

Epidermolysis bullosa dystrophica. Od kliniki do genetyki

Epidermolysis bullosa dystrophica. From clinics to genetics

Agnieszka Sobczyńska-Tomaszewska¹, Katarzyna Wertheim¹, Cezary Kowalewski²,
Anna Kutkowska-Kaźmierczak¹, Katarzyna Woźniak², Jerzy Bał¹

¹Zakład Genetyki Medycznej Instytutu Matki i Dziecka w Warszawie
Kierownik: prof. dr hab. med. Tadeusz Mazurczak

²Klinika Dermatologiczna Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego
Kierownik: prof. dr hab. med. Wiesław Gliński

Przeł Dermatol 2009, 96, 227–233

STRESZCZENIE

SŁOWA KLUCZOWE:

EBD, EBHD, *COL7A1*,
genodermatoza.

KEY WORDS:

EBD, EBHD, *COL7A1*,
genodermatosis.

Epidermolysis bullosa dystrophica należy do grupy chorób skóry uwarunkowanych genetycznie (*Epidermolysis bullosa hereditaria*) i jest spowodowana mutacjami w genie *COL7A1* kodującym kolagen VII. W wyniku powstawania kolagenu VII o zmienionych właściwościach fizykochemicznych lub wręcz jego braku dochodzi do zaburzenia struktury włókien zakotwiczących i tworzenia się pęcherzy poniżej *lamina densa*. Przebieg kliniczny choroby może być zarówno łagodny z nielicznymi zmianami skórnymi o charakterze zlokalizowanym, jak i ciężki, uogólniony, o złym rokowaniu. Fenotyp choroby oraz sposób dziedziczenia (autosomalny dominujący lub recesywny) zależą od rodzaju i lokalizacji mutacji w genie *COL7A1*, których znanych jest obecnie ponad 320. W niniejszej pracy przedstawiono aktualny stan wiedzy dotyczący *Epidermolysis bullosa dystrophica* zarówno w aspekcie kliniczno-terapeutycznym, jak i w ujęciu genetycznym.

ABSTRACT

ADRES DO KORESPONDENCJI:

dr Agnieszka Sobczyńska-Tomaszewska,
mgr Katarzyna Wertheim
Zakład Genetyki Medycznej
Instytut Matki i Dziecka
ul. Kasprzaka 17a, 01-211 Warszawa
e-mail:
agnieszka.sobczynska@imid.med.pl,
katarzyna.wertheim@imid.med.pl

Epidermolysis bullosa dystrophica belongs to a group of genetically determined skin disorders (*Epidermolysis bullosa hereditaria*) and is caused by mutations in the *COL7A1* gene encoding collagen VII. Production of collagen VII with altered physical and chemical properties, or lack of its synthesis, leads to disruption of anchoring fibrils and formation of blisters below the level of the *lamina densa*. Clinical features of the disease vary from mild, localised skin disorders to severe, generalised disease with poor prognosis. *Epidermolysis bullosa dystrophica* phenotype as well as inheritance pattern (autosomal dominant or recessive) depend on type of mutation and its localisation in the *COL7A1* gene. There are now more than 320 mutations known in the *COL7A1* gene. In this paper we present current knowledge about the clinical, therapeutic and genetic aspects of *Epidermolysis bullosa dystrophica*.

WPROWADZENIE

Epidermolysis bullosa hereditaria (EBH) jest grupą genetycznych chorób skóry charakteryzujących się powstawaniem pęcherzy prowokowanych przez urazy mechaniczne lub powstających samoistnie. Występuje z częstością około 1/50 000 żywych urodzeń [1, 2]. Szacuje się, że na świecie na różne postaci EBH choruje około 500 000 osób [3]. W zależności od głębokości miejsca tworzenia się pęcherzy w obrębie granicy skóro-naskórkowej wyróżnia się trzy główne grupy EBH: postać *simplex* (EBHS), w której pęcherze powstają śródskórkowo na poziomie keratynocytów warstwy podstawnej, postać *junctional* (EBHJ), z pęcherzami w obrębie *lamina lucida* błony podstawnej, oraz postać dystroficzną EBH (EBHD), z pęcherzami tworzącymi się poniżej *lamina densa* (ryc. 1.) [4]. Z tego też powodu obecnie, w świetle znajomości miejsca powstawania pęcherzy, nazwa *epidermolysis bullosa* ma już jedynie znaczenie historyczne, choć tradycyjnie jest przyjęta i znana specjalistom z wielu dziedzin.

Rozpoznanie i klasyfikacja EBH opiera się na obrazie klinicznym, wynikach badań ultrastrukturalnych biopsji skóry w mikroskopie elektronowym, immunohistochemicznych (w tym mappingu immunofluorescencyjnego) oraz molekularnych [5]. Patologia molekularna EBH zna-

na jest od niedawna i jej znaczenie w weryfikacji rozpoznania klinicznego dopiero się kształtuje. Obecnie wiadomo, że za występowanie poszczególnych typów EBH odpowiedzialne są mutacje w 14 różnych genach (tab. I). Produkty tych genów kodują białka strukturalne decydujące o integralności naskórka i skóry właściwej [5].

