

Diagnosi delle epidermolisi bollose ereditarie

1g
LINEA GUIDA



Ministero della Salute



Nota per gli utilizzatori

Le linee guida permettono il trasferimento nella pratica clinica delle conoscenze ottenute dalla ricerca biomedica e socio sanitaria.

Rappresentano la sintesi di un processo di revisione sistematica della letteratura scientifica sull'argomento e dei pareri degli esperti e costituiscono uno strumento utile per medici, ricercatori clinici e di base, operatori di sanità pubblica e del sociale, pazienti e familiari in termini di aggiornamento delle conoscenze, miglioramento della qualità assistenziale, organizzazione sistematica degli interventi e loro programmazione.

La misura dell'applicazione delle raccomandazioni contenute nelle linee guida rientra nell'area di competenza di ciascuna figura professionale coinvolta, del paziente e dei familiari e rappresenta l'irrinunciabile confronto tra le conoscenze scientifiche, la storia naturale della malattia e i bisogni dell'individuo.

Nell'ambito delle malattie rare, la bassa prevalenza rende complessa la realizzazione di studi epidemiologici e clinici in grado di fornire valide prove di efficacia a supporto delle raccomandazioni, per esempio riguardo l'applicazione di particolari indagini diagnostiche, la scelta di strategie terapeutiche alternative o la possibilità di specifici interventi socio sanitari. Tutto ciò è causa di profonda incertezza in ambito clinico e organizzativo che si traduce in un'eterogeneità di comportamenti decisionali.

Il razionale delle linee guida sulle malattie rare non può quindi basarsi esclusivamente sulle prove scientifiche disponibili, ma deve necessariamente includere i pareri motivati e condivisi del panel multidisciplinare di esperti che partecipano alla stesura di questi documenti.

Secondo la metodologia di elaborazione delle linee guida, condivisa in ambito internazionale, è opinione comune che un documento che contiene raccomandazioni fondate su pareri di esperti sia da considerare una linea guida con un livello di forza debole. Riteniamo, invece, che nell'ambito delle malattie rare, proprio a causa dell'esiguità di informazioni scientifiche basate su alti livelli di prova, le linee guida possano costituire un valido strumento per garantire l'appropriatezza clinica e l'equità assistenziale.

In considerazione della dimensione epidemiologica delle malattie rare, della loro complessità e della limitata possibilità di condurre studi randomizzati (considerati come livelli di prova più alti), il lavoro di stesura di linee guida sulle e per le malattie rare, condotto e condiviso dai massimi esperti per ciascuna malattia – ovvero da coloro che in prima persona assistono i malati e sostengono le loro famiglie – si traduce in un pregio unico che orienta il documento verso la via dell'implementazione.

Diagnosi delle epidermolisi bollose ereditarie

Data di pubblicazione: marzo 2011
Data di aggiornamento: marzo 2014

Redazione
Giulia Candiani, Raffaella Daghini, Zadig, Milano

Impaginazione
Luisa Goglio

Questo documento è stato redatto con il supporto metodologico
del Sistema nazionale per le linee guida dell'Istituto superiore di sanità

Presentazione

Le epidermolisi bollose ereditarie sono un gruppo clinicamente e geneticamente eterogeneo di malattie rare, caratterizzate da fragilità della cute e delle mucose e da formazione di lesioni bollose in seguito a traumatismo.

Le epidermolisi bollose comprendono, infatti, numerose forme cliniche distinte che differiscono per età di esordio, estensione delle lesioni cutanee e delle mucose, gravità degli esiti cicatriziali e per le manifestazioni associate, primitive o secondarie, a carico della cute (per esempio: cheratodermia palmo-plantare o fotosensibilità) e degli annessi cutanei, dei denti e degli apparati gastro-enterico, respiratorio, genito-urinario, muscolo-scheletrico, eccetera. Lo spettro clinico delle epidermolisi bollose varia quindi da forme precocemente letali a forme con un'aspettativa di vita normale.

Alla variabilità clinica delle epidermolisi corrisponde una notevole eterogeneità genetica. Le epidermolisi bollose sono tutte malattie monogeniche, ma possono essere trasmesse con modalità autosomica dominante o recessiva e sono dovute a mutazioni in geni diversi. Nel corso degli ultimi vent'anni sono stati identificati tredici geni, responsabili delle diverse varianti di epidermolisi bollose, che codificano per proteine strutturali espresse nella membrana basale cutanea o nell'epidermide. In parallelo, studi in vitro e in vivo in modelli animali hanno permesso di delineare il ruolo dei rispettivi prodotti proteici nell'adesione epiteliale e di definire, almeno parzialmente, i meccanismi patogenetici delle epidermolisi bollose. Queste nuove conoscenze molecolari, accanto a più precise prove cliniche, hanno modificato l'approccio diagnostico e la classificazione delle epidermolisi bollose e hanno aperto nuove prospettive terapeutiche per queste malattie.

