

## Pemeriksaan Histopatologi dan Imunofluoresen pada Pemfigus Vulgaris

### *Histopathological and Immunofluorescence Examination in Pemphigus Vulgaris*

Rizky Devitasari<sup>1</sup>, Anggun Putri Yuniaswan<sup>1</sup>, Diah Prabawati Retnani<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department Dermatologi dan Venereologi Universitas Brawijaya/ RS dr. Saiful Anwar Malang.

<sup>2</sup> Department Patologi Anatomi Universitas Brawijaya/ RS dr. Saiful Anwar Malang.

Diterima 24 September 2021; direvisi 18 September 2021; publikasi 28 Oktober 2021

#### INFORMASI ARTIKEL

##### Penulis Koresponding:

Rizky Devitasari, Dermatologi dan Venerologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya Malang, RSUD Dr. Saiful Anwar Malang  
Email: [cyta.raihan@gmail.com](mailto:cyta.raihan@gmail.com)

#### ABSTRAK

*Pemphigus vulgaris* (PV) adalah suatu penyakit autoimun yang ditandai lepuhan pada kulit dan membran mukosa. Lesi primer PV adalah terdapat lepuhan kendur dengan predileksi pada seluruh permukaan kulit dan mukosa. Tes diagnostik untuk menegakkan diagnosis PV terhadap penyakit vesikobulosa yang lain, meliputi biopsi kulit ataupun mukosa untuk pemeriksaan histopatologi dan *immunofluoresence* (IF). Gambaran histopatologi yang ditemukan berupa adanya *intraepithelial blister* dan *achantolysis suprabasilar* dengan ciri khas *row of tombstone* yang merupakan hasil dari IgG autoantibodi terhadap glikoprotein desmoglein 3 (dsg3) dan sebagian terhadap desmoglein 1 (dsg1). Pemeriksaan *direct immunofluorescence* menunjukkan deposit IgG, IgM dan C3 di ruang antar sel dalam epitel.

**Kata kunci:** Pemphigus Vulgaris; PV; Imunofluoresen.

#### ABSTRACT

*Pemphigus vulgaris* (PV) is an autoimmune disease characterized by blisters on the skin and mucous membranes. The primary lesion of PV are loose blisters, which can occur anywhere on the surface of the skin and mucosal surface. Diagnostic test aims to confirm the diagnosis of PV to other vesiculobullous disease, including skin or mucosal biopsies for histopathological examination and immunofluorescence (IF). Histopathological features intraepithelial blisters and suprabasilar *achantolysis* with characteristic *row of tombstones* which were the result of IgG autoantibodies to glycoprotein desmoglein 3 (dsg3) and partly to desmoglein 1 (dsg1). Direct immunofluorescence examination showed deposits of IgG, IgM and C3 in the intercellular spaces in the epithelium. Blood tests with the ELISA test can only be used to check the levels of autoantibodies to Dsg3 and Dsg1.

**Keywords:** Pemphigus Vulgaris; PV; Immunofluorescence.

#### PENDAHULUAN

Pemphigus vulgaris (PV) adalah penyakit autoimun yang spesifik pada jaringan kulit dan mukosa yang ditandai

lepuhan pada kulit dan membran mukosa.<sup>1</sup> Kata pemphigus berasal dari bahasa Yunani, yaitu pemphix, yang berarti blister. Pemphigus vulgaris di Amerika memiliki



prevalensi 30.000 kasus dan jumlah insiden 1-10 kasus baru per 1.000.000 penduduk per tahun. Penyakit ini terjadi di semua kelompok ras dan etnis dengan yang tertinggi kejadian terlihat pada orang Yahudi Ashkenazi. Kejadian paling sering terjadi selama dekade kelima dan keenam kehidupan, insiden tertinggi pada wanita meskipun beberapa kasus telah dilaporkan pada anak-anak.<sup>2-4</sup>

Standar baku untuk diagnosis PV adalah dengan DIF, yang meliputi biopsi perilesional sekitar 1 cm dari tepi lesi.<sup>[5]</sup> Gambaran histopatologi yang ditemukan berupa adanya *intraepithelial blister* dan *akantholisis suprabasilar*. Pada pemeriksaan DIF menunjukkan deposit IgG, IgM dan C3 di ruang antar sel dalam epitel. Pemeriksaan darah dengan tes ELISA dapat digunakan untuk untuk memeriksa autoantibodi terhadap Dsg3 dan Dsg1.<sup>2</sup>

Beberapa varian PV memiliki gambaran klinis tidak khas sehingga menyulitkan untuk penegakan diagnosis. Tujuan karya ilmiah ini dibuat karena pentingnya pemeriksaan biopsi dan IF untuk menghindari kesalahan dan keterlambatan diagnosis yang menyebabkan peningkatan angka morbiditas dan mortalitas pada penderita dengan mempelajari gambaran histopatologi dan *immunofluorescence* (IF) pada PV.

