

Klinika Dermatologiczna. Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: doc. dr hab. n. med. Barbara Lecewicz-Toruń
Katedra i Zakład Patomorfologii. Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Daniel Chibowski

Barbara LECEWICZ-TORUŃ, Maria CHIBOWSKA,
Daniel CHIBOWSKI, Zofia SIEZIENIEWSKA

Ocena kliniczna, histopatologiczna, immunofluorescencyjna i ultrastrukturalna 2 przypadków *epidermolysis bullosa acquisita*

Clinical, Histopathological, Immunofluorescent and Ultrastructural Estimation of 2 Cases
of *epidermolysis bullosa acquisita*

Przedstawiono 2 przypadki *epidermolysis bullosa acquisita* leczone w Klinice Dermatologicznej AM w Lublinie. Rozpoznanie zostało przedstawione na podstawie typowego obrazu klinicznego i przebiegu klinicznego oraz obrazów histologicznych, immunofluorescencyjnych i ultrastrukturalnych zmian skórnych. Po zastosowaniu wysokich dawek kortykosterydów zaobserwowano znaczną poprawę stanu klinicznego.

Epidermolysis bullosa acquisita (EBA) została opisana po raz pierwszy przez Elliota w r. 1895 (cyt. wg 12). Jest to rzadka, nabyta choroba, której etiopatogeneza, pomimo prowadzenia licznych badań, pozostaje nadal niejasna. Charakterystyczne cechy kliniczne, przedstawiane przez wielu autorów (3, 6, 7, 10, 12), można podsumować następująco:

- a) powstawanie pęcherzy na skórze i błonach śluzowych pod wpływem urazów mechanicznych;
- b) ustępowanie wykwitów z tworzeniem się cienkich, zanikowych blizn w których obrębie mogą powstawać prosaki i przebarwienia;
- c) dystrofia płytek paznokciowych w dalszym przebiegu choroby;
- d) początek choroby w wieku dojrzałym;
- e) brak wywiadu rodzinnego.

Wyróżnia się 2 odmiany kliniczne EBA: jedną — niezapalną z wykwitami pęcherzowymi powstającymi w miejscach urazów, przypominającą porfirię skórną późną, i drugą — pokrewną pemfigoidowi z rozsianymi zmianami pęcherzykowo-pęcherzowymi (10). Chorobę tę charakteryzuje histologicznie

obecność podnaskórkowych pęcherzy, występujących zarówno w skórze zmienionej chorobowo, jak i w klinicznie nie zmienionej (3, 5, 13). W sąsiedztwie zmian chorobowych badaniem immunomorfologicznym wykazano złożę IgG i składowej G3 dopełniacza wzdłuż granicy naskórkowo-skórnej, umiejscowione tuż poniżej *lamina densa*, w miejscu formowania się pęcherza (2, 3, 8, 13). W badaniu ultrastrukturalnym obserwowano uszkodzenie podnaskórkowego kolagenu i włókien zakotwiczących, co jest powodem tworzenia się pęcherzy (3, 4, 6, 11—13). U chorych na EBA występują często przeciwciała przeciwko błonie podstawnej, które mogą być różnicowane z przeciwciałami pemfigoidu przez zastosowanie skóry ludzkiej spreparowanej w 1M NaCl.

Przeciwciała EBA wiążą się ze składnikami białkowymi błony podstawnej o ciężarze molekularnym 290 000 i 145 000 daltonów, a kompleksy immunologiczne umiejscowione są tuż poniżej *lamina densa* (12). Westgate i inni (11) wykazali, że antygen pemfigoidu nie jest prawidłowym komponentem blaszki jasnej błony podstawnej, natomiast jest peptydem o ciężarze molekularnym 220 000 daltonów, wykazującym związek z hemidesmosomami oraz lokalizującym się wewnątrzkomórkowo (w komórkach warstwy podstawnej naskórka) zarówno *in vivo*, jak i *in vitro*. Prawdopodobnie może on powstawać z białek szkieletu komórkowego komórek naskórka i błony podstawnej.

W Klinice Dermatologicznej AM w Lublinie obserwowano 2 przypadki EBA.