A fronte dei progressi della ricerca, la rarità delle epidermolisi bollose incide ancora sulla possibilità di eseguire una diagnosi appropriata e tempestiva su base clinica e di laboratorio in tutti i pazienti. La prevalenza complessiva delle epidermolisi bollose ereditarie in Italia è stata infatti stimata a circa 1/100.000 abitanti ed è quindi chiaramente inferiore alla prevalenza di 5/10.000 abitanti che rappresenta la soglia per la definizione di malattia rara. Come in tutte le malattie rare, anche nelle epidermolisi bollose è importante che le conoscenze disponibili vengano sistematizzate e diffuse attraverso linee guida, che rappresentano un valido strumento per il trasferimento delle conoscenze elaborate dalla ricerca biomedica e socio sanitaria nelle pratiche assistenziali. In particolare, si è ritenuto utile elaborare una linea guida per la diagnosi delle epidermolisi bollose per diverse ragioni: queste malattie hanno, nel loro insieme, una notevole rilevanza nella pratica clinica, che coinvolge diverse figure professionali; si manifestano più comunemente alla nascita con quadri clinici spesso gravi, con peggioramento progressivo ed esito letale in una parte dei pazienti; possono presentare nel periodo perinatale

manifestazioni cliniche simili, a fronte di prognosi radicalmente differenti; necessitano, per una diagnosi accurata e tempestiva, di specifici esami di laboratorio; possono avere una conferma diagnostica a livello genetico, con implicazioni importanti per la valutazione corretta del rischio di ricorrenza della malattia nella famiglia e per la diagnosi prenatale; richiedono un approccio terapeutico diverso a seconda della forma di malattia.

La linea guida per la diagnosi delle epidermolisi bollose è stata realizzata con il coordinamento del Centro nazionale malattie rare dell'Istituto superiore di sanità e con il supporto metodologico del Sistema nazionale per le linee guida. Un gruppo multidisciplinare di esperti in ambito clinico, diagnostico, genetico, terapeutico e assistenziale delle epidermolisi bollose ereditarie ha elaborato la linea guida seguendo il metodo Delphi. Alla stesura e valutazione della stessa ha inoltre attivamente contribuito l'Associazione italiana per la ricerca sull'epidermolisi bollosa – DEBRA Italia Onlus – nella figura della sua presidentessa, Paola Zotti, recentemente e prematuramente scomparsa.

La linea guida riassume le informazioni utili a razionalizzare l'iter diagnostico delle epidermolisi bollose, al fine di garantire una diagnosi appropriata e tempestiva. In particolare la linea guida si propone di chiarire: i principali segni e sintomi utili alla diagnosi clinica e alla diagnosi differenziale; l'inquadramento clinico all'interno della classificazione delle epidermolisi bollose; quali, quando e come le indagini di laboratorio debbano essere richieste nell'iter diagnostico di queste malattie; la tipologia dei campioni biologici necessari per le analisi di laboratorio e le loro modalità di prelievo; quali siano le metodiche disponibili e il loro grado di affidabilità; quali informazioni i test genetici siano in grado di fornire; il ruolo della consulenza genetica nell'ambito dell'assistenza multidisciplinare al paziente e alla sua famiglia.

La presente linea guida rappresenta quindi uno strumento finalizzato al trasferimento delle conoscenze nella diagnosi clinica e di laboratorio, per un miglioramento dell'assistenza medica e del supporto socio sanitario per le persone con epidermolisi bollosa e per i loro familiari.

I principali destinatari di questa linea guida sono i professionisti che più frequentemente sono coinvolti nella diagnosi e nella gestione dei pazienti con epidermolisi bollosa: dermatologi, pediatri, neonatologi, genetisti medici, ginecologi, anatomopatologi e medici di medicina generale.

Domenica Taruscio

Centro nazionale malattie rare
Istituto superiore di sanità

Agata Polizzi

Centro nazionale malattie rare
Istituto superiore di sanità

Giovanna Zambruno

Laboratorio di biologia molecolare
e cellulare – Istituto
dermatologico dell'Immacolata – IRCSS

Marina Colombi

Sezione di biologia e genetica
Dip. di scienze biomediche e biotecnologiche
Facoltà di medicina e chirurgia
Università degli studi di Brescia

Autori

RESPONSABILE DEL PROGETTO

Domenica Taruscio Centro nazionale malattie rare, Istituto superiore di sanità, Roma

COORDINATORI

Marina Colombi Sezione di biologia e genetica, Dipartimento di scienze biomediche e biotecnologiche, Facoltà di medicina e chirurgia, Università degli studi di Brescia

Agata Polizzi Centro nazionale malattie rare, Istituto superiore di sanità, Roma

Giovanna Zambruno Laboratorio di biologia molecolare e cellulare, Istituto dermatopatico dell'Immacolata – IRCCS, Roma

