

Epidermolysis bullosa acquisita: diagnostic difficulties

Nabyte pęcherzowe oddzielanie się naskórka – trudności diagnostyczne

Izabela Staniszewska¹, Julia Lanckorońska², Agnieszka Kalińska-Bienias¹

¹Department of Dermatology, Medical University of Warsaw, Warsaw, Poland

²Stay Healthy Clinic, Warsaw, Poland

¹Katedra i Klinika Dermatologiczna, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa, Polska

²Centrum Medyczne Stay Healthy, Warszawa, Polska

Dermatol Rev/Przegl Dermatol 2023, 110, 1–8

DOI: <https://doi.org/10.5114/dr.2023.134680>

ABSTRACT

CORRESPONDING AUTHOR/ ADRES DO KORESPONDENCJI:

Agnieszka Kalińska-Bienias
Katedra i Klinika Dermatologiczna
Warszawski Uniwersytet
Medyczny
Warszawa, Polska
tel.: +48 606618564
e-mail: agnieszka.kalinska@interia.pl

Introduction: Epidermolysis bullosa acquisita is a blistering disease in which the autoimmune response is directed against collagen VII epitopes.

Case report: A 50-year-old patient was admitted to the Department due to erythematous erosions and single blisters. The direct immunofluorescence study from a perilesional biopsy showed *in vivo* bound linear IgG deposits and focal C3 along the dermal-epidermal junction; however, the characteristic u-serrated pattern was not observed. No circulating antibodies were found in the serum. The direct immunofluorescence study performed on salt-split skin revealed immune deposits located along the floor and focally within the roof of the artificial blister. To determine the final diagnosis, type VII collagen was mapped on patient's salt-split skin using double-labelling with anti-collagen VII antibodies and serum from a seropositive epidermolysis bullosa acquisita patient. The overlapping of the identical images was obtained.

Conclusions: Marking the distribution of collagen VII on salt-split skin enabled the diagnosis.

Key words: epidermolysis bullosa acquisita, EBA, diagnostics.

STRESZCZENIE

Wprowadzenie: Nabyte pęcherzowe oddzielanie się naskórka należy do autoimmunologicznych schorzeń pęcherzowych skóry. Odpowiedź autoimmunologiczna skierowana jest przeciwko epitopom kolagenu typu VII.

Opis przypadku: Mężczyzna w wieku 50 lat został przyjęty do Kliniki z powodu zmian skórnych w postaci nadżerek na podłożu rumieniowym oraz pojedynczych pęcherzy. Badanie metodą immunofluorescencji bezpośredniej wycinka pobranego z okolicy zmiany wykazało obecność liniowych złogów IgG i ogniskowo złogów C3 wzdłuż połączenia skórno-naskórkowego. Nie stwierdzono natomiast charakterystycznego wzorca ząbkowania w kształcie liter „u” (*u-serrated*). W surowicy nie wykryto krążących przeciwciał. W badaniu metodą immunofluorescencji bezpośredniej na splicie wycinka skórno-pobranego od pacjenta stwierdzono złogi immunologiczne w dnie oraz ogniskowo w pokrywie sztucznie wytworzonego pęcherza. W celu ustalenia ostatecznego rozpoznania wyznakowano kolagen VII na splicie wycinka skórno-pobranego od pacjenta przy zastosowaniu podwójnego zna-

kowania przeciwciałami przeciwko kolagenowi typu VII i surowicy seropozytywnego pacjenta z nabytym pęcherzowym oddzieleniem się naskórka. Nałożone na siebie obrazy okazały się identyczne.

Wnioski: Wyznakowanie kolagenu typu VII w splicie wycinka skór nego pobranego od pacjenta umożliwiło postawienie ostatecznej diagnozy.

Słowa kluczowe: nabyte pęcherzowe oddzielenie się naskórka, EBA, diagnostyka.

INTRODUCTION

Epidermolysis bullosa acquisita (EBA) is an autoimmune subepidermal blistering disease affecting the skin and mucous membranes [1]. It is a rare disease with a prevalence of 0.2–0.5/1,000,000 individuals [2, 3]. EBA usually develops between 40 and 60 years of age, with no gender predilection [4]. The autoimmune response is mediated by autoantibodies directed against type VII collagen, most often its amino-terminal, non-collagen NC1 domain in the IgG class, less frequently IgA [1]. Type VII collagen is a component of anchoring fibres that connect the lamina densa of the basal membrane zone with the dermis [5]. Destruction of anchoring fibres leads to detachment of the epidermis from the dermis resulting in the formation of blisters which often heal with scarring and milia [6]. The clinical manifestations of EBA are heterogeneous. Two main clinical variants have been described, the mechanobullous and inflammatory [7]. The mechanobullous form of EBA, which represents the majority of cases, has a chronic course, and bullous eruptions occur in the mechanical trauma-prone areas such as the extensor surfaces of the limbs, elbows, knees, hands, feet and buttocks [4, 6]. Skin lesions may be accompanied by scarring alopecia and nail dystrophy [8]. The inflammatory variant is characterised by sudden onset, and skin lesions are not limited to injured areas. EBA also includes bullous pemphigoid (BP), mucous membrane pemphigoid (MMP), linear IgA dermatosis (LABD) and Brunsting-Perry variants. However, two variants of EBA may occur in one patient [7]. Diagnosis of EBA is based on direct immunofluorescence (DIF) with serration pattern analysis and/or detection of serum autoantibodies against type VII collagen (anti-CO7 antibodies) [9]. EBA is mainly treated with high doses of glucocorticosteroids. Other therapeutic options involve dapsone, cyclosporine, methotrexate, mycophenolate mofetil and cyclophosphamide. In the literature, there are also case reports of EBA treatment with high-dose intravenous immunoglobulin infu-