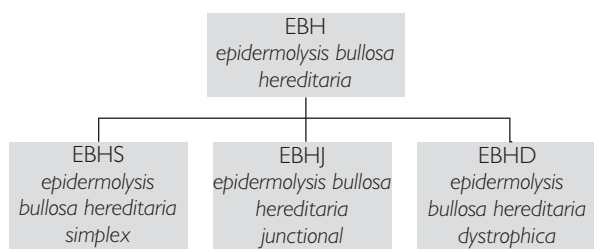
W niniejszej pracy zaprezentowano aktualną wiedzę na temat dystroficznej postaci EBH, dotyczącą patogenyzy, objawów klinicznych, diagnostyki oraz nowych trendów postępowania terapeutycznego mającego na celu poprawę jakości życia pacjentów, szczególnie z ciężką postacią choroby.

ASPEKTY KLINICZNE

Dystroficzne postaci EBH mogą być dziedziczone zarówno jako cecha dominująca, jak i recesywna [6] (tab. II). Najcięższa forma – EBHD typ Hallopeau-Siemensa – jest dziedziczona recesywnie. Zmiany pęcherzowe w tej odmianie mają postać uogólnioną, ustępują z bliznowaceniem, pojawiają się zrosty i przykurcze palców rąk i stóp, a także zwężenie przełyku, mikrostomia, ubytki w śluzówce jamy ustnej, choroby przyzębia, zrosty spojówkowe i uszkodzenia rogówki oraz problemy ze strony układu pokarmowego w postaci zaparć [1, 7, 8]. W trzeciej dekadzie życia rozwijają się raki przełyku oraz raki kolczystokomórkowe w niegojących się nadżerkach w obrębie skóry kończyn prowadzące do przerzutów i zgonu.

Istnieje również wiele rzadziej spotykanych postaci EBHD o łagodniejszym przebiegu, które są dziedziczone jako cecha recesywna (*EBHD recessiva mitis* – *EBHD inversa*) lub cecha dominująca, np. *EBHD pretibialis*.

W *EBHD recessiva mitis* zmiany skórne w dzieciństwie są uogólnione, ale znacznie mniej nasilone niż w odmianie Hallopeau-Siemensa, a w wieku dojrzałym bywają ograniczone do dystalnych części kończyn, błon śluzowych i paznokci. Przebieg choroby może być łagodny, podobny do dominującej dystroficznej postaci EBH.



Ryc. 1. Typy *epidermolysis bullosa hereditaria* (EBH)
Fig. 1. *Epidermolysis bullosa hereditaria* (EBH) types

Tabela I. Zestawienie genów, których mutacje są odpowiedzialne za poszczególne typy *epidermolysis bullosa hereditaria* (według Fine i inni, 2008) [5]

Table I. Genes involved in the pathogenesis of *epidermolysis bullosa hereditaria* (according to Fine et al., 2008) [5]

Typ <i>epidermolysis bullosa hereditaria</i> (EBH)	Defekt	
	nazwa genu	produkt białkowy
<i>simplex</i> (EBHS)	<i>KRT5</i>	keratyna 5
	<i>KRT14</i>	keratyna 14
	<i>PLEC1</i>	plektyna
	<i>ITGA6, ITGB4</i>	integryna $\alpha6\beta4$
	<i>DSP</i>	desmoplakina
	<i>PKP1</i>	plakofilina 1
<i>junctional</i> (EBHJ)	<i>LAMA3, LAMB3, LAMC2</i>	laminina 332 (laminina 5)
	<i>COL17A1</i>	kolagen typu XVII
	<i>ITGA6, ITGB4</i>	integryna $\alpha6\beta4$
<i>dystrophica</i> (EBHD)	<i>COL7A1</i>	kolagen typu VII

Tabela II. Próba korelacji odmian *epidermolysis bullosa dystrophica* z defektami molekularnymi genu *COL7A1* (według Uitto i inni, 2004) [36]

Table II. An attempt to correlate types/variants of *epidermolysis bullosa dystrophica* with molecular defects of the *COL7A1* gene (according to Uitto et al., 2004) [36]

Postać DEB	Sposób dziedziczenia	Typy mutacji i układ genotypowy
HS-DEB	AR	PTC/PTC, PTC/GS
M-DEB	AR	Mis/Mis, GS/GS
DDEB	AD	GS

Postacie EB: HS-DEB – dystroficzna EB typu Hallopeau-Siemensa, M-DEB – dystroficzna EB typu „mitis”, DDEB – dominująca dystroficzna EB.

Sposób dziedziczenia: AR – dziedziczenie autosomalne recesywne, AD – dziedziczenie autosomalne dominujące.

Typy mutacji: PTC – mutacje wprowadzające przedwczesny kodon stop, GS – substytucja glicyny, Mis – missens.

W EBHD *inversa* zmiany skórne pojawiają się głównie w obrębie pach, pachwin i na bocznych powierzchniach szyi. Towarzyszą im nadżerki w jamie ustnej i przełyku, nadżerki rogowki oraz dystrofia płytek paznokciowych.

EBHD *pretibialis* jest rzadką odmianą o dominującym typie dziedziczenia, w przebiegu której pęcherze i pęcherzyki pojawiające się w chwili urodzenia występują głównie na podudziach, czasami również na przedramionach, a sporadycznie na tułowiu. Zmiany ustępują, pozostawiając zaniki lub przerosłe zmiany grudekowe, którym towarzyszy dotkliwy świąd.