Paola Zotti Associazione per la ricerca sull'epidermolisi bollosa – DEBRA Italia Onlus

PANEL MULTIDISCIPLINARE

Corrado Angelo II Divisione dermatologia, Istituto dermatopatico dell'Immacolata – IRCCS, Roma

Sergio Barlati Sezione di biologia e genetica, Dipartimento di scienze biomediche e biotecnologiche, Facoltà di medicina e chirurgia, Università degli studi di Brescia

Ernesto Bonifazi Unità operativa di dermatologia, Università degli studi di Bari

Daniele Castiglia Laboratorio di biologia molecolare e cellulare, Istituto dermatopatico dell'Immacolata – IRCCS, Roma

Marco Castori Genetica medica, Dipartimento di medicina sperimentale, Università degli studi di Roma “La Sapienza”, Ospedale S. Camillo Forlanini, Roma

Marina Colombi Sezione di biologia e genetica, Dipartimento di scienze biomediche e biotecnologiche, Facoltà di medicina e chirurgia, Università degli studi di Brescia

Bruno Dallapiccola Direzione scientifica, Ospedale pediatrico Bambino Gesù – IRCCS, Roma

Andrea Diociaiuti Unità operativa complessa di dermatologia, Dipartimento di medicina pediatrica, Ospedale pediatrico Bambino Gesù – IRCCS, Roma

Bruno Drera Sezione di biologia e genetica, Dipartimento di scienze biomediche e biotecnologiche, Facoltà di medicina e chirurgia, Università degli studi di Brescia

May El Hachem Unità operativa complessa di dermatologia, Dipartimento di medicina pediatrica, Ospedale pediatrico Bambino Gesù – IRCCS, Roma

Mario Picozzi Dipartimento di medicina e sanità pubblica, Facoltà di medicina e chirurgia, Università degli studi dell'Insubria, Varese

Agata Polizzi Centro nazionale malattie rare, Istituto superiore di sanità, Roma

Paolo Salerno Centro nazionale malattie rare, Istituto superiore di sanità, Roma

Gianluca Tadini Dermatologia pediatrica, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano

Alberto Villani Unità operativa complessa di pediatria generale, Dipartimento di medicina pediatrica, Ospedale pediatrico Bambino Gesù – IRCCS, Roma

Giovanna Zambruno Laboratorio di biologia molecolare e cellulare, Istituto dermatopatico dell'Immacolata – IRCCS, Roma

Paola Zotti Associazione per la ricerca sull'epidermolisi bollosa – DEBRA Italia Onlus

VALUTATORI DELLA LETTERATURA

Daniele Castiglia Laboratorio di biologia molecolare e cellulare, Istituto dermatopatico dell'Immacolata – IRCCS, Roma

Marina Colombi Sezione di biologia e genetica, Dipartimento di scienze biomediche e biotecnologiche, Facoltà di medicina e chirurgia, Università degli studi di Brescia

Cristina Morciano Centro nazionale malattie rare, Istituto superiore di sanità, Roma

Paolo Salerno Centro nazionale malattie rare, Istituto superiore di sanità, Roma

Giovanna Zambruno Laboratorio di biologia molecolare e cellulare, Istituto dermatopatico dell'Immacolata – IRCCS, Roma

ESPERTI DOCUMENTALISTI

Alessandra Ceccarini Settore documentazione, Istituto superiore di sanità, Roma

Maurella Della Seta Settore documentazione, Istituto superiore di sanità, Roma

REFEREE

Alberto Giannetti Clinica dermatologica, Università di Modena e Reggio Emilia, Modena

ORGANIZZAZIONE TECNICA

Mauro Scarpellini Istituto dermatologico dell'Immacolata – IRCCS, Roma

Gianluca Ferrari Centro nazionale malattie rare, Istituto superiore di sanità, Roma

Fabiola Gnessi Centro nazionale malattie rare, Istituto superiore di sanità, Roma

Guida ai livelli di prova e alla forza delle raccomandazioni

Nelle linee guida le raccomandazioni sono qualificate sulla base dei livelli di prova e della forza delle raccomandazioni.

I livelli di prova rappresentano il grado di validità degli studi condotti sull'argomento. Definiscono la probabilità, desunta dal disegno e dalla conduzione dello studio, che le conoscenze che da esso scaturiscono siano valide e prive di errori sistematici.

La forza delle raccomandazioni deriva dai livelli di prova disponibili e quindi dalla validità delle prove di efficacia. Rappresenta la probabilità che l'applicazione della raccomandazione nella pratica assistenziale determini un miglioramento dello stato di salute della popolazione a cui la raccomandazione è rivolta.