## TINJAUAN PUSTAKA

Ernest Beutner dan Robert Jordon (1964) menemukan bahwa terdapat IgG autoantibodi yang melawan Dsg3 dan Dsg1. Desmoglein 3 dan 1 termasuk keluarga super cadherin yang terlibat dalam adhesi sel-sel. Autoantibodi ini mengganggu fungsi desmosome, menyebabkan hilangnya adhesi antara sel-sel epitel, yang kemudian menghasilkan pembentukan vesikel intraepitel.<sup>2</sup>

Erosi paling sering terjadi pada mukosa mulut, menyebabkan disfagia dan berat badan berkurang, keterlibatan

permukaan mukosa lainnya, termasuk mukosa faring, laring, esofagus, genital, anal, dan konjungtiva. Keterlibatan kulit biasanya terjadi setelah keterlibatan mukosa dan ditandai oleh vesikel lembek yang terlokalisasi terutama di daerah fleksural, wajah, kulit kepala, dan ekstremitas.<sup>[4]</sup>

## Epidemiologi

Penyakit ini terjadi di semua kelompok ras dan etnis dengan kejadian yang tertinggi terlihat pada orang Yahudi Ashkenazi. Kejadian paling sering terjadi selama dekade kelima dan keenam kehidupan, meskipun beberapa kasus telah dilaporkan pada anak-anak.<sup>[2]</sup> PV memiliki usia rata-rata mulai 40-60. Berdasarkan data dari *International Pemphigus Pemphigoid Foundation* (IPPF) pada tahun 2014, prevalensi sekitar 30.000 kasus di Amerika dan insiden 1-10 kasus baru per 1 juta orang.<sup>5</sup>

Jumlah kematian pada pasien terdiagnosa PV sebanyak 75%, kemudian pada tahun 1950 setelah digunakannya kortikosteroid sebagai terapi PV, kasus kematian PV turun menjadi 30%. Selanjutnya terapi adjuvant pada tahun 1980 berkontribusi terhadap penurunan kematian lebih lanjut. Angka kematian menurun hingga dibawah 5% pada populasi penelitian 0,021 per 100.000 penduduk di Amerika Serikat.<sup>6</sup>

## Etiologi

Antigen pada PV yang dikenali sebagai desmoglein 3 (dsg3), merupakan desmosomal chaderin yang terlibat dalam perlekatan interseluler pada epidermis. Antibodi yang berikatan pada domain ekstraseluler region terminal amino pada dsg3 ini mempunyai efek langsung terhadap fungsi chaderin. Dsg 3 dapat ditemukan pada desmosom dan pada membran sel keratinosit. Dapat dideteksi pada setiap diferensiasi keratinosit terutamanya pada

epidermis bawah dan lebih padat pada mukosa bukal dan kulit kepala.<sup>1</sup>

Antibodi yang terlibat pada PV ialah IgG terhadap transmembran desmosomal glikoprotein *dsg3*, dan dalam beberapa kasus *desmoglein 1 (dsg1)*. Antibodi anti-*desmoglein 3* diperlukan dan cukup untuk menyebabkan karakteristik lepuhan epidermal suprabasal pada percobaan tikus.<sup>4</sup> Antibodi dalam PV yaitu *dsg3*, merupakan suatu polipeptida dengan berat 130 kDa yang seperti antigen *pemphigus foliaceus (dsg1)*, adalah anggota dari *subfamily desmoglein* dari anggota *supergene cadherin*. Variasi genetik dalam *dsg3* yaitu pada kromosom 18q12, yang merupakan faktor resiko berulangnya PV, sehingga mengakibatkan berkurangnya perlekatan antara sel-sel keratinosit yang menyebabkan terbentuknya bula-bula, erosi dan ulkus yang merupakan gambaran pada penyakit PV.<sup>1,4</sup>

### **Patogenesis**

Target antigen dari *pemphigus* adalah *desmoglein*, yang merupakan glikoprotein transmembran dari *desmosome* (struktur adhesi antar sel). *Desmoglein* merupakan molekul adhesi, bagian dari keluarga *cadherin*. Semua pasien dengan PV memiliki antibodi *dsg 3* dan beberapa dari pasien ini memiliki antibodi anti *dsg 1*. Pasien dengan lesi mukosa yang dominan cenderung memiliki antibodi anti *dsg 3*, sedangkan mereka yang memiliki lesi mukokutanus biasanya memiliki kedua antibodi anti *dsg 3* dan antibodi anti *dsg1*.

Beberapa *evidence* mengindikasikan bahwa antibodi anti *dsg 1* dan *3* pada pasien *pemphigus* secara langsung menyebabkan blister. Antibodi anti *desmoglein* bertanggung jawab untuk pembentukan blister pada model transfer pasif, karena afinitas kemurnian autoantibodi anti *dsg 2* dan *3* menyebabkan blister, sedangkan adsorpsi autoantibodi *desmoglein* dapat menghambat PV.<sup>1</sup>

### **Manifestasi Klinis**

Lesi primer PV ditandai adanya lepuhan yang kendur, dapat terjadi di mana saja pada permukaan kulit, khasnya tidak terdapat pada telapak tangan dan telapak kaki. Pasien dapat hadir dengan keluhan nyeri pada mukosa mulut, hidung, alat kelamin, dubur, tenggorokan, dan konjungtiva.<sup>4</sup> Pada awalnya hanya dijumpai sedikit bula, tetapi kemudian akan meluas dalam beberapa minggu, atau dapat juga terbatas pada satu atau beberapa lokasi selama beberapa bulan.<sup>9</sup>