Przypadek nr 1: Chory S.M., lat 56, z zawodu monter silników wysokoprężnych, żonaty. W rodzinie chorób skórnych nie podaje. W styczniu 1977 r. chorował na zapalenie korzonków nerwowych okolicy krzyżowej. Leczony był metindolem, fenquilem i butapirazolem. W trzecim tygodniu tego leczenia wystąpiły zmiany na skórze przedramion, podudzi, na błonie śluzowej policzków. Zmiany te przypominały wykwity liszaja płaskiego, miejscami typu pęcherzowego. Po paru miesiącach wykwity uogólniły się i wystąpiła wyraźna zależność tworzenia się pęcherzy nawet od niewielkich urazów mechanicznych. W maju 1979 r. wrażliwość na urazy mechaniczne była tak duża, że przy zdejmowaniu opatrunku kończyn górnych nastąpiło całkowite zsuniecie naskórka z ramion i przedramion. Na błonie śluzowej jamy ustnej pęcherze tworzyły się pod wpływem jedzenia stałych pokarmów, takich jak jabłko czy chleb, dlatego też chory przez okres 1 roku karmiony był wyłącznie płynami i pokarmami papkowatymi. Rozległe pęcherze, a następnie nadżerki powstałe w miejscu dostawki protetycznej uniemożliwiły dalsze z niej korzystanie. Pęcherze tworzyły się na pozornie zdrowej skórze, kształt ich był zależny od działania urazu mechanicznego, np. gdy pacjent usiadł na metalowej krawędzi łóżka szpitalnego, przebiegały linijnie w miejscu ucisku. Wykwity były najmniej liczne na skórze twarzy i pojawiały się przy mocniejszym przyciśnięciu maszyny do golenia. Pęcherze goiły się zwykle po kilku tygodniach. Objaw Nikolskiego był wybitnie dodatni. Od stycznia 1979 r. do marca 1981 r. pacjenta leczono, z małymi przerwami, klinicznie. W lipcu 1980 r. stwierdzono cukrzycę posterydową. Kilkakrotnie występowały u niego krwawe wymioty spowodowane obecnością nadżerek w przełyku. W grudniu 1979 r. pacjent był hospitalizowany w Klinice Okulistycznej w Lublinie z powodu nadżerek rogówki oka lewego.

Stopniowo następowało pewne złagodzenie procesu chorobowego. Zmniejszyła się wrażliwość skóry i błon śluzowych na urazy mechaniczne, znikły prosaki. Pacjent zaczął chodzić, a nawet prowadzić samochód używając grubych, miękkich rękawiczek. Obecnie stale utrzymują się nadżerki w jamie ustnej, zmiany na owłosionej skórze głowy, podudziach i klatce piersiowej oraz dystrofia płytek paznokciowych.

Najbardziej skutecznym lekiem okazały się kortykosterydy. Stosowano enkorton, hydrokortyzon, deksametazon, kenalog, synakten w dawkach zależnych od stanu chorego. Ponadto pacjent otrzymywał witaminę E przez 3 lata (900 mg dziennie), γ -globulinę, DDS, witaminy, antybiotyki. Podawano mu także płyny wieloelektrolitowe i wykonano 9 razy transfuzję krwi. W czasie pobytu w klinice warszawskiej pacjent był leczony metotreksatem.

Badania dodatkowe pozostawały w normie, z wyjątkiem niewielkich odchyień w morfologii krwi po leczeniu metotreksatem. Najwyższe wartości transaminaz w przebiegu leczenia wynosiły odpowiednio: ASPAT — 59 j. i ALAT — 137,8 j. W okresie występowania cukrzycy posterydowej poziomy glukozy we krwi wahały się od 75 do 560 mg/100 ml. Poziomy immunoglobulin w surowicy wynosiły odpowiednio: IgG — 1350 mg/100 ml, IgA — 780 mg/100 ml i IgM — 220 mg/100 ml. W żadnym z badań nie wykazano komórek akantolitycznych z dna pęcherzy.