WPROWADZENIE

Nabyte pęcherzowe oddzielenie się naskórka (*epidermolysis bullosa acquisita* – EBA) jest autoimmunologiczną chorobą skóry i błon śluzowych, która charakteryzuje się powstawaniem podnaskórkowych pęcherzy [1]. EBA jest schorzeniem rzadkim, o częstości występowania szacowanej na 0,2–0,5/1 000 000 osób [2, 3]. Zazwyczaj rozwija się między 40. a 60. rokiem życia. Nie stwierdzono częstszego występowania choroby u żadnej z płci [4]. W odpowiedzi autoimmunologicznej pośredniczą autoprzeciwciała skierowane przeciwko kolagenowi typu VII – najczęściej jego N-końcowej, niekolagenowej domenie NC1 w klasie IgG, rzadziej IgA [1]. Kolagen typu VII jest składnikiem włókien kotwiczących, które łączą blaszkę gęstą (*lamina densa*) w błonie podstawnej ze skórą właściwą [5]. Uszkodzenie włókien kotwiczących prowadzi do oddzielenia się naskórka od skóry właściwej. Skutkuje to powstawaniem pęcherzy, które ustępują z pozostawieniem blizn i prosaków [6]. Obraz kliniczny EBA jest zróżnicowany. W piśmiennictwie opisano dwie główne odmiany kliniczne choroby: mechanopęcherzową i zapalną [7]. Postać mechanopęcherzowa EBA występuje w większości przypadków. Ma przewlekły przebieg, a zmiany pęcherzowe stwierdza się w miejscach narażonych na urazy mechaniczne, takich jak powierzchnie wyprostne kończyn, łokcie, kolana, dłonie, stopy i pośladki [4, 5]. Zmianom skórnym może towarzyszyć łysienie bliznowaciejące i dystrofia paznokci [8]. Odmiana zapalna EBA charakteryzuje się nagłym początkiem, a zmiany skórne nie ograniczają się tylko do obszarów narażonych na urazy. Do rzadkich wariantów EBA należą: odmiana typu pemfigoidu pęcherzowego (*bullous pemphigoid* – BP), typu pemfigoidu błon śluzowych (*mucous membrane pemphigoid* – MMP), typu liniowej IgA dermatozy pęcherzowej (*linear IgA dermatosis* – LABD) i typu pemfigoidu Brunstinga-Perry’ego. U jednego pacjenta mogą występować dwie odmiany EBA [7]. Rozpoznanie choroby opiera się na badaniu metodą bezpośred-

sions (IVIG), rituximab, plasmapheresis, immunoadsorption and extracorporeal photochemotherapy [10].

OBJECTIVE

To present the case of a patient with seronegative EBA whose diagnosis was confirmed by using anti-collagen VII antibodies and the serum of a seropositive patient with confirmed EBA as a marker for type VII collagen.

CASE REPORT

A 50-year-old patient presented to the Department of Dermatology with tense blisters and erythematous erosions located on the back, palms of the hands and several erosions on the oral mucosa and anogenital region. On the trunk, skin lesions were arranged in the

niej immunofluorescencji (*direct immunofluorescence* – DIF) z analizą wzorca ząbkowania i/lub wykryciu w surowicy autoprzeciwciał skierowanych przeciwko kolagenowi typu VII (przeciwciał anty-CO7) [9]. W leczeniu EBA stosowane są głównie glikokortykosteroidy ogólne. Do innych leków zalecanych w tym wskazaniu należą: dapson, cyklosporyna, metotrexat, mykofenolan mofetylu i cyklofosfamid. W piśmiennictwie dostępne są także opisy przypadków leczenia EBA z zastosowaniem dożylnych wlewów preparatów immunoglobulin (IVIG) w dużych dawkach, rytuksymabu, plazmaferezy, immunoadsorcji i fotochemioterapii pozaustrojowej [10].