Najczęstszą odmianą EBHD jest postać dominująca o przebiegu łagodnym, w której zmiany skórne ograniczone są wyłącznie do miejsc narażonych na urazy mechaniczne (łokcie, stopy, kolana, grzbiety rąk), a która klinicznie, jeśli pojawia się w dzieciństwie, bywa mylona z chorobą autoimmunologiczną *epidermolysis bullosa acquisita* [1, 6, 7].

Pęcherzowa dermoliza noworodkowa (RDEB-BDN) jest kolejną, bardzo rzadką odmianą autosomalnej, dominującej dystroficznej odmiany EBH. Zmiany pęcherzowe pojawiają się w chwili narodzin głównie na kończynach i ustępują z pozostawieniem blizn i prośaków. W niektórych przypadkach zmiany chorobowe trwają zaledwie kilka lub kilkanaście miesięcy, szybko ustępują i nie pozostawiają wyraźnych blizn [9].

Charakterystyczne ultrastrukturalne zmiany w EBHD dotyczą nieprawidłowości w budowie włókien zakotwiczących, które nie są w pełni wykształcone. Ich liczba jest zmniejszona lub, podobnie jak w ciężkiej uogólnionej postaci recesywnej EBHD, mogą być one całkowicie niewykrywalne w badaniu mikroskopowym [10].

Nieprawidłowości w budowie ultrastrukturalnej w zakresie włókien zakotwiczących w EBHD korelują z obrazem klinicznym. Jak wykazano, w łagodnych, zlokalizowanych postaciach EBHD ekspresja kolagenu typu VII jest zachowana (jeśli badanie zostanie wykonane przy użyciu przeciwciał monoklonalnych col 7.2 skierowanych przeciwko epitopowi NC1– zobacz niżej, który wiąże włókna zakotwiczące do *lamina densa*), natomiast w najcięższej postaci EBHD stwierdza się drastyczną redukcję albo brak ekspresji kolagenu VII.

W przypadkach EBHD *generalisata mittis* odnotowuje się również redukcję ekspresji kolagenu VII. Badanie ekspresji kolagenu VII w skórze pozornie zdrowej u dzieci z różnymi odmianami dystroficznej EBH ma więc wartość prognostyczną, chociaż różnicowanie łagodnie przebiegających postaci EBHD jest na ogół niemożliwe [11, 12].

PROFILAKTYKA I LECZENIE

EPIDERMOLYSIS BULLOSA HEREDITARIA

Unikanie urazów jest jednym z najważniejszych elementów w profilaktyce EBH, ponieważ we wszystkich postaciach klinicznych w ciągu całego życia występuje, z różnym nasileniem, wzmożona urażalność skóry na rozmaite bodźce, głównie mechaniczne. Konieczny jest dobór właściwego ubioru, tj. miękkich, wełnianych skarpetek, najlepiej bez ściągaczy, luźnej, nieprzylegającej do ciała oraz niesprzyjającej poceniu się odzieży. U chorych w wieku szkolnym lekarz powinien współdecydować z pacjentem o kierunku jego kształcenia, ponieważ EBH znacznie ogranicza możliwości wykonywania wielu zawodów, nawet przez pacjentów o poronnym przebiegu choroby.

W przypadku wystąpienia zmian pęcherzowych należy mechanicznie przerywać pokrywy pęcherzy, a na nadżerki stosować jałowe opatrunki nasączone roztworem soli fizjologicznej lub silolu. W przypadku ran nadkażonych należy unikać miejscowego stosowania antybiotyków na rzecz innych antyseptyków, np. argo-sulfanu. Szczególnie ważne jest stosowanie opatrunków nieprzylegających do ran, np. gaz silikonowych. Nie powinno się też, o ile jest to możliwe, mocować opatrunków za pomocą plastrów. Korzystne wyniki leczenia niegojących się nadżerek w przebiegu ciężkiej dystroficznej EB lub postaci EBHJ można uzyskać poprzez zastosowanie opatrunków antyadhezyjnych. W przypadkach wyjątkowo opornych na leczenie stosuje się autologiczne przeszczepy skóry [13]. Do nowszych metod leczenia rozległych zmian należy zaliczyć przeszczepy ekwiwalentów autologicznego albo allogenicznego naskórka uzyskanych z hodowli keratynocytów [14].

Oczekuje się, że – podobnie jak w procesach gojenia się przewlekłych ran o innej etiologii – nowe metody leczenia z zastosowaniem cytokin, głównie czynników wzrostu oraz białek strukturalnych sprzyjających adhezji keratynocytów, takich jak fibronektyna, laminina czy kolagen, będą znajdowały coraz szersze zastosowanie.