Lepuhan dapat muncul pada kulit normal, tetapi bisa timbul pada kulit yang eritematosus. Karena bula mudah rapuh, lesi kulit yang paling umum diamati adalah erosi akibat dari lepuhan yang lecet. Erosi-erosi ini seringkali cukup besar, karena mereka memiliki kecenderungan untuk menyebar di tepi lesi.<sup>1</sup> Lesi pada mukosa mulut muncul dalam 60% kasus. Karena pasien bisa memiliki erosi oral, rasa sakit dapat mempengaruhi saat mengunyah dan menelan makanan. Hal ini dapat menyebabkan nafsu makan turun dan kekurangan nutrisi jangka panjang.<sup>4</sup> Bula akan dengan mudah pecah dan mengakibatkan erosi mukosa yang terasa nyeri. Lesi ini akan meluas ke bibir dan membentuk krusta. Keterlibatan pada tenggorokan akan mengakibatkan timbulnya suara serak dan kesulitan menelan.<sup>9</sup> Tanda khas pada *pemphigus* adalah erosi yang meluas ke kulit normal dengan menarik sisa-sisa dinding lepuhan atau menggosok di pinggiran lesi aktif. Erosi dapat diinduksi pada kulit yang tampak normal jauh dari lesi aktif dengan tekanan atau gaya geser mekanis, fenomena ini dikenal sebagai tanda *Nikolsky*.<sup>1</sup>



**Gambar 1.** Gambaran klinis pasien dengan pemphigus vulgaris. (Sumber: Dokumentasi pribadi peneliti)

### Penegakan Diagnosis

Diagnosis pemphigus didasarkan pada anamnesis dan pemeriksaan fisik yang terperinci dan jelas, didukung dengan pemeriksaan histopatologi dan imunopatologi. PV secara klinis ditandai dengan lesi primer berupa bula yang berinding kendor, mudah pecah, sehingga jarang terlihat dalam bentuk bula yang utuh. Lesi yang dijumpai seringkali dalam bentuk erosi yang mudah berdarah diakibatkan bula yang pecah dan sering juga menjadi krusta. Membran mukosa sering terkena dengan lesi erosi yang terasa nyeri dan sering timbul sebelum erupsi kulit muncul.<sup>9</sup>

Pemeriksaan *immunofluorescence* (IF) digunakan untuk mendokumentasikan keberadaan autoantibodi kulit, baik dengan *direct immunofluorescence* (DIF) pada lesi kulit, *indirect immunofluorescence* (IIF) atau ELISA dari serum pasien.<sup>9</sup>

### Immunofluorescence

*Imunofluorescence* adalah suatu pemeriksaan imunohistokimia yang bertujuan untuk menentukan lokasi antigen spesifik di jaringan atau sel dengan menggunakan reaksi antigen-antibodi. Pada pemeriksaan ini digunakan antibodi yang ditandai dengan bahan *fluorescence* untuk

memvisualisasikan lokasi reaksi antigen-antibodi tersebut.<sup>13</sup>

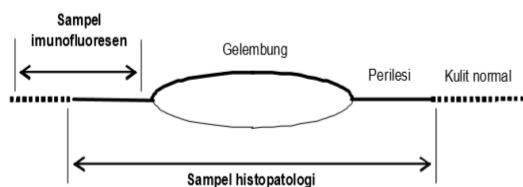
Dermatosis vesikobulosa kronik merupakan kelompok penyakit kulit autoimun dengan antigen berupa komponen epidermis atau membran basalis. Autoantibodi yang terbentuk pada dermatosis vesikobulosa kronik melekat di kulit atau berada dalam sirkulasi. Pemeriksaan IF digunakan untuk mendeteksi autoantibodi yang terbentuk. Pendeteksian tersebut dilakukan dengan memberikan suatu anti-autoantibodi (antibodi sekunder) terkonjugasi dengan *fluorochrome* yang akan berikatan ke autoantibodi tubuh (antibody primer), kemudian diamati melalui mikroskop *fluorescence*. Antibodi sekunder yang berikatan dapat berupa immunoglobulin, komplemen, atau fibrinogen.<sup>13</sup>

*Fluorochrome* adalah bahan yang memiliki elektron-elektron yang dapat berpendar dengan sinar pada panjang gelombang tertentu.<sup>15</sup> *Fluorochrome* yang digunakan pemeriksaan ini adalah *Fluorescein isothiocyanate* (FITC) yang memancarkan sinar hijau (*apple-green*) 518 nm atau *tetram ethyl rhodamin isothiocyanate* (TRITC) yang memancarkan cahaya merah 580 nm.<sup>14</sup> Petanda ini dapat dideteksi dengan mikroskop *fluorescence* yang dilengkapi dengan cahaya merkuri atau *xenon*.<sup>18</sup>

