطط البياني 7

الجدول 8 توزع العينة بحسب مستوى الانفصال في الخزعة النسيجية

		فقاع شائع		فقاعاني فقاعي		جلاد خطي IgA		التهاب جلد حلئي الشكل	
		العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%
مستوى الانفصال	تحت البشرة	0	0%	11	100%	2	100%	2	100 %
	فوق الطبقة القاعدية	15	100%	0	0%	0	0%	0	0%
	Total	15	100%	11	100%	2	100%	2	100%



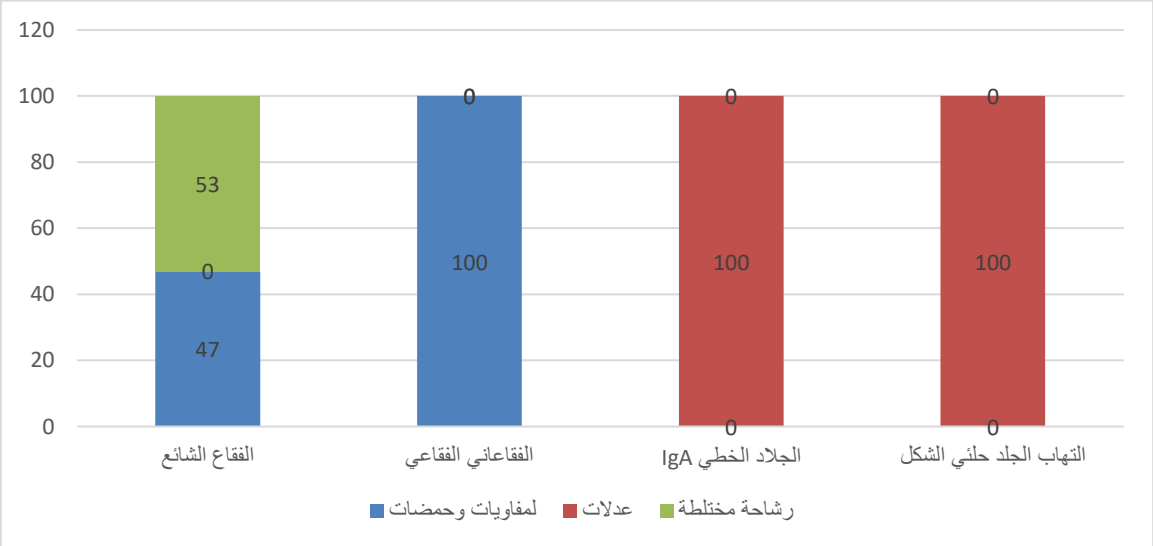
المخطط البياني 7 توزع العينة بحسب مستوى الانفصال في الخزعة النسيجية

يفصل الجدول 9 والمخطط البياني 8 الرشاحة المشاهدة بالخزعات المدروسة، وكانت مكونة من الخلايا اللمفاوية والحمضات لدى 7 مرضى من مجموعة الفقاع الشائع (46.7%) وكانت رشاحة مختلطة (حمضات، عدلات ولمفاويات) لدى 8 مرضى من مجموعة الفقاع الشائع (53.3%). اقتصرت الرشاحة على اللمفاويات والحمضات لدى جميع مرضى الفقاعاني الفقاعي، واقتصرت على العدلات لدى جميع مرضى الجلاد الخطي IgA والتهاب الجلد حلئي الشكل.

وكان موقع الرشاحة المشاهدة في الفقاع الشائع حول الأوعية في الأدمة السطحية، وداخل جوف الفقاعة أحيانا، أما في الفقاعاني الفقاعي فكانت الرشاحة بمستوى الأدمة السطحية وداخل جوف الفقاعة. وكانت رشاحة العدلات في الأدمة السطحية في الجلاد الخطي IgA، فيما تركزت في الحليمات الأدمية في التهاب الجلد حلئي الشكل.

الجدول 9 الرشاحة الالتهابية المشاهدة بالخزعات المدروسة

	فقاع شائع		فقاعاني فقاعي		جلاد خطي IgA		التهاب جلد حلئي الشكل	
	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%
عدلات فقط	0	0%	0	0%	2	100%	2	100%
حمضات فقط	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
لمفاويات فقط	0	%0	0	%0	0	%0	0	%0
لمفاويات وحمضات	7	46.7%	11	100%	0	0%	0	0%
مختلطة	8	53.3%	0	0%	0	0%	0	0%
Total	15	100%	11	100%	2	100%	2	100%

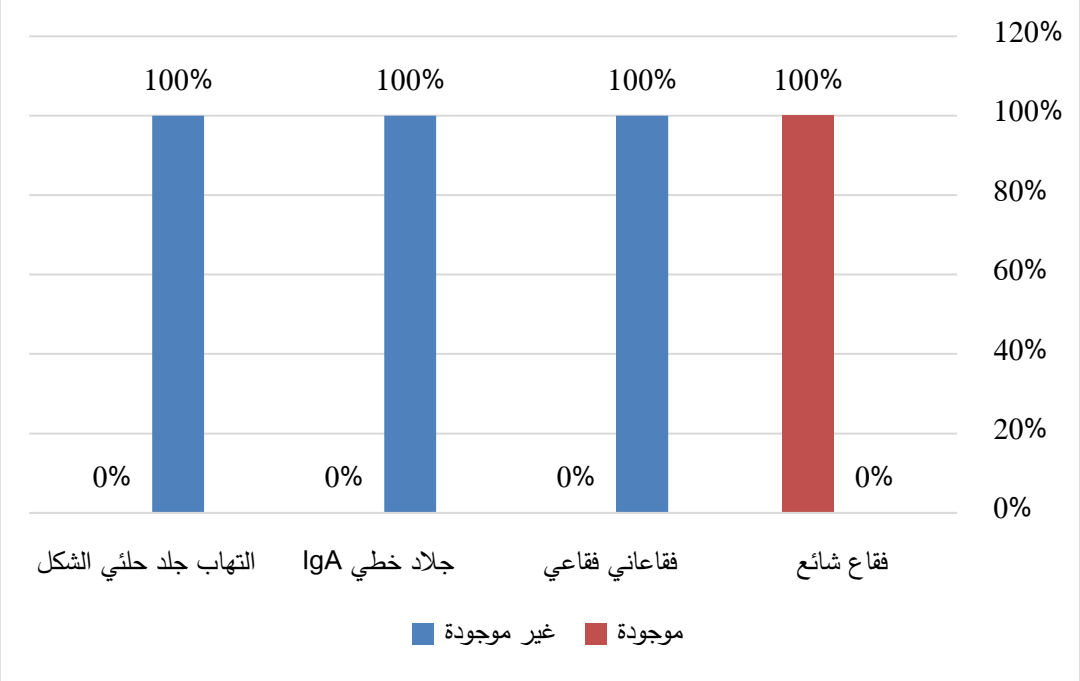


المخطط البياني 8 الرشاحة الالتهابية المشاهدة بالخزعات المدروسة

واقتصر وجود **الخلايا منحلة الأشواك** في الفحص النسيجي على الأمراض الفقاعية داخل البشرة، فيما لم تشاهد في الأمراض الفقاعية تحت البشرة (فقاعاني فقاعي، الجلاد الخطي IgA والتهاب الجلد حلئي الشكل). كما يوضح كل من الجدول 10 وَ المخطط البياني 9

الجدول 10 الخلايا منحلة الأشواك في الخزعة النسيجية

		الأمراض الفقاعية داخل البشرة		الأمراض الفقاعية تحت البشرة	
		العدد	%	العدد	%
الخلايا منحلة الأشواك	موجودة	15	100.0%	0	0.0%
	غير موجودة	0	0.0%	15	100.0%
	Total	15	100.0%	15	100.0%



المخطط البياني 9 الخلايا منحلة الأشواك في الخزعة النسيجية

ثالثاً: نتائج الومضان المناعي المباشر لمرضى عينة الدراسة

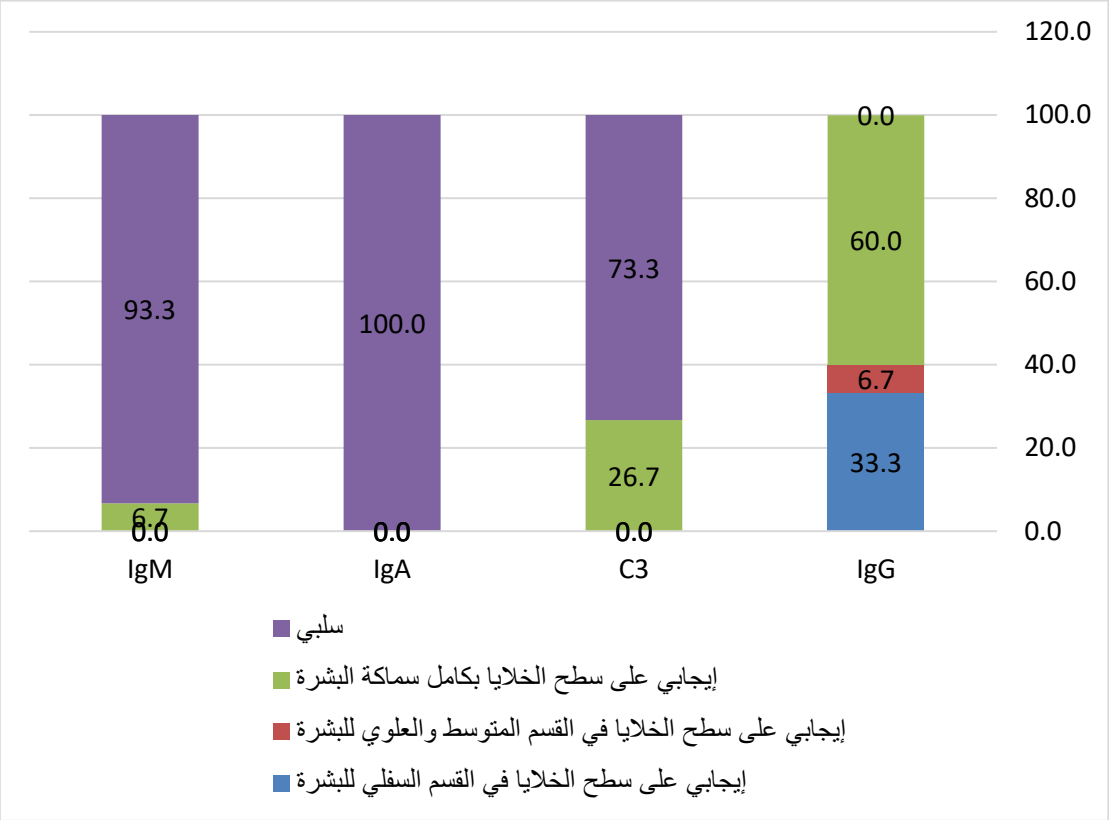
يفصل الجدول 11 وَ المخطط البياني 10 نتائج **الومضان المناعي المباشر عند مرضى الفقاع الشائع**.

كان التألق إيجابي للأضداد IgG على سطح الخلايا في كامل البشرة لدى 9 مرضى (60%)، وكان إيجابيا على سطح الخلايا في القسم العلوي والمتوسط من البشرة عند مريض واحد (6.67%) وإيجابيا على سطح الخلايا في القسم السفلي من البشرة عند 5 مرضى (33.3%).

أبدت المتممة C3 تألقا على سطح الخلايا بكامل البشرة عند 4 مرضى (26.7%) فقط، وكذلك أضداد IgM عند مريض واحد (6.7%). فيما لم تتألق أضداد IgA لدى أي من مرضى الفقاع الشائع. وكان نمط التألق شبكي في جميع الحالات الإيجابية.

الجدول 11 نتيجة الومضان المناعي المباشر للخزعات النسيجية لمرضى الفقاع الشائع

	نوع الضد							
	IgG		C3		IgA		IgM	
	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%
إيجابي على سطح الخلايا في القسم السفلي للبشرة	5	33.3	0	0	0	0	0	0
إيجابي على سطح الخلايا في القسم المتوسط والعلوي للبشرة	1	6.67	0	0	0	0	0	0
إيجابي على سطح الخلايا بكامل سماكة البشرة	9	60	4	26.7	0	0	1	6.7
سلبي	0	0	11	73.3	15	100	14	93.3
المجموع	15	100	15	100	15	100	15	100



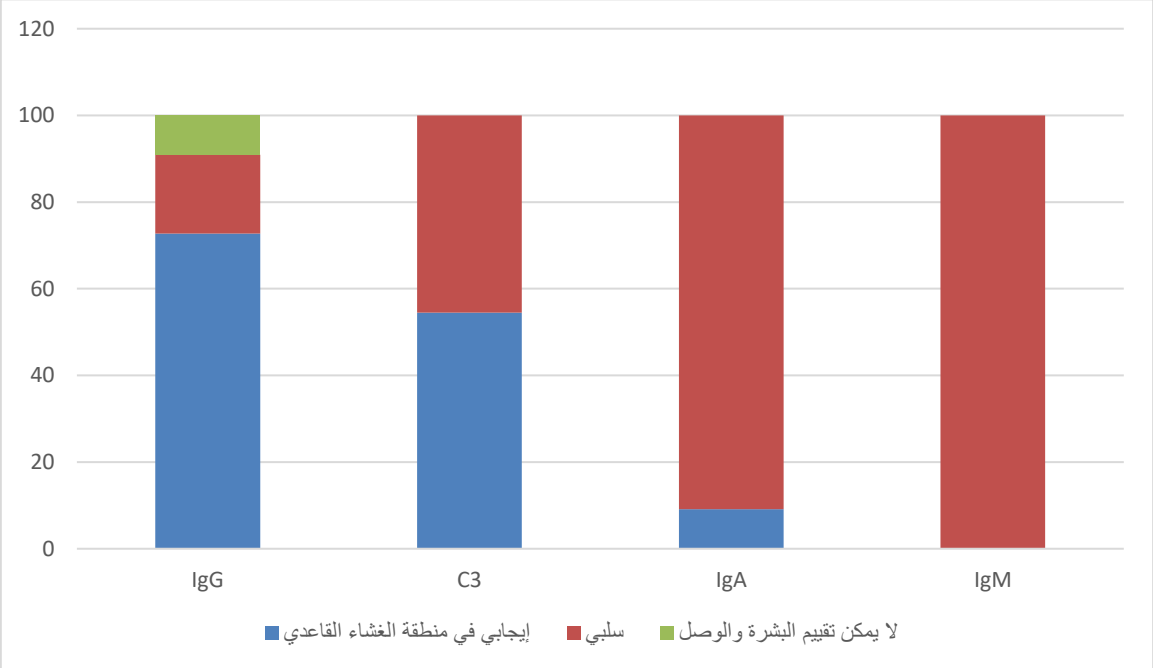
المخطط البياني 10 نتيجة الومضان المناعي المباشر للخزعات النسيجية لمرضى الفقاع الشائع

يفصل الجدول 12 وَ المخطط البياني 11 نتائج **الومضان المناعي المباشر عند مرضى الفقاعاني الفقاعي**. بالنسبة للأضداد IgG كان التألق سلبيا لدى مريضين، وكان إيجابيا بشكل خطي بمستوى الغشاء القاعدي لدى 8 مرضى (72.7%)، فيما لم يمكن تقييم ترسب الأضداد في البشرة والوصل البشروي الأدمي عند مريض واحد، غير أنها أبدت تألقا إيجابيا خطيا حول الأجربة الشعرية.

أما المتممة فأبدت تألقا خطيا بمستوى الغشاء القاعدي عند 6 مرضى (54.5%) وكانت سلبية عند 5 مرضى (45.5%). كان تألق IgA إيجابيا لدى مريض واحد فقط بشكل خطي بمستوى الغشاء القاعدي. فيما كانت أضداد IgM سلبية لدى جميع المرضى.

الجدول 12 نتيجة الومضان المناعي المباشر للخزعات النسيجية لمرضى الفقاعاني الفقاعي

	نوع الضد							
	IgG		C3		IgA		IgM	
	عدد	%	عدد	%	عدد	%	عدد	%
إيجابي في منطقة الغشاء القاعدي	8	72.7	6	54.5	1	9.1	0	0
سلبي	2	18.2	5	45.5	10	90.9	11	100
لا يمكن تقييم الوصل	1	9.1	0	0.0	0	0.0	0	0
Total	11	100	11	100	11	100	11	100



المخطط البياني 11 نتيجة الومضان المناعي المباشر للخزعات النسيجية لمرضى الفقاعاني الفقاعي

يفصل الجدول 13 نتائج **الومضان المناعي المباشر تحت البشرة لدى مرضى الجلاد الخطي IgA**.

بالنسبة للأضداد IgG وَ IgM كانت سلبية لدى كلا المريضين، وكذلك المتممة C3. فيما كان تألق IgA إيجابيا بشكل خطي بمستوى الغشاء القاعدي لدى المريضين.

الجدول 13 نتيجة الومضان المناعي المباشر للخزعات النسيجية لمرضى الجلاد الخطي IgA

	نوع الضد							
	IgG		C3		IgA		IgM	
	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%
إيجابي في منطقة الغشاء القاعدي	0	0	0	0	2	100	0	0
سلبي	2	100	2	100	0	0	2	100
المجموع	2	100	2	100	2	100	2	100

وبحسب الجدول 14 كان التألق سلبيا بالنسبة للأضداد IgG وَ IgM في الخزعات المجراة لمريضي **التهاب جلد حلئي الشكل**، وكذلك المتممة C3. فيما كان تألق IgA إيجابيا لدى المريضين بشكل حبيبي بمستوى الغشاء القاعدي وفي ذرا الحلميات الأدمية.

الجدول 14 نتيجة الومضان المناعي المباشر للخزعات النسيجية لمرضى التهاب الجلد حلئي الشكل

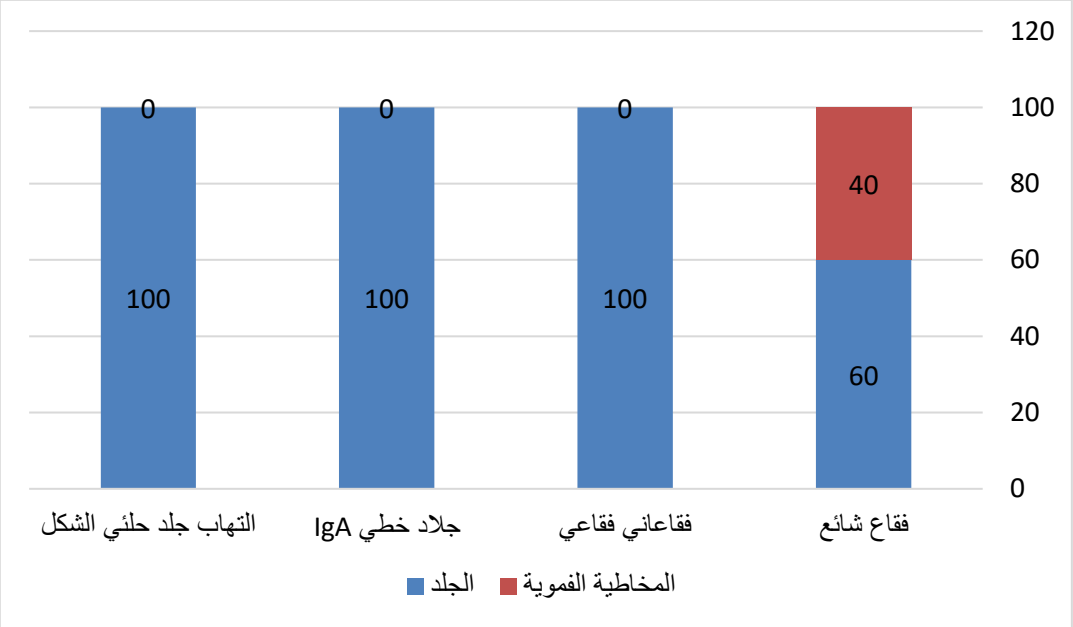
	نوع الضد							
	IgG		C3		IgA		IgM	
	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%
إيجابي في الغشاء القاعدي وذرا الحليمات الأدمية	0	0	0	0	2	100	0	0
سلبي	2	100	2	100	0	0	2	100
TOTAL	2	100	2	100	2	100	2	100

رابعاً: نتائج دراسة اللطاخة الخلوية (لطاخة تزانك) لمرضى عينة الدراسة

أُخذت اللطاخة الخلوية من **المخاطية الفموية** عند 6 مرضى من مجموعة الفقاع الشائع، فيما أخذت من **الاندفاعات النفاطية الجلدية** عند 9 من مرضى الفقاع الشائع، وعند جميع مرضى الفقاعاني الفقاعي، التهاب الجلد حلئي الشكل والجلاد الخطي IgA. يوضح ذلك الجدول 15 وَ المخطط البياني 12.