Livelli di prova

- I** Prove ottenute da più studi clinici controllati randomizzati e/o da revisioni sistematiche di studi randomizzati.
- II** Prove ottenute da un solo studio randomizzato di disegno adeguato.
- III** Prove ottenute da studi di coorte con controlli concorrenti o storici o loro metanalisi.
- IV** Prove ottenute da studi retrospettivi tipo caso-controllo o loro metanalisi.
- V** Prove ottenute da studi di casistica ("serie di casi") senza gruppo di controllo.
- VI** Prove basate sull'opinione di esperti autorevoli o di comitati di esperti come indicato in linee guida o in *consensus conference*, o basate su opinioni dei membri del gruppo di lavoro responsabile di questa linee guida.

Forza delle raccomandazioni

- A** L'esecuzione di quella particolare procedura o test diagnostico è fortemente raccomandata. Indica una raccomandazione sostenuta da prove scientifiche di buona qualità, anche se non necessariamente di tipo I o II.
- B** Si nutrono dei dubbi sul fatto che quella particolare procedura/intervento debba sempre essere raccomandata/o, ma si ritiene che la sua esecuzione debba essere attentamente considerata.
- C** Esiste una sostanziale incertezza a favore o contro la raccomandazione di eseguire la procedura o l'intervento.
- D** L'esecuzione della procedura o dell'intervento non è raccomandata.
- E** Si sconsiglia fortemente l'esecuzione della procedura o dell'intervento.

Indice

Metodi	9
- Metodo per il raggiungimento del consenso: il metodo Delphi	9
- Scelta dell'argomento, costituzione del gruppo di lavoro e identificazione degli obiettivi	13
- Criteri di inclusione e di esclusione degli studi	14
- Ricerche di letteratura	14
- Uso della <i>web community</i> e del sito dedicato	16
- Aggiornamento e implementazione	16
- Bibliografia	17
 Definizione, epidemiologia e classificazione	18
- Definizione	18
- Epidemiologia	18
- Classificazione	18
- Bibliografia	19
 Quadri clinici ed eziopatogenesi	20
- Epidermolisi bollose semplici o epidermolitiche (EBS)	20
- Epidermolisi bollose giunzionali (EBG)	23
- Epidermolisi bollose distrofiche o dermolitiche (EBD)	26
- Forma mista di epidermolisi bollosa: la sindrome di Kindler	29
- Bibliografia	30
 Percorso diagnostico e comunicazione della diagnosi	35
- Premessa	35
- Anamnesi familiare, personale ed esame obiettivo	36
- Esami di laboratorio e strumentali	38
- Consulenza genetica e analisi genetico-molecolare	41
- Comunicazione della diagnosi	41
- Quesiti e raccomandazioni	43
- Bibliografia	48
 Diagnosi differenziale	50
- Premessa	50
- Genodermatosi	54
- Lesioni da causa esterna	56

- Patologie infettive	56
- Patologie autoimmuni	57
- Quesiti e raccomandazioni	59
- Bibliografia	64

Indagini immunopatologiche e ultrastrutturali 66

- Premessa	66
- Quesiti e raccomandazioni	72
- Bibliografia	74

Consulenza genetica 77

- Premessa	77
- La consulenza genetica nelle epidermolisi bollose ereditarie	77
- Accertamento del modello di trasmissione nei casi familiari	78
- Il caso sporadico	78
- Origine etnica e sue applicazioni nella diagnosi molecolare	79
- Il test genetico come test diagnostico	79
- Definizione del rischio di ricorrenza	80
- Diagnosi prenatale	80
- Quesiti e raccomandazioni	81
- Bibliografia	84

Analisi genetico-molecolare 86

- Epidermolisi bollose semplici o epidermolitiche (EBS)	86
- Epidermolisi bollose giunzionali (EBG)	89
- Epidermolisi bollose distrofiche o dermolitiche (EBD)	91
- Sindrome di Kindler	93
- Quesiti e raccomandazioni	94
- Bibliografia	98

Aspetti etico-deontologici 104

- Premessa	104
- L'analisi genetico-molecolare	104
- Il paziente	105
- I soggetti terzi	107
- La diagnosi preimpianto	108

- La consulenza etica	108
- Quesiti e raccomandazioni	109
- Bibliografia	111

Percorso diagnostico delle epidermolisi bollose ereditarie nella rete nazionale delle malattie rare

	112
- Premessa	112
- La rete nazionale delle malattie rare	112
- Le epidermolisi bollose nell'ambito della rete nazionale delle malattie rare: presente e futuro	113
- Quesito e raccomandazioni	116
- Bibliografia	117

Appendice 1 Glossario	119
------------------------------	-----

Appendice 2 Cartella clinica	120
-------------------------------------	-----

Appendice 3 Centri di riferimento per la diagnostica di laboratorio delle EB	126
---	-----

Metodi

Metodo per il raggiungimento del consenso: il metodo Delphi

Nato nel 1948, il metodo Delphi è una tecnica di ricerca che permette di organizzare la comunicazione all'interno di un gruppo di testimoni privilegiati (o "esperti") allo scopo di ottenere la loro opinione in modo sistematico e di raggruppare i giudizi soggettivi; ha inoltre il vantaggio di consentire a ciascun partecipante di esprimere il proprio parere in forma anonima, fornendo tuttavia, alla fine, l'opinione di un intero gruppo.