Przypadek nr 2: Chora D. M., lat 50, z zawodu księgowa. Od 5 lat choruje na astmę oskrzelową. Ponadto leczy się z powodu reumatoidalnego zapalenia stawów. Przed wystąpieniem zmian na skórze, w związku z dolegliwościami stawowymi otrzymywała: butapirazol, arechinę, mefacit, glivenol i kenalog. Od roku obserwowala zmiany na łokciach, kolanach i w jamie ustnej pod postacią pęcherzy, których występowanie chora łączyła z działaniem urazów mechanicznych. Do kliniki zgłosiła się w marcu 1982 r. Stwierdzono nadżerki w jamie ustnej, pęcherze i nadżerki na palcach rąk, na przedramionach, kolanach i pośladku lewym. Na łokciach w obrębie cienkich, różowych blizn stwierdzono obecność pojedynczych prosaków. Badania dodatkowe były w granicach normy. Zastosowano leczenie deksametazonem i synaktenem. Przy zmniejszeniu dawki deksametazonu do 1 mg dziennie obserwowano nawrót zmian chorobowych (powstawanie pęcherzy na rękach w miejscu ucisku niesionej siatki z zakupami, w miejscu ucisku noża podczas krojenia itp.). Po 5 mies. leczenia kortykosterydami u pacjentki wystąpiła łagodna cukrzyca posterydowa.

W obu przypadkach wykonano w sposób typowy badania histopatologiczne i ultrastrukturalne wycinków skóry zmienionej i klinicznie zdrowej, a u pacjenta nr 1 przeprowadzono także ocenę immunofluorescencyjną wycinków skóry, stosując oznakowane FITC przeciwciała przeciwko ludzkiej IgG, IgA, IgM i frakcji C3 dopełniacza firmy Behring. Odczyny immunofluorescencyjne wykonano na skrawkach kriostatowych.

W preparatach barwionych H + E i preparatach półcienkich w mikroskopie świetlnym w obu przypadkach wykazano różnej wielkości pęcherze podnaskórkowe zarówno w skórze zmienionej chorobowo, jak i klinicznie zdrowej (ryc. 1 i 2). W preparatach skóry klinicznie nie zmienionej pęcherze te były zwykle mniejsze. W świetle pęcherzy występował płyn surowiczny, eryocyty i granulocyty. W obu przypadkach stwierdzono obrzęk skóry właściwej, natomiast w przypadku nr 1 także liczne naczynia włosowate, które posiadały wyraźnie powiększone komórki śródbłonna, histocyty i fibroblasty. W przypadku nr 1 widoczny był także rozrost akantocyczny naskórka, czego nie stwierdzono w przypadku nr 2.

Badanie immunofluorescencyjne, wykonane tylko w przypadku nr 1, wykazało linijne złoża IgG i C3 na granicy skórno-naskórkowej w obrębie błony podstawnej. Odczyny z IgA i IgM były ujemne.

W obu przypadkach stwierdzono ultrastrukturalnie obecność podnaskórkowych pęcherzy wypełnionych treścią surowiczą (ryc. 3—5). Były one zlokalizowane wyraźnie poniżej *lamina densa* błony podstawnej. W strefach uszkodze-

nia stwierdzano kolagenolizę warstwy podnaskórkowej skóry właściwej oraz „rozpływanie się” włókien zakotwiczących (ryc. 4 i 5). W miejscach tych tworzyły się pęcherze, w których świetle znajdowały się resztki kolagenu i zgrupowania włókien, prawdopodobnie uszkodzonych włókien zakotwiczących. Komórki podstawne naskórka, blaszka jasna i gęsta błony podstawnej oraz hemidesmosomy nie wykazywały zmian ultrastrukturalnych.

OMÓWIENIE

EBA występuje pomiędzy 11 a 61 rokiem życia, większość jednak opisanych chorych przekroczyła 36 rok życia (10). W obu przedstawianych przez nas przypadkach choroba wystąpiła u osób dorosłych, po 50 roku życia. W przypadku nr 1 obserwowano początkowo występowanie na skórze i błonach śluzowych wykwitów grudkowych i grudkowo-pęcherzowych, do złudzenia przypominających liszaj Wilsona. Uzależnienie powstawania wykwitów od urazu mechanicznego stało się wyraźne dopiero po kilku miesiącach obserwacji. W przypadku nr 2, choć nasilenie procesu chorobowego było mniejsze, okazało się ono znamienne od początku choroby.

Prezentowane opisy kliniczne w obu przypadkach usprawiedliwiają kliniczne rozpoznanie EBA. Przypuszczenie to potwierdziło badanie histopatologiczne i ultrastrukturalne wycinków skóry, a w przypadku nr 1 — także badanie immunofluorescencyjne. Ultrastrukturalnie wykazaliśmy wyraźne uszkodzenie włókien zakotwiczących, co jest typowe dla EBA. Kłaczkowy lub bezpostaciowy materiał zlokalizowany u podstawy pęcherzy, poniżej *lamina densa*, opisywany jako charakterystyczny dla EBA przez Gibbsa i Minusa (3), był w naszych przypadkach także obecny. Wydaje się, że materiał ten jest prawdopodobnie złożem kompleksów immunologicznych (2), a jego obfite występowanie poprzedza wyraźne niszczenie włókien zakotwiczących.