Pemeriksaan mikroskop *fluorescence* didasarkan prinsip radiasi dari sinar ultraviolet dengan panjang gelombang pendek (360 nm) atau dengan *blue light* (400 nm) menyebabkan *fluorescence* pada substansi tertentu.<sup>15</sup> Keuntungan dari *immunofluorescence* dibandingkan dengan pemeriksaan immunological yang lain seperti ELISA adalah tidak hanya mengidentifikasi adanya antigen tetapi juga mengidentifikasi letak depositnya pada irisan jaringan.<sup>17</sup>

Terdapat dua teknik pemeriksaan yang menggunakan teknik *fluorescence* yang

keduanya menggunakan jaringan *cryostat*, yaitu teknik *direct* dan *indirect*. Pemeriksaan DIF bertujuan untuk mendeteksi autoantibodi yang melekat pada jaringan secara *in vivo* dengan bantuan suatu anti autoantibodi yang ditambahkan bahan *fluorescence*.<sup>11</sup> Sampel untuk pemeriksaan ini berupa potongan jaringan perilesi dan kulit normal dari tepi blister yang baru. Blister dipilih yang baru timbul (kurang dari 24 jam) untuk mencegah perubahan, misalkan regenerasi, degenerasi, bahkan infeksi sekunder yang menyulitkan pembacaan. Apabila sampel diambil dari bagian tengah blister, dapat memberikan hasil negatif palsu karena telah terjadi degradasi immunoglobulin (Gambar 1).<sup>1,13</sup>



**Gambar 2.** Skema pemotongan jaringan untuk pemeriksaan imunofluoresence dan histopatologi.<sup>13</sup>

Potongan jaringan dibersihkan dengan cairan *Phosphate-buffered saline* (PBS) untuk membersihkan darah dan protein jaringan, kemudian dibekukan pada suhu  $-70^{\circ}\text{C}$  hingga sampel digunakan. Transportasi jaringan dapat menggunakan nitrogen cair, karbondioksida beku, atau dengan cairan fiksasi *Michel's* dalam suhu ruangan. Cairan fiksasi ini mencegah degenerasi jaringan dan immunoreaktan dengan menghambat kerja enzim proteolitik jaringan.<sup>13</sup>

Langkah selanjutnya *cryo-sectioning* atau pemotongan jaringan dengan ketebalan  $5\ \mu\text{m}$ , kemudian diletakan pada slide kaca dan dilakukan *labelling*.<sup>13,16</sup> Labelling adalah suatu proses dimana jaringan yang akan diperiksa ditambahkan anti-autoantibodi terkonjugasi fluorokrom (antibody sekunder). Antibodi sekunder yang

digunakan adalah antibody anti terhadap IgG, IgM, IgA, komplemen 3 (C3) atau fibrinogen. Tahap labelling dilakukan pada *moist chamber* pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit. Setelah terlabel ini sampel kemudian diperiksa dengan mikroskop *fluorescence*.<sup>13</sup>

Melalui mikroskop *fluorescence* secara *in vivo* diamati lokasi, dan jenis deposit antibody, tipe immunoglobulin serta ada tidaknya komplemen. Lokasi deposit yang diamati umumnya pada epidermis, membrane basalis dan dermis. Jenis deposit yang diamati berupa deposit interseluler pada epidermis atau pada *basement membrane zone* (BMZ). Deposit pada BMZ dapat linear, granular, atau kombinasi keduanya.<sup>13</sup>

Pada PV, pemeriksaan DIF menunjukkan adanya deposit interseluler antibody diantara seluruh sel epidermis. Deposit yang sering ditemukan adalah IgG dan C3, sedangkan IgG atau IgA jarang ditemukan. Untuk diagnosis dini pemfigus, pemeriksaan DIF lebih sensitif dibandingkan IIF. Selain untuk diagnosis dini, DIF juga dapat menilai remisi setelah terapi. Hasil DIF negatif menunjukkan remisi imunologis sehingga terapi dapat dihentikan dan resiko kambuh rendah.<sup>13</sup>

DIF dapat diandalkan karena sensitif untuk penegakan diagnosa pemfigus vulgaris. Terdapat gambaran deposit IgG *lacelike* yang terdapat pada permukaan sel, didapatkan pada 95% kasus, termasuk pada kasus-kasus awal dengan lesi sangat minimal, dan pada 100% kasus dengan pemfigus vulgaris aktif.<sup>13</sup>

Pemeriksaan IIF bertujuan untuk mendeteksi antibody dalam serum (*circulating antibody*) dengan cara tidak langsung yaitu melekatkan autoantibodi pada substrat terlebih dahulu, kemudian diperiksa dengan mikroskop *fluorescence*. Sampel yang digunakan adalah serum darah pasien, diambil pada darah vena sebanyak 10-15 ml tanpa anti koagulan kemudian diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 1 jam

untuk mendapatkan serum darah. Serum kemudian disentrifugasi, diaspirasi dengan pipet ke dalam tabung steril dan disimpan pada suhu  $-25^{\circ}\text{C}$  hingga digunakan. Serum harus dibekukan untuk menghindari hemolisis masif yang dapat menghancurkan autoantibodi. Serum tersebut diencerkan 1:10 dan 1:80.<sup>13</sup>