Ogólna kortykosteroidoterapia okazała się nie mieć istotnego wpływu na zmniejszenie urażalności i/lub gojenie się zmian skórnych, dlatego ze względu na możliwość odległych powikłań została obecnie zarzucona. Próbowano ogólnej terapii fenytoiną [15], witaminą E [16], retinoidami [17] i wreszcie cyklosporyną [18], jednak wyniki tych metod leczenia (powstrzymanie tworzenia się zmian pęcherzowych czy gojenie nadżerek) nie są zadowalające. Ogólne leczenie farmakologiczne ma natomiast znaczenie w przypadkach powikłań współistniejących z EBH. U chorych z dystroficzną formą EB istotne jest podawanie preparatów żelaza i mikroelementów w przypadku towarzyszącej niedokrwistości oraz stosowanie inhibitorów kanału wapniowego u chorych ze zwężeniem przełyku. To ostatnie powikłanie często wymusza postępowanie chirurgiczne polegające na rozszerzeniu przełyku balonem lub w cięższych przypadkach na operacyjnym usunięciu zwężenia albo wykonaniu zespolenia omijającego [19]. Inną formą leczenia chirurgicznego jest wykonywanie gastrostomii i odżywianie pacjentów tą drogą. Jedynie tak karmione dzieci z najcięższymi postaciami EBHD mają szansę na odzyskanie prawidłowej masy ciała i wzrostu, a w konsekwencji wydłużenie życia. W przebiegu recesywnej dystroficznej EB ważne również jest wczesne usuwanie zrostów między palcami i zrostów spojówek [20].

BUDOWA I FUNKCJA KOLAGENU VII

Dystroficzna postać EB jest powodowana nieprawidłowościami w budowie i funkcjonowaniu włókien kotwiczących oraz wynikiem mutacji genu *COL7A1*. Gen ten zlokalizowany w regionie 3p21 ma wielkość 32 kpz, co czyni go jednym z większych genów człowieka. Składa się ze 118 eksonów, a jego produktem jest kolagen VII [21]. Kolagen VII jako główny składnik włókien kotwiczących, mieszczących się w skórze poniżej błony podstawnej (ang. *sublamina densa*), jest glikoproteiną ulegającą ekspresji głównie przez keratynocyty i w mniejszym stopniu fibroblasty. Zbudowany jest z trzech identycznych łańcuchów α , z których każdy składa się 2944 aminokwasów. W łańcuchu kolage-

nu VII wyróżnia się domenę centralną, którą otaczają z każdej strony domeny NC (ryc. 2.). Domena centralna odpowiedzialna jest za tworzenie potrójnej helisy (α -helikalna struktura *coiled-coil*), domena NC1 – za adhezję kolagenu do błony podstawnej, a NC2 bierze udział w tworzeniu przeciwrównoległych dimerów powstających z homotrimerów kolagenu.

W sekwencji aminokwasowej helikalnej domeny centralnej występują częste powtórzenia G-X-Y (G – glicyna, X i Y – odpowiednio prolina i hydroksyprolina). Taka sekwencja determinuje strukturę trzeciorzędową – homotrimeryczną helisę (strukturę *coiled-coil*). Między powtarzającymi się motywami znajduje się 19 wysoce konserwowanych ewolucyjnie (sekwencja aminokwasów identyczna lub bardzo zbliżona u różnych gatunków) wstawek krótkich sekwencji (1–39-aminokwasowych), których rolą jest zapewnienie elastyczności włókien kolagenowych [22].

Globularna domena NC1, o stosunkowo dużej masie cząsteczkowej, jest odpowiedzialna – jak już wspomniano – za adhezję kolagenu VII do błony podstawnej na poziomie *lamina densa* i *sublamina densa*. Domenie tej przypisuje się wiele różnych funkcji. Wyniki badań *in vitro* dowodzą, że domena ta wiąże się z kolagenem IV (składnikiem *lamina densa*), fibronektyną (fibrylarnym białkiem macierzy zewnątrzkomórkowej – ECM, z którym oddziałują również inne rejony kolagenu) oraz kompleksem lamininy 5/6 (włókienkami kotwiczącymi, będącymi pośrednikami łączącymi hemidesmosomy z *lamina densa*) [23].

Modyfikacja potranslacyjna w przypadku kolagenu VII występuje tylko w obrębie domeny NC1. Chen i wsp. wykazali, że glikozylacja ma istotne znaczenie dla sekrecji tego białka do macierzy zewnątrzkomórkowej, a jej zablokowanie powoduje nagromadzenie się kolagenu VII w komórce [23].

W domenie NC2 charakterystyczna jest 67-aminokwasowa sekwencja, która jest konserwatywna ewolucyjnie i która wykazuje 100-procentową zgodność u chomika, myszy i człowieka. Rodniki cysteinowe domeny NC2 w pozycji 2802 i 2804 są – jak się wydaje – niezbędne do stabilizowania antyrównoległych dimerów kolagenowych, co więcej, jeśli wystąpi mutacja w obu pozycjach, dimery się nie tworzą [24].

MUTACJE GENU *COL7A1* W DYSTROFICZNEJ POSTACI *EPIDERMOLYSIS BULLOSA*

Dotychczas w genie *COL7A1* zidentyfikowano ponad 320 różnych mutacji (Human Gene Mutation Database) [25]. Największą grupę stanowią mutacje typu *missens*. Mutacje typu *nonsense* identyfikowane są rzadziej, a mutacje zaburzające proces składania eksonów i wycinania intronów (ang. *splicing*) oraz delecje i insercje stanowią najmniejszą grupę. W większości przypadków



Ryc. 2. Schematyczna budowa kolagenu VII wraz z zaznaczonymi domenami NC1, centralną (helikalną) i NC2

Fig. 2. Collagen VII structure with NC1, central (helical) and CN2 domains marked

mutacje w genie *COL7A1* są charakterystyczne dla rodziny, w której zostały wykryte, chociaż obserwuje się pewną specyfikę populacyjną. Wyniki badań przeprowadzonych w określonych grupach pacjentów umożliwiły ustalenie panelu mutacji występujących najczęściej w danych populacjach (tab. III).