CEL PRACY

Przedstawienie przypadku pacjenta z seronegatywnym EBA, u którego rozpoznanie potwierdzono



Figure 1. A–D – Blisters and erythematous erosions located on the back and palms

Rycina 1. A–D – Pęcherze i nadżerki na podłożu rumieniowym zlokalizowane na plecach i powierzchniach dłoniowych rąk

line of excoriations and skin injuries (figs. 1 A-D). He had a history of rheumatoid arthritis for 3 years treated with methotrexate. Laboratory tests showed an increased alanine transaminase (AST, 60 U/l) and accelerated ESR (36 mm/h). The DIF study revealed linear IgG and focal C3 deposits along the dermal-epidermal junction; however, it did not show the characteristic u-serrated pattern. Thus, the DIF on the patient's salt-split skin (SSS) was performed revealing IgG deposits located on the floor of an artificial blister and focally within the roof of an artificial blister; the DIF-SSS result was

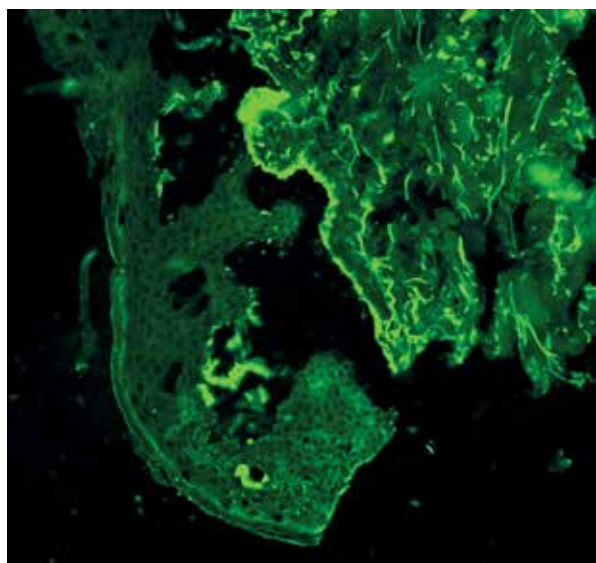


Figure 2. The direct immunofluorescence study on patient's salt-split skin. Visible immune deposits attached to the blister floor and focally within the epidermal roof

Rycina 2. Badanie metodą immunofluorescencji bezpośredniej na splicie wycinka skórniego pobranego od pacjenta. Widoczne złogi immunologiczne w dnie pęcherza oraz ogniskowo w pokrywie sztucznie utworzonego pęcherza

przy wykorzystaniu przeciwciał przeciwko kolagenowi typu VII oraz surowicy seropozytywnego pacjenta z potwierdzonym rozpoznaniem EBA jako markera kolagenu typu VII.

OPIS PRZYPADKU

Mężczyzna w wieku 50 lat zgłosił się do Kliniki Dermatologii z powodu zmian skórnych w postaci dobrze napiętych pęcherzy i nadżerek na rumieniowym podłożu, umiejscowionych na skórze pleców i dłoniowej powierzchni rąk. Obecność pojedynczych nadżerek stwierdzono także w obrębie błony śluzowej jamy ustnej i w okolicy anogenitalnej. Na tułowiu zmiany układały się na linii przeczosów i uszkodzeń skóry (ryc. 1 A-D). Pacjent chorował na reumatoidalne zapalenie stawów i był od 3 lat leczony metotrexatem. W badaniach laboratoryjnych wykazano podwyższone stężenie transaminazy alaninowej (AST, 60 U/l) i podwyższone OB (36 mm/h). W badaniu metodą DIF stwierdzono linijne złogi IgG i ogniskowe złogi C3 wzdłuż połączenia skórno-naskórkowego. Nie odnotowano jednak charakterystycznego wzorca ząbkowania w kształcie liter „u”. Przeprowadzono badanie metodą DIF na splicie skórnym (*salt-split skin* – SSS) i wykazano obecność złogów IgG umiejscowionych w dnie sztucznie wytworzonego pęcherza oraz ogniskowo w pokrywie sztucznie utworzonego pęcherza; wynik badania DIF-SSS uznano za niejednoznaczny (ryc. 2). W celu dokładnego ustalenia rozpoznania przeprowadzono podwójne znakowanie z wykorzystaniem znakowanej FITC surowicy seropozytywnego pacjenta z EBA oraz znakowanych Cy-5 przeciwciał IgG przeciwko kolagenowi typu VII, aby zmapować antygen – kolagen typu VII, we wcześniej pobranym splicie tkanki skórnej pacjenta. Wy-