Sebelum tahap *labelling*, substrat hendaknya disiapkan terlebih dahulu. Substrat umumnya berasal dari esofagus kera, esofagus kelinci, kulit manusia normal, atau kulit katak. Disarankan menggunakan berbagai jenis substrat secara bersamaan untuk pemeriksaan IIF sehingga hasil lebih optimal. Substrat yang digunakan dipotong, diletakkan diatas object glass, kemudian diinkubasi dengan serum pasien yang telah diencerkan (antibodi primer) di dalam *moist chamber* pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit. Jaringan tersebut kemudian dilabel dengan menambahkan anti-autoantibodi (anti IgG, IgA, IgM) terkonjugasi *fluorochrome* (antibody sekunder). Sampel kemudian ditetesi *buffered glycerol* dan diperiksa menggunakan mikroskop *fluorescence*. Melalui pemeriksaan ini dapat diamati tipe, pola, serta lokasi immunoglobulin.<sup>13</sup>

Pada pemeriksaan IIF, dilakukan serial serum yang diencerkan, kemudian diinkubasi ke dalam substrat. Pengenceran serum tersebut ditingkatkan untuk menentukan titer tertinggi yang menghasilkan fluoresensi yang jelas, karena titer autoantibodi pemphigus berkaitan dengan aktivitas penyakit sehingga dapat memprediksi kekambuhan. Terdapat suatu pemeriksaan IIF untuk mendeteksi komplemen C3 atau teknik *complement binding indirect immunofluorescence (C3 metode)*. Pemeriksaan ini dilakukan dengan menambahkan antibodi C3 pada sampel. Terkadang pemeriksaan IIF sulit mendeteksi antibodi serum, namun dikarenakan kompleks yang terbentuk menghasilkan banyak C3, pemeriksaan C3

*metode* ini membantu mendeteksi antibody serum melalui keberadaan C3.<sup>13</sup>

Metode dengan *Immunofluorescence* dapat diaplikasikan untuk tujuan:

1. Pemeriksaan autoantibodi dalam serum (*smooth muscle antibody, antinuclear antibody, dll*)
2. Mendeteksi adanya deposit immunoglobulin, *complement*, dan fibrin pada renal disease.
3. Mendeteksi deposit immunoglobulin dengan frozen section, pada bagian dermo-epidermal junction dan pada bagian atas dermis (*various bullous dermatosis*)
4. Sebagai diagnostik spesifik pada penyakit infeksi (hepatitis).<sup>16</sup>

Terdapat teknik lain yang merupakan variasi dari pemeriksaan immunofluorescence. Teknik tersebut dinamakan *salt-split skin*, yang digunakan untuk mendeteksi jenis dan lokasi autoantibodi secara pasti. Teknik pemeriksaan ini dapat digunakan untuk DIF maupun IIF. Sampel yang digunakan adalah kulit manusia yang dipisahkan lamina lusida pada dermoepidermal junction. Pemisahan dilakukan dengan merendam kulit dalam NaCl 1 mol/L pada suhu  $4^{\circ}\text{C}$  selama 72 jam atau dengan suction pump secara in vivo. Keuntungan cara *suction pump* adalah persiapan sampel lebih cepat.<sup>13</sup>

Sampel kulit pasien yang digunakan untuk pemeriksaan DIF, sedangkan untuk pemeriksaan IIF digunakan kulit orang sehat sebagai substrat. Teknik *salt-split skin* pada IIF lebih bermanfaat karena substrat kulit manusia sehat yang dipisahkan lebih bagus hasilnya dibandingkan dengan kulit yang tidak dipisahkan atau esofagus binatang.<sup>13</sup>

### **Enzym Linked Immunosorbent Assay (ELISA)**

Pemeriksaan ini semakin banyak digunakan sebagai alat diagnostik sensitif

dan sederhana untuk PV. Secara umum diyakini bahwa PV lesi oral dominan ditandai dengan adanya anti dsG 3 saja, dan kulit yang terpengaruh menunjukkan kedua anti dsG (anti dsG 3 dan anti dsG 1).<sup>16</sup> Dalam mendiagnosis penyakit, ELISA antigen spesifik telah terbukti lebih sensitif dan spesifik daripada *immunofluorescence*, dan titernya berkorelasi lebih baik daripada IIF dengan aktifitas penyakit. Disamping itu, ELISA lebih mudah dilakukan namun kurang subyektif daripada *immunofluorescence*.<sup>1</sup>