Chociaż nie ma specyficznych mutacji, które występowałyby w populacji ogólnej z wyższą częstością niż pozostałe, to ich lokalizacja w genie *COL7A1* jest mniej zróżnicowana. Wykazano, że mutacje w eksonach 3 i 73 występują z dużo większą częstością niż w pozostałych regionach kodujących gen *COL7A1*. W eksonie 73 (koduje fragment centralnej domeny helikalnej) znanych jest wiele mutacji typu *missens*, których skutkiem są substytucje glicyny w jednym z 35 motywów G-X-Y (np. pozycje aminokwasowe 2008, 2034, 2043) [29]. Zaskakujący jest rozkład ekspresji fenotypowej tych mutacji. Około 50% z nich odpowiedzialnych jest za recesywną postać choroby, a pozostała część – za postać dziedziczną dominującą. Wśród mutacji odpowiedzialnych za dziedziczenie o charakterze dominującym mutacje G1815R, G1595R, G2251E powodują jedynie dystroficzne zmiany płytki paznokciowej, podczas gdy inne (np. G2043R) wiążą się z występowaniem dodatkowo pęcherzy i nadżerek na dłoniach, kolanach, łokciach i stopach oraz z tendencją do bliznowacenia. Przyczyna zróżnicowanej patogenności poszczególnych substytucji glicyny nie jest dotąd znana, chociaż wydaje się, że decydujące znaczenie ma lokalizacja mutacji w genie. Jak dowiedziono, substytucje o charakterze dominującym (np. G2006D, G2034D), zlokalizowane w domenie helikalnej w bliskim sąsiedztwie 39-aminokwasowej niehelikalnej wstawki, wywierają negatywny wpływ o typie dominującym na proces fałdowania białka [30]. Wyniki badania Chen i wsp. [31] z wykorzystaniem techniki mutagenyzy punktowej wykazały natomiast, że mutacja G2749R dziedziczona w sposób recesywny i znajdująca się w znacznej odległości od wspomnianej wstawki wpływa na zwiększenie wrażliwości kolagenu VII na działanie proteaz i zmniejszenie zdolności do tworzenia trimerów przez cząsteczki kolagenu VII. Nie ma więc jednego, uniwersalnego mechanizmu prowadzącego do wystąpienia objawów choroby [32].

W procesie diagnostycznym niezwykle ważna jest klasyfikacja zidentyfikowanych zmian do grupy mutacji patogennych lub niemających znaczenia klinicznego wariantów sekwencyjnych. W genetyce człowieka znane są przypadki zmian klasyfikacji defektów molekularnych. Przykładowo, jeszcze do niedawna mutacja I148T w genie *CFTR* była klasyfikowana jako zmiana odpowiedzialna za wystąpienie klinicznych objawów mukowiscydozy. Zgodnie z aktualnymi rekomendacjami mutację tę zalicza się obecnie do grupy mutacji niemających znaczenia klinicznego, a identyfikowanie jej u chorych na mukowiscydozę w trakcie diagnostyki molekularnej nie jest wskazane [33].

Tabela III. Mutacje analizowane w diagnostyce molekularnej w EBHD w wybranych populacjach (krajach) [26–28]

Table III. Mutations analysed in EBHD molecular diagnostic procedures in selected populations (countries) [26–28]

Populacja (kraj)	Panel mutacji wytypowanych jako występujące najczęściej
Włochy	497insA, 8441-14del21, 425A>G
Anglia	R2814X, R578X, 7786delG
Japonia	5818delC, E2857X, 6573+1G>C

Podobne sytuacje – zmiany klasyfikacji defektów z patogennych na neutralne lub odwrotnie – obserwuje się w przypadku genu *COL7A1*. W badaniach grupy Csikós i wsp. [34] przeprowadzonych u pacjentów z rozpoznaniem EBHD, pochodzących z centralnej Europy, wykazano dużą częstość występowania mutacji zaburzającej składanie eksonów. Mutacja ta, określana mianem 425A>G (zapis aminokwasowy: K142R), była najczęściej identyfikowana w układzie heterozygotycznym. Początkowo zmianę tę klasyfikowano jako jeden ze znanych neutralnych polimorfizmów [6]. Okazało się jednak, że defekt ten przyczynia się do powstawania dwóch nieprawidłowych transkryptów, które prowadzą do powstania przedwczesnego kodonu STOP (mutacja *nonsense*). Mutacja 425A>G jest przyczyną choroby o recesywnym typie dziedziczenia, a fenotyp EB zależy od typu mutacji w drugim allelu *COL7A1*. Obecność mutacji 425A>G w obu allelach genu *COL7A1* lub obecność w drugim allelu mutacji typu *nonsense* prowadzi zazwyczaj do rozwoju EBHD o ciężkich objawach klinicznych [34]. W takich przypadkach obserwuje się całkowity brak włókien zakontrawizujących, który jest wynikiem degradacji cząsteczek mRNA w trakcie procesu NMD (ang. *nonsense mediated mRNA decay*) [35], natomiast, jeśli mimo wszystko dochodzi do translacji, to i tak powstaje białko, które nie jest w stanie współtworzyć włókien zakontrawizujących.