Woodley i inni (12) wykazali, że w przebiegu EBA tworzą się przeciwciała przeciwko antygenowi błony podstawnej złożonemu z 2 komponentów białkowych — o ciężarze molekularnym 290 000 i 145 000 daltonów. Komponenty te są prawdopodobnie odpowiedzialne za utrzymywanie adhezji pomiędzy naskórkiem a skórą właściwą i nie mogą być utożsamiane z innymi składnikami błony podstawnej, gdyż ciężar molekularny lamininy wynosi 1 000 000 daltonów, fibronektyny 440 000 daltonów, a kolagenu typu IV 550 000 daltonów. Opisywane białka znajdują się w błonie podstawnej w prawidłowej skórze ludzkiej bezpośrednio poniżej *lamina densa*. W przebiegu EBA nabierają one właściwości antygeny, ponieważ w surowicy stwierdza się obecność autoprzeciwciał (12). Spostrzeżenia te zostały potwierdzone przez Pallera i innych (9), którzy posłużyli się przeciwciałem monoklonalnym H3a wytworzonym przeciwko antygenowi EBA, opisanemu przez Woodleya i innych (12). Cytowani badacze wykazali odmienność białka będącego antygenem EBA od białek lamininy,

fibronektyny, kolagenu typu I, IV, V i elastyny oraz antygenu pemfigoidu (który lokalizuje się powyżej blaszki gęstej), posługując się techniką immunoelektroforezy w żelu poliakrylamidowym zawierającym siarczan dodecylanu sodu. Nie znane są dotychczas przyczyny, które powodują, że to prawidłowe białko błony podstawnej staje się autoantygenem.

U obu badanych przez nas pacjentów zmiany chorobowe wystąpiły w czasie leczenia niesterydowymi preparatami przeciwzapalnymi, podobnie jak w przypadku opisanym przez Richter a (10), który uważa, że EBA może być wynikiem nadwrażliwości na leki. Wykazano także, że EBA może wystąpić w przebiegu amyloidozy, szpiczaka, choroby Leśniowskiego-Crohna i nowotworów złośliwych (6). Ponadto opisano EBA u 38-letniej pacjentki podczas trzeciej ciąży (6). U tej kobiety objawy chorobowe ustąpiły po okresie menopauzy.

Wydaje się, że wystąpienie EBA, podobnie jak innych chorób autoimmunologicznych, może być indukowane różnorodnymi czynnikami wyzwalającymi. Określenie tych czynników w konkretnym przypadku EBA może okazać się pomocne w przyczynowym leczeniu tej choroby, jednakże usunięcie czynnika inicjującego zwykle nie ma już wpływu na dalszy bieg reakcji autoimmunologicznych i postęp choroby.