الجدول 15 التوزع النسبي لأفراد عينة البحث بحسب مكان أخذ لطاخة تزانك

	فقاع شائع		فقاعاني فقاعي		جلاد خطي IgA		التهاب جلد حلئي الشكل		Total	
	العدد	%	العدد	%	العدد	العدد	العدد	%	العدد	%
الجلد	9	60	11	100	2	100	2	100	24	80
المخاطية الفموية	6	40	0	0	0	0	0	0	6	20
Total	15	100	11	100	2	100	2	100	30	100

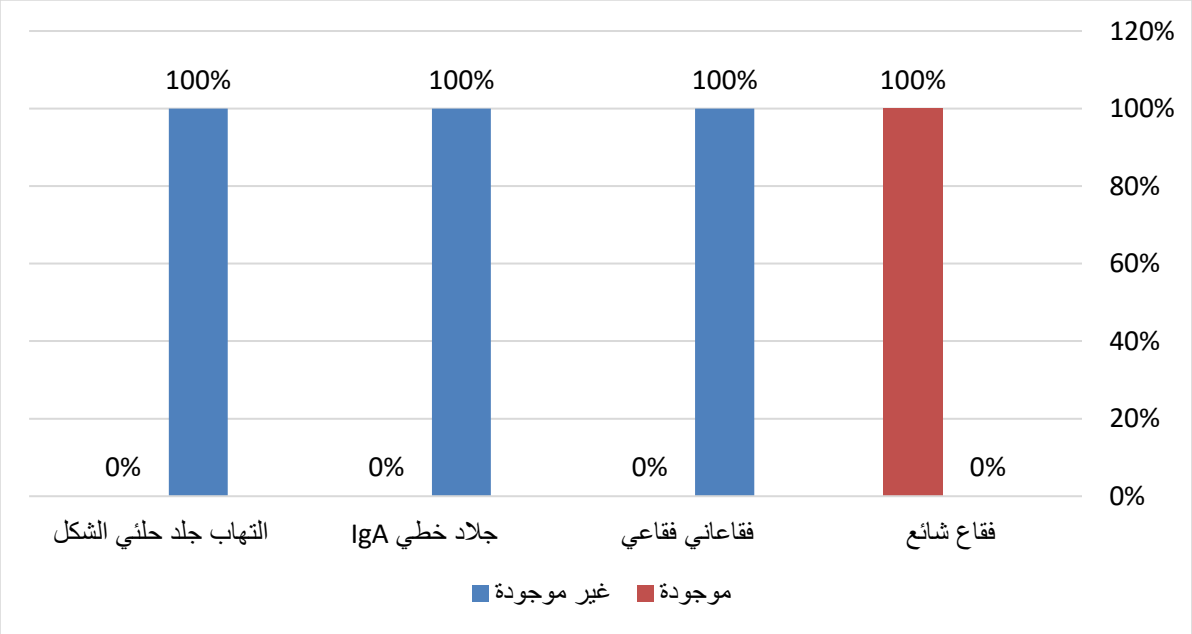


المخطط البياني 12 التوزع النسبي لأفراد عينة البحث بحسب مكان أخذ لطاخة تزانك

ولدى فحص اللطاخات الخلوية، شوهدت **الخلايا منحلة الأشواك** في جميع العينات المأخوذة من المرضى المصابين بالمرض الفقاعي داخل البشرة (الفقاع الشائع)، فيما لم تشاهد أي منها في العينات المأخوذة من المرضى المصابين بالأمراض الفقاعية تحت البشرة (فقاعاني فقاعي – التهاب جلد حلئي الشكل – جلاد خطيIgA) كما يوضح الجدول 16 وَ المخطط البياني 13.

الجدول 16 التوزع النسبي لوجود الخلايا منحلة الأشواك في لطاخة تزانك بالنسبة للأمراض المدروسة

	المرض									
	فقاع شائع		فقاعاني فقاعي		جلاد خطي IgA		التهاب جلد حلئي الشكل		Total	
	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%
غائبة	0	0.0%	11	100.0%	2	100.0%	2	100.0%	15	50.0%
موجودة	15	100.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	15	50.0%
Total	15	100.0%	11	100.0%	2	100.0%	2	100.0%	30	100.0%



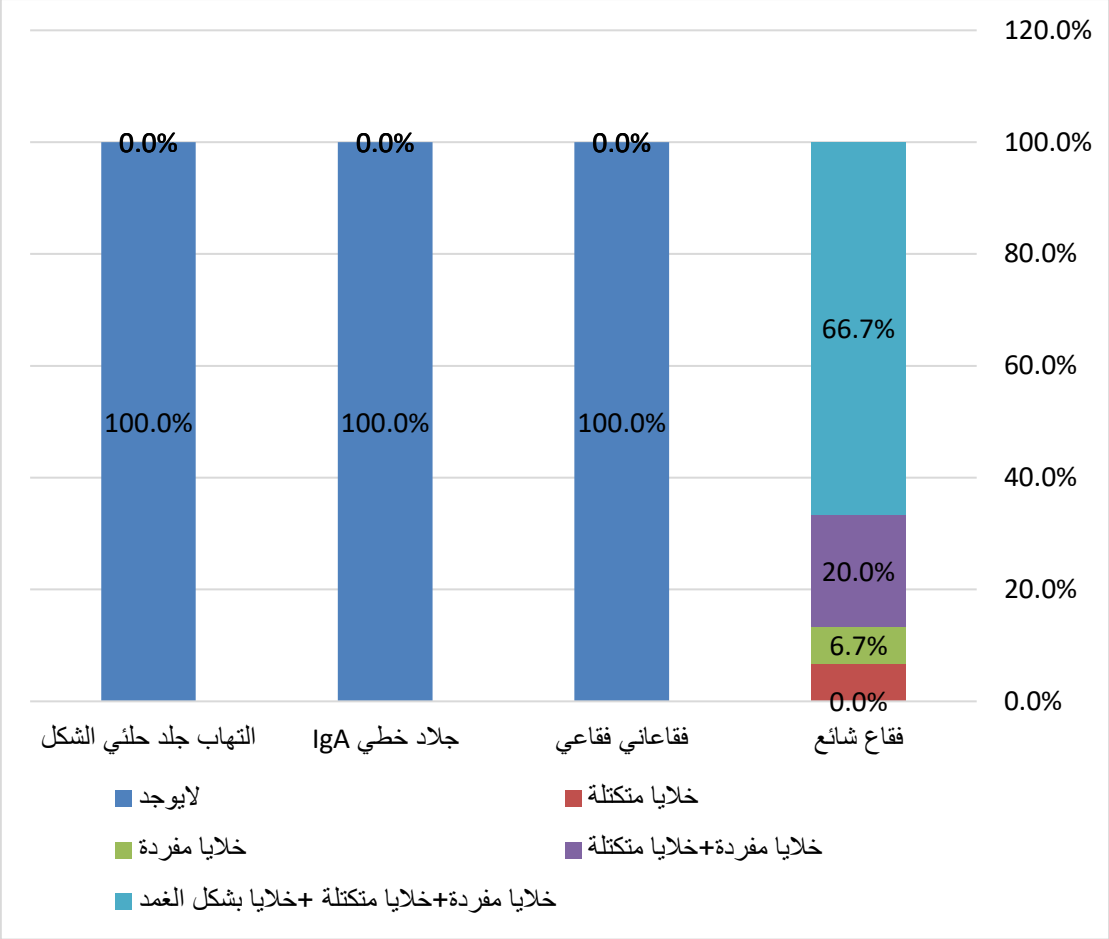
المخطط البياني 13 التوزع النسبي لوجود الخلايا منحلة الأشواك في لطاخة تزانك بالنسبة للأمراض المدروسة

في 66.7% من اللطاخات الخلوية التي شوهدت فيها **الخلايا منحلة الأشواك**، كانت الخلايا مفردة ومتكتلة مع مشاهدة خلايا بشكل الغمد، جميعها في اللطاخة نفسها.

فيما كانت مفردة فقط في عينة واحدة، متكتلة فقط في عينة واحدة، وشوهدت خلايا منحلة الأشواك مفردة ومتكتلة معاً في 3 عينات. كما في الجدول 17 وَ المخطط البياني 14

الجدول 17 التوزع النسبي لنمط الخلايا منحلة الأشواك في لطاخة تزانك

	فقاع شائع		فقاعاني فقاعي		جلاد خطي IgA		التهاب جلد حلئي الشكل	
	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%
لايوجد	0	0.0%	11	100.0%	2	100.0%	2	100.0%
خلايا متكتلة	1	6.7%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
خلايا مفردة	1	6.7%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
خلايا مفردة +خلايا متكتلة	3	20.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
خلايا مفردة +خلايا متكتلة +خلايا بشكل الغمد	10	66.7%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
Total	15	100.0%	11	100.0%	2	100.0%	2	100.0%



المخطط البياني 14 التوزع النسبي لنمط الخلايا منحلة الأشواك في لطاخة تزانك

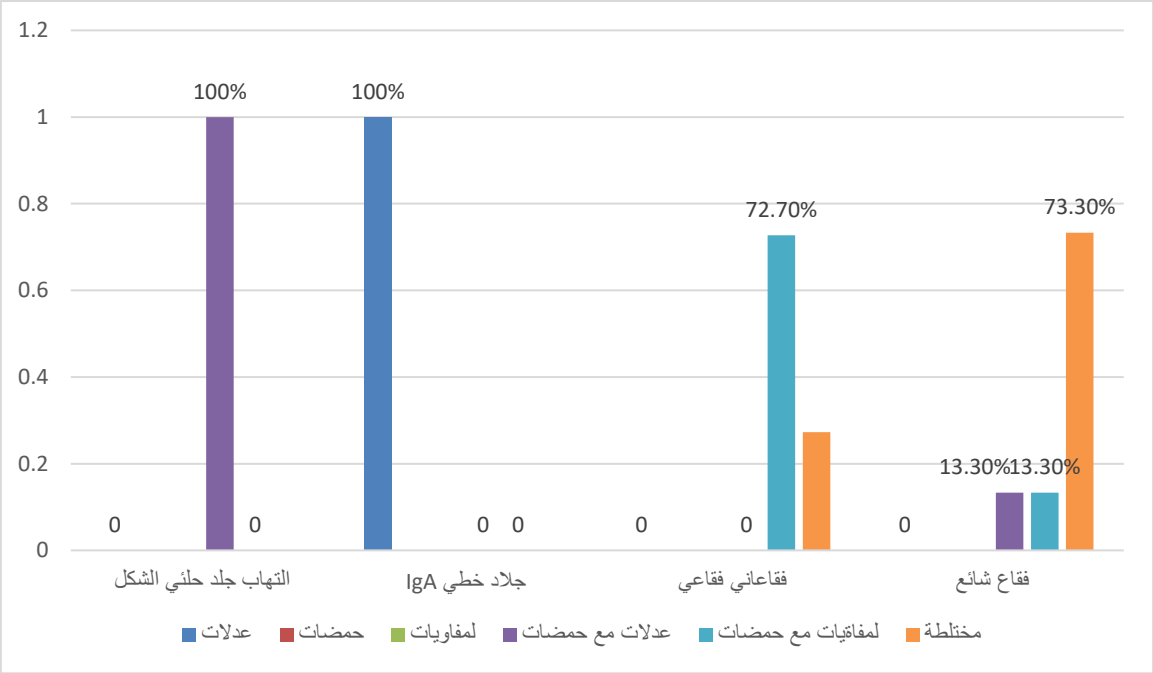
كانت **الخلايا الالتهابية** عند مرضى الفقاع الشائع عبارة عن رشاحة مختلطة في 11 لطاخة خلوية (73.3%).

فيما كانت عبارة عن عدلات وحمضات في لطاختين، ولمفاويات وحمضات في لطاختين. أما في لطاخات الفقاعاني الفقاعي، فكانت الخلايا الالتهابية مكونة من اللمفاويات والحمضات في 8 لطاخات، ورشاحة مختلطة في 3 لطاخات.

تميزت لطاخات مرضى التهاب الجلد حلئي الشكل باحتواءها على العدلات والحمضات، فيما كانت الرشاحة في لطاخات الجلاد الخطي IgA مكونة من العدلات فقط. كما في الجدول 18 والمخطط البياني 15.

الجدول 18 الخلايا الالتهابية المشاهدة في اللطاخات الخلوية في الأمراض المختلفة المدروسة

	فقاع شائع		فقاعاني فقاعي		جلاد خطي IgA		التهاب جلد حلئي الشكل	
	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%
عدلات فقط	0	0.0%	0	0.0%	2	100.0%	0	0.0%
حمضات فقط	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
لمفاويات فقط	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
عدلات مع حمضات	2	13.3%	0	0.0%	0	0.0%	2	100.0%
لمفاويات مع حمضات	2	13.3%	8	72.7%	0	0.0%	0	0.0%
مختلطة	11	73.3%	3	27.3%	0	0.0%	0	0.0%



المخطط البياني 15 الخلايا الالتهابية المشاهدة في اللطاخات الخلوية في الأمراض المختلفة المدروسة

خامساً: نتائج الومضان المناعي المباشر على اللطاخات الخلوية لمرضى الدراسة

لدى إجراء **الومضان المناعي المباشر على اللطاخات الخلوية** لمرضى الفقاع الشائع، أبدت أضداد IgG تألقا إيجابياً على سطح خلايا تزانك في جميع الحالات، وتألقت المتممة C3 لدى 9 مرضى، وكان تألق أضداد IgM ايجابياً في حالتين فقط، فيما لم تتألق أضداد IgA. يفصل ذلك في الجدول 19 وَ المخطط البياني 16.

الجدول 19 التوزع النسبي لنتيجة الومضان المناعي المباشر على لطاخة تزانك في الفقاع الشائع

	IgG		C3		IgA		IgM	
	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%
إيجابي على سطح الخلايا	15	100	9	60	0	0.0	2	13.3
سلبي	0	0	6	40	15	100.0	13	86.7
Total	15	100	15	100	15	100.0	15	100.0



المخطط البياني 16 التوزع النسبي لنتيجة الومضان المباشر على لطاخة تزانك في الفقاع الشائع

فيما كان التألق المناعي سلبيا لجميع أنواع الأضداد المدروسة والمتممة في جميع اللطاخات الخلوية لمرضى الفقاعاني الفقاعي، التهاب الجلد حلئي الشكل والجلاد الخطي IgA.

فُصّل ذلك في الجدول 20 – الجدول 21 – الجدول 22.

الجدول 20 نتائج الومضان المناعي على لطاخة تزانك في الفقاعاني الفقاعي

فقاعاني فقاعي	IgG		C3		IgA		IgM	
	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%
إيجابي	0	0	0	0	0	0	0	0
سلبي	11	100	11	100	11	100	11	100
Total	11	100	11	100	11	100	11	100

الجدول 21 نتائج الومضان المناعي على لطاخة تزانك في الجلاد الخطي IgA

جلاد خطي IgA	IgG		C3		IgA		IgM	
	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%
إيجابي	0	0	0	0	0	0	0	0
سلبي	2	100	2	100	2	100	2	100
Total	2	100	2	100	2	100	2	100

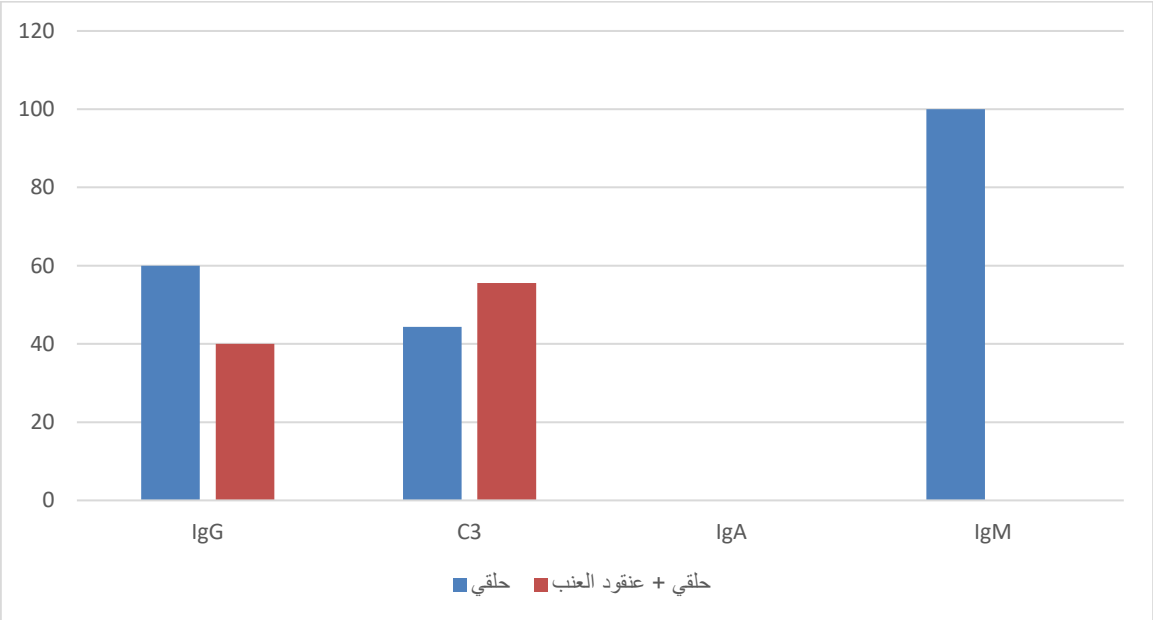
الجدول 22 نتائج الومضان المناعي على لطاخة تزانك في التهاب الجلد حلئي الشكل

التهاب جلد حلئي الشكل	IgG		C3		IgA		IgM	
	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%
إيجابي	0	0	0	0	0	0	0	0
سلبي	2	100	2	100	2	100	2	100
Total	2	100	2	100	2	100	2	100

سُجل **نمط التألق** في اللطاخات الخلوية التي ظهر فيها تألق إيجابي عند إجراء الومضان المناعي، بالنسبة لتألق أضداد IgG: كانت 9 منها تبدي تألقا من النمط الحلقي (60%) وكانت 6 منها تبدي التألق من النمط الحلقي مع نمط عنقود العنب (40%). أما المتممة فأبدت تألق من النمط الحلقي لدى 4 مرضى (44.4%) فيما كان حلقي مع عنقود العنب لدى 5 مرضى (55.6%). وكان التألق حلقي لدى مريضين على حساب أضداد IgM كما في الجدول 23 وَ المخطط البياني 17.