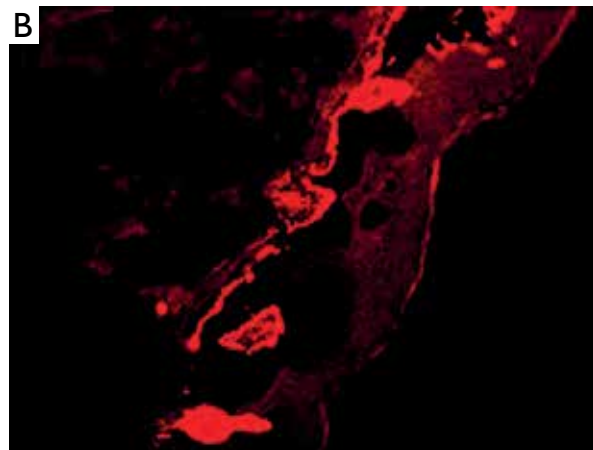
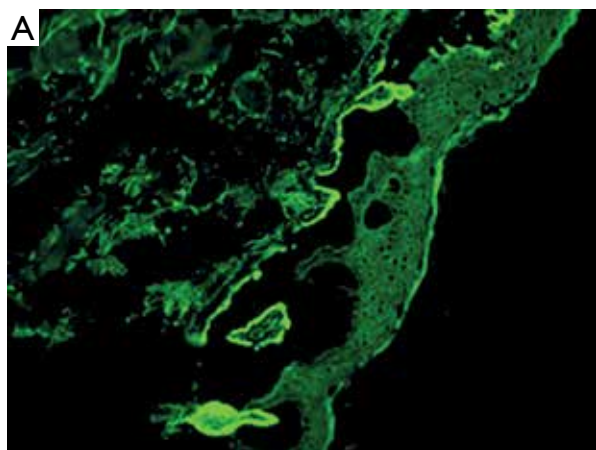


Figure 3. Images of DIF-SSS study. **A** – Fluorescence by using FITC-labelled epidermolysis bullosa acquisita seropositive patient's serum. **B** – Fluorescence by using Cy-5-labelled anti-collagen VII antibodies

Rycina 3. Obrazy uzyskane w badaniu DIF-SSS. **A** – Świecenie fluorescencyjne uzyskane przy użyciu surowicy pacjenta seropozytywnego z nabytym pęcherzowym oddzieleniem się naskórka znakowanej FITC. **B** – Świecenie fluorescencyjne uzyskane przy użyciu przeciwciał skierowanych przeciwko kolagenowi VII znakowych Cy-5

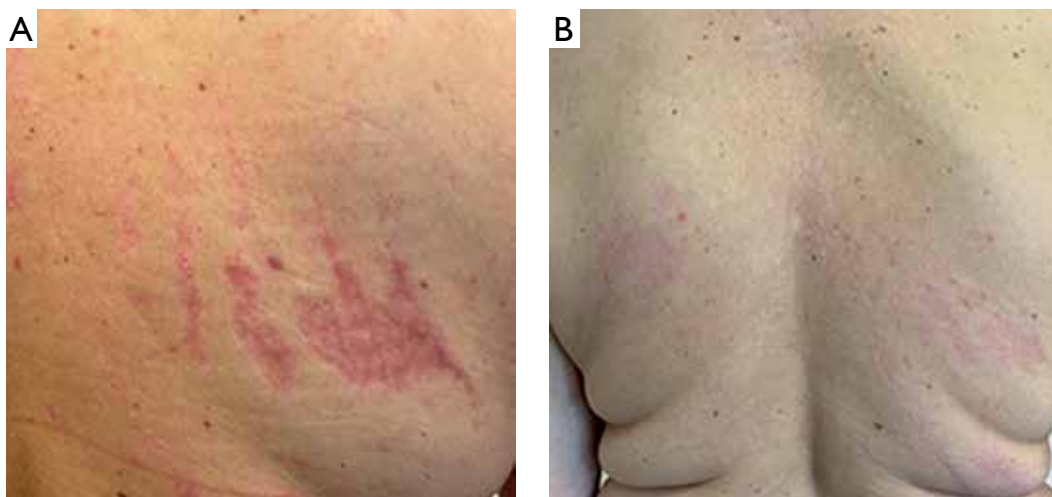


Figure 4. A, B – Remission of skin lesions with scarring and post-inflammatory hyperpigmentation
Rycina 4. A, B – Remisja zmian skórnych z pozostawieniem bliznowacenia i przebarwień pozapalnych

inconclusive (fig. 2). To determine the proper diagnosis, double labelling was performed using FITC-labelled EBA seropositive patient's serum and Cy-5-labelled IgG anti-collagen VII antibodies to map the antigen – type VII collagen in the previously examined tissue split from the patient's skin. As part of the procedure, the patient's skin was incubated in a 1-molar NaCl solution at 4°C for 48 h, which led to the separation of the epidermis from the dermis at the lamina lucida. In the next stage, the patient's tissue was incubated with the serum of EBA seropositive patient diluted at 1 : 10 and anti-collagen VII mouse IgG diluted at 1 : 100 for 30 min. After a triple rinse in phosphate-buffered saline (PBS), the sections were incubated with conjugates: antibodies directed against human IgG labelled with FITC at a dilution of 1 : 100 (green staining) (fig. 3 A) and antibodies directed against mouse IgG labelled with Cyanine 5 – Cy-5 (red staining) (fig. 3 B). After another triple rinse in PBS, the slides were applied in para-phenylenediamine (PPD) staining and evaluated under a fluorescence microscope. The overlapping of images of DIF-SSS and type VII collagen labelled SSS was obtained, which confirmed the diagnosis of EBA. The patient started treatment with prednisone at a dose of 0.6 mg/kg daily, and methotrexate was increased to 20 mg per week orally with topical glucocorticosteroids. Remission was achieved leaving scarring and post-inflammatory hyperpigmentation (figs. 4 A, B). The prednisone dose was gradually decreased until discontinuation. No recurrence of skin lesions was observed throughout the 12-month follow-up period.