PIŚMIENNICTWO

1. Eady R. A., Tidman M. J.: Diag. *epidermolysis bullosa*. Br. J. Derm. **108**, 621, 1983.
2. Gammon W. R. i wsp.: Differences in Complement Chemotactic Activity Generated by Bullous Pemphigoid and *epidermolysis bullosa acquisita* Immune Complexes: Demonstration by Leukocytic Attachment and Organ Culture Methods. J. Invest. Derm. **83** (1), 57, 1984.
3. Gibbs R. B., Minus H. R.: *Epidermolysis bullosa acquisita* with Electron Microscopic Studies. Arch. Derm. **11**, 215, 1975.
4. Hannow W. i wsp.: Ultrastructural Features of *epidermolysis bullosa*. Ultrastr. Path. **5**, 29, 1983.
5. Hashimoto K. i wsp.: Clinical Application of Electron Microscopy. [w:] Advances in Dermatology. Year Book Med. Publ. Inc. **1**, 129, 1986.
6. Kero M. i wsp.: Pregnancy as a Trigger of *epidermolysis bullosa acquisita*. Acta Derm. Vener. (Stockh.) **63**, 353, 1983.
7. Leigh I. M. i wsp.: *Epidermolysis bullosa*: Preliminary Observations of Blister Formation in Keratinocyte Cultures. Brit. J. Derm. **111** (5), 527, 1984.
8. Nieborec C. i wsp.: *Epidermolysis bullosa acquisita*. Br. J. Derm. **102** (4), 328, 1980.
9. Paller A. S. i wsp.: A Mouse Antibody Against a Newly Discovered Basement Membrane Component the *epidermolysis bullosa acquisita* Antigen. J. Invest. Derm. **84** (3), 215, 1985.
10. Richter B. J.: The Spectrum of *epidermolysis bullosa acquisita*, Arch. Derm. **115** (11), 1325, 1979.
11. Westgate G. E. i wsp.: Bullous Pemphigoid Antigen Localisation Suggest an Intracellular Association with Hemidesmosomes. J. Invest. Derm. **84** (3), 218, 1985.
12. Woodley D. T. i wsp.: Identification of the Skin Basement Membrane Autoantigen in *epidermolysis bullosa acquisita*. N. Engl. J. Med. **310** (16), 1007, 1984.
13. Yacita H., Briggaman R.: *Epidermolysis bullosa acquisita*: Ultrastructural and Immunological Studies. J. Invest. Derm. **76** (4), 288, 1981.

OBJAŚNIENIA RYCIN

Ryc. 1. Obraz histologiczny wycinka skóry pobranego od pacjenta nr 1. Podnaskórkowe pęcherze zawierają płyn surowiczy i erytrocyty. W skórze właściwej liczne włosniczki i żyłki z wyraźnie powiększonymi komórkami śródbłonna. Naczynia te otaczają nieliczne komórki zapalne (jednojądrowe). Eponowy preparat półcienki barwiony błękitem toluidyny. Powiększenie 300 ×.

Ryc. 2. Obraz histologiczny wycinka skóry pobranego od pacjentki nr 2. Pęcherze podnaskórkowe zawierają płyn surowiczy i erytrocyty. W warstwie brodawkowej skóry właściwej wyraźny obrzęk. Eponowy preparat półcienki barwiony błękitem toluidyny. Powiększenie 300 ×.

Ryc. 3. Obraz ultrastrukturalny granicy skórno-naskórkowej w przypadku nr 1. Obecny pęcherz podnaskórkowy zawierający treść białkową, zlokalizowany poniżej *lamina densa* błony podstawnej. Warstwy błony podstawnej i hemidesmosomy wyraźnie widoczne. Barwienie octanem uranylu i cytrynianem ołowiu. Powiększenie ok. 8000 ×.

Ryc. 4. Granica skórno-naskórkowa w miejscach niewielkich podnaskórkowych pęcherzy w skórze klinicznie zdrowej pacjenta nr 1. *Lamina densa* i *lucida* błony podstawnej prawidłowe. Bezpośrednio poniżej *lamina densa* skupienia włóknikowego i bezpostaciowego materiału o średniej gęstości elektronowej. Hemidesmosomy nie uszkodzone. Barwienie octanem uranylu i cytrynianem ołowiu. Powiększenie całkowite ok. 48 000 ×.

Ryc. 5. Granica skórno-naskórkowa w miejscach niewielkich podnaskórkowych pęcherzy w skórze klinicznie zdrowej pacjentki nr 2. *Lamina densa* i *lucida* błony podstawnej prawidłowe. Bezpośrednio poniżej *lamina densa* skupienia włóknikowego i bezpostaciowego materiału o średniej gęstości elektronowej. Hemidesmosomy nie uszkodzone. Barwienie octanem uranylu i cytrynianem ołowiu. Powiększenie całkowite ok. 48 000 ×.