الجدول 23 نمط التألق في اللطاخات الخلوية التي أبدت تألقا مناعيا إيجابيا

نمط التألق	الضد							
	IgG		C3		IgA		IgM	
	عدد	%	عدد	%	عدد	%	عدد	%
حلقي	9	60%	4	44.4%	0	0%	2	100%
حلقي + عنقود العنب	6	40%	5	55.6%	0	0%	0	0%



المخطط البياني 17 نمط التألق في اللطاخات الخلوية التي أبدت تألقا مناعيا إيجابيا

سادساً: العلاقة بين نتائج الومضان المناعي المباشر للخزعة النسيجية وللطاخة الخلوية

تمت دراسة العلاقة ما بين نتيجة إجراء الومضان المناعي على الخزعة النسيجية وإجرائه على اللطاخة الخلوية، لكل نمط من الأَضداد على حدة لدى جميع مرضى الفقاع الشائع (الجدول 24)، لتقييم فيما إذا كانت نتيجة الومضان في اللطاخة الخلوية تتوافق مع نتيجة الومضان في الخزعة النسيجية، وذلك باستعمال اختبار Pearson Chi-Square لتقييم العلاقة بين متغيرين اسميين.

بالنسبة للأضداد IgG كان اختبار Chi-Square = 30 و P-value=0.000 وهي أصغر من 0.05 وهذا يدل على وجود ارتباط بين نتيجة الومضان المناعي المباشر على اللطاخة الخلوية والومضان المناعي المباشر المطبق على الخزعة.

وفي حالة المتممة C3 كان Chi-Square = 12 و P-value=0.002 وهي أصغر من 0.05 وبالتالي يوجد ارتباط بين نتيجة الومضان المناعي المباشر على اللطاخة الخلوية والومضان المناعي المباشر المطبق على الخزعة.

وبالنسبة للأضداد IgA كان اختبار Chi-Square = 4.0 و P-value=0.007 وهي أصغر من 0.05 وبالتالي يوجد ارتباط بين نتيجة الومضان المناعي المباشر على اللطاخة الخلوية والومضان المناعي المباشر المطبق على الخزعة.

وبالنسبة للأضداد IgM كان اختبار Chi-Square = 14.5 و P-value=0.001 وهي أصغر من 0.05 وبالتالي يوجد ارتباط بين نتيجة الومضان المناعي المباشر على اللطاخة الخلوية والومضان المناعي المباشر المطبق على الخزعة.

الجدول 24 دراسة العلاقة ما بين الومضان المناعي المباشر على اللطاخة الخلوية والومضان المناعي المباشر على الخزعة النسيجية عند مرضى الفقاع الشائع

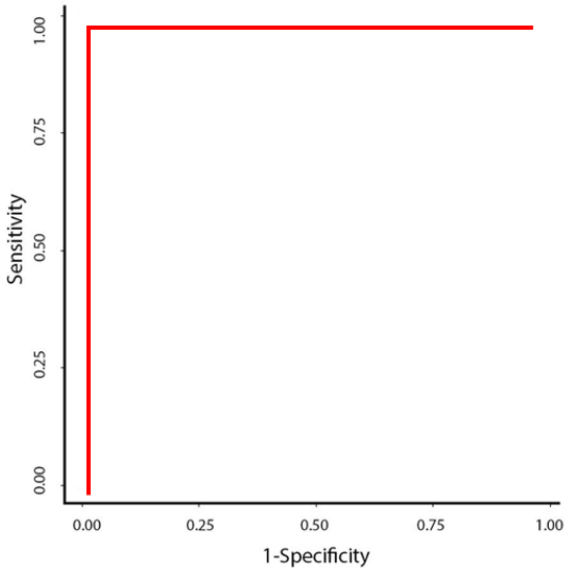
Asymptotic Significance (2-sided)	Value	
0.000	30.000	دراسة العلاقة ما بين الومضان بالنسبة لأضداد IgG على اللطاخة الخلوية والومضان على الخزعة النسيجية
0.002	12.143	دراسة العلاقة ما بين الومضان بالنسبة للC3 على اللطاخة الخلوية والومضان على الخزعة النسيجية
0.007	4.429	دراسة العلاقة ما بين الومضان بالنسبة لأضداد IgA على اللطاخة الخلوية والومضان على الخزعة النسيجية
0.001	14.483	دراسة العلاقة ما بين الومضان بالنسبة لأضداد IgM على اللطاخة الخلوية والومضان على الخزعة النسيجية

سابعاً: القيمة التشخيصية لاختبار اللطاخة الخلوية (لطاخة تزانك)

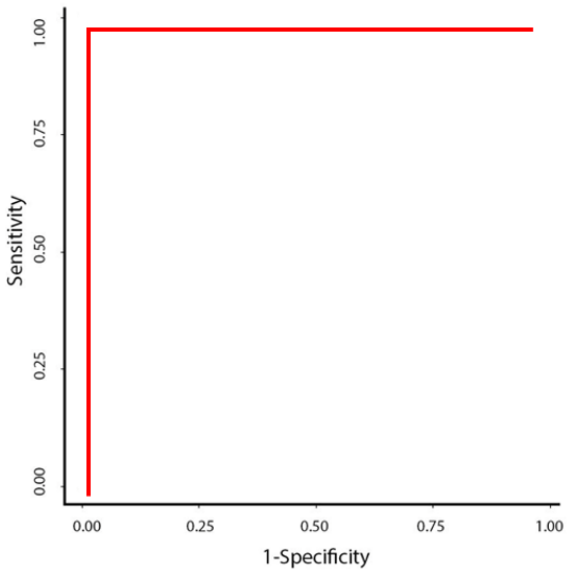
حُسبت الحساسية والنوعية للطاخة الخلوية الروتينية وكذلك للطاخة مع اجراء الومضان المناعي المباشر عليها في التمييز ما بين الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية داخل البشرة وتحت البشروية، فكانت الحساسية 100%، والنوعية 100% في كلتا الحالتين.

يمثل المخطط البياني 18 منحنى ROC (receiver operating characteristic curve) للطاخة الخلوية الروتينية، حيث وصل المنحنى إلى الزاوية العلوية اليسرى من الش كل البياني، مع مساحة تحت المنحنى

AUC (Area under the ROC Curve) تبلغ 1 مما يشير إلى امتلاك الاختبار المدروس قيمة تشخيصية عالية. ويمثل المخطط البياني 19 منحنى ROC للومضان المناعي على اللطاخة الخلوية، حيث وصل المنحنى إلى الزاوية العلوية اليسرى من الشكل البياني، مع مساحة تحت المنحنى AUC تبلغ 1 ما يشير إلى امتلاك الاختبار المدروس قيمة تشخيصية عالية.



المخطط البياني 18 منحنى ROC للطاخة الخلوية الروتينية



المخطط البياني 19 منحنى ROC للومضان المناعي على اللطاخة الخلوية

الفصل الرابع: مناقشة النتائج والمقارنة مع الدراسات العالمية

وُضع التشخيص النهائي لمرضى الدراسة اعتماداً على الربط بين الموجودات السريرية ونتائج التشريح المرضي والومضان المناعي المباشر في البشرة والملحقات. تعذر تفسير التألق المناعي ضمن البشرة وعلى مستوى الوصل البشروي الأدمي في إحدى الحالات المدروسة بسياق بحثنا بسبب تنخر الأضداد المناعية ضمن البشرة، وشُخصت الإصابة بالفقاعاني الفقاعي لدى هذا المريض اعتمادا على ترسب أضداد IgG بشكل خطي حول الجراب الشعري، ما أدى إلى تألق إيجابي، إضافة إلى وجود انفصال تحت البشرة في الخزعة النسيجية.

تناولت دراستنا دور لطاخة تزانك في تشخيص الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية، وأجريت اللطاخة الخلوية الروتينية والومضان على اللطاخة الخلوية لجميع مرضى الدراسة. كان 15 مريضاً منهم مصابين بأمراض فقاعية مناعية ذاتية ضمن البشرة (جميعهم فقاع شائع) و15 مريضا مصابين بأمراض فقاعية مناعية ذاتية تحت البشرة (11 مريضاً فقاعاني فقاعي ، مريضين جلاد خطي IgA ومريضين التهاب جلد حلئي الشكل).

1- دور الخلايا منحلة الأشواك في تقييم اللطاخة الخلوية، وحساسيتها ونوعيتها في تشخيص الفقاع

شوهدت الخلايا منحلة الأشواك في اللطاخات الخلوية لدى جميع مرضى الفقاع الشائع (100%) وهو ما يطابق النتائج التي نشرها S. Aneesh وزملاؤه عام 2019م [181]، Leena وزملاؤها عام 2010م [182]، وكذلك Arun Jose عام2019 م [174].

وكانت غائبة لدى جميع مرضى الفقاعاني الفقاعي، التهاب الجلد حلئي الشكل والجلاد الخطي IgA، وهو ما يطابق النتائج التي نشرها S. Aneesh وزملاؤه عام 2019م [181].

أظهرت النتائج أن اللطاخة الخلوية الروتينية هي اختبار مفيد وذو دور مهم في تمييز الأمراض الفقاعية ضمن البشرة عن الأمراض الفقاعية تحت البشرة، إذ يعد وجود الخلايا منحلة الأشواك في اللطاخة الروتينية دليل قوي على الأمراض الفقاعية داخل البشرة، مع حساسية ونوعية تبلغ 100%، وهو ما يطابق النتائج التي نشرها S. Aneesh وزملاؤه عام 2019م إذ بلغت حساسية اللطاخة في بحثهم 100%. بناء على ذلك يمكن الاستفادة من وجود الخلايا منحلة الأشواك في لطاخة تزانك في التشخيص المبكر للفقاع الشائع [181].

وبناء على هذه النتائج أُنشئ منحنى ROC وحُسبت المساحة تحت المنحنى AUC، والتي بلغت 1. وهذا يدل على فعالية تشخيصية عالية للطاخة الخلوية الروتينية.

2- مقارنة وجود الخلايا منحلة الأشواك في كل من الخزعة النسيجية واللطاخة الخلوية

إن نتائج دراستنا تظهر أن الخلايا منحلة الأشواك كانت موجودة لدى جميع المرضى المصابين بالفقاع الشائع في الخزعة النسيجية إضافة إلى اللطاخة الخلوية، فيما كانت غائبة لدى جميع مرضى الأمراض الفقاعية تحت البشروية في الخزعة النسيجية إضافة إلى اللطاخة الخلوية، وهذا التوافق ما بين نتائج اللطاخة الخلوية والخزعة النسيجية مقارب لما نشره S. Aneesh وزملاؤه عام 2019م [181]، حيث ظهرت الخلايا منحلة الأشواك في الخزعات النسيجية عند 90.3% من مرضى الفقاع الشائع، وفي اللطاخات الخلوية عند 100% منهم، وكانت غائبة عند جميع مرضى الفقاعاني والتهاب الجلد الحلئي في الخزعات النسيجية واللطاخات الخلوية.

3- دور الرشاحة الالتهابية في تقييم اللطاخة الخلوية

لا يمكن الاعتماد على طبيعة الرشاحة الالتهابية في اللطاخة الخلوية كعنصر مساعد في تشخيص الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية، بسبب وجود تداخل في الرشاحة في هذه الأمراض، كما يظهر في نتائج دراستنا، فلم يقتصر وجود الحمضات على الفقاعاني الفقاعي، بل شوهدت في لطاخة الفقاع الشائع والتهاب الجلد حلئي الشكل، كما لم يقتصر وجود العدلات على التهاب الجلد حلئي الشكل والجلاد الخطي IgA، بل شوهدت كذلك في الفقاع الشائع. وشوهدت رشاحة مختلطة في بعض حالات الفقاع الشائع والفقاعاني الفقاعي. وهو ما يوافق ما وصل إليه S. Aneesh وزملاؤه عام 2019م [181].

4- حساسية ونوعية الومضان المناعي المباشر على اللطاخة الخلوية في تشخيص الفقاع

عند إجراء الومضان المناعي على اللطاخة الخلوية شوهد ترسب الأضداد المناعية على سطح الخلايا منحلة الأشواك في الأمراض الفقاعية داخل البشرة كالتالي: الأضداد IgG بنسبة 100%، المتممة C3 بنسبة 60%، والأضداد IgM بنسبة 13.3% عند مرضى الفقاع الشائع. فكان الومضان على اللطاخة مؤكداً ونوعياً لتشخيص الفقاع الشائع، وبلغت الحساسية والنوعية 100%. وهو ما يشبه نتائج دراسة Durdu عام 2008 إذ كان الومضان المناعي على اللطاخة الخلوية إيجابي عند 100% من المرضى [165].

وبناء على النتائج التي توصلنا إليها أُنشئ منحنى ROC وحُسبت المساحة تحت المنحنى AUC، والتي بلغت 1. وهذا يدل على فعالية تشخيصية عالية للومضان المباشر على اللطاخة الخلوية، وهو يشبه ما توصل إليه

Wenxiu He عام 2021، إذ ترسبت أضداد IgG و/أو C3 لدى جميع المرضى، وترسبت أضداد IgA وIgM لدى سبعة مرضى. فكانت حساسيته 87.8% ونوعيته 100% والمساحة تحت المنحنى AUC 0.939 [25].

كما توافقت نتائج دراستنا أيضاً مع دراسة Arun Jose عام 2019، وبلغت الحساسية 92%، والنوعية 80% [174].

6- أنماط تألق الخلايا منحلة الأشواك في الومضان المناعي المباشر على اللطاخة الخلوية

شوهد التألق عند إجراء الومضان المناعي المباشر على اللطاخة الخلوية على شكل نمطين: النمط الحلقي ونمط عنقود العنب. إذ شوهد النمط الحلقي عندما كانت الخلايا مفردة بسبب ترسب الأضداد على سطح الخلية، ونمط عنقود العنب عندما كانت الخلايا متكتلة أو متجمعة بشكل الغمد بسبب ترسب الأضداد في المسافة بين الخلايا، وهذا وافق أشكال الخلايا منحلة الأشواك التي شوهدت في اللطاخة الروتينية. وكان النمط الحلقي أكثر شيوعاً، إذ كان إيجابياً بمفرده في 60% من الحالات لأضداد IgG، 44.4% للمتممة C3، 100% لأضداد IgM. وكان النمطان الحلقي وعنقود العنب إيجابيين معاً في 40% من الحالات لأضداد IgG، وفي 55.6% للمتممة C3.

7- العلاقة بين الومضان المناعي المباشر على اللطاخة الخلوية وعلى الخزعة النسيجية

كانت نتائج الومضان المناعي المباشر على اللطاخة الخلوية مطابقة لنتائجه على الخزعة النسيجية بالنسبة لجميع الأضداد المدروسة عند **مرضى الفقاع الشائع**، وهذا ما أُثبت بإجراء اختبار Chi-Square وحساب قيمة

P–value، وكانت ذات قيمة مهمة إحصائياً؛ ما دل على أن نتيجة الومضان المناعي المباشر في اللطاخة الخلوية تتوافق مع نتيجة الومضان المناعي المباشر في الخزعة النسيجية لكل منIgG، C3، IgA وَIgM.

وتوافقت نتائج دراستنا مع نتائج دراسة Arun Jose عام 2019، إذ تم حساب معامل الارتباط للومضان المناعي المباشر للأضداد IgG والمتممة C3 على كل من اللطاخة الخلوية والخزعة النسيجية، وكانت قيمة P–value ذات قيمة مهمة إحصائياً [174].

8- العوامل المساهمة في الوصول إلى النتائج المشجعة في دراستنا

- اختيار الآفات الحديثة، مما ساعد في كشف التبدلات الخلوية قبل حدوث تخرب وتنكس أو تبدل في الخلايا.
- استبعاد الآفات التي تظهر علامات إنتان ثانوي الذي يؤثر سلباً على الموجودات الخلوية، وقد يغير من تشخيص المرض.
- استبعاد المرضى الذين تلقوا علاج جهازي أو موضعي في الأشهر الأخيرة، الذي يؤثر على الآلية المناعية للمرض ما يؤدي إلى تبدل الموجودات الخلوية والمناعية في اللطاخة، والحصول على نتائج سلبية كاذبة.
- طريقة أخذ العينة الخلوية بما يكفل عدم تخريب الموجودات الخلوية أثناء أخذ العينة، وذلك بإجراء شق في سقف الفقاعة وتجفيف المحتوى السائل بلطف دون لمس أرضية الفقاعة حيث توجد معظم الخلايا منحلة الأشواك.

الفصل الخامس: الاستنتاجات والتوصيات ومميزات ومحدوديات الدراسة

أولاً: الاستنتاجات

- إن اللطاخة الخلوية الروتينية والومضان المناعي المباشر على اللطاخة الخلوية يعدان إجرائين تشخيصيين يمتلكان حساسية ونوعية عالية ما يساعد على **الوصول إلى التشخيص بوقت قصير وكلفة قليلة**، وهو أمر ضروري في **تشخيص وتمييز الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية** ذات التأثير الشديد على حياة المرضى وعائلاتهم، والتي تشكل عبئاً اقتصادياً ونفسياً عليهم، كما أن لها ولعلاجاتها انعاكاسات كبرى على صحتهم العامة.
- يمكن الاعتماد على لطاخة تزانك للحصول على **تشخيص مبدئي سريع للفقاع** ما يساعد في اتخاذ القرار العلاجي بسرعة أكبر والوصول إلى سيطرة باكرة على المرض ريثما نحصل على نتائج التشريح المرضي. إذ إنه لا يمكن الاستغناء عن الخزعات النسيجية في مثل هذه الأمراض، إذ تُبيّن مستوى الانفصال ضمن البشرة الذي يكون في أغلب الحالات تحت الطبقة المتقرنة في الفقاع الورقي وفوق الطبقة القاعدية في الفقاع الشائع، كما تبين الموجودات النسيجية الأخرى التي تشاهد في بعض أنماط الفقاع كالفقاع نظير الورمي والفقاع التنبتي وبالتالي تساعد في التمييز فيما بينها.
- يمكن الاعتماد على اللطاخة الخلوية **كركيزة بديلة عن الخزعة النسيجية** لإجراء الومضان المناعي المباشر لتأكيد تشخيص الفقاع الشائع.

ثانياً: مميزات اللطاخة الخلوية بناء على دراستنا

- إن اللطاخة الخلوية إجراء مفضل على الخزعات الجراحية في حالات معينة: كوجود الإصابة في مناطق يصعب أخذ خزعات منها مثل وجودها ضمن جوف الفم (اللثة، الحنك الرخو وأرضية الفم)، الثنيات، الشفاه، الأجفان، والمنطقة التناسلية، أو وجودها في أماكن صعبة الوصول مثل المنطقة خلف الأضراس.
- يمكن اعتبار اللطاخة الخلوية خياراً مثالياً للمرضى غير المطاوعين، مثل الأطفال، والمرضى المسنين خاصة الذين لديهم مضاد استطباب للجراحة. إذ تؤخذ المسحات الخلوية بطريقة بسيطة وسهلة دون تخدير، ولا تحتاج إلى تجهيزات خاصة مثل غرف العمليات ما يزيد من مطاوعة المرضى.
- اللطاخة الخلوية إجراء غير راض ولا يحمل تأثيرات جانبية خطيرة، فقد ترافق أخذ اللطاخة الخلوية مع إزعاج بسيط دون حدوث أي نزف أو ألم في جميع المسحات الخلوية من الآفات الجلدية، فيما ترافقت المسحات الخلوية من التآكلات الفموية مع حدوث نزف خفيف أحياناً، تمت السيطرة عليه بسهولة عن طريق الضغط بشاش معقم.
- إن اللطاخة الخلوية تتميز عن الخزعات النسيجية لأنها إجراء أسهل تطبيقاً إذ تُؤخذ العينات بسهولة، وتُلون وتُحضر للفحص المجهري بصورة أسرع من الخزعات النسيجية التي تحتاج تخدير موضعي، وتعد إجراء راض يحتاج لوقت طويل لشفاء الجرح، كما أن تحضير وتلوين العينات يحتاج لوقت طويل، وهي ذات كلفة مادية أعلى بكثير من اللطاخة.