DISCUSSION

EBA may pose difficulties due to the similarity of clinical, histopathological and immunological features to other subepidermal autoimmune bullous diseases (AIBD) and the variability of the clinical

ciniek skóry inkubowano w 1-molowym roztworze NaCl przez 48 godzin w temperaturze 4°C, aby oddzielić naskórek od skóry właściwej w strefie blaszki jasnej (*lamina lucida*). W kolejnym etapie procedury tkanekę pacjenta inkubowano przez 30 min z surowicą seropozytywnego pacjenta z EBA w rozcieńczeniu 1 : 10 i mysimi przeciwciałami IgG przeciwko kolagenowi typu VII rozcieńczonymi w stosunku 1 : 100. Po trzykrotnym przepłukaniu w roztworze soli fizjologicznej buforowanymi fosforanami (*phosphate-buffered saline* – PBS) wycinki inkubowano z koniugatami: przeciwciałami skierowanymi przeciwko ludzkim IgG znakowanymi FITC w rozcieńczeniu 1 : 100 (barwienie zielone) (ryc. 3 A) i przeciwciałami skierowanymi przeciwko mysim IgG znakowanymi cyjaniną 5 – Cy-5 (barwienie czerwone) (ryc. 3 B). Po kolejnym trzykrotnym przepłukaniu w PBS preparaty poddano barwieniu parafenylenodiaminą (PPD) i analizie pod mikroskopem fluorescencyjnym. Uzyskano nakładanie się obrazów z badań DIF-SSS i SSS ze znakowaniem kolagenem typu VII, potwierdzając rozpoznanie EBA. U pacjenta wprowadzono leczenie prednizonem w dawce 0,6 mg/kg dziennie oraz zwiększono dawkę doustnie stosowanego metotreksatu do 20 mg na tydzień. Zastosowano także leczenie miejscowe glikokortykosteroidami. Zmiany uległy remisji z pozostawieniem blizn i przebarwień pozapalnych (ryc. 4 A, B). Dawkę prednizonu stopniowo zmniejszono aż do całkowitego odstawienia leku. W czasie 12-miesięcznej obserwacji nie stwierdzono nawrotu zmian skórnych.

OMÓWIENIE

EBA może stwarzać trudności diagnostyczne z uwagi na podobieństwo cech klinicznych, histopatologicznych i immunologicznych schorzenia do innych autoimmunologicznych podnaskórkowych chorób pę-

presentation depending on the EBA variant. Thus, diagnosis of EBA requires a combination of laboratory investigations, including DIF and serological tests, to differentiate EBA from BP, MMP, LABD and anti-p200 pemphigoid. Histopathology can only be used to diagnose AIBD and exclude intraepidermal autoimmune diseases (like pemphigus). In the inflammatory form of EBA, neutrophilic infiltrates are observed, including variable numbers of eosinophils, monocytes and lymphocytes in the dermis, and skin fibrosis like scarring, and milia [9]. There are several important clinical factors to consider when differentiating between EBA and the most common AIBD, such as BP. Both diseases manifest as the formation of tense blisters on the skin; however, in the mechanobullous variant of EBA, skin lesions occur mainly on trauma-prone areas such as elbows, knees, hands and feet [11]. Moreover, BP affects mainly elderly individuals during the 8th decade of life, whereas EBA usually develops around the age of 50ties [4, 12]. In the presented case, the diagnosis was determined at the age of 50, which is much earlier than the reported average age of onset for BP. Many studies have shown that EBA is more commonly associated with autoimmune diseases such as rheumatoid arthritis (RA), diabetes, cryoglobulinemia, psoriasis, and inflammatory bowel diseases, while BP is more commonly associated with neurological and cardiovascular conditions [8, 11, 13]. Our patient was diagnosed with RA 5 years prior to EBA.

The current gold standard to diagnose EBA is the DIF study from the perilesional skin biopsy with serration pattern analysis. Importantly, in EBA linear IgG and/or IgA deposits give a characteristic u-serrated pattern along the dermal-epidermal junction at 400–600× microscopic magnification. Observing the u-serrated pattern is sufficient to determine the diagnosis, although the same fluorescence pattern can be present in bullous systemic lupus erythematosus [6]. In contrast to EBA, in other autoimmune bullous diseases such as BP, MMP, LABD and anti-p200 pemphigoid, the n-serrated fluorescence pattern can be visualised [14]. In the presented case, the DIF study showed IgG deposits along the dermal-epidermal junction. However, the fluorescence u-serrated pattern was not explicit.