Il suo funzionamento è di semplice comprensione ed è basato sulla ripetizione in successione di diversi *round* di interviste e questionari su quesiti o problemi, sino a quando non è raggiunto un consenso definitivo (vedi figura 1). È un metodo flessibile perché, modificato secondo le caratteristiche dello studio e mediante un numero opportuno di fasi reiterate, consente di ottenere un documento condiviso da parte di esperti appartenenti a discipline differenti.

Le linee guida sulle malattie rare, a differenza dei documenti prodotti sugli aspetti clinici, organizzativi, gestionali ed economici di situazioni cliniche più comuni, sono caratterizzate spesso dalla scarsa disponibilità di prove scientifiche di buona qualità e quindi l'elaborazione delle raccomandazioni richiede l'integrazione del parere di esperti. Si ritiene che il metodo Delphi rappresenti, per le sue caratteristiche, una scelta metodologica adeguata per l'elaborazione di linee guida sulle malattie rare e, nel caso specifico, sulle epidermolisi bollose ereditarie.

Figura 1. Fasi principali del metodo Delphi

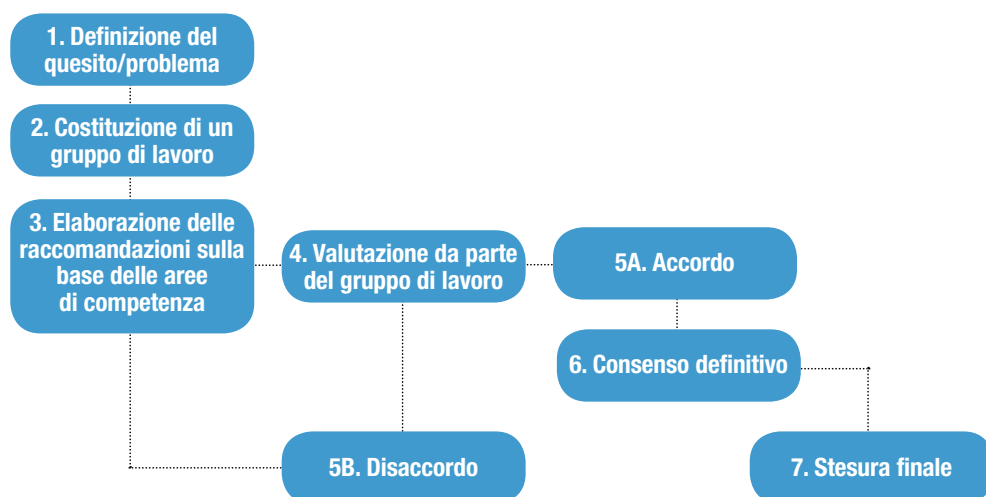


Figura 2. Esempio di raccomandazione elaborata secondo il metodo Delphi

# 5 Percorso diagnostico				
Esprimere il giudizio per ogni punto, salvare ed infine inviare al Centro Nazionale Malattie Rare				
n.	target	si raccomanda di...	obiettivo	delphi*
1	Dermatologi, genetisti, medici di medicina generale, neonatologi, pediatri	... raccogliere, in presenza di un paziente con lesioni vescico-bollose indotte da traumatismi e/o fragilità cutanea, una accurata anamnesi familiare specie riguardo a: a. Eventuali patologie materne autoimmuni o infettive; b. Altri casi di EB o di altre malattie genetiche con fragilità cutanea; c. Consanguineità tra i genitori del probando o loro origine dalla medesima area geografica (particolarmente se è isolata) d. La costruzione di un albero genealogico e. L'andamento della gravidanza ed eventuali manifestazioni cliniche associate (polidramnios)	Formulare una o più ipotesi diagnostiche e definire gli esami di laboratorio da richiedere	
2	Dermatologi, genetisti, medici di medicina generale, neonatologi, pediatri	... raccogliere un'accurata anamnesi personale (vedi cartella clinica allegata) che consenta di stabilire: a. l'età d'esordio della malattia b. l'estensione, la localizzazione e l'evoluzione delle lesioni cutanee (loro caratteristiche, presenza o meno di esiti cicatriziali) c. possibile origine da causa esterna delle lesioni stesse d. interessamento degli annessi cutanei (unghie e peli) e. coinvolgimento extracutaneo (denti, mucosa orale e distretto otorinolaringoiatrico, occhi, apparato respiratorio, gastrointestinale, muscolo-scheletrico, genito-urinario e emopoietico)	Formulare una o più ipotesi diagnostiche e definire gli esami di laboratorio da richiedere	
3	Dermatologi, genetisti, medici di medicina generale, neonatologi, pediatri	... richiedere visita specialistica dermatologica per esaminare le manifestazioni cutanee	Formulare una o più ipotesi diagnostiche e definire gli esami di laboratorio da richiedere	
4	Dermatologi	... valutare, nell'esame obiettivo dermatologico, i seguenti elementi: a. distribuzione delle lesioni cutanee (generalizzata o localizzata, simmetrica o monolaterale, etc.) b. tipologia delle lesioni cutanee (dimensioni e contenuto delle lesioni vescico-bollose, presenza di eritema e/o ipercheratosi, erosioni, ulcerazioni, croste, tessuto di granulazione ipertrofico, lesioni papulo-lichenoidi, milia, cicatrici atrofiche o retraenti, ipercheratosi palmo-plantare, etc.) c. interessamento degli annessi cutanei (unghie, ghiandole sudoripare, capelli e peli terminali) e dei denti d. interessamento delle mucose (cavo orale, mucosa nasale, congiuntiva, mucosa genitale e anale)	Formulare una o più ipotesi diagnostiche e definire gli esami di laboratorio da richiedere	