- يعد الحصول على اللطاخة الخلوية إجراء غير مزعج للمريض ما يسهل الحصول على عدة مسحات خلوية لنفس المريض من آفات متعددة لإجراء التلوين الروتيني على لطاخة تزانك والتلوينات المناعية. كما أن بعض الأمراض الفقاعية تتطلب إعادة للخزعة عدة مرات حتى الوصول للتشخيص الدقيق، وهو ما يشكل عبئاً نفسياً ومادياً على المريض، أما تكرار اللطاخة الخلوية فهو أكثر سهولةً وأقل رضاً.
- إن إجراء الومضان المناعي المباشر على الخزعة النسيجية يتطلب تجهيزات وخبرات خاصة، وهي غير متوفرة في جميع المشافي والمخابر ما يحدد من إتاحة الإجراء في الممارسة السريرية، أما الومضان المناعي على اللطاخة فلا يتطلب أكثر من مجهر ومضاني، ما يجعله إجراء بمتناول اليد فضلاً عن كونه أقل تكلفة مادية إذ أن كمية الأضداد اللازمة لإجرائه على اللطاخة أقل بثلاث مرات من كمية الأضداد المطبقة على الخزعة النسيجية.

ثالثاً: التوصيات

- على الرغم من أن تحضير عدة لطاخات خلوية لكل مريض من اندفاعات متعددة قد يترافق مع حساسية تشخيصية أعلى. إلا أنه حسب نتائج دراستنا فإن اقتصار تحضير لطاخة تزانك الروتينية على أخذ مسحة خلوية واحدة كان كافياً للتشخيص.
- تفعيل قسم أو مختبر للدراسات الخلوية، والتأكيد على أهمية إتقانه وتوسيع نطاق استخدامه واعتماده كإجراء روتيني.

رابعاً: نقاط القوة

- هذا البحث هو البحث الأول من نوعه في سورية.
- لا توجد أبحاث كثيرة عالمية قارنت بين الومضان المناعي المباشر في اللطاخة الخلوية والومضان المباشر في الخزعات النسيجية.
- قيام الباحث نفسه بتقييم جميع المرضى سريريا، فضلاً عن تقييم الخزعات النسيجية والومضان المناعي المباشر واللطاخة الخلوية، ما يجعل النتائج متسقة.

خامساً: محدوديات

- إن التكلفة العالية والكمية المحدودة للأضداد المناعية المستخدمة المطبقة ضمن دراستنا الحالية وعدم توفرها ضمن المشفى أدى إلى صغر حجم العينة، كما حال دون دراسة جميع الأمراض التي تتظاهر بآفات تآكلية وحويصلية وفقاعية، واقتصر البحث على الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية.
- عدم توفر الوسائل التشخيصية الضرورية لإثبات تشخيص الأمراض النفاطية الإنتانية حال دون تقييم حساسية ونوعية اللطاخة الخلوية والومضان على اللطاخة لتمييزها عن الأمراض الفقاعية المناعية.
- قيام الباحث وحده بكامل مراحل أخذ وتحضير اللطاخات الخلوية، والومضان المناعي على اللطاخة والخزعة النسيجية، ما تعذر معه إجراء الدراسة على أكثر من مريض واحد في نفس الوقت.
- استخدام المرضى لأدوية وعلاجات عشوائية قبل وضع تشخيص دقيق، خاصة الستيروئيدات الجهازية، أدى إلى استبعاد عدد كبير من المرضى المراجعين بالأمراض الفقاعية المناعية من الدراسة.
- لم يكن هنالك تنوع في الأمراض الفقاعية ضمن البشرة، واقتصرت على الفقاع الشائع، لعدم مراجعة مرضى مصابين بها موافقين لمعايير الدخول في مدة الدراسة. علما أن النتائج المتوقعة متماثلة ما بين الفقاع الشائع وبقية الأمراض الفقاعية داخل البشرة بحسب الأبحاث العالمية المشابهة.

سادساً: المقترحات

- الاستفادة من الومضان المباشر على لطاخة تزانك ليس فقط في التشخيص وإنما أيضاً في المتابعة بعد الهجوع السريري لتأكيد الهجوع المناعي عند مرضى الفقاع الشائع، وعليه نقترح إجراء أبحاث تدرس هذا الدور.
- إجراء دراسات أوسع على عدد أكبر من المرضى، وتشمل تنوع أكثر في الأمراض الفقاعية المناعية الذاتية.
- تقييم اللطاخات الخلوية لكل مريض وتفسير نتائجها من قبل أكثر من مختص، ما يزيد من موثوقية النتائج.

Bibliography المراجع

1. Griffiths, C.E., et al., Rook's textbook of dermatology, 4 volume set. Vol. 1. 2016: John Wiley & Sons.
2. Bolognia, J., J. Schaffer, and L. Cerroni, Dermatology. 4th. Edition. USA: Mosby, 2018: p 1872-1893.
3. Goldsmith, L., et al., Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine, Ed. McGraw Hill Medical, 2012. 150(4): p. 22.
4. Lever, W.F. and J.H. Talbott, Pemphig*us: A historical study.* Archives of Dermatology and Syphilology, 1942. **46**(6): p. 800-823.
5. King, D.F. and K. Holubar, *History of pemphigus.* Clinics in dermatology, 1983. **1**(2): p. 6-12.
6. Holubar, K., *Pemphigus: a disease of man and animal: historical and other perspectives.* International journal of dermatology, 1988. **27**(7): p. 516-520.
7. Civatte, A., *Diagnostic histopathologique de la dermatite polymorphe douloureuse ou maladie de Duhring-Brocq.* Ann Derm Syph, 1943. **3**(Jan): p. 1-30.
8. Schiltz, J.R. and B. Michel, *Production of epidermal acantholysis in normal human skin in vitro by the IgG fraction from pemphigus serum.* Journal of Investigative Dermatology, 1976. **67**(2): p. 254-260.
9. Anhalt, G.J., et al., *Induction of pemphigus in neonatal mice by passive transfer of IgG from patients with the disease.* New England Journal of Medicine, 1982. **306**(20): p. 1189-1196.
10. Hashimoto, T., et al., *Detection of pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus antigens by immunoblot analysis using different antigen sources.* Journal of Investigative Dermatology, 1990. **94**(3): p. 327-331.
11. Koch, P., et al., *Identification of desmoglein, a constitutive desmosomal glycoprotein, as a member of the cadherin family of cell adhesion molecules.* European journal of cell biology, 1990. **53**(1): p. 1-12.
12. Bertram, F., et al., *Prospective analysis of the incidence of autoimmune bullous disorders in Lower Franconia, Germany.* JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft, 2009. **7**(5): p. 434-439.
13. Pisanti, S., et al., *Pemphigus vulgaris: incidence in Jews of different ethnic groups, according to age, sex, and initial lesion.* Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, 1974. **38**(3): p. 382-387.
14. Langan, S., et al., *Bullous pemphigoid and pemphigus vulgaris—incidence and mortality in the UK: population based cohort study.* Bmj, 2008. **337**.
15. Bastuji-Garin, S., et al., *Comparative epidemiology of pemphigus in Tunisia and France: unusual incidence of pemphigus foliaceus in young Tunisian women.* Journal of investigative dermatology, 1995. **104**(2): p. 302-305.
16. Salmanpour, R., et al., *Epidemiology of pemphigus in south-western Iran: a 10-year retrospective study (1991–2000).* International journal of dermatology, 2006. **45**(2): p. 103-105.
17. Kanwar, A. and D. De, *Pemphigus in India.* Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology, 2011. **77**(4): p. 439.
18. Harman, K., et al., *The severity of cutaneous and oral pemphigus is related to desmoglein 1 and 3 antibody levels.* British Journal of Dermatology, 2001. **144**(4): p. 775-780.

19. Grando, S.A., et al., *Apoptolysis: a novel mechanism of skin blistering in pemphigus vulgaris linking the apoptotic pathways to basal cell shrinkage and suprabasal acantholysis.* Experimental dermatology, 2009. **18**(9): p. 764-770.
20. Schmidt, E., M. Kasperkiewicz, and P. Joly, *Pemphigus.* The Lancet, 2019. **394**(10201): p. 882-894.
21. Aoki, V., J.X. Sousa, and L.A. Diaz ,*Pathogenesis of endemic pemphigus foliaceus.* Dermatologic clinics, 2011. **29**(3): p. 413-418.
22. Hübner, F., et al., *Prevalence and age distribution of pemphigus and pemphigoid diseases in Germany.* The Journal of investigative dermatology, 2016. **136** :(12)p. 2495-2498.
23. Rashid, H., et al., *Oral lesions in autoimmune bullous diseases: an overview of clinical characteristics and diagnostic algorithm.* American journal of clinical dermatology, 2019. **20**: p. 847-861.
24. Durdu, M., *Cutaneous cytology and Tzanck smear test*. 2019: Springer.
25. He, W., et al., *Direct immunofluorescence analysis of oral Tzanck smears for pemphigus vulgaris: A diagnostic test.* Journal of Oral Pathology & Medicine, 2021. **50**(10): p. 1050-1056.
26. Grando, S.A., et al., *History and clinical significance of mechanical symptoms in blistering dermatoses: a reappraisal.* Journal of the American Academy of Dermatology, 2003. **48**(1): p. 86-92.
27. Zaraa, I., et al., *Pemphigus vegetans: a clinical, histological, immunopathological and prognostic study.* Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology, 2011. **25**(10): p. 1160-1167.
28. Kasperkiewicz, M., C. Kowalewski, and S. Jabłońska, *Pemphigus herpetiformis: from first description until now.* Journal of the American Academy of Dermatology, 2014. **70**(4): p. 780-787.
29. Anhalt, G.J. *Paraneoplastic pemphigus*. in *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*. 2004. Elsevier.
30. Anhalt, G.J., et al., *Paraneoplastic pemphigus: an autoimmune mucocutaneous disease associated with neoplasia.* New England Journal of Medicine, 1990. **323**(25): p. 1729-1735.
31. Frew, J.W. and D.F. Murrell, *Paraneoplastic pemphigus (paraneoplastic autoimmune multiorgan syndrome): clinical presentations and pathogenesis.* Dermatologic clinics, 2011 . :(3)29p. 419-425.
32. Tsuruta, D., et al., *IgA pemphigus.* Clinics in dermatology, 2011. **29**(4): p. 437-442.
33. Aslanova, M., S.N.S. Yarrarapu, and P.M. Zito, *IgA Pemphigus*, in *StatPearls [Internet]*. 2022, StatPearls Publishing.
34. Brenner, S. and I. Goldberg, *Drug-induced pemphigus.* Clinics in dermatology, 2011. **29**(4): p. 455-457.
35. Bialy-Golan, A. and S. Brenner, *Penicillamine-induced bullous dermatoses.* Journal of the American Academy of Dermatology, 1996. **35**(5): p. 732-742.
36. Herbst, A. and J-.C. Bystryn, *Patterns of remission in pemphigus vulgaris.* Journal of the American Academy of Dermatology, 2000. **42**(3): p. 422-427.
37. Esmaili, N., et al., *Pemphigus vulgaris and infections: a retrospective study on 155 patients.* Autoimmune diseases, 2013.2013 .
38. Ljubojević, S., et al., *Pemphigus vulgaris: a review of treatment over a 19-year period.* Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology, 2002. **16**(6): p. 599-603.
39. Grover, S., *Scoring systems in pemphigus.* Indian journal of dermatology, 2011. **56**(2): p. 145.
40. Lever, W.F., *Pemphigus.* Medicine, 1953. **32**(1): p. 1-123.

41. Jordon, R.E., et al., *Basement zone antibodies in bullous pemphigoid.* Jama, 1967. **200**(9): p. 751-756.
42. Giudice, G.J., D.J. Emery, and L.A. Diaz, *Cloning and primary structural analysis of the bullous pemphigoid autoantigen BP180.* Journal of Investigative Dermatology, 1992. **99**(3): p. 243-250.
43. Di Zenzo, G., et al., *Multicenter prospective study of the humoral autoimmune response in bullous pemphigoid.* Clinical Immunology, 2008. **128**(3): p. 415-426.
44. Schulze, F.S., et al., *Fcγ receptors III and IV mediate tissue destruction in a novel adult mouse model of bullous pemphigoid.* The American journal of pathology, 2014. **184**(8): p. 2185-2196.
45. Delgado, J.C ,.et al., *A common major histocompatibility complex class II allele HLA-DQB1* 0301 is present in clinical variants of pemphigoid.* Proceedings of the National Academy of Sciences, 1996. **93**(16): p. 8569-8571.
46. Langan, S.M., R.W. Groves, and J. West, *The relationship between neurological disease and bullous pemphigoid: a population-based case–control study.* Journal of Investigative Dermatology, 2011. **131**(3): p. 631-636.
47. Della Torre, R., et al., *Clinical presentation and diagnostic delay in bullous pemphigoid: a prospective nationwide cohort.* British journal of dermatology, 2012. **167**(5): p. 1111-1117.
48. Di Zenzo, G., G. Marazza, and L. Borradori, *Bullous pemphigoid: physiopathology, clinical features and management.* Advances in dermatology, 2007. **23** :p. 257-288.
49. Waisbourd-Zinman, O., et al., *Bullous pemphigoid in infancy: clinical and epidemiologic characteristics.* Journal of the American Academy of Dermatology, 2008. **58**(1): p. 41-48.
50. Stavropoulos, P., E. Soura, and C. Antoniou, *Drug-induced pemphigoid: a review of the literature.* Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology, 2014. **28**(9): p. 1133-1140.
51. Chorzelski, T.P. and S. Jablonska, *Diagnostic significance of the immunofluorescent pattern in dermatitis herpetiformis* .International Journal of Dermatology, 1975. **14**(6): p. 429-436.
52. Chorzelski, T.P., et al., *Juvenile dermatitis herpetiformis versus "benign chronic bullous dermatosis of childhood." Are these immunologic diseases?* Journal of Investigative Dermatology :(5)65 .1975 ,p. 447-450.
53. Genovese, G., et al., *Linear IgA bullous dermatosis in adults and children: a clinical and immunopathological study of 38 patients.* Orphanet Journal of Rare Diseases, 2019. **14**(1): p. 1-7.
54. Duhring, L., *Dermatitis herpetiformis. Landmark article, Aug 30, 1884.* JAMA, 1983. **250**: p. 212-216.
55. Salmi, T., et al., *Prevalence and incidence of dermatitis herpetiformis: a 40-year prospective study from Finland.* British Journal of Dermatology, 2011. **165**(2): p. 354-359.
56. Kárpáti ,S., *Dermatitis herpetiformis.* Blistering Diseases: Clinical Features, Pathogenesis, Treatment, 2015: p. 441-447.
57. Spurkland, A., et al., *Dermatitis herpetiformis and celiac disease are both primarily associated with the HLA-DQ (α1* 0501,(β1* 02) or the HLA-DQ (α1* 03,(β1* 0302) heterodimers.* Tissue Antigens, 1997. **49**(1): p. 29-34.
58. Bolotin, D. and V. Petronic-Rosic, *Dermatitis herpetiformis: part I. Epidemiology, pathogenesis, and clinical presentation.* Journal of the American Academy of Dermatology, 2011. **64**(6): p. 1017-1024.
59. Salmi, T., K. Hervonen, and T. Reunala, *Dermatitis herpetiformis--a cutaneous manifestation of coeliac disease.* Coeliac Disease and Gluten-Related Disorders, 2022: p. 161-177.

60. Bolotin, D. and V. Petronic-Rosic, *Dermatitis herpetiformis: part II. Diagnosis, management, and prognosis.* Journal of the American Academy of Dermatology, 2011. **64**(6): p. 1027-1033.
61. Antiga, E., et al., *Clinical and immunopathological features of 159 patients with dermatitis herpetiformis: an Italian experience.* G Ital Dermatol Venereol, 2013. **148**(2): p. 163-9.
62. Paek, S.Y., S.M. Steinberg, and S.I. Katz, *Remission in dermatitis herpetiformis: a cohort study.* Archives of dermatology, 2011. **147**(3): p. 301-305.
63. Elder, D.E., *Lever's histopathology of the skin*. 2014: Lippincott Williams & Wilkins.
64. Calonje, J.E., et al., *McKee's Pathology of the Skin, 2 Volume Set E-Book*. 2018: Elsevier Health Sciences.
65. Ohata, C., N. Ishii, and M. Furumura, *Locations of acantholysis in pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus.* Journal of Cutaneous Pathology, 2014. **41**(11): p. 880-889.
66. Miyamoto, D., et al., *Bullous pemphigoid.* Anais brasileiros de dermatologia, 2019. **94**: p. 133-146.
67. Fortuna, G. and M.P. Marinkovich, *Linear immunoglobulin A bullous dermatosis.* Clinics in dermatology, 2012. **30**(1): p. 38-50.
68. Antiga, E., M. Caproni, and P. Fabbri, *Linear immunoglobulin a bullous dermatosis: need for an agreement on diagnostic criteria.* Dermatology, 2013. **226**(4): p. 329-332.
69. Antiga, E. and M. Caproni, *The diagnosis and treatment of dermatitis herpetiformis.* Clinical, cosmetic and investigational dermatology, 2015: p. 257-265.
70. Hladik, C.L. and C.L. White III, *Immunofluorescent techniques*, in *Theory and Practice of Histological Techniques*. 2008, Elsevier. p. 517-526.
71. Coons, A.H., H.J. Creech, and R.N. Jones, *Immunological properties of an antibody containing a fluorescent group.* Proceedings of the society for experimental biology and medicine, 1941. **47**(2): p. 200-202.
72. Burnham, T.K., T.R. Neblett, and G. Fine, *The application of the fluorescent antibody technic to the investigation of lupus erythematosus and various dermatoses.* Journal of investigative Dermatology, 1963. **41**(6): p. 451-456.
73. Beutner, E.H., R.E. Jordon, and T.P .Chorzelski, *The immunopathology of pemphigus and bullous pemphigoid.* Journal of Investigative Dermatology, 1968. **51**(2): p. 63-80.
74. Yaoita, H., et al., *A colour atlas of dermato-immunohistocytology*. 1989: Wolfe Medical Publicationa.
75. Wulff, S., et al., *Guide to flow cytometry*. 2006: Dako Cytomation.
76. Sterling, J., et al., *Textbook of Dermatology*. 1998. p. 995-1095.
77. Rani, Z. and I. Hussain, *Immunofluorescence in immunobullous diseases.* Journal of Pakistan Association of Dermatologists, 2003. **1** :(2)3p. 76-88.
78. Deetrick, B., *Manual of clinical laboratory immunology*. 2002: American Society Microbiology.
79. Huilgol, S., B. Bhogal, and M. Black, *Immunofluorescence of the immunobullous disorders part one: Methodology.* Indian Journal of Dermatology Venereology and Leprology, 1995. **61**: p. 187-195.
80. Vassileva, S., *Immunofluorescence in dermatology.* International journal of dermatology, 1993. **32**(3): p. 153-161.
81. Kim, R.H. and N.K. Brinster, *Practical direct immunofluorescence.* The American Journal of Dermatopathology, 2020. **42**(2): p. 75-85.
82. Woollons, W., et al., *Michel's medium: a potential alternative to cryoprotection for tissue transport in the investigation of genetic skin disease.* Clinical and experimental dermatology, 1999. **24**(6): p.489-487 .