According to the recommendations, the detection of circulating antibodies is the primary diagnostic approach in EBA if the serration pattern is not observed. However, it should be stressed that the circulating antibodies in EBA are found in about 60% of patients, depending on the method, such as IIF on salt-split skin (IIF-SSS), ELISA, BIOCHIP mosaics or immunoblot [7]. Diagnostic difficulties arise when a patient with EBA has no detectable circulating autoantibodies, as in the presented case. Therefore, the DIF on salt-split skin (DIF-SSS) from perilesional biopsy is

cherzowych (*autoimmune bullous diseases* – AIBD) oraz zróżnicowanie obrazu klinicznego w zależności od odmiany EBA. W związku z tym w diagnostyce należy uwzględniać wyniki badań laboratoryjnych, m.in. DIF i oznaczeń serologicznych, które umożliwiają różnicowanie choroby z BP, MMP, LABD oraz pemfigoidem anti-p200. Badanie histopatologiczne jest przydatne wyłącznie w diagnostyce AIBD i wykluczaniu śród-naskórkowych chorób autoimmunologicznych (m.in. pęcherzycy). W postaci zapalnej EBA obserwowane są nacieki neutrofilowe, zmienna liczba eozynofiliów, monocytów i limfocytów w skórze właściwej, a także włóknienie skóry, bliznowacenie i prosaki [9]. Przy różnicowaniu między EBA a najczęściej występującymi chorobami z grupy AIBD, m.in. BP, należy brać pod uwagę kilka istotnych czynników klinicznych. Zarówno w EBA, jak i BP obserwowane są zmiany w postaci napiętych pęcherzy na skórze, jednak w odmianie mechanopęcherzowej EBA umiejscawiają się one głównie w okolicach narażonych na urazy mechaniczne, takich jak łokcie, kolana, dłonie i stopy [11]. Ponadto BP występuje zwykle u osób starszych, w ósmej dekadzie życia, natomiast EBA rozwija się zazwyczaj około 50. roku życia [4, 12]. W opisywanym przypadku rozpoznano u pacjenta w wieku 50 lat, czyli znacznie wcześniej niż wynosi średni wiek zachorowania na BP. W licznych badaniach wykazano, że EBA częściej wiąże się z występowaniem chorób autoimmunologicznych, m.in. reumatoidalnego zapalenia stawów (RZS), cukrzycy, krioglobulinemii, łuszczycy i nieswoistych zapaleń jelit. Natomiast BP częściej współwystępuje ze schorzeniami neurologicznymi i sercowo-naczyniowymi [8, 11, 13]. U chorego opisywanego w niniejszej pracy 5 lat przed wystąpieniem EBA rozpoznano RZS.

Złotym standardem w diagnostyce EBA jest badanie metodą DIF wycinka skóry pobranego z okolic zmiany chorobowej wraz z analizą wzorca ząbkowania. U osób z EBA linijne złożgi IgG i/lub IgA tworzą charakterystyczny ząbkowany wzór wzdłuż połączenia skórno-naskórkowego widoczny w powiększeniu mikroskopowym 400–600×. Obserwowane ząbkowanie w kształcie liter „u” wystarcza do ustalenia rozpoznania, choć ten sam wzorec fluorescencji może również występować w toczniu rumieniowatym układowym pęcherzowym [6]. W przeciwieństwie do EBA w innych chorobach autoimmunologicznych skóry, takich jak BP, MMP, LABD i pemfigoid anti-p200, widoczny jest wzorec fluorescencji z ząbkowaniem w kształcie liter „n” (*n-serrated*) [14]. W opisanym przez nas przypadku badanie metodą DIF wykazało obecność złożgów IgG wzdłuż połączenia skórno-naskórkowego, jednak wzorec fluorescencji *u-serrated* nie był jednoznaczny.

Zgodnie z obowiązującymi zaleceniami wykrycie krążących przeciwciał jest podstawowym kryterium diagnostycznym w EBA, jeśli nie potwierdzono wzor-

recommended, typically presenting immunological deposits along the floor of an artificial blister in EBA and along the roof of an artificial blister in BP, MMP and LABD. Of note, antibodies in rare types of pemphigoid directed against laminin 332 or p200/laminin γ -1 chains are also bound to the floor of an artificial blister; thus, it is impossible to rule out these diseases from EBA [9]. In our patient, the result of DIF-SSS on the skin taken from the perilesional region was ambiguous and did not allow us to establish a clear-cut diagnosis. In such a situation, the type VII collagen can be labelled using fluorescence overlay antigen mapping (FOAM). The literature indicates that type VII collagen and β 4 integrin are the most suitable molecules as topographic reference markers to differentiate EBA from BP [15]. However, the FOAM method requires a rarely used and highly specialised laser. In the presented case, we proposed double labelling using FITC-labelled EBA seropositive patient's serum and Cy-5-labelled anti-collagen VII IgG antibodies to map collagen VII in the previously examined tissue split from the patient's skin. The images of DIF-SSS and type VII collagen labelled SSS were identical indicating that the focal fluorescence in the roof of an artificial blister was associated with improper separation of the patient's skin in SSS below type VII collagen. Other AIBDs were excluded. We did not find the literature describing the potential use of serum from a patient with confirmed EBA as a marker for collagen VII in the diagnosis of EBA.