DIAGNOSTYKA MOLEKULARNA

Prowadzone od ponad 10 lat badania molekularne EBHD ujawniają wciąż nowe, nieznane dotąd mutacje. Są one podstawą do badań zależności fenotypu od genotypu, a także umożliwiają ustalenie właściwego rozpoznania choroby (weryfikacje rozpoznania klinicznego) oraz odpowiednią kwalifikację tych zaburzeń, która ma istotne znaczenie prognostyczne odnośnie do przebiegu choroby i ewentualnych niekorzystnych następstw, np. rozwoju zmian nowotworowych [36]. Diagnostyka molekularna daje także możliwość określenia statusu nosicielstwa wśród krewnych chorego i określenie ryzyka powtórzenia się choroby u kolejnego potomstwa.

Diagnostyka molekularna chorób dziedzicznych, niejako z założenia, nie ogranicza się tylko do badań postnatalnych. W przypadku EBH – oprócz molekularnych badań prenatalnych – możliwa jest diagnostyka przed-

urodzeniowa polegająca na biopsji skóry płodu (fetoskopia) i wykonaniu badania immunofluorescencyjnego biopłatu. Przewagą diagnostyki prenatalnej opartej na identyfikacji mutacji w DNA płodu w stosunku do fetoskopii jest przeprowadzenie badań diagnostycznych we wcześniejszym okresie ciąży (już od 11. tygodnia w stosunku do 18. tygodnia w fetoskopii) [37]. Jak najszybsze otrzymanie wyniku diagnostyki prenatalnej ma ogromne znaczenie, szczególnie w przypadku stwierdzenia u płodu genotypu potwierdzającego ciężką postać EBH oraz decyzji rodziców o terminacji ciąży.

Jak wspomniano wcześniej, gen *COL7A1* jest jednym z większych genów człowieka i chociaż obserwuje się zagęszczenie występowania mutacji w określonych regionach tego genu (np. eksony 73, 3), to nie można zapewne wykluczyć pojawiania się mutacji również w innych fragmentach kodujących czy z pogranicza intron/ekson. Nie ma dotąd informacji o mutacjach intronowych, ale występowanie tego typu mutacji jest wysoce prawdopodobne. Wydaje się, że wraz z rozwojem nowych technologii analizy DNA w niedalekiej przyszłości będzie możliwe rutynowe „skanowanie” całego genu.

PORADNICTWO GENETYCZNE

Zróznicowanie kliniczne EBHD na postać uwarunkowaną recesywnie i dominującą ma zasadnicze znaczenie dla poradnictwa genetycznego. Niezwykle istotna jest tu, oprócz badania klinicznego pacjenta, analiza rodowodu oraz dokładne badanie obojga rodziców w celu identyfikacji potencjalnych dyskretnych objawów choroby. Kliniczne postaci EBHD o uwarunkowaniu autosomalnym dominującym wykazują zróżnicowaną ekspresję kliniczną, w związku z tym u dotkniętego chorobą rodzica pacjenta jedynym objawem klinicznym choroby mogą być tylko bardzo dyskretne zmiany pęcherzowe na skórze lub nawet izolowana dystrofia paznokci [38]. W przypadku postaci dystroficznej uwarunkowanej recesywnie lub mutacji *de novo* w postaci dominującej EBHD rodzice pacjenta są zdrowi i nie wykazują żadnych objawów choroby.

W poradnictwie genetycznym dla zdrowych rodziców pacjenta z postacią EBHD uwarunkowaną autosomalnie dominującą, u którego zidentyfikowano obecność mutacji w genie *COL7A1*, a u żadnego z rodziców nie stwierdzono jej obecności, należy pamiętać o możliwości wystąpienia mozaicyzmu germinalnego. Empirycznie oznaczone ryzyko powtórzenia się choroby jest w takiej rodzinie relatywnie małe i wynosi 2–5% [39].

W przypadku poradnictwa genetycznego dla rodzin pacjentów z recesywną postacią EBHD należy uwzględnić możliwość jednorodzielskiej disomii (patologia polegająca na dziedziczeniu obu chromosomów danej pary tylko od jednego z rodziców, a nie od obojga) [40].

Rozstrzygające znaczenie w diagnostyce EBHD, szczególnie w przypadkach trudnych do zróznicowania klinicz-

nego, mają badania histopatologiczne i molekularne. Identyfikacja mutacji w przebiegu EBHD umożliwia udzielenie prawidłowej porady genetycznej z dokładnym określeniem ryzyka powtórzenia się choroby w kolejnych ciążach oraz zaproponowanie diagnostyki prenatalnej choroby.