83. Vodegel, R.M., et al., *Enhanced diagnostic immunofluorescence using biopsies transported in saline.* BMC dermatology, 2004. **4**(1): p. 1-7.
84. Elbendary, A., et al., *Durability of direct immunofluorescence (DIF) slides stored at room temperature.* Journal of the American Academy of Dermatology, 2015. **73**(6): p. 1021-1024.
85. Chhabra, S., R. Minz, and B. Saikia, *Immunofluorescence in dermatology.* Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology, 2012. **78**(6): p. 677.
86. Gammon, W.R., et al., *Differentiating anti-lamina lucida and anti-sublamina densa anti-BMZ antibodies by indirect immunofluorescence on 1.0 M sodium chloride-separated skin.* Journal of investigative dermatology, 1984. **82**(2): p. 139-144.
87. Giurdanella, F., et al., *Laboratory diagnosis of pemphigus: direct immunofluorescence remains the gold standard.* The British journal of dermatology, 2016. **175**(1): p. 185-186.
88. Zhou, C., Y. Yu, and D.M. Elston, *Diagnostic value of eccrine glands and hair follicles in direct immunofluorescent analysis of pemphigus vulgaris and bullous pemphigoid.* Journal of Cutaneous Pathology, 2016. **43**(4): p. 334-338.
89. Dmochowski, M., J. Gornowicz-Porowska, and M. Bowszyc-Dmochowska, *Dew drops on spider web appearance: a newly named pattern of IgG* 4*deposition in pemphigus with direct immunofluorescence.* Advances in Dermatology and Allergology/Postępy Dermatologii i Alergologii, 2017. **34**(4): p. 295-298.
90. Ko, C.J. and J.M. McNiff, *Punctate pemphigus: an underreported direct immunofluorescence pattern.* Journal of cutaneous pathology, 2014. **41**(3): p. 293-296.
91. Bhol, K., A. Mohimen, and R. Ahmed, *Correlation of subclasses of IgG with disease activity in pemphigus vulgaris.* Dermatology, 1994. **189**(Suppl. 1): p. 85-89.
92. Bhol, K., et al., *Correlation of peptide specificity and IgG subclass with pathogenic and nonpathogenic autoantibodies in pemphigus vulgaris: a model for autoimmunity.* Proceedings of the National Academy of Sciences, 1995. **92**(11): p. 5239-5243.
93. Balighi, K., et al., *Value of direct immunofluorescence in predicting remission in pemphigus vulgaris.* International journal of dermatology, 2006. **45**(11): p. 1308-1311.
94. Ratnam, K. and B.K. Pang, *Pemphigus in remission: value of negative direct immunofluorescence in management.* Journal of the American Academy of Dermatology, 1994. **30**(4): p. 547-550.
95. Jones, C.C., R.G. Hamilton, and R.E. Jordon, *Subclass distribution of human IgG autoantibodies in pemphigus.* Journal of clinical immunology, 1988. **8**(1): p. 43-49.
96. Judd, K.P. and W.F. Lever, *Correlation of antibodies in skin and serum with disease severity in pemphigus.* Archives of Dermatology, 1979. **115**(4): p. 428-432.
97. Brandsen, R., et al., *Circulating pemphigus IgG in families of patients with pemphigus: comparison of indirect immunofluorescence, direct immunofluorescence, and immunoblotting.* Journal of the American Academy of Dermatology, 1997. **36**(1): p. 44-52.
98. Ueki, H., et al., *Antidesmoglein autoantibodies in silicosis patients with no bullous diseases.* Dermatology, 20 :(1)202 .01p. 16-21.
99. Yoshida, K., et al., *Cutaneous type pemphigus vulgaris: a rare clinical phenotype of pemphigus.* Journal of the American Academy of Dermatology, 2005. **52**(5): p. 839-845.
100. Hashizume, H., K. Iwatsuki, and M. Takigawa, *Epidermal antigens and complement-binding anti-intercellular antibodies in pemphigus vegetans, Hallopeau type.* British journal of Dermatology, 1993. **129**(6): p. 739-743.
101. Ohata, Y., et al., *A case of Neumann type pemphigus vegetans showing reactivity with the 13* 0*kD pemphigus vulgaris antigen.* Acta dermato-venereologica, 1996. **76**(2): p. 169-170.
102. Cozzani, E., et al., *Pemphigus vegetans Neumann type with anti-desmoglein and anti-periplakin autoantibodies.* European Journal of Dermatology, 2007. **17**(6): p. 530-5.33

103. Hashimoto, K., et al., *Detection of anti-desmocollins I and II autoantibodies in two cases of Hallopeau type pemphigus vegetans by immunoblot analysis.* Journal of Dermatological Science, 1994. **7**(2): p. 100-106.
104. Hacker-Foegen, M.K., et al., *Pathogenicity and epitope characteristics of anti-desmoglein-1 from pemphigus foliaceus patients expressing only IgG1 autoantibodies.* Journal of investigative dermatology, 2003. **121**(6): p. 1373-1378.
105. Kanitakis, J., *Indirect immunofluorescence microscopy for the serological diagnosis of autoimmune blistering skin diseases: a review.* Clinics in dermatology, 2001. **19**(5): p. 614-621.
106. Hernandez, C., M. Amagai, and L. Chan, *Pemphigus foliaceus: preferential binding of IgG1 and C3 at the upper epidermis* .British Journal of Dermatology, 1997. **136**(2): p. 249-252.
107. Ishii, K., et al., *Desmoglein 1 and desmoglein 3 are the target autoantigens in herpetiform pemphigus.* Archives of dermatology, 1999. **135**(8): p. 943-947.
108. Poot, A.M., et al., *Direct and indirect immunofluorescence staining patterns in the diagnosis of paraneoplastic pemphigus.* British Journal of Dermatology, 2016. **174**(4): p. 912-915.
109. Yong, A.A. and H.L. Tey, *Paraneoplastic pemphigus.* Australasian Journal of Dermatology, 2013. **54** :(4)p. 241-250.
110. Kiyokawa, C., et al., *Envoplakin and periplakin are components of the paraneoplastic pemphigus antigen complex [4].* Journal of investigative dermatology, 1998. **111**(6): p. 1236-1238.
111. Ohzono, A., et al., *Clinical and immunological findings in 104 cases of paraneoplastic pemphigus.* British Journal of Dermatology, 2015. **173**(6): p. 1447-1452.
112. Nguyen, V.T., et al., *Classification, clinical manifestations, and immunopathological mechanisms of the epithelial variant of paraneoplastic autoimmune multiorgan syndrome: a reappraisal of paraneoplastic pemphigus.* Archives of Dermatology, 2001. **137**(2): p. 193-206.
113. Joly, P., et al., *Sensitivity and specificity of clinical, histologic, and immunologic features in the diagnosis of paraneoplastic pemphigus.* Journal of the American Academy of Dermatology, 2000. **43**(4): p. 619-626.
114. Tsuchisaka, A., et al., *Epiplakin is a paraneoplastic pemphigus autoantigen and related to bronchiolitis obliterans in Japanese patients.* Journal of investigative dermatology, 2016. **136**(2): p. 399-408.
115. Nousari, H.C., et al., *The mechanism of respiratory failure in paraneoplastic pemphigus.* New England Journal of Medicine, 1999. **340**(18): p. 1406-1410.
116. Poot, A., et al., *Laboratory diagnosis of paraneoplastic pemphigus.* British journal of dermatology, 2013. **169**(5): p. 1016-1024.
117. Kanitakis, J., et al., *Immunohistopathological study of autoimmune pemphigus.* Dermatology, 1994. **188**(4): p. 282-285.
118. Nousari, H. and G. Anhalt, *Pemphigus vulgaris, paraneoplastic pemphigus and pemphigus foliaceus.* Diagnostic immunohistochemistry of the skin, 1st edn. London: Chapman and Hall Medical, 1998: p. 79-83.
119. Nishikawa, T. and T. Hashimoto, *Dermatoses with intraepidermal IgA deposits.* Clinics in dermatology :(3)18 .2000 ,p. 315-318.
120. Bruckner, A.L., et al., *Atypical IgA/IgG pemphigus involving the skin, oral mucosa, and colon in a child: a novel variant of IgA pemphigus?* Pediatric dermatology, 2005. **22**(4): p. 321-327.
121. Uchiyama, R., et al., *IgA/IgG pemphigus with infiltration of neutrophils and eosinophils in an ulcerative colitis patient.* Acta Dermato-Venereologica, 2014. **94**(6): p. 737-738.

122. Ruocco, V. and G. Sacerdoti, *Pemphigus and bullous pemphigoid due to drugs.* International journal of dermatology, 1991. **30**(5): p. 307-312.
123. Kippes, W., et al., *Immunopathological changes in 115 patients with bullous pemphigoid.* Der Hautarzt, 1999. **50**: p. 866-872.
124. Chaidemenos MD, G.C., et al., *Value of routine diagnostic criteria of bullous pemphigoid .* International journal of dermatology, 1998. **37**(3): p. 206-210.
125. Sárdy, M., et al., *Comparative study of direct and indirect immunofluorescence and of bullous pemphigoid 180 and 230 enzyme-linked immunosorbent assays for diagnosis of bullous pemphigoid.* Journal of the American Academy of Dermatology, 2013. **69**(5): p. 748-753.
126. Dresow, S., et al., *IgE autoantibodies against the intracellular domain of BP180.* British Journal of Dermatology, 2009. **160**(2): p. 429-432.
127. Vodegel, R., et al., *U-serrated immunodeposition pattern differentiates type VII collagen targeting bullous diseases from other subepidermal bullous autoimmune diseases.* British Journal of Dermatology, 2004. **151**(1): p. 112-118.
128. Cai, S., et al., *Anti-BP180 NC16A IgG titres as an indicator of disease activity and outcome in Asian patients with bullous pemphigoid.* Ann Acad Med Singapore, 2015. **44**: p. 119-26.
129. Yew, Y.W. and H.L. Tey, *Sensitivities and utility of non-invasive serological tests in the diagnosis of bullous pemphigoid.* International Journal of Dermatology, 2016. **55**(9): p. e510-1.
130. Schneiderbauer, R., et al., *Correlation of autoantibodies against BP180/BP230 in response to topical corticosteroids in patients with bullous pemphigoid.* Dermatologic Therapy, 2016. **2** :(6)9p. 419-423.
131. Cho, Y.-T., et al., *High serum anti-BP180 IgE levels correlate to prominent urticarial lesions in patients with bullous pemphigoid.* Journal of Dermatological Science, 2016. **83**(1): p. 78-80.
132. Ohata, C., et al., *A clinical and serological study of linear IgA bullous dermatosis without linear immunoglobulin deposition other than IgA at the basement membrane zone using direct immunofluorescence.* British Journal of Dermatology, 2017. **177**(1): p. 152-157.
133. Willsteed, E., et al., *Use of 1M NaCl split skin in the indirect immunofluorescence of the linear IgA bullous dermatoses.* Journal of cutaneous pathology, 1990. **17**(3): p. 144-148.
134. Sheridan, A.T., G. Kirtschig, and F. Wojnarowska, *Mixed immunobullous disease: is this linear IgA disease?* Australasian journal of dermatology, 2000. **41**(4): p. 219-221.
135. Fernandes, K.d.A.P., et al., *Linear IgA and IgG bullous dermatosis.* Anais Brasileiros de Dermatologia, 2016. **91**: p. 32-34.
136. Sakaguchi, M., et al., *Three cases of linear IgA/IgG bullous dermatosis showing IgA and IgG reactivity with multiple antigens, particularly laminin-332.* JAMA dermatology, 2013. **149**(11): p. 1308-1313.
137. Rose, C., E.B. Bröcker, and D. Zillikens, *Clinical, histological and immunpathological findings in* 32 *patients with dermatitis herpetiformis Duhring.* JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft, 2010. **8**(4): p. 265-270.
138. Ko, C.J., et al., *Fibrillar IgA deposition in dermatitis herpetiformis–an underreported pattern with potential clinical significance.* Journal of cutaneous pathology, 2010. **37**(4): p. 475-477.
139. Miraflor, A.P., et al., *Dermatitis herpetiformis with fibrillar IgA deposition and unusual histologic findings.* JAAD Case Reports, 2017. **3**(4): p. 344-347.
140. Barnadas, M.A ,.*Dermatitis herpetiformis: a review of direct immunofluorescence findings.* The American Journal of Dermatopathology, 2016. **38**(4): p. 283-288.

141. HOWARD, M.S., *Antibodies to pilosebaceous units along their neurovascular supply routes in a new variant of endemic pemphigus foliaceus in Colombia, South America.* European Journal of Dermatology, 2011. **21**(3): p. 371-5.
142. Maria, A.V.A., J.G. Girard, and M.S. Howard, *IgG bullous pemphigoid with antibodies to IgD, dermal blood vessels, eccrine glands and the endomysium of monkey esophagus.* Our Dermatology Online, 2011. **2**(2): p. 48.
143. Barnadas, M.A., et al., *Paraneoplastic pemphigus with negative direct immunofluorescence in epidermis or mucosa but positive findings in adnexal structures.* Journal of cutaneous pathology, 2009. **36**(1): p. 34-38.
144. Abreu-Velez, A.M., et al., *Autoantibodies to sweat glands detected by different methods in serum and in tissue from patients affected by a new variant of endemic pemphigus foliaceus.* Archives of dermatological research, 2009. **301**: p. 711-718.
145. Abreu-Velez, A.M., J.G. Smith Jr, and M.S. Howard, *IgG/IgE bullous pemphigoid with CD45 lymphocytic reactivity to dermal blood vessels, nerves and eccrine sweat glands.* North American Journal of Medical Sciences, 2010. **2** :(11)p. 540.
146. Velez, A.M.A., J. Calle-Isaza, and M.S. Howard, *A case of bullous pemphigoid with immunoreactivty to blood vessels and sweat glands.* Our Dermatology Online, 2013. **4**: p. 621.
147. Lehman, J.S. and M.J. Camilleri, *Diagnostic utility of direct immunofluorescence findings around hair follicles and sweat glands in immunobullous disease.* Journal of Cutaneous Pathology, 2013. **40**(2): p. 230-235.
148. Wilson, C., D. Dean, and F. Wojnarowska, *Pemphigus and the terminal hair follicle.* Journal of cutaneous pathology, 1991. **18**(6): p. 428-431.
149. Kumaresan, M., R. Rai, and V. Sandhya, *Immunofluoresence of the outer root sheath in anagen and telogen hair: An aid to diagnosis in pemphigus.* International journal of trichology, 2009. **1**(2): p. 138.
150. Schaerer, L. and R.M. Trüeb, *Direct immunofluorescence of plucked hair in pemphigus.* Archives of dermatology, 2003. **139**(2): p. 228-228.
151. Daneshpazhooh, M., et al., *A study on plucked hair as a substrate for direct immunofluorescence in pemphigus vulgaris.* Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology, 2009. **23**(2): p. 129-131.
152. Ruocco, V. and E. Ruocco, *Tzanck smear, an old test for the new millennium: when and how.* International journal of dermatology, 1999. **38**(11): p. 830-834.
153. Durdu, M., D. Seçkin, and M. Baba, *The Tzanck smear test: rediscovery of a practical diagnostic tool.* Skinmed, 2011. **9**(1): p. 23-32.
154. Spriggs, A.I., *History of cytodiagnosis.* Journal of Clinical Pathology, 1977. **30**(12): p. 1091.
155. Cordero, A.A ,.*Arnault Tzanck His work and times.* The American Journal of Dermatopathology, 1985. **7**(2): p. 121-124.
156. Coscia-Porrazzi, L., et al., *Cytodiagnosis of oral pemphigus vulgaris.* Acta cytologica, 1985. **29**(5): p. 746-749.
157. Durdu, M., M. Baba, and D. Seçkin, *More experiences with the Tzanck smear test: cytologic findings in cutaneous granulomatous disorders.* Journal of the American Academy of Dermatology, 2009. **61**(3): p. 441-450.
158. Yaeen, A., et al., *Diagnostic value of Tzanck smear in various erosive ,vesicular, and bullous skin lesions.* Indian dermatology online journal, 2015. **6**(6): p. 381.
159. Schneider, W.H., *Arnault Tzanck, MD (1886-1954).* Transfusion Medicine Reviews, 2010. **24**(2): p. 147-150.

160. Ruocco, E., et al., *The practical use of cytology for diagnosis in dermatology.* Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology, 2011. **25**(2): p. 125-129.
161. Ruocco, V., *Citodiagnostica dermatologica.* Trattato di Dermatologia. 2nd ed. Padova, Italy: Piccin Nuova Libraria, 2007: p. 1-17.
162. Bindu, B., et al., *Role of slit skin smear examination in cutaneous T-cell lymphomas and other chronic dermatoses.* Dermatology Online Journal, 2006. **12**(3): p. 2-2.
.163. Eryılmaz, A., et al., *Diagnostic reliability of the Tzanck smear in dermatologic diseases.* International Journal of Dermatology, 2014. **53**(2): p. 178-186.
164. Gupta, L.K. and M. Singhi, *Tzanck smear: A useful diagnostic tool.* Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology, 2005. **71**: p. 295.
165. Durdu, M., M. Baba, and D .Seçkin, *The value of Tzanck smear test in diagnosis of erosive, vesicular, bullous, and pustular skin lesions.* Journal of the American Academy of Dermatology, 2008. **59**(6): p. 958-964.
166. Durdu, M. and D. Seçkin, *Pemphigus herpetiformis: six additional cases with an emphasis on eczema-like features and the diagnostic utility of Tzanck smears.* Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology, 2016. **30**(3): p. 540-542.
167. Mokhtari, M., R. Rasolmali, and P.V. Kumar, *Pemphigus vulgaris of skin :cytological findings and pitfalls.* Acta cytologica, 2012. **56**(3): p. 310-314.
168. Aithal, V., U. Kini, and E. Jayaseelan, *Role of direct immunofluorescence on Tzanck smears in pemphigus vulgaris.* Diagnostic cytopathology, 2007. **35**(7): p. 403-407.
169. Riahi, R.R., M.L. Yamazaki, and B.C. Kelly, *Tzanck smear utilized in the diagnosis of Hailey–Hailey disease mimicking genital herpes.* International Journal of Dermatology, 2014. **53**(1): p. 85-87.
170. Weathers, D.R., S. Olansky, and L. Sharpe, *Darier's disease with mucous membrane involvement: A case report.* Archives of Dermatology, 1969. **100**(1): p. 50-53.
171. Tahir, K., et al., *Role of direct immunofluorescence on Tzanck smear and plucked hair in the diagnosis of pemphigus vulgaris.* Journal of Pakistan Association of Dermatologists, 2018. **28**(3): p. 290-295.
172. Ruocco, V., L. Coscia-Porrazzi, and M. Pisani, *Reliability of cytodiagnosis in oral pemphigus vulgaris: a study of 30 cases.* The Journal of Dermatology, 1984. **11**(6): p. 535-540.
173. Kobayashi, T.K., et al., *Scrape cytology of oral pemphigus. Report of a case with immunocytochemistry and light, scanning electron and transmission electron microscopy.* Acta cytologica, 1999. **43**(2): p. 289-294.
174. Jose, A., et al., *ROLE OF DIRECT IMMUNOFLUORESCENCE ON TZANCK SMEAR IN PEMPHIGUS VULGARIS.* Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences, 2019. **8**(4): p. 254-260.
175. Verma, K.K., B.K. Khaitan, and M.K. Singh, *Antibody deposits in Tzanck smears in pemphigus vulgaris.* Journal of cutaneous pathology, 1 :(4)20 .993p. 317-319.
176. Bystryn, J.-C. and N.M. Steinman, *The adjuvant therapy of pemphigus: an update.* Archives of dermatology, 1996. **132**(2): p. 203-212.
177. Murrell, D.F., et al., *Diagnosis and management of pemphigus: Recommendations of an international panel of experts.* Journal of the American Academy of Dermatology, 2020. **82**(3): p. 575-585. e1.
178. Harman, K., et al., *British Association of Dermatologists' guidelines for the management of pemphigus vulgaris 2017.* British Journal of Dermatology :(5)177 .2017 ,p. 1170-1201.
179. Huang, Y.-H., et al., *Incidence, mortality, and causes of death of patients with pemphigus in Taiwan: a nationwide population-based study.* Journal of investigative dermatology, 2012. **132**(1): p. 92-97.