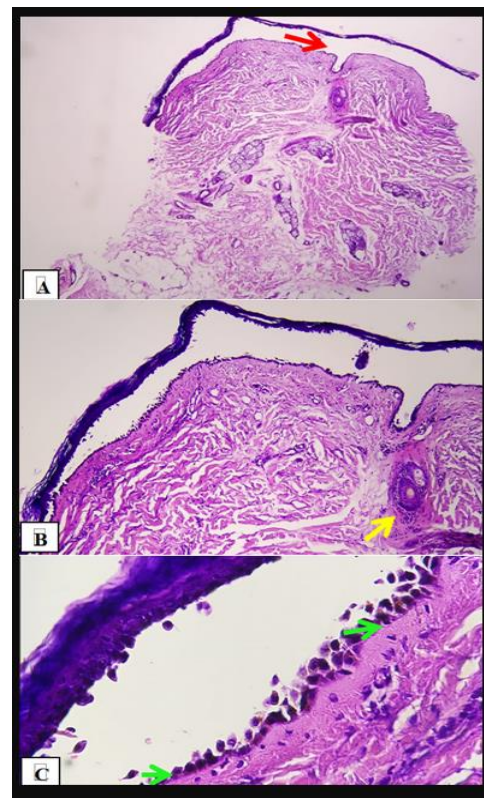
### **Pemeriksaan Histopatologi**

Pada pemeriksaan histopatologi, perubahan paling awal didapatkan sedikit spongiosis eosinofilik atau yang paling sering spongiosis pada bagian bawah sel epidermis. Spongiosis menunjukkan tanda manifestasi awal dari akantolisis. Akantolisis mengarahkan pada terbentuknya celah yang kemudian menjadi blister yang dominan pada lokasi suprabasal. Akantolisis dapat meluas ke adneksa atau lebih banyak dalam stratum spinosum. Terdapat sedikit inflamasi pada tahap awal pembentukan bula, adanya *infiltrate lymphocytic perivascular* disertai dengan edema dermis, namun hal tersebut jarang terjadi. Spongiosis eosinofilik menunjukkan adanya sejumlah eosinophil yang menginfiltrasi dermis. Fenomena spongiosis eosinofilik biasanya terjadi pada penyakit bula yang lain, sebagian terjadi pada fase awal termasuk dermatitis kontak akut, pemphigus foliaceus, bullous pemphigoid, herpes gestasionis, *drug eruption*, *spongiosis arthropod bite reaction* dan *acantholytic dermatosis*.<sup>13</sup>

Beberapa perubahan terjadi seiring bertambahnya usia lesi. Pertama, terdapat reaksi inflamasi yang terdiri dari neutrophil, limfosit, makrofag, dan eosinophil. Karena ketidakstabilan dari bagian atap bula, maka dapat terjadi erosi dan ulserasi. Bula yang lama memiliki beberapa lapis keratinosit pada dasar blister dikarenakan migrasi dan

proliferasi keratinosit. Terakhir, terdapat pertumbuhan lapisan epidermis bagian bawah, sehingga menimbulkan peningkatan yang disebut "vili".<sup>13</sup>

Gambaran histopatologis yang khas dalam PV adalah suprabasal blister dengan akantolisis. Tepat di atas sel basal, sel epidermis kehilangan hubungan antar sel dan membentuk blister. Seringkali sel keratonosit bulat (akantolitik) berada dalam rongga blister. Sel basal tetap melekat pada membran basal, namun kehilangan hubungan dengan sel sel sekitarnya, karena itu terlihat seperti "row of tombstones" atau deretan batu nisan, yang merupakan gambaran khas penyakit ini. Sel basal satu atau dua lapisannya tetap utuh karena sel ini mempertahankan adhesi sel mereka.<sup>1,8</sup>



**Gambar 3.** Gambaran Histopatologi Pemphigus Vulgaris. Blister pada suprabasal (→), Gambar 3A (pewarnaan HE, pembesaran 40x). Dermis tampak pembuluh darah kecil dan adnexa kulit dengan infiltrat sel radang limfosit (→), Gambar 3B (pewarnaan HE, pembesaran 100x). Tampak gambaran 'row of tombstone' (→), Gambar 3C (pewarnaan HE, pembesaran 400x).

Sumber: Dokumentasi pribadi peneliti

## Diagnosis banding pada pemeriksaan histopatologi dan IF

Penegakkan diagnosis pada pasien yang hanya mengalami lesi rongga mulut lebih sulit dibandingkan dengan lesi mukokutan. Pada PV, lesi pada oral dapat menyerupai *aphthous stomatitis*, *acute herpetic stomatitis*, *erythema multiforme*, *Stevens-Johnson syndrome*, *lichen planus*, *systemic lupus erythematosus*, *paraneoplastic pemphigus*, dan *mucous membrane pemphigoid*. Diagnosis banding untuk lesi PV pada kulit meliputi bentuk pemfigus lainnya, yaitu pemphigoid bulosa, *linear IgA bullous dermatosis*, *bullous erythema multiforme*, dan *dermatitis herpetiformis*. Terdapat varian lain dari pemfigus, yang memiliki bentuk vegetasi yaitu pemfigus vegetans. Pada awalnya lesi berupa vesikular dan erusif menyerupai pemphigus vulgaris, namun lesi berkembang menjadi plak vegetasi.<sup>15</sup>