Epidermolysis bullosa hereditaria występuje rzadko, jednak ze względu na to, że wiele jej postaci charakteryzuje się bardzo ciężkim przebiegiem klinicznym, jest olbrzymim wyzwaniem dla lekarzy wielu specjalności, w tym genetyków i dermatologów. Ciągłe pojawiają się nowe doniesienia z zakresu patologii molekularnej, prowadzone są liczne badania naukowe pogłębiające wiedzę na temat przyczyn powstawania i przebiegu EBH. Zwiększa się skuteczność leczenia, chociaż ma ono z reguły charakter zachowawczy. Obiecujące wydają się więc nowe strategie terapeutyczne, w tym terapie genowe, mimo że ich wprowadzenie do rutynowego algorytmu terapeutycznego, wymaga jeszcze czasu.

Praca finansowana ze środków projektu badawczego: NN 407171134.

Piśmiennictwo

1. **Das B.B., Sahoo S.:** Dystrophic epidermolysis bullosa. *J Perinatol* 2004, 24, 41-47.
2. Dostępne na: <http://www.debra.org>.
3. **Featherstone C.:** Epidermolysis bullosa: from fundamental molecular biology to clinical therapies. *J Invest Dermatol* 2007, 127, 256-259.
4. **Mitsuhashi Y., Hashimoto I.:** Genetic abnormalities and clinical classification of epidermolysis bullosa. *Arch Dermatol Res* 2003, 295 (Suppl 1), S29-33.
5. **Fine J.D., Eady R.A., Bauer E.A., Bauer J.W., Bruckner-Tuderman L., Heagerty A. i inni:** The classification of inherited epidermolysis bullosa (EB): Report of the Third International Consensus Meeting on Diagnosis and Classification of EB. *J Am Acad Dermatol* 2008, 58, 931-950.
6. **Christiano A.M., Greenspan D.S., Lee S., Uitto J.:** Cloning of human type VII collagen: complete primary sequence of the alpha-1 (VII) chain and identification of intragenic polymorphisms. *J Biol Chem* 1994, 269, 20256-20262.
7. **Kowalewski C.:** Epidermolysis bullosa hereditaria. Medipress, Warszawa 1999, 4, 3-12.
8. **Pawlaczyk M., Jaworska A., Kornacka A., Kowalewski C., Biczysko W., Szczapa J.:** Epidermolysis bullosa dystrophica Hallopeau-Simens i wrodzony, ograniczony brak skóry u noworodka. *Przeł Dermatol* 2003, 90, 465-469.
9. **Christiano A.M., Fine J.D., Uitto J.:** Genetic basis of dominantly inherited transient bullous dermolysis of the newborn: a splice site mutation in the type VII collagen gene. *J Invest Dermatol* 1997, 109, 811-814.
10. **Tidman M.J., Eady R.A.:** Evaluation of anchoring fibrils and other components of the dermal-epidermal junction in dystrophic epidermolysis bullosa by a quantitative ultrastructural technique. *J Invest Dermatol* 1985, 84, 374-377.
11. **Heagerty A.H., Kennedy A.R., Leigh I.M., Purkis P., Eady R.A.:** Identification of an epidermal basement