180. Kridin, K., S.Z. Sagi, and R. Bergman, *Mortality and cause of death in patients with pemphigus.* Acta dermato-venereologica, 2017. **97**(5): p. 607-611.

181. Aneesh, S., et al. "Comparison of the diagnostic efficacy of Tzanck smear with histopathology and direct immunofluorescence in immunobullous disorders." IP Indian J Clin Exp Dermatol 5.3 (2019): 211-215.

182. Leena, Vijaya B., and G. V. Manjunath. "Sunila. A clinico-pathological study of 22 cases of pemphigus." *J Clin Diagn Res* 4 (2010): 2446-51.

الملاحق

الاستمارة البحثية

رقم تسلسلي	التاريخ / / ٢٠٢م

الاســم	تاريخ الميلاد	الجنس ♀ ♂
العنوان	رقم الهاتف	

القصة المرضية		
بدء ظهور الآفات	مدة الإصابة	الإصابة ☐ حديثة ☐ ناكسة
معالجات سابقة		الأعراض ☐ حكة ☐ ألم

الفحص السريري	
توصيف الاندفاعات	
توزعها	إصابة المخاطيات ☐ نعم ☐ لا

التشخيص
التشخيص المحتمل
التشخيص المؤكد
طريقة تأكيد التشخيص

موجودات اللطاخة الخلوية
☐ خلايا منحلة الأسواك (غزيرة / قليلة) ☐ خلايا عملاقة متعددة النوى ☐ جراثيم ☐ خلايا التهابية (غزيرة / قليلة) (عدلات / حمضات) ☐ التألق المناعي (IgG / C3)
غير ذلك

ملاحظات	د. دانية الجارح

الموافقة المستنيرة على المشاركة بالبحث الذي عنوانه

دور اختبار لطاخة تزانك في تشخيص الآفات الجلدية التآكلية والحويصلية الفقاعية

أنت مدعو للمشاركة في دراسة علمية بحثية لتقييم لطاخة تزانك في تشخيص الآفات الآفات الجلدية التآكلية و الحويصلية الفقاعية

قبل أن تقرر المشاركة من المهم أن تفهم السبب من إجراء هذا البحث و ماذا سيتضمن

- يرجى قراءة المعلومات التالية بعناية ومناقشتها إذا رغبت بذلك
- يرجى سؤالي إذا كان هناك شيء غير واضح أو إذا كنت تريد معلومات إضافية
- خذ وقتك من أجل اتخاذ قرار بالمشاركة في هذه الدراسة أم لا

سيتم أخذ مسحة من الآفات الجلدية بواسطة كشطها بشفرة جراحية ثم تمد على صفيحة زجاجية ليتم دراسة الخلايا بالمجهر الضوئي وذلك لتأكيد التشخيص السريري لا يحتاج الإجراء لتخدير موضعي ولا يسبب ألم أو نزف وليس له تأثيرات جانبية أو خطورة.

إن موافقتك على الاشتراك في بحثنا هذا يعني تزويدنا بالمعلومات المتعلقة بمرضك علما بإن هذه المعلومات ضرورية لمتابعة حالتكم الصحية، و أودّ أن أؤكد أن هذه المعلومات ستبقى سرية ولا يمكن لأحد الاطلاع عليها، كما سيتم ترميز المشاركين (إعطاؤهم أرقام دون ذكر أسماء).

كذلك أتعهد بعدم اجراء أي استقصاء غير ضروري لحالة المريض وعدم اعطاء أي دواء تجريبي أو أي تداخل دوائي أو استقصائي من شأنه أن يؤذي المريض بقصد أو بغير قصد.

كما أود أن أشير إلى أن المشارك لن يحصل على أية تعويضات أو أي مقابل مادي ،كما أن رفض المشاركة ليس له أية تبعات و سينال حقه من العناية الطبية اللازمة.
و عليه فإن المشاركة ليست إلزامية ولك الحرية الكاملة في اختيار المشاركة من عدمها ولك حق الانسحاب متى شئت، فمن يرغب المشاركة فليسجل اسمه مع التوقيع أسفل هذه الاستمارة.

<u>الموافقة على المشاركة</u>

لقد اطلعت و أدركت محتوى الموافقة المستنيرة و أوافق طوعا على أن أكون مشاركا في هذا البحث بإجراء العمل الجراحي المذكور و أدرك أنني أملك فرصة الاستفسار عن أيّ أمر مع ضرورة الاجابة كما و أملك الحق في الانسحاب في أيّ وقت أشاء و دون أن يعرضني ذلك لأي ضرر و عليه أوقع.

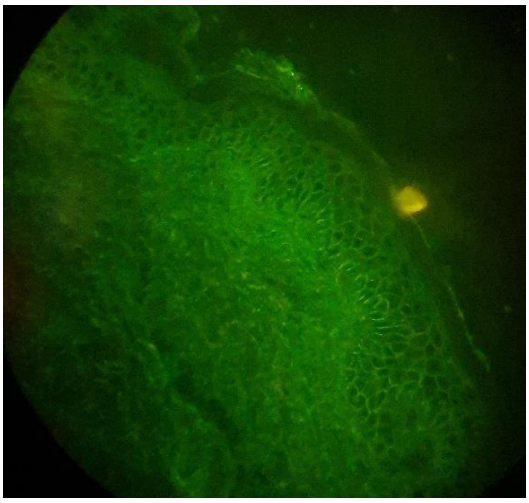
الرقم المتسلسل للمشارك

توقيع الباحث **توقيع المشارك أو ذويه :**

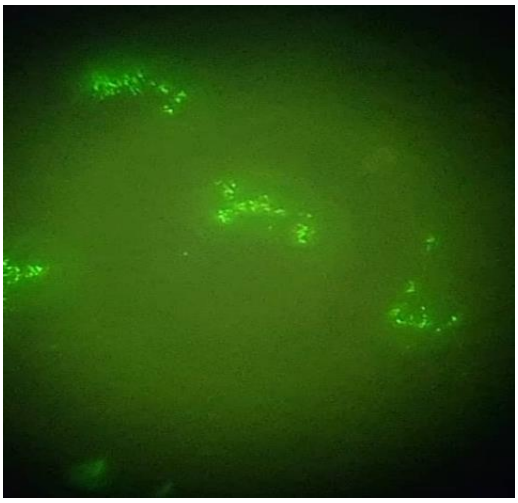
التاريخ / / /

صور لبعض الحالات المدروسة من بحثنا الحالي

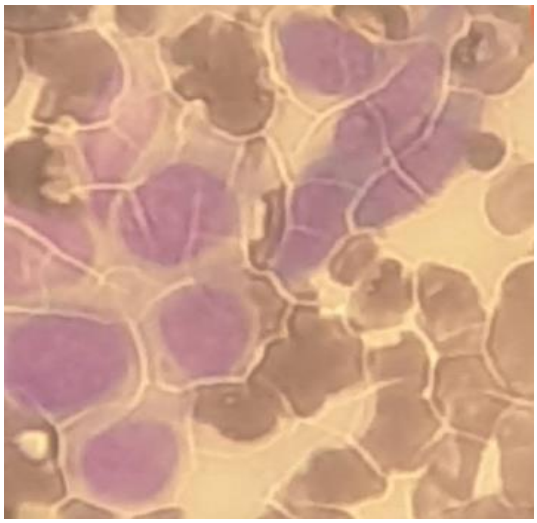
المريض الأول – فقاع شائع



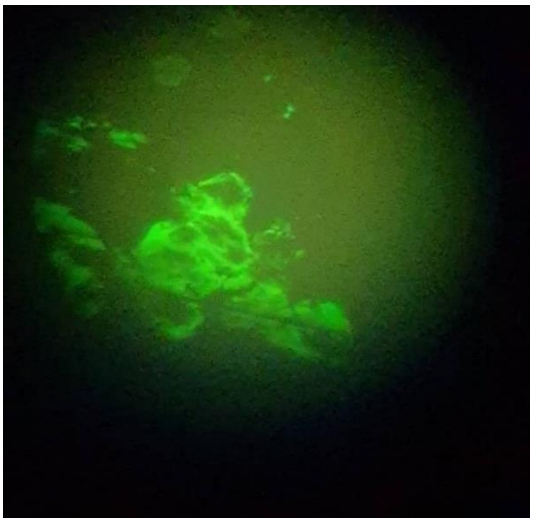
DIF يظهر ترسب IgG بشكل شبكة ضمن البشرة



DIF على اللطاخة ترسب IgG على سطح الخلايا



لطاخة تزانك تظهر خلايا منحلة الأشواك متكتلة

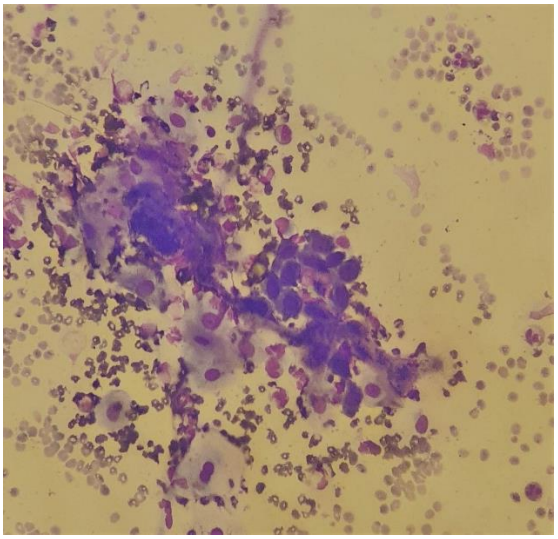


DIFعلى اللطاخة يظهر ترسب IgG بشكل عنقود العنب

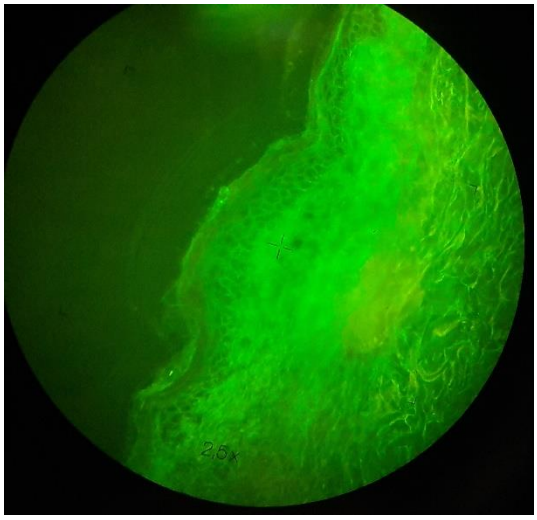
المريض الثاني – فقاع شائع



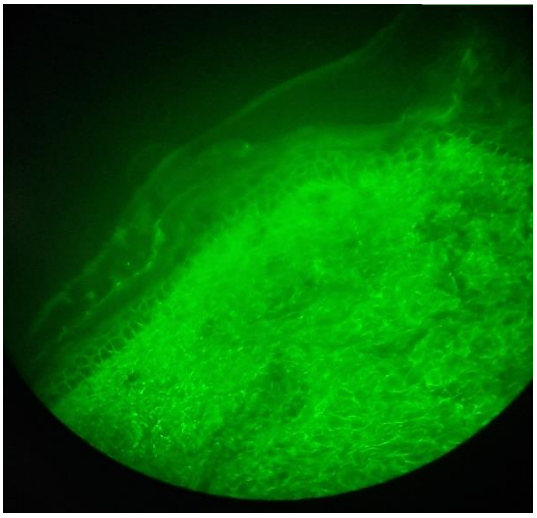
تآكلات وجلبات



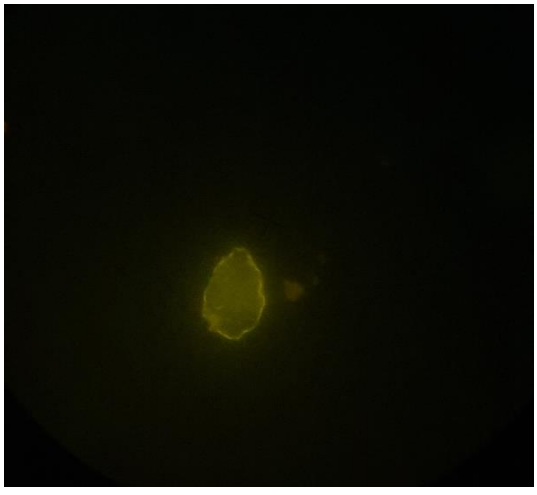
لطاخة تزانك تظهر خلايا منحلة الأشواك



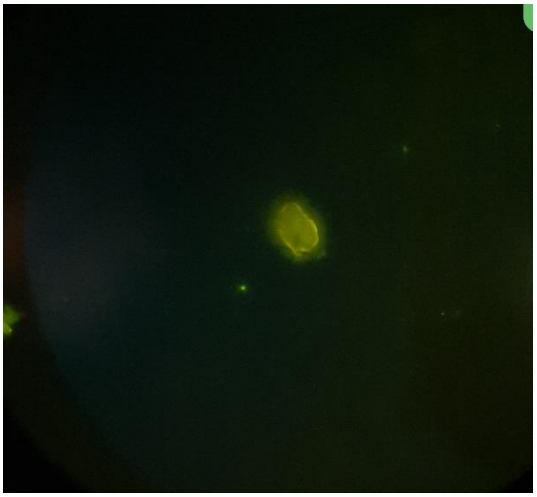
DIF ترسب IgG بشكل شبكة ضمن البشرة



DIF ترسب C3 بشكل شبكة ضمن البشرة

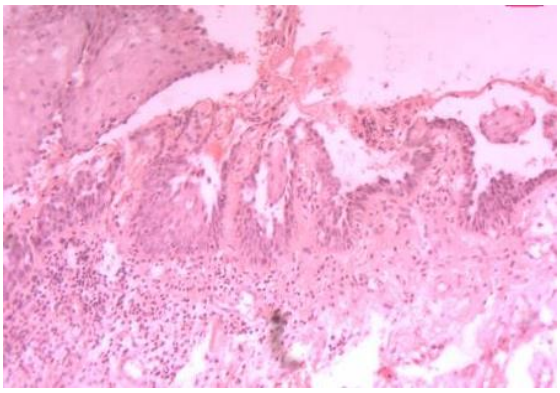


DIF على اللطاخة ترسب IgG على سطح الخلايا

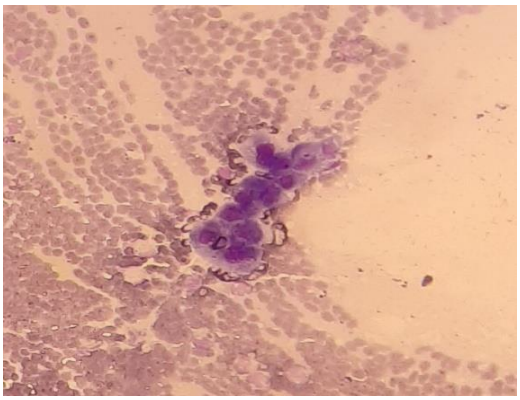


DIF على اللطاخة ترسب C3 على سطح الخلايا

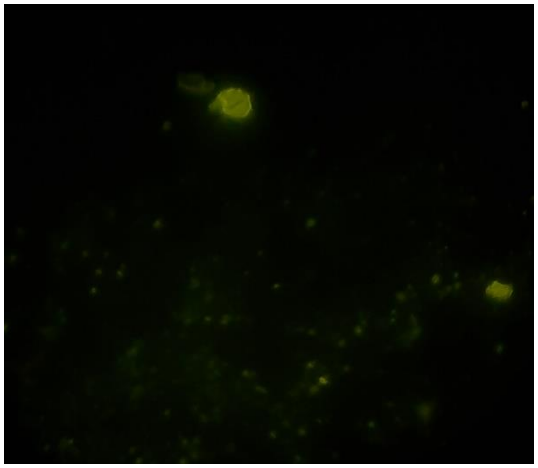
المريض الثالث – فقاع شائع



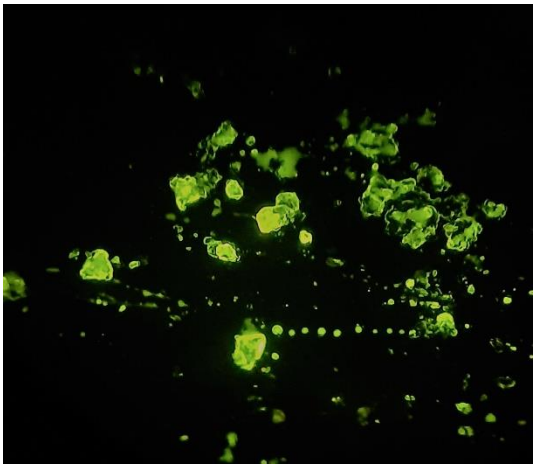
خزعة نسيجية تظهر انفصال فوق الطبقة القاعدية مع منظر الزغابات