### 1) Pemphigoid Bullosa

Pemphigoid Bullosa (PB) adalah suatu penyakit vesikobulosa subepidermal yang sering terjadi pada orang tua, dan sering terjadi pada wanita dari pada pria, yang disebabkan oleh autoimun. PB merupakan penyakit kronik yang dicirikan dengan adanya periode eksaserbasi dan remisi parial. Lesi biasanya terdiri dari 1-3 cm lepuhan tegang berisi cairan jernih, terletak pada kulit yang tampak normal atau kulit inflamasi. Lesi dapat pula berupa erosi dan krusta, cenderung mendominasi pada area perut, *axila*, lipat paha, *flexor* dari ekstremitas, dan mukosa. Keterlibatan mukosa mulut terjadi pada 10-30% pasien, serta tanda Nikolsky dan Asboe-Hansen negatif. Rasa gatal adalah kondisi umum yang sering terjadi dari ringan sampai dengan berat. Beberapa pasien dapat mengalami remisi komplit setelah 6-10 tahun. Pada beberapa kasus PB dapat dicetuskan oleh trauma, luka bakar,

radioterapi atau radiasi sinar ultraviolet (UV), dan obat-obatan.<sup>10,11</sup>

Pada pemeriksaan histopatologi, terdapat bula subepidermal dengan epidermis diatasnya yang utuh dan terdapat infiltrate eosinophil dalam bula dan epidermis. Penyakit ini memberi gambaran secara imunologis berupa reaksi autoantibodi terhadap 2 macam protein hemidesmosom pada pertautan dermoepidermal. Protein ini adalah, PB antigen 1 (PBAG1) atau AgPB230, dan PBAG2 (AgPB180 atau kolagen tipe XVII).<sup>14</sup>

Pada pemeriksaan DIF didapatkan deposit linear IgG dan C3 pada basement membrane zone (BMZ), namun terkadang terdapat IgA atau IgM. Pada pemeriksaan IIF didapatkan antibody IgG anti-BMZ dalam serum. Pada pemeriksaan *salt-split skin*, didapatkan deposit linear IgG pada lamina lusida. Substrat yang digunakan untuk pemeriksaan IIF adalah esofagus kera atau kulit katak.<sup>14</sup>

### 2) Pemphigus Vegetans

Merupakan varian yang langka dari pemphigus vulgaris, yang membedakannya adalah adanya vegetasi terutama area *flexor*. Lesi terdapat pada area lipatan utamanya pada *axilla*, *umbilical*, *perianal*, *inguinal*, *facial*, dan *mamae*. Terdapat dua varian pemphigus vegetans yaitu tipe *Neumann* berupa vesikular dan erusif, menyerupai pemphigus vulgaris, namun lesi berkembang menjadi plak vegetasi, kemudian tipe *Hallopeau* berupa lesi pustular sebagai lesi primer daripada bulla. Perkembangannya diikuti oleh formasi verruca vegetasi, khususnya pada area *intertriginosa*.<sup>8,12</sup>

Studi imunologis memberikan bukti lebih lanjut adanya hubungan pemphigus vegetans dan pemphigus vulgaris. Sirkulasi antibody telah ditemukan pada pasien pemphigus vegetans tipe *Neumann* dengan polipeptida yang mengendap 130 dan 85 kDa dari antigen pemphigus vulgaris (dsg3), namun terdapat antibody tambahan yang



belum dikenali. Pada tipe *Hallopeau*, antibodi terhadap dsG 3 dapat dideteksi. Antibodi dimiliki subkelas IgG2 dan IgG4, dengan fiksasi komplemen yang kuat.<sup>8</sup>

Pada tipe *Hallopeau* lesi pustular awal menampakkan *eosinophilic spongiosis* dengan perpindahan eosinophil kedalam epidermis dan membentuk *spongiotic microvesicle* dan *eosinophilic miroabcess*. Sel akantolitik dapat terlihat, meskipun biasanya tidak tampak pada pemeriksaan Tzanck smear dari pustule. Pada tipe Neumann, terdapat intraepidermal vesikel dengan suprabasal akantolisis namun tidak terdapat eosiniphilik mikroabcess. Lesi vegetasi pada kedua tipe tersebut adalah sama dengan adanya hiperketarosis, papilomatosis, dan akantolisis yang menonjol dengan proliferasi rete ridge yang memanjang.<sup>8</sup>

Gambaran *immunoflorescence* pada pemphigus vegetans sangat mirip dengan pemphigus vulgaris. Pada DIF terdapat deposit IgG dan C3 pada sel permukaan

keratinosit. IIF mensirkulasi antiepithelial permukaan sel IgG. Deposit IgA, diisolasi atau dikombinasi dengan auto-antibodi lain (IgG, IgM, C3, C1q) yang jarang diobservasi. ELISA mengidentifikasi autoantibodi melawan Dsg3, sedangkan autoantibodi yang melawan Dsg1, desmocollin 1, desmocollin 2 dan periplakin terkadang dapat dideteksi. Bahkan, hal ini belum jelas apakah antibodi yang terdapat pada PV dan pemphigus vegetans menunjukkan perbedaan. IgG1 dan IgG4 autoantibodi adalah khas dari PV, sedangkan keberadaan IgD2 dan IgG4 dapat dideteksi pada lesi kulit pemphigus vegetans.<sup>13</sup>

**KESIMPULAN**

Standar baku emas untuk menegakkan diagnosis PV adalah dengan DIF, yang dapat mendeteksi autoantibodi terkait jaringan. Pada pemeriksaan tersebut memperlihatkan adanya ikatan deposit IgG, IgM dan C3 di ruang antar sel dalam epitel.