In base a questo metodo, dopo la definizione del quesito/problema, la formalizzazione del gruppo di lavoro e il reperimento degli articoli scientifici (vedi paragrafi successivi), si procede con la stesura del testo delle raccomandazioni sotto forma di un documento che contenga (vedi figura 2):

- quesito di partenza
- popolazione *target*
- raccomandazione
- obiettivo della raccomandazione.

In accordo con la fase 4 del metodo Delphi (vedi figura 1), ogni membro del gruppo di lavoro valuta il testo, attribuendo un voto compreso tra 0 (completo disaccordo) e 10 (completo accordo).

In caso di accordo (fase 5a), il documento è rielaborato in forma testuale e sottoposto al gruppo di lavoro per un consenso definitivo (fase 6). A questa fase segue la stesura del documento finale (fase 7).

In caso di disaccordo (fase 5b), quindi per valutazioni uguali o inferiori a 7, è necessario che gli autori delle raccomandazioni propongano una versione modificata e/o alter-

nativa del testo che tenga conto dei commenti espressi dagli altri componenti del gruppo di lavoro. La raccomandazione sarà nuovamente sottoposta al parere del gruppo di lavoro (fase 4, Delphi2) per ripercorrere nuovamente le fasi successive: 5a, 6 e 7 in caso di accordo, oppure 5b, 3 e 4 in caso di disaccordo (vedi figure 1 e 2).

Scelta dell'argomento, costituzione del gruppo di lavoro e identificazione degli obiettivi

Vi sono diversi criteri per la valutazione della rilevanza clinico epidemiologica di un problema, che consentono di definire la priorità di una scelta. Il modello epidemiologico, il modello della richiesta, il modello della disponibilità delle prove di efficacia e il modello economico rappresentano i criteri più comuni per la selezione degli argomenti oggetto delle linee guida.

Il Centro nazionale malattie rare (CNMR) predilige come modello di scelta, unitamente al modello epidemiologico della rarità della patologia, quello della richiesta rispondendo ai bisogni di operatori sanitari, associazioni di pazienti e loro familiari e ponendosi come obiettivo la riduzione delle incertezze, della variabilità delle decisioni in ambito clinico, sociale e di gestione in sanità pubblica, il miglioramento dell'assistenza socio sanitaria e della qualità di vita.

L'argomento di questa linea guida è stato scelto in quanto un "gruppo promotore" di esperti, in precedenza coinvolto nell'elaborazione di una prima linea guida sulle epidermolisi bollose ereditarie, ha fatto esplicita richiesta al CNMR di poter, all'interno di un progetto di ricerca, redigere una nuova linea guida che riguardasse specificamente gli aspetti diagnostici della malattia e fosse sviluppata secondo un preciso schema metodologico, utilizzato anche in ambito internazionale. La richiesta era basata sia su prove epidemiologiche (elevata frequenza delle epidermolisi bollose nell'ambito delle genodermatosi) sia sul bisogno di favorire il trasferimento alla pratica assistenziale, e quindi di rendere più fruibili per i pazienti e i loro familiari le importanti acquisizioni che la ricerca biomedica ha compiuto negli ultimi due decenni in tema di diagnosi di questo gruppo di malattie. Lo scopo finale era migliorare la qualità della vita e l'assistenza socio sanitaria per i pazienti e le loro famiglie.

Il progetto all'interno del quale si è definita la necessità di questa nuova linea guida è stato finanziato nell'ambito del programma di ricerca Italia-Stati Uniti "Malattie Rare".