لطاخة تزانك من المخاطية الفموية تظهر خلايا منحلة الأشواك



DIF على اللطاخة ترسب IgG على سطح الخلايا



DIF على اللطاخة ترسب IgM على سطح الخلايا

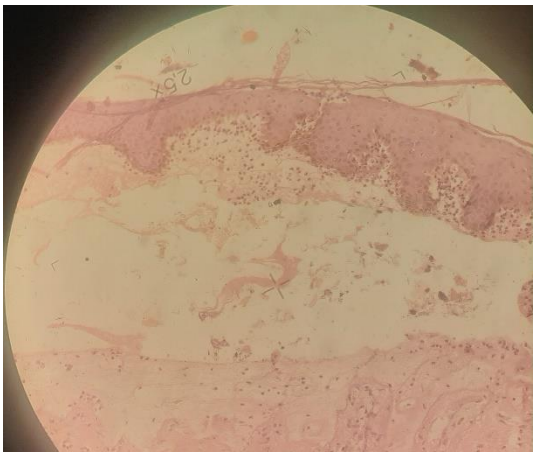
المريض الرابع – فقاعاني فقاعي



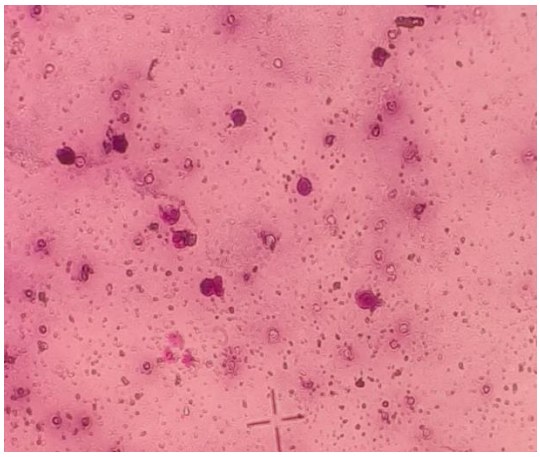
فقاعات متوترة على جلد سليم



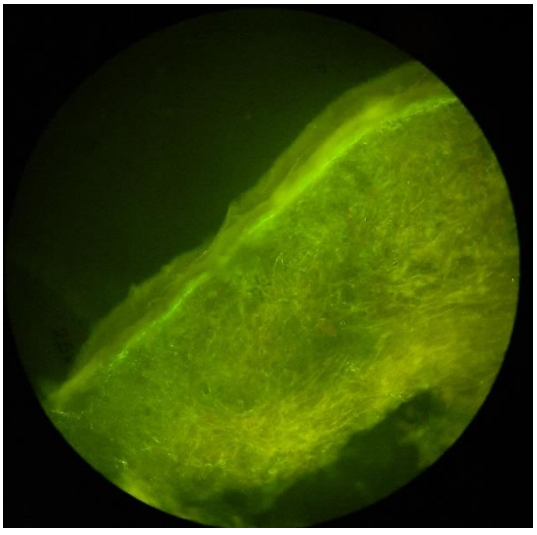
فقاعات متوترة ولويحات حمامية



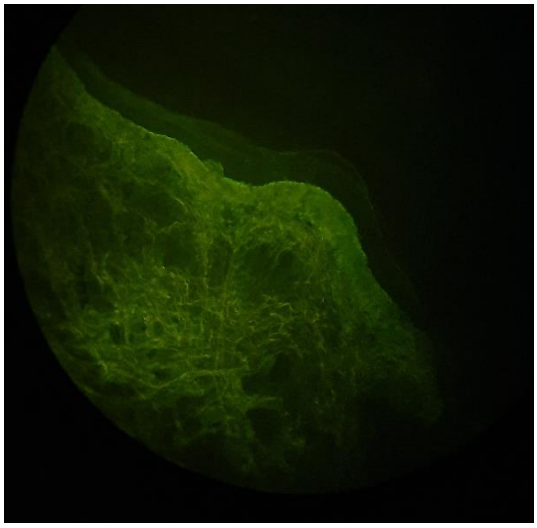
الخزعة النسيجية تظهر انفصال تحت البشرة



لطاخة تزانك تظهر حمضات ولمفاويات



ترسب IgG بشكل خطي على الغشاء القاعدي



ترسب IgA بشكل خطي ضعيف على الغشاء القاعدي

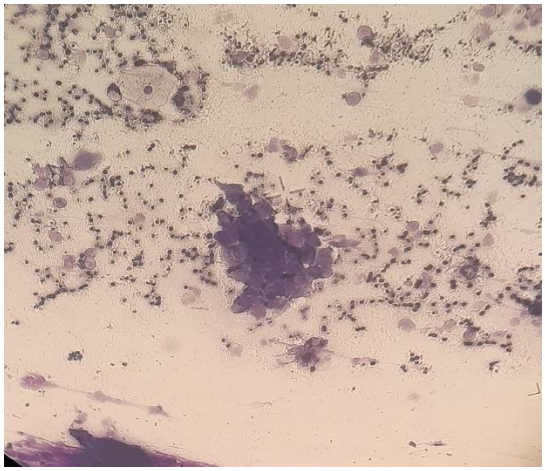
المريض الخامس – فقاع شائع



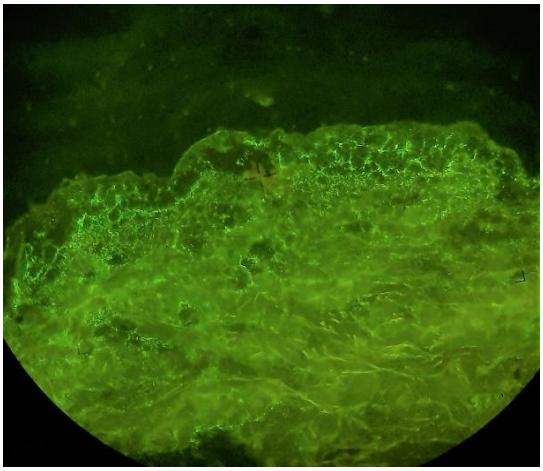
تآكلات فموية



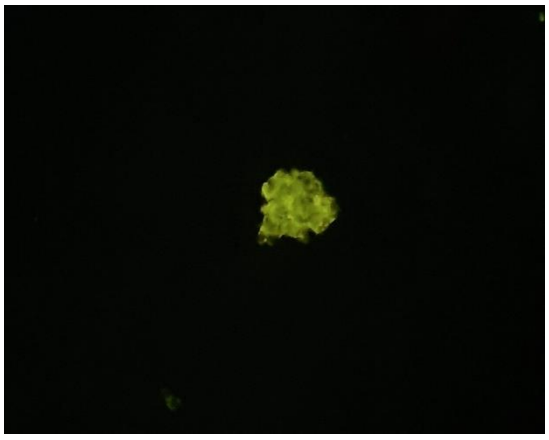
تآكلات وتنبتات



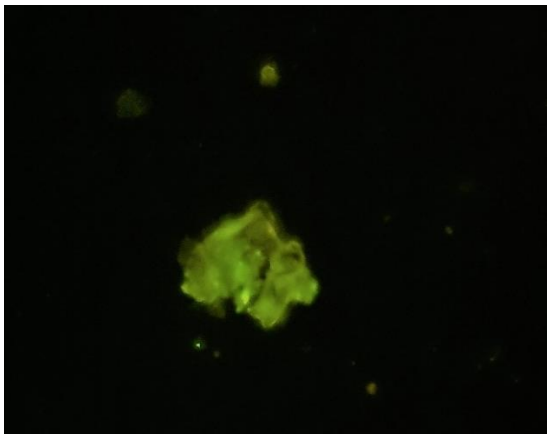
لطاخة تزانك تظهر خلايا منحلة الأشواك متكتلة



DIF ترسب IgG بشكل شبكة ضمن البشرة



DIF على اللطاخة ترسب IgG على سطح الخلايا



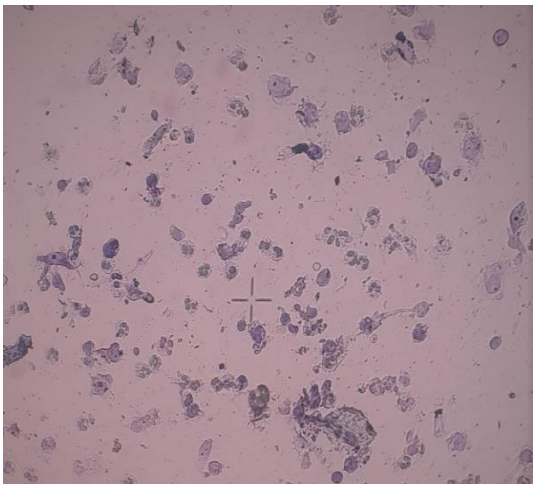
DIF على اللطاخة ترسبC3 على سطح الخلايا

المريض السادس – جلاد خطي IgA

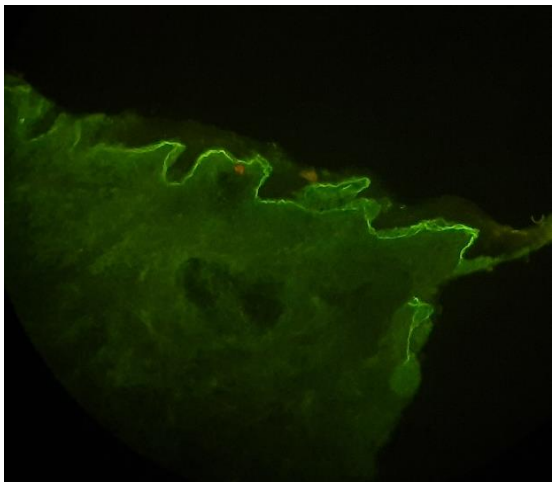




فقاعات متوترة وتآكلات



لطاخة تزانك تظهر عدلات فقط دون خلايا منحلة الأشواك

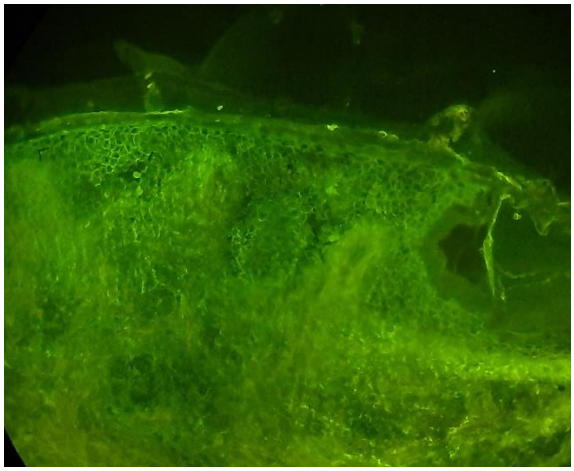


ترسب IgA بشكل خطي على الغشاء القاعدي

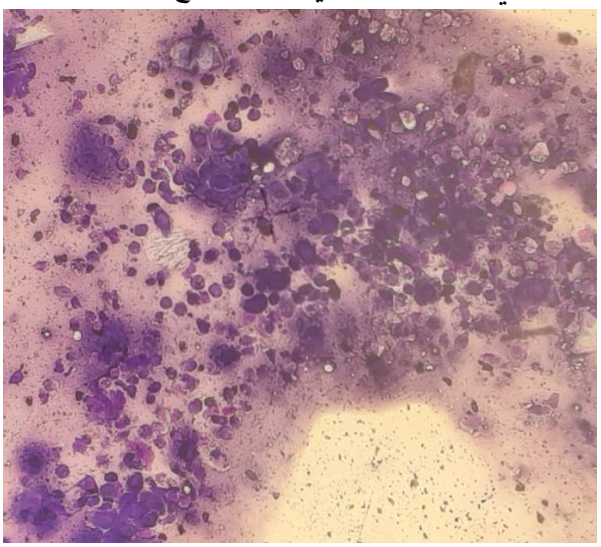
المريض السابع – فقاع شائع



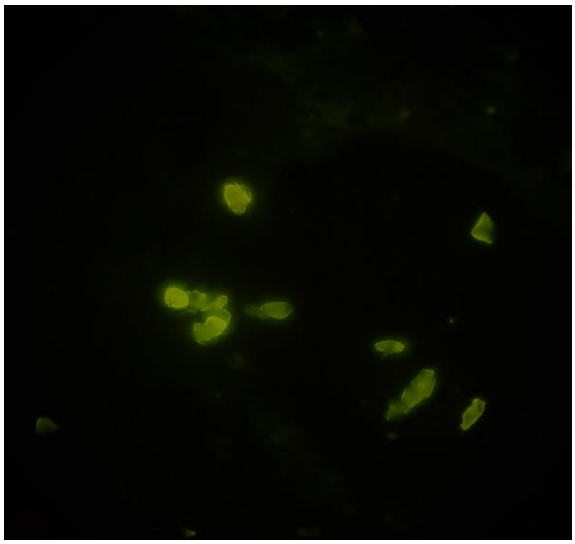
إصابة في المخاطية الفموية والأنفية مع إصابة الأظافر



DIF ترسب IgG بشكل شبكة ضمن البشرة



لطاخة تزانك تظهر خلايا منحلة الأشواك

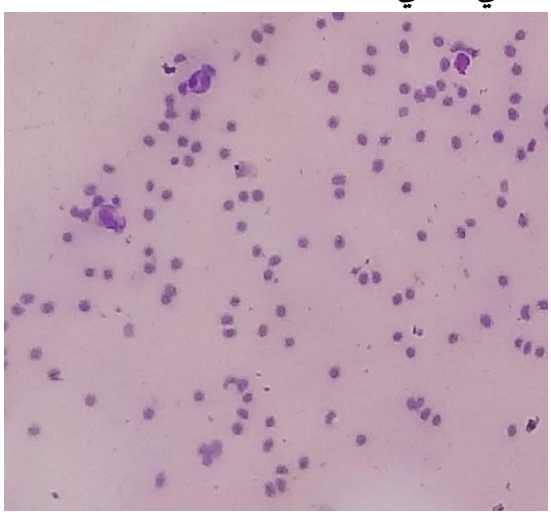


DIF على اللطاخة ترسبC3 على سطح الخلايا

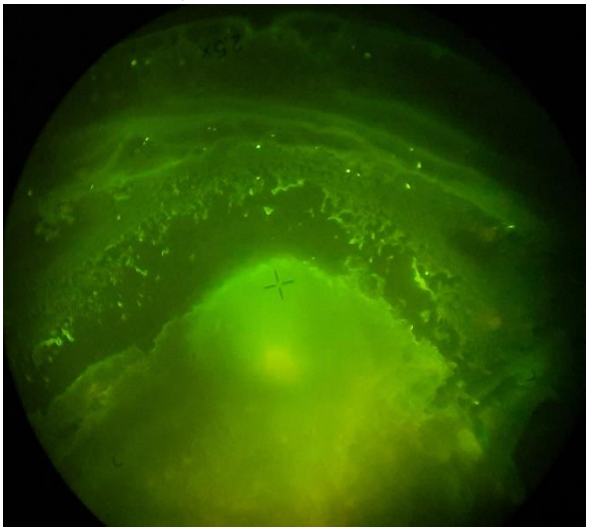
المريض الثامن – فقاعاني فقاعي



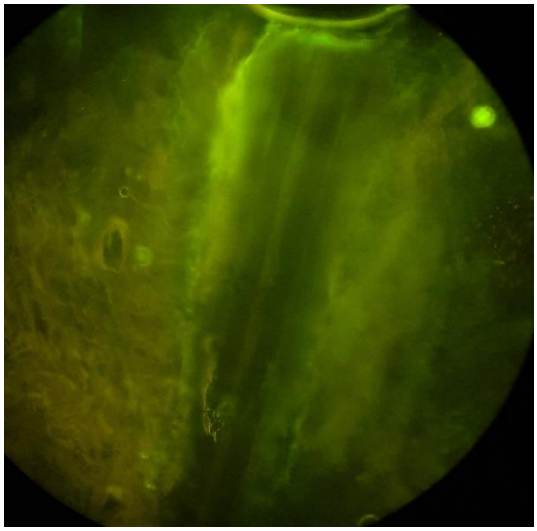
تآكلات وجلبات متركزة في الطرف العلوي الأيمن المصاب بالخزل الشقي



لطاخة تزانك تظهر رشاحة حمضات دون خلايا منحلة الأشواك



DIF لا يمكن تفسير توضعات IgG ضمن البشرة والوصل



DIF يظهر ترسب IgG بشكل خطي حول الجراب الشعري

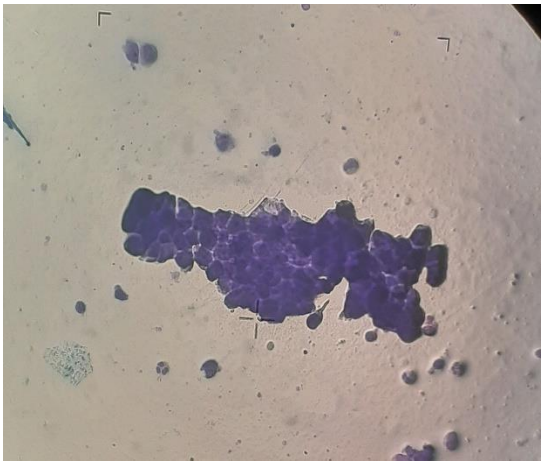
المريض التاسع – فقاع شائع



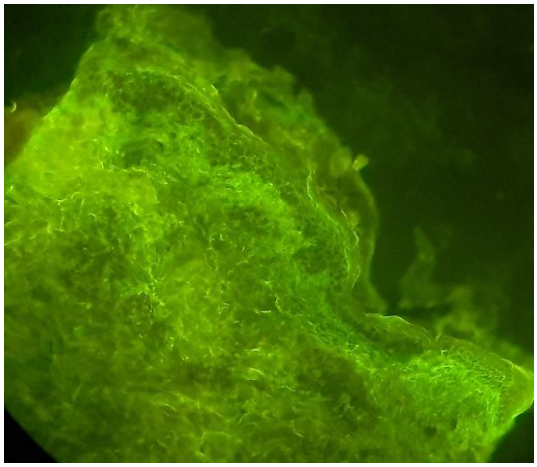
تآكلات وجلبات في الفروة



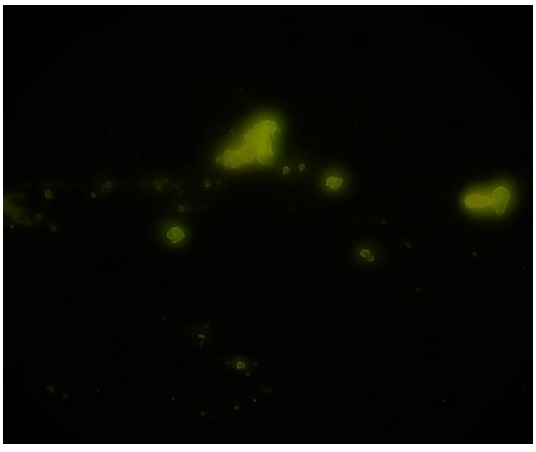
تآكلات وجلبات منتشرة في الظهر



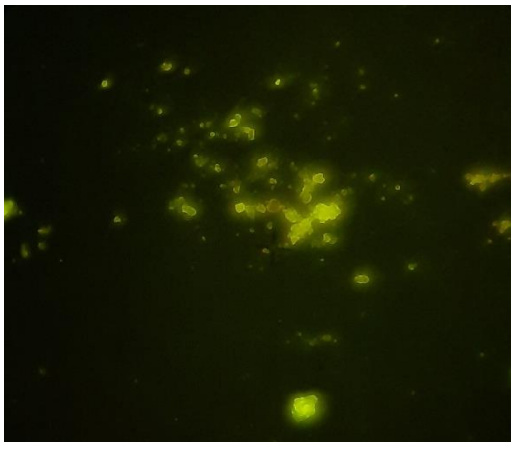
لطاخة تزانك تظهر خلايا منحلة الأشواك بشكل الغمد