**Tabel 1.** Pemeriksaan untuk mempermudah diagnosis banding

Penyakit	Gejala Klinis	Pemeriksaan Histopatologi	Antigen	DIF <i>(Direct immunofluoresen)</i>	IIF <i>(Indirect immunofluoresen)</i>
Pemphigus Vulgaris	Bula berdinding kendur, mudah pecah	Akantolisis suprabasal, gambaran "row of tombstones"	Dsg1 Dsg3	Interseluler IgG & C3	Interseluler IgG (esofagus kera)
Pemphigus Vegetans	Lesi plak vegetasi	Suprabasal akantolisis, papilomatosis, intraepithelial abcess	Dsg1 Dsg3	Intraseluler IgG & C3	Interseluler IgG
Pemphigoid Bullosa	Bula berdinding tegang pada kulit eritema/ kulit normal, lesi urtika	Bula subepidermal, sel infiltrat eosinophil, tanpa akantolisis.	PBAg1 (230 kD) PBAg2 (180 kD)	Linear IgG dan C3 pada BMZ (terkadang IgA & IgM)	IgG pada lamina lusida

Pemeriksaan penunjang yang lain yaitu ELISA dapat digunakan untuk memeriksa autoantibodi yang terlibat.

Pemeriksaan histopatologi PV dapat menjumpai akantolisis dan pembentukan lepuhan intraepidermal, yang merupakan hasil dari IgG autoantibodi yang diarahkan terhadap transmembran desmosomal glikoprotein dsG3, dan dalam beberapa kasus desmoglein 1 (dsG1).

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Payne S, Stanley J. Pemphigus. In: Kang S, Amagai M, Bruckner AL, Enk AH, Margolis DJ, Michael AJ, Orringer JS editors. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*, 9<sup>th</sup> ed. New York, McGraw Hill. 2019: 909-933.
2. Cholera M, Wu Nita C. (2016). Review: Management of Pemphigus Vulgaris. DOI 10.1007/s12325-016-0343-4.
3. Temel AB, Temel IC, dkk. Original scientific article Evaluation of Ear, Nose, and Throat Involvement in Pemphigus Vulgaris in Comparison with Pemphigus Severity Scoring Systems: A Cross-sectional Study. *Acta Dermatovenerol Croat* 2018;26(4):283-288
4. Kridin K. Review: Pemphigus group: overview, epidemiology, mortality, and comorbidities. *Immunologic Research*. (2018) 66:255-270 <https://doi.org/10.1007/s12026-018-8986-7>
5. Kayani M, Aslam AM. Bullous pemphigoid and pemphigus vulgaris. *bmj*. 2017 Jun 8;357
6. Kridin K. Pemphigus group: overview, epidemiology, mortality, and comorbidities. *Immunologic research*. 2018 Apr;66(2):255-70.
7. Sanders W. 2017. Review: A brief review of pemphigus vulgaris. *Biomedicabl Dermatology*. DOI 10.1186 Ruocco V, Ruocco E, dkk. (2015). Pemphigus vegetans of the folds in Clinics in Dermatology. <https://doi.org/10.1186/s41702-017-0008-1>
8. Weedon D. *Weedon's Skin Pathology*, Third Edition. UK: 2012
9. Chang YA. 2018. Bullous Pemphigoid. Department of Dermatology, University of California, San Francisco, USA. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-18449-4\\_69](https://doi.org/10.1007/978-3-319-18449-4_69)
10. Wu H, Bennet H, Harist TJ editors. *Histopathology of the skin*, 10<sup>th</sup> edition.
11. Tanojo H, Isramiharti. 2011. Prinsip Dasar Pemeriksaan Imunofluoresen Pada Beberapa Dermatoses Vesikobulosa Kronik. Vol 38 No.4.
12. Mohan H. 2010. *Textbook of Pathology Sixth Edition*. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers.
13. Suvarna SK. 2013. *Brancroft's Theory and Practice of Histological Technique Seventh Edition*. London: Churchill Livingstone Elsevier.
14. Rani H, Hussain I. Review article Immunofluorescence in Immunobullous disease. Department of Dermatology, King Edward Medical College/ Mayo Hospital, Lahore.
15. Porro AM, Seque CA, Ferreira MC. Pemphigus vulgaris. *Anais brasileiros de dermatologia*. 2019 May;94(3):264-78
16. Daneshpazhooh M, dkk. 2007. Desmoglein 1 and 3 enzyme-linked immunosorbent assay in Iranian patients with pemphigus vulgaris: correlation with phenotype, severity, and disease activity. <https://doi.org/10.1111/j.1468-3083.2007.02254.x>
17. Wang C, Lichtenwalter B. 2015. Paper: A Cryogen Recycler with Pulse Tube Cryocooler for Recondensing Helium and Nitrogen. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. <file:///D:/JURNAL2%20REFERAT%20PA/cryostat%20helium%20dan%20nitrogen.pdf>