Although there is no consensus on the diagnostic criteria for EBA, a general framework for establishing the diagnosis of EBA has been developed, taking into account the clinical presentation and available laboratory tests. In seronegative patients, the diagnosis can be established based on the clinical appearance of subepidermal blisters, a characteristic fluorescence in DIF, and positivity of one of the additional skin tests, such as DIF-SSS, after exclusion of autoimmunity to laminin 332 or p200/laminin γ -1 chains [9].

CONCLUSIONS

In the presented case, the diagnosis of EBA posed difficulties due to seronegativity and inconclusive DIF-SSS study. However, using anti-collagen VII antibodies and the serum of a seropositive patient with EBA to mark the distribution of collagen VII on the patient's split skin enabled the diagnosis.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

ca ząbkowania. Należy jednak podkreślić, że krążące przeciwciała są wykrywane u około 60% pacjentów z EBA w zależności od metody, m.in. IIF na splicie skórnym (IIF-SSS), ELISA, mozaiki BIOCHIP lub immunoblot [7]. Trudności diagnostyczne pojawiają się, gdy – jak w przedstawionym przypadku – u pacjenta z EBA nie ma wykrywalnych krążących auto-przeciwciał. Wówczas zalecaną metodą jest DIF na splicie skóry (DIF-SSS) pobranej z okolicy zmiany, co umożliwia uwidocznienie typowych złożeń immunologicznych w dnie sztucznego pęcherza (w EBA) i pokrywie sztucznie wytworzonego pęcherza (w BP, MMP i LABD). Warto zaznaczyć, że w rzadkich odmianach pemfigoidu również widoczne jest związanie przeciwciał skierowanych przeciwko łańcuchom lamininy 332 lub p200/lamininy γ -1 z dnem sztucznego pęcherza. Uniemożliwia to różnicowanie tych chorób z EBA [9]. U naszego pacjenta wynik badania DIF-SSS wycinka skóry z okolicy zmian chorobowych był niejednoznaczny i nie pozwolił na postawienie ostatecznej diagnozy. W takiej sytuacji możliwe jest znakowanie kolagenu typu VII przy zastosowaniu mapowania antygenów metodą nakładania obrazów fluorescencyjnych (*fluorescence overlay antigen mapping* – FOAM). Według doniesień literaturowych kolagen typu VII i integryna β 4 najlepiej sprawdzają się jako topograficzne markery referencyjne w diagnostyce różnicowej EBA i BP [15]. Metoda FOAM wymaga jednak dostępności rzadko wykorzystywanego, wysoce specjalistycznego lasera. W przedstawionym przypadku przeprowadzono podwójne znakowanie z wykorzystaniem znakowanej FITC surowicy seropozytywnego pacjenta z EBA oraz znakowanych Cy-5 przeciwciał IgG przeciwko kolagenowi typu VII do mapowania kolagenu typu VII we wcześniej pobranym splicie tkanki skórnej. Obrazy uzyskane w badaniu DIF-SSS i SSS znakowanego kolagenem typu VII były identyczne. Wskazuje to, że ogniskowa fluorescencja w pokrywie sztucznie wytworzonego pęcherza była spowodowana nieprawidłowym oddzieleniem skóry pacjenta w SSS w obszarze poniżej warstwy z kolagenem typu VII. Wykluczono inne choroby z grupy AIBD. Według naszej wiedzy w dostępnym piśmiennictwie nie ma doniesień opisujących potencjalne zastosowanie surowicy pacjenta z potwierdzonym rozpoznaniem EBA jako markera kolagenu typu VII w diagnostyce EBA.

Pomimo braku ogólnego konsensusu w zakresie kryteriów rozpoznania EBA opracowano ogólne wytyczne diagnostyczne uwzględniające obraz kliniczny i dostępne testy laboratoryjne. U pacjentów z ujemnym wynikiem badania serologicznego rozpoznanie można ustalić na podstawie cech klinicznych obejmujących obecność pęcherzy podnaskórkowych, charakterystycznego typu fluorescencji w badaniu DIF oraz dodatniego wyniku jednego z dodatkowych testów skórných, np. DIF-SSS, po wykluczeniu autoimmunizacji wobec lamininy 332 lub p200/lamininy [9].