SUMMARY

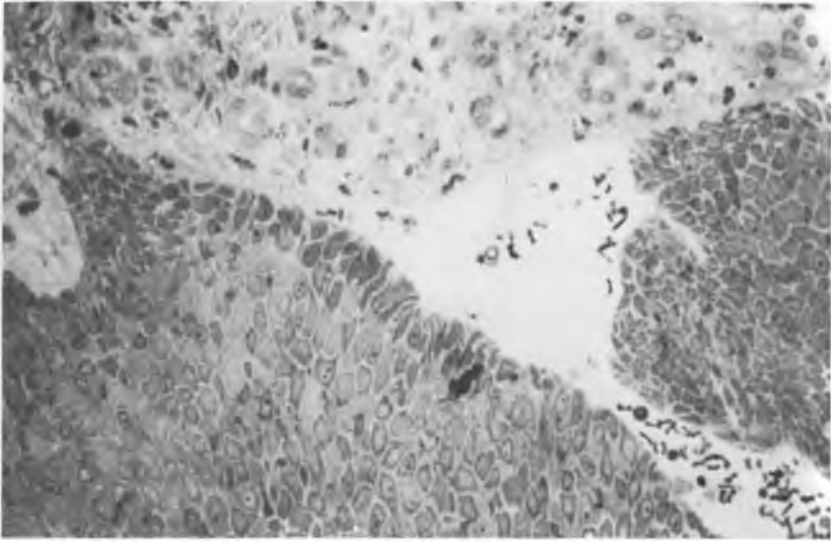
Two cases of EBA were presented. Both patients with the symptoms of the disease were previously treated with nonsteroid antiinflammatory drugs. A considerable improvement of the patients condition has been noticed after the application of high doses of glucocorticosteroids. However, there were observed symptoms of a mild poststeroidal diabetes. In the histologically examined biopsies from lesions and from skin without any clinical changes were found subepidermal bullas containing serous fluid, erythrocytes and neutral granulocytes. At the patient no. 1 there were found linear deposits of IgG and fraction of C3 complement in the structure of a basal membrane. Ultrastructural research showed in both cases presence of subepidermal bullas located beneath *lamina densa* of a basal membrane. In the place of bullas there was observed a visible damage of anchoring fibres and collagen of a papillary layer of inner skin.

EXPLANATION TO FIGURES

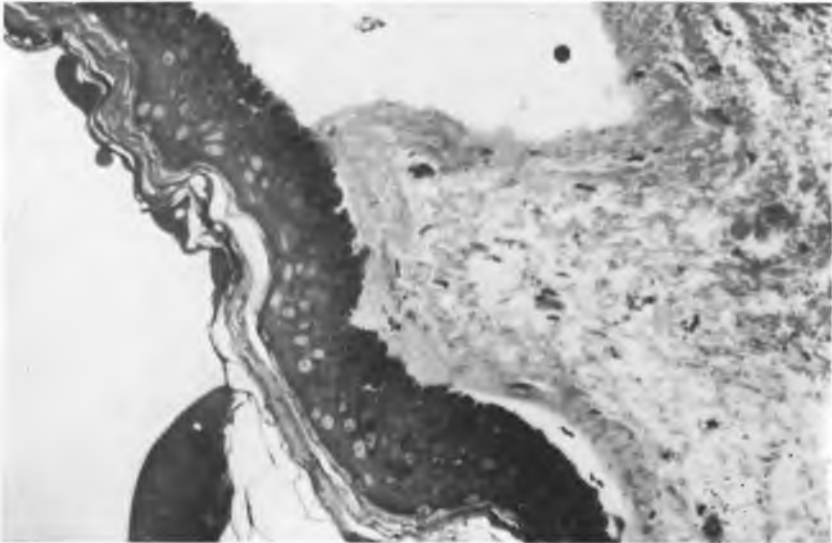
Fig. 1. Histological picture of cutaneous section collected from male patient no. 1. Subepidermal bullas containing serous fluid and erythrocytes. Numerous capillaries and venulae with clearly enlarged endothelium cells. These vessels surround not numerous inflammatory (mononuclear) cells. Eponic semi-thin preparation stained with toluidine blue. Magn. 300 ×.

Fig. 2. Histological picture of cutaneous section collected from female patient no. 2. Subepidermal bullas contain serous fluid and erythrocytes. In papillary layer of dermis distinct oedema is visible. Eponic semi-thin preparation stained with toluidine blue. Magn. 300 ×.