- membrane defect in recessive forms of dystrophic epidermolysis bullosa by LH 7:2 monoclonal antibody: use in diagnosis. *Br J Dermatol* 1986, 115, 125-131.
12. **Rymuza W., Wozniak K., Kowalewski C.:** Zaburzenia ekspresji kolagenu VII w różnych odmianach klinicznych epidermolysis bullosa dystrophica. *Przegl Dermatol* 2001, 88, 323-330.
 13. **Furue M., Ando I., Inoue Y., Tamaki K., Oohara K., Kukita A.:** Pretibial epidermolysis bullosa: successful therapy with a skin graft. *Arch Dermatol* 1986, 122, 310-313.
 14. **Roseeuw D., De Raevé L., Dangoisse C., Ramet J.:** Treatment of epidermolysis bullosa with human cultured epidermal allografts. *Dermatology* 1994, 189 (Suppl 2), 68-70.
 15. **Cooper T.W., Bauer E.A.:** Therapeutic efficacy of phenytoin in recessive dystrophic epidermolysis. A comparison of short- and long-term treatment. *Arch Dermatol* 1984, 120, 490-495.
 16. **Michaelson J.D., Schmidt J.D., Dresden M.H., Duncan W.C.:** Vitamin E treatment of epidermolysis bullosa. Changes in tissue collagenase levels. *Arch Dermatol* 1974, 109, 67-69.
 17. **Cooper T.W., Tabas M., Bauer E.A.:** Retinoic acid in recessive dystrophic epidermolysis bullosa. [w]: *New trends in research and therapy*. J.H. Saurat (red.). Karger, New York 1985, 219-224.
 18. **Husz S., Oláh J., Korom I., Szekeres L., Kemény E., Dobozy A.:** Cyclosporin for dystrophic epidermolysis bullosa. *Lancet* 1989, 8676, 1393-1394.
 19. **Absolon K.B., Finney L.A., Waddill G.M. Jr, Hatchett C.:** Esophageal reconstruction-clon transplant in two brothers with epidermolysis bullosa. *Surgery* 1969, 65, 832-836.
 20. **Terrill P.J., Mayou B.J., McKee P.H., Eady R.A.:** The surgical treatment of epidermolysis bullosa (excluding the hand). *Br J Plast Surg* 1992, 45, 426-434.
 21. **Hovnanian A., Rochat A., Bodemer C., Petit E., Rivers C.A., Prost C. i inni:** Characterization of 18 new mutations in COL7A1 in recessive dystrophic epidermolysis bullosa provides evidence for distinct molecular mechanisms underlying defective anchoring fibril formation. *Am J Hum Genet* 1997, 61, 599-610.
 22. **Bruckner-Tuderman L., Höpfner B., Hammami-Hausli N.:** Biology of anchoring fibrils: lessons from dystrophic epidermolysis bullosa. *Matrix Biol* 1999, 18, 43-54.
 23. **Chen M., Marinkovich M.P., Veis A., Cai X., Rao C.N., O'Toole E.A. i inni:** Interactions of the amino-terminal noncollagenous (NC1) domain of type VII collagen with extracellular matrix components. A potential role in epidermal-dermal adherence in human skin. *J Biol Chem* 1997, 272, 14516-14522.
 24. **Chen M., Keene D.R., Costa F.K., Tahk S.H., Woodley D.T.:** The carboxyl terminus of type VII collagen mediates antiparallel dimer formation and constitutes a new antigenic epitope for epidermolysis bullosa acquisita autoantibodies. *J Biol Chem* 2001, 276, 21649-21655.
 25. Dostępne na: <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/>.
 26. **Gardella R., Castiglia D., Posteraro P., Bernardini S., Zoppi N., Paradisi M. i inni:** Genotype-phenotype correlation in Italian patients with dystrophic epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 2002, 119, 1456-1462.
 27. **Tamai K., Murai T., Mayama M., Kon A., Nomura K., Sawamura D. i inni:** Recurrent COL7A1 mutations in Japanese patients with dystrophic epidermolysis bullosa: positional effects of premature termination codon mutations on clinical severity. Japanese Collaborative Study Group on Epidermolysis Bullosa. *J Invest Dermatol* 1999, 112, 991-993.
 28. **Mellerio J.E., Dunnill M.G., Allison W., Ashton G.H., Christiano A.M., Uitto J. i inni:** Recurrent mutations in the type VII collagen gene (COL7A1) in patients with recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 1997, 109, 246-249.
 29. **Mecklenbeck S., Hammami-Hausli N., Höpfner B., Schumann H., Kramer A., Küster W. i inni:** Clustering of COL7A1 mutations in exon 73: implications for mutation analysis in dystrophic epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 1999, 112, 398-400.
 30. **Dang N., Murrell D.F.:** Mutation analysis and characterization of COL7A1 mutations in dystrophic epidermolysis bullosa. *Exp Dermatol* 2008, 17, 553-568.
 31. **Chen M., Costa F.K., Lindvay C.R., Han Y.P., Woodley D.T.:** The recombinant expression of full-length type VII collagen and characterization of molecular mechanisms underlying dystrophic epidermolysis bullosa. *J Biol Chem* 2002, 277, 2118-2124.
 32. **Mallipeddi R., Bleck O., Mellerio J.E., Ashton G.H., Eady R.A., McGrath J.A.:** Dilemmas in distinguishing between dominant and recessive forms of dystrophic epidermolysis bullosa. *Br J Dermatol* 2003, 149, 810-818.
 33. **Dequeker E., Stuhmann M., Morris M.A., Casals T., Castellani C., Claustres M. i inni:** Best practice guidelines for molecular genetic diagnosis of cystic fibrosis and CFTR-related disorders – updated European recommendations. *Eur J Hum Genet* 2009, 17, 51-65.
 34. **Csikós M., Szocs H.I., Lászik A., Mecklenbeck S., Horváth A., Kárpáti S. i inni:** High frequency of the 425A→G splice-site mutation and novel mutations of the COL7A1 gene in central Europe: significance for future mutation detection strategies in dystrophic epidermolysis bullosa. *Br J Dermatol* 2005, 152, 879-886.
 35. **Christiano A.M., Amano S., Eichenfield L.F., Burgeson R.E., Uitto J.:** Premature termination codon mutations in the type VII collagen gene in recessive dystrophic epidermolysis bullosa result in nonsense-mediated mRNA decay and absence of functional protein. *J Invest Dermatol* 1997, 109, 390-394.
 36. **Uitto J., Richard G.:** Progress in epidermolysis bullosa: genetic classification and clinical implications. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2004, 131C, 61-74.
 37. **Shimizu H.:** Prenatal diagnosis of epidermolysis bullosa. *Prenat Diagn* 2006, 26, 1260-1261.
 38. **Dharma B., Moss C., McGrath J.A., Mellerio J.E., Ilchysyn A.:** Dominant dystrophic epidermolysis bullosa presenting as familial nail dystrophy. *Clin Exp Dermatol* 2001, 26, 93-96.
 39. **Cserhalmi-Friedman P.B., Garzon M.C., Guzman E., Martinez-Mir A., Chung W.K., Anyane-Yeboah K. i inni:** Maternal germline mosaicism in dominant dystrophic epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 2001, 117, 1327-1328.
 40. **Fassihi H., Lu L., Wessagowit V., Ozoemena L.C., Jones C.A., Dopping-Hepenstal P.J. i inni:** Complete maternal isodisomy of chromosome 3 in a child with recessive dystrophic epidermolysis bullosa but no other phenotypic abnormalities. *J Invest Dermatol* 2006, 126, 2039-2043.

Otrzymano: 29 I 2009 r.
Zaakceptowano: 31 III 2009 r.