I componenti del gruppo di lavoro multidisciplinare, in parte costituito dal gruppo promotore, che hanno realizzato questa linea guida sono clinici dermatologi e pediatri, genetisti clinici e molecolari, biologi molecolari, bioeticisti, documentalisti, esperti di sanità pubblica e di metodologia di sviluppo di linee guida, con la collaborazione della presidentessa dell'Associazione italiana per la ricerca sull'epidermolisi bollosa – DEBRA Italia Onlus, in rappresentanza dei pazienti e dei loro familiari.

Dopo la prima riunione, il gruppo di lavoro è ricorso principalmente all'uso della *web community* predisposta appositamente dal CNMR per l'elaborazione dei testi secondo il metodo Delphi (vedi paragrafo *Uso della web community e del sito dedicato*, a pagina 16). Altre consultazioni sono avvenute via mail o tramite contatti telefonici; nelle fasi finali del lavoro alcuni membri del gruppo di lavoro si sono riuniti per una riletture degli elaborati prima dell'invio per il consenso definitivo.

Il gruppo di lavoro ha definito i seguenti obiettivi principali:

- riassumere l'inquadramento clinico delle diverse forme della malattia nell'ambito dell'attuale classificazione internazionale delle epidermolisi bollose ereditarie
- definire l'iter diagnostico delle epidermolisi bollose ereditarie, con particolare riguardo alle indagini di laboratorio da richiedere e al ruolo della consulenza genetica nell'ambito dell'assistenza multidisciplinare al paziente e ai suoi familiari
- valutare l'accuratezza diagnostica delle indagini di laboratorio per la diagnosi delle epidermolisi bollose ereditarie e definire la tipologia dei campioni biologici da utilizzare e le relative modalità di prelievo e conservazione.

Criteri di inclusione e di esclusione degli studi

Il gruppo di lavoro ha stabilito i criteri di eleggibilità e di esclusione per la selezione degli studi reperiti mediante le ricerche bibliografiche. Sono stati considerati eleggibili gli studi sperimentali e osservazionali, gli studi di casistica con "serie di casi", le descrizioni di singoli casi clinici, le revisioni narrative, le conferenze di consenso con le seguenti caratteristiche:

I. OGGETTO DELLO STUDIO:

- epidemiologia e classificazione delle epidermolisi bollose ereditarie
- patogenesi, clinica e correlazioni genotipo-fenotipo
- diagnosi immunopatologica, ultrastrutturale e molecolare, diagnosi prenatale
- ruolo degli esami clinici, di laboratorio e strumentali nella diagnosi.

II. OUTCOME PRIMARI:

- prevalenza delle diverse varianti cliniche delle epidermolisi bollose ereditarie
- valutazione della storia naturale della malattia
- riproducibilità e validità degli esami clinici, di laboratorio e strumentali utilizzati nella diagnosi.

III. DATA DI PUBBLICAZIONE:

- gennaio 1987 – dicembre 2009.

IV. LINGUA:

- non sono state poste limitazioni riguardo alla lingua di pubblicazione degli studi.

Ricerche di letteratura

Per raccogliere le prove necessarie per la valutazione è stata elaborata una strategia che consentisse di indirizzare la ricerca sugli aspetti diagnostici delle epidermolisi bollose ereditarie.

La ricerca è stata poi ripetuta su tutte le basi di dati selezionate in origine dal gruppo di lavoro, ciascuna con il proprio linguaggio o interfaccia di consultazione.

Le seguenti basi di dati bibliografici sono state consultate come fonti informative online:

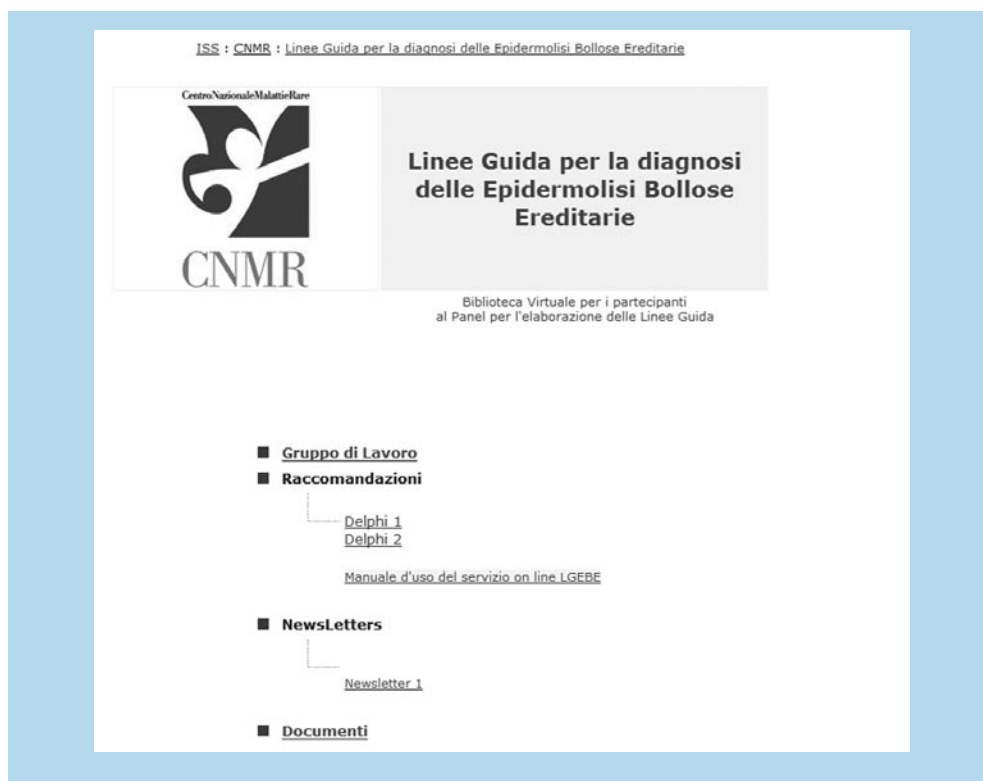
- *PubMed*
- *Embase*
- *Cochrane Library*.