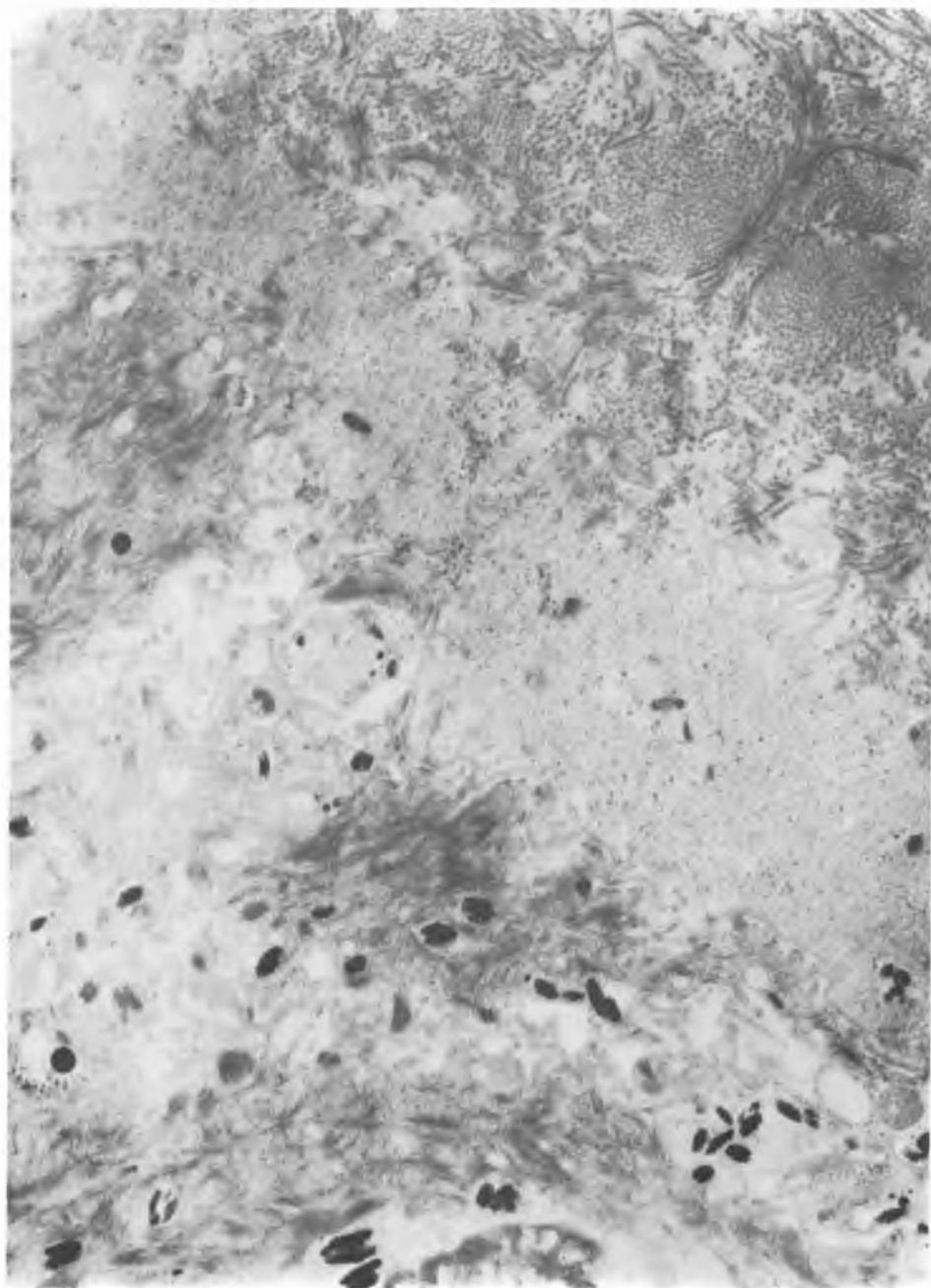
Fig. 3. Ultrastructural picture of cutaneous-epidermal area in case no. 1. Subepidermal bulla containing proteinaceous content localized below *lamina densa* of basement membrane. The content