DIF ترسب IgG بشكل شبكة ضمن البشرة



DIF على اللطاخة ترسب IgG على سطح الخلايا

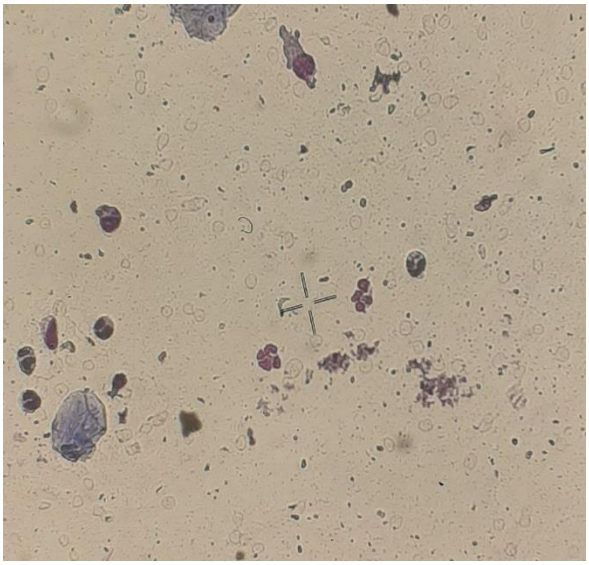


DIF على اللطاخة ترسبC3 على سطح الخلايا

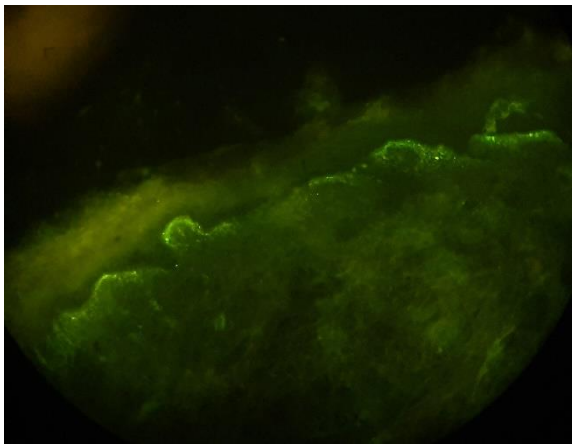
المريض العاشر – التهاب جلد حلئي الشكل



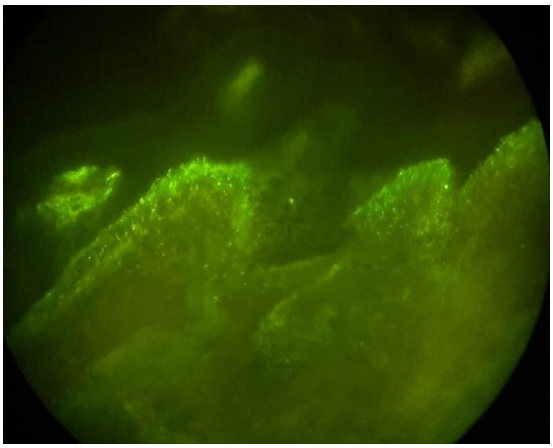
حطاطات حمامية حاكة على المرفق



لطاخة تزانك تظهر عدلات وحمضات



DIF يظهر ترسب IgA بشكل خطي حبيبي على الغشاء القاعدي

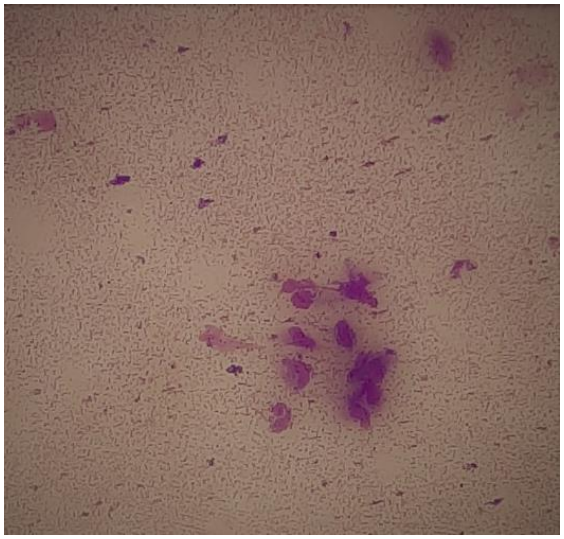


DIF يظهر ترسب IgA بشكل حبيبي في ذرا الحليمات الأدمية

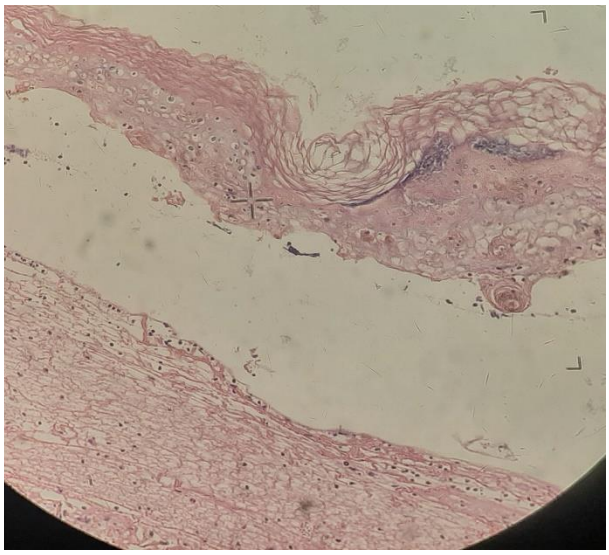
المريض الحادي عشر – فقاعاني فقاعي



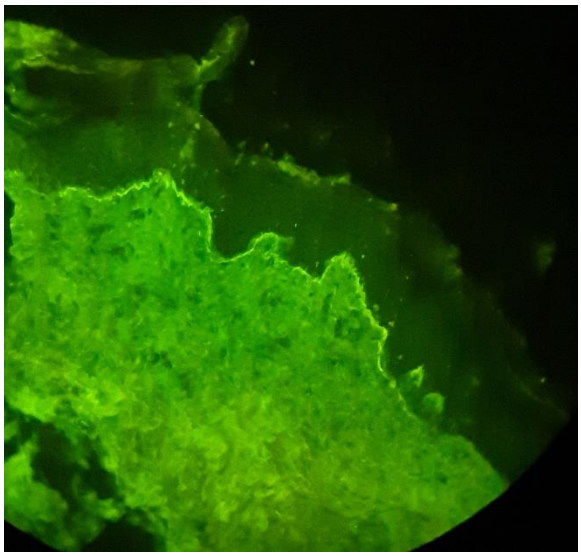
فقاعاني فقاعي تالي لمعالجة شعاعية



لطاخة تزانك تظهر خلايا لمفاوية وحمضات



خزعة نسيجية تظهر انفصال تحت البشرة

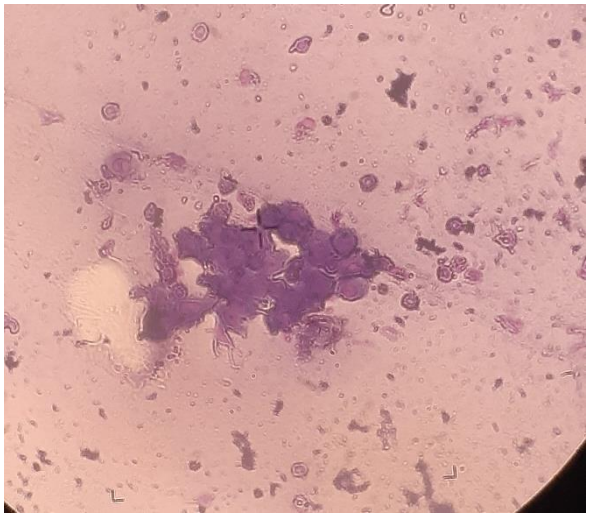


DIF يظهر ترسب IgG بشكل خطي على الغشاء القاعدي

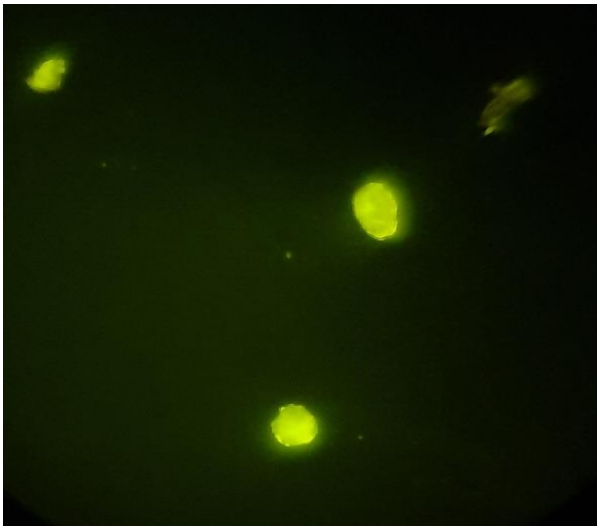
المريض الثاني عشر – فقاع شائع



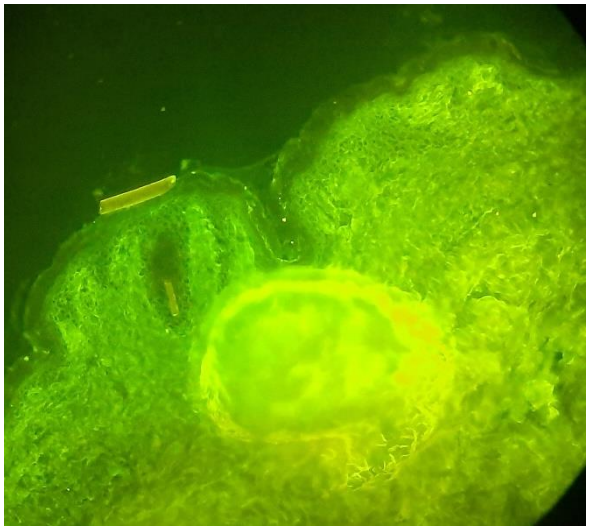
تآكلات في اللسان والشفة السفلية



لطاخة تزانك تظهر خلايا منحلة الأشواك متكتلة



DIF ترسب IgG بشكل حلقي على سطح الخلايا

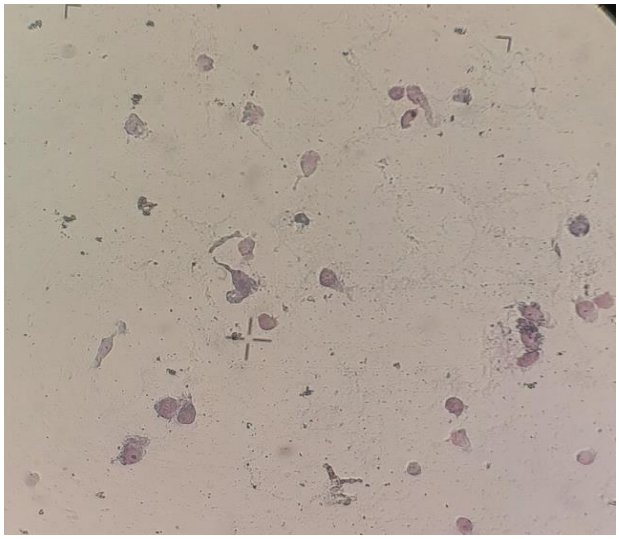


DIF ترسب IgG بشكل شبكة في البشرة

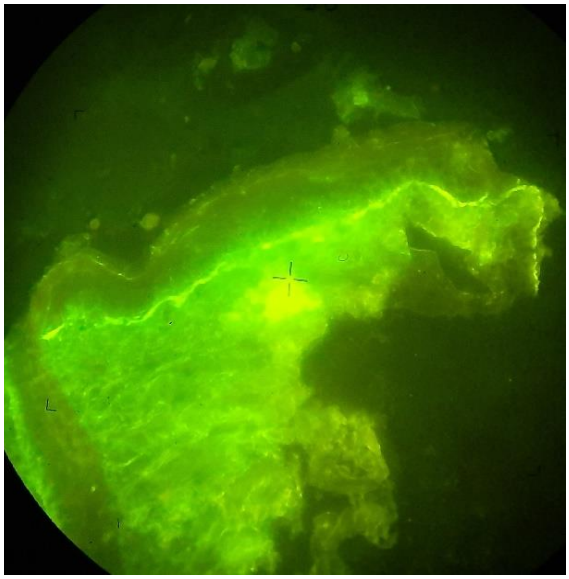
المريض الثالث عشر – فقاعاني فقاعي



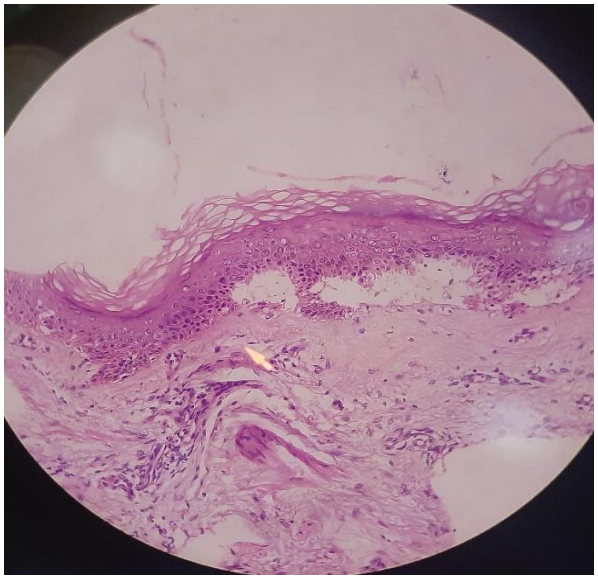
تآكلات وفقاعات متوترة



لطاخة تزانك تظهر خلايا لمفاوية



DIF يظهر ترسب IgG بشكل خطي على الغشاء القاعدي

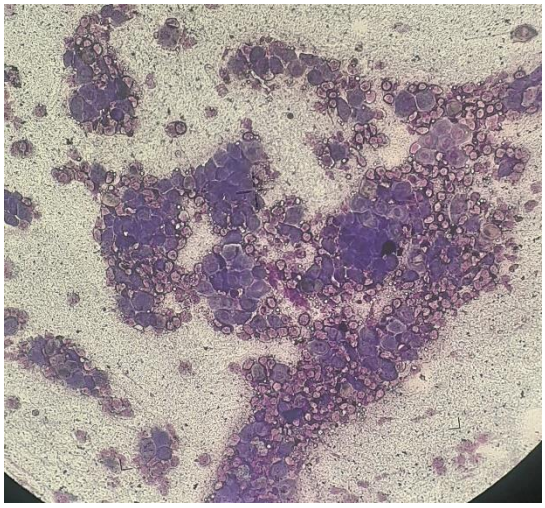


خزعة نسيجية تظهر انفصال تحت البشرة

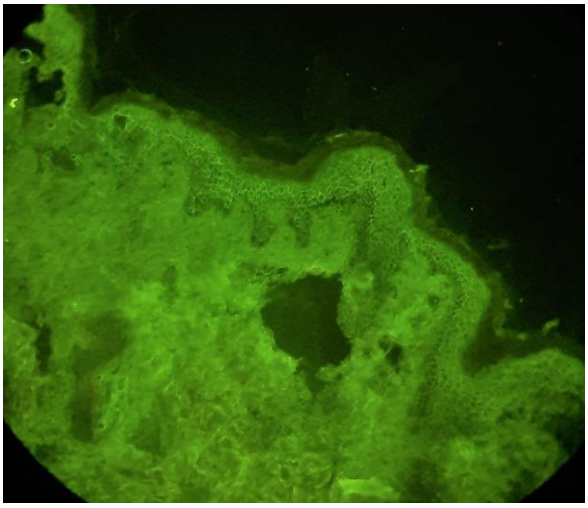
المريض الرابع عشر – فقاع شائع



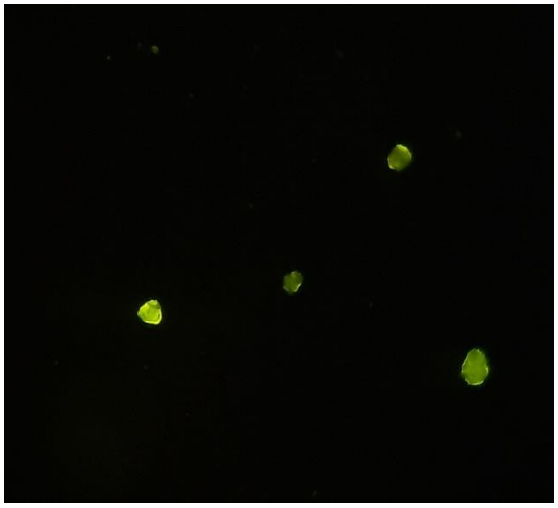
تآكلات وجلبات



لطاخة تزانك تظهر خلايا منحلة الأشواك متكتلة



DIF ترسب IgG بشكل شبكة في البشرة

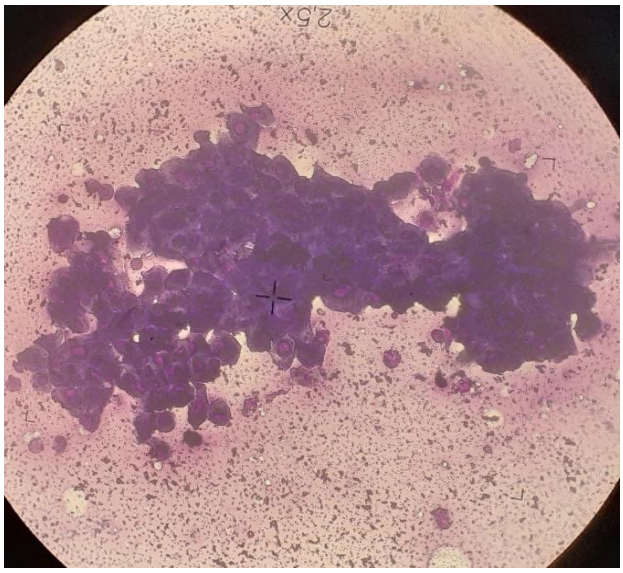


DIF ترسب C3 بشكل حلقي على سطح الخلايا

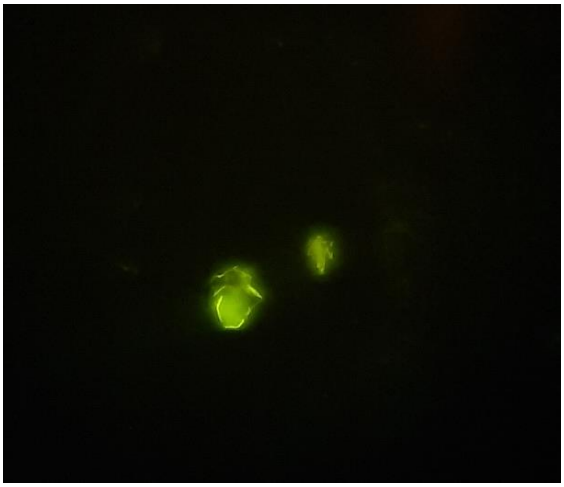
المريض الخامس عشر – فقاع شائع



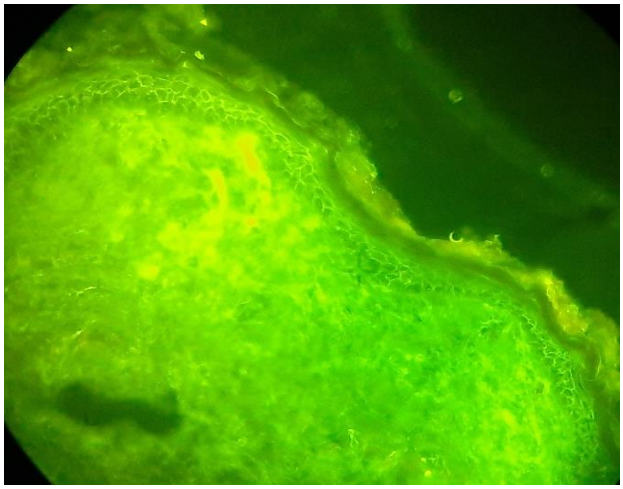
فقاعات رخوة وتآكلات



لطاخة تزانك تظهر خلايا منحلة الأشواك بشكل الغمد



DIF على اللطاخة ترسب IgG على سطح الخلايا



DIF ترسب IgG بشكل شبكي في البشرة

Abstract

Background: Autoimmune bullous diseases represent an important part of blister diseases, and are associated with significant morbidity and mortality; Therefore, it is necessary to make a correct diagnosis and start immediate treatment. The medical literature suggests that cytological studies can be useful in distinguishing intraepidermal immune bullous diseases from subepidermal immune bullous diseases, thus enabling rapid and cost-effective diagnosis.

To prove antibody deposition using direct immunofluorescence (DIF) is considered the gold standard in confirming the diagnosis, and the use of a cytologic smear as a substrate for DIF can contribute to making it a faster and easier procedure.

Aim of study: to assess the sensitivity and to study the possibility of using DIF on a Tzanck smear as a confirmatory test for pemphigus vulgaris.

Methods: the study was performed on 30 patients with an autoimmune bullous, during the years 2021-2022 in the Dermatology and Venereal Hospital. Sensitivity and specificity of the Tzanck smear were calculated in diagnosing and distinguishing between these diseases. DIF was performed on a Tzanck smear, and the sensitivity, specificity were calculated, and the results of DIF applied to the smear were compared with DIF on the tissue biopsy.

Results: The routine cytologic smear revealed the presence of acantholytic cells in all intraepidermal bullous diseases. DIF applied to the cytologic smear also showed the deposition of antibodies on the surface of acantholytic cells in intraepidermal bullous diseases. The sensitivity of the Tzanck smear was 100% and the specificity was 100% in diagnosing pemphigus in both cases. The results of DIF on the cytologic smear matched the results of DIF on the tissue biopsy for all the antibodies studied in pemphigus vulgaris patients.

Conclusions: Tzanck smear is a useful test in differentiating autoimmune bullous diseases. It is a simple and easy-to-implement procedure that gives fast results, high reliability. It can also be used as an alternative substrate to tissue biopsy for DIF to confirm the diagnosis of pemphigus vulgaris.

Key words: Autoimmune bullous diseases, pemphigus vulgaris, tzanck smear, direct immunofluorescence.

Syrian Arab Republic

Damascus University

Faculty of Medicine

Department of Pathology

Role of Tzanck Smear Test in Diagnosis of Erosive, Vesicular and Bullous Skin Lesions

A Dissertation Submitted

in Fulfilment of the Requirements for the Degree of (PhD) in dermatology

By

Dania Aljareh

Supervisor

Prof: Ayham Badran

Asistant supervisor

Prof: Ayman Sammoun

2023