Come termini di ricerca sono stati utilizzati i seguenti:

- *Epidermolysis bullosa (descrittore/termine MESH)/classification/diagnosis/epidemiology/genetics/*
- *LOC syndrome (key word)*
- *Ectodermal dysplasia – skin fragility syndrome (key word)*
- *Lethal acantholytic epidermolysis bullosa (key word)*
- *Kindler syndrome (key word)*

Gli articoli selezionati, in forma di *full text* e/o di *abstract*, sono stati resi disponibili nella sezione Documenti del sito dedicato (vedi paragrafo *Uso della web community e del sito dedicato*, a pagina 16 e figura 3).

Figura 3. Menu principale della *web community* per l'elaborazione della linea guida sulla diagnosi delle epidermolisi bollose ereditarie



Uso della *web community* e del sito dedicato

L'elaborazione delle linee guida è stata realizzata mediante un sistema online. Nella sezione *Linee guida* del portale web del Centro nazionale malattie rare (<http://www.iss.it/cnmr>) è presente un'area riservata alle linee guida in corso di elaborazione. L'accesso a tale area è limitato ai componenti del gruppo di lavoro autorizzati da credenziali (*username* e *password*) fornite dal Centro stesso.

L'area è costituita da tre sezioni (vedi figura 3, a pagina 15):

- raccomandazioni: contiene i testi delle raccomandazioni elaborate dai singoli esperti del gruppo di lavoro, ciascuno per la propria area di competenza, e sottoposte alle varie fasi del metodo Delphi
- newsletter: costituisce l'archivio dei vari documenti (verbali di riunioni, tabelle di marcia, eccetera) prodotti dal gruppo di lavoro e utili ai fini organizzativi
- documenti: area in cui sono raccolti i riferimenti bibliografici utilizzati per la stesura delle raccomandazioni.

L'uso del sito dedicato ha consentito una migliore e più rapida visualizzazione, analisi e valutazione degli elaborati, facilitando lo scambio di commenti e proposte e le eventuali modifiche dei testi in relazione ai suggerimenti del gruppo di lavoro.

Nel sito web sono state inoltre riportate le misure statistiche relative alle opinioni espresse per ciascun quesito (media, mediana, *range*) e la percentuale dei componenti del gruppo di lavoro che hanno valutato le raccomandazioni, per quantificare la valutazione di ogni raccomandazione e il livello di adesione del gruppo.

Aggiornamento e implementazione

L'aggiornamento della linea guida è previsto entro tre anni dalla pubblicazione del presente documento.

Tra le strategie d'intervento da adottare ai fini della diffusione del documento e di un'efficace implementazione attiva si possono indicare:

- presentazione a congressi nazionali e internazionali
- pubblicazioni scientifiche
- corsi di formazione ECM
- pubblicazioni su siti internet (SNLG-ISS, CNMR, società scientifiche)
- promozione dell'adozione formale nelle aziende sanitarie locali, negli ospedali, presso i medici specialisti, i medici di medicina generale e i pediatri di libera scelta
- campagne di promozione presso società scientifiche e gruppi di studio (per esempio: SIDeMAST, Società Italiana di dermatologia medica, chirurgica, estetica e delle malattie sessualmente trasmesse; Associazione dermatologi ospedalieri italiani, ADOI; Società italiana di genetica umana, SIGU; Società italiana di pediatria, SIP; Società italiana di neuropsicologia, SINP).

Bibliografia

1. Adler M, Ziglio E (eds). *Gazing into the Oracle: The Delphi method and its application to social policy and public health*. Kingsley Publishers, London, 1996.
2. Brown BB. *