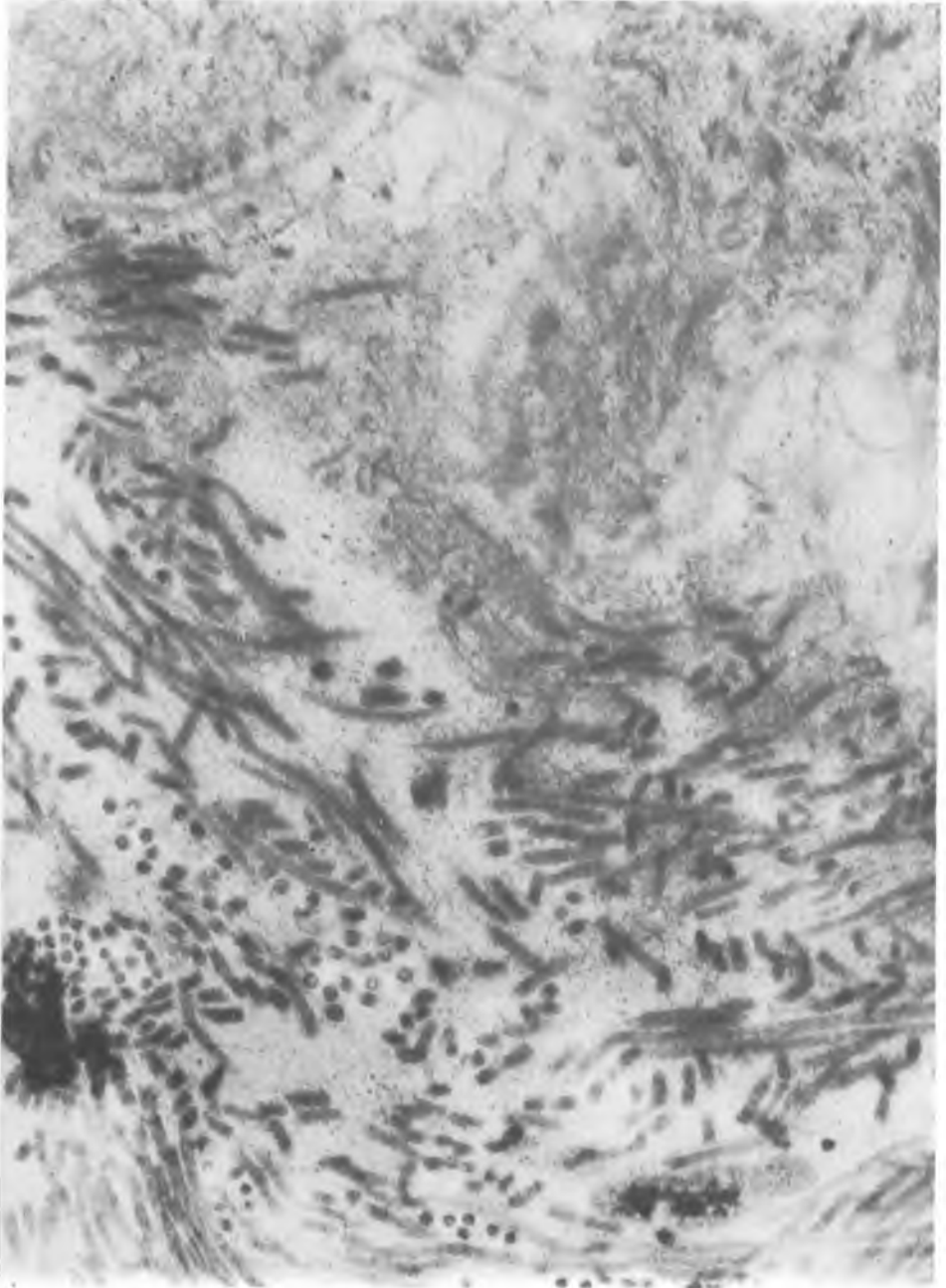
Ryc. 1



Ryc. 2



Ryc. 3



Ryc. 4

Barbara Lecewicz-Toruń, Maria Chibowska, Daniel Chibowski, Zofia Siczieniewska



Ryc. 5

Barbara Lecewicz-Toruń, Maria Chibowska, Daniel Chibowski, Zofia Siezieniewska

of basement membranes and hemidesmosomes clearly visible. Staining with uranyl acetate and lead citrate. Magn. ca 8,000 × .

Fig. 4. Cutaneous-epidermal area in places of subepidermal bullas in clinically healthy skin of a male patient no. 1. *Lamina densa* and *lucida* of basement membrane are normal. Directly below — *lamina densa* of the fibrillar agglomerate and amorphous material with average electron density. Hemidesmosomes not damaged. Staining with uranyl acetate and lead citrate. Magn. ca 48,000 × .

Fig. 5. Cutaneous-epidermal area in places of subepidermal bullae in clinically healthy skin of a female patient no. 2. *Lamina densa* and *lucida* of basement membrane are normal. Directly below — *lamina densa* of the fibrillar agglomerate and amorphous material with average electron density. Hemidesmosomes not damaged. Staining with uranyl acetate and lead citrate. Magn. ca 48,000 × .