WNIOSKI

W przedstawionym przypadku rozpoznanie EBA było utrudnione z uwagi na ujemny wynik badania serologicznego i niejednoznaczne wyniki badania DIF-SSS u pacjenta. Ostateczną diagnozę postawiono dzięki wykorzystaniu przeciwciał przeciwko kolagenowi typu VII i surowicy seropozytywnego pacjenta z EBA, oznaczając rozkład kolagenu typu VII na splicie skórnym pobranym od pacjenta.

KONFLIKT INTERESÓW

Autorzy nie zgłaszają konfliktu interesów.

References

Piśmiennictwo

1. Ludwig R.J.: Clinical presentation, pathogenesis, diagnosis, and treatment of epidermolysis bullosa acquisita. *ISRN Dermatol* 2013, 812029.
2. Bernard P., Vaillant L., Labeille B., Bedane C., Arbeille B., Denoex J.P., et al.: Incidence and distribution of subepidermal autoimmune bullous skin diseases in three French regions. Bullous Diseases French Study Group. *Arch Dermatol* 1995, 131, 48-52.
3. Bertram F., Bröcker E.B., Zillikens D., Schmidt E.: Prospective analysis of the incidence of autoimmune bullous disorders in Lower Franconia, Germany. *J Dtsch Dermatol Ges* 2009, 7, 434-440.
4. Kim J.H., Kim Y.H., Kim S.C.: Epidermolysis bullosa acquisita: a retrospective clinical analysis of 30 cases. *Acta Derm Venereol* 2011, 91, 307-312.
5. Sakai L.Y., Keene D.R., Morris N.P., Burgeson R.E.: Type VII collagen is a major structural component of anchoring fibrils. *J Cell Biol* 1986, 103, 1577-1586.
6. Buijsrogge J.J., Diercks G.F., Pas H.H., Jonkman M.F.: The many faces of epidermolysis bullosa acquisita after serration pattern analysis by direct immunofluorescence microscopy. *Br J Dermatol* 2011, 165, 92-98.
7. Vorobyev A., Ludwig R.J., Schmidt E.: Clinical features and diagnosis of epidermolysis bullosa acquisita. *Expert Rev Clin Immunol* 2017, 13, 157-169.
8. Chen M., Kim G.H., Prakash L., Woodley D.T.: Epidermolysis bullosa acquisita: autoimmunity to anchoring fibril collagen. *Autoimmunity* 2012, 45, 91-101.
9. Prost-Squarcioni C., Caux F., Schmidt E., Jonkman M.F., Vassileva S., Kim S.C., et al.: International Bullous Diseases Group: consensus on diagnostic criteria for epidermolysis bullosa acquisita. *Br J Dermatol* 2018, 179, 30-41.
10. Iwata H., Vorobyev A., Koga H., Recke A., Zillikens D., Prost-Squarcioni C., et al.: Meta-analysis of the clinical and immunopathological characteristics and treatment outcomes in epidermolysis bullosa acquisita patients. *Orphanet J Rare Dis* 2018, 13, 153.
11. Gammon W.R., Briggaman R.A., Woodley D.T., Heald P.W., Wheeler C.E. Jr.: Epidermolysis bullosa acquisita—a pemphigoid-like disease. *J Am Acad Dermatol* 1984, 11, 820-832.
12. Miyamoto D., Santi C.G., Aoki V., Maruta C.W.: Bullous pemphigoid. *An Bras Dermatol* 2019, 94, 133-146.
13. Kalińska-Bienias A., Kowalczyk E., Jagielski P., Bienias P., Kowalewski C., Woźniak K.: The association between neurological diseases, malignancies and cardiovascular comorbidities among patients with bullous pemphigoid: case-control study in a specialized Polish center. *Adv Clin Exp Med* 2019, 28, 637-642.
14. Terra J.B., Meijer J.M., Jonkman M.F., Diercks G.F.: The n- vs. u-serration is a learnable criterion to differentiate pemphigoid from epidermolysis bullosa acquisita in direct immunofluorescence serration pattern analysis. *Br J Dermatol* 2013, 169, 100-105.
15. Bruins S., De Jong M.C., Heeres K., Wilkinson M.H., Jonkman M.F., Van der Meer J.B.: Fluorescence overlay antigen mapping of the epidermal basement membrane zone: III. Topographic staining and effective resolution. *J Histochem Cytochem* 1995, 43, 649-656.

Received: 27.06.2023

Accepted: 20.10.2023

Otrzymano: 27.06.2023

Zaakceptowano: 20.10.2023

How to cite this article

Staniszevska I., Lanckorońska J., Kalińska-Bienias A.: Epidermolysis bullosa acquisita: diagnostic difficulties. *Dermatol Rev/Przegl Dermatol* 2023, 110, 628-632. DOI: <https://doi.org/10.5114/dr.2023.134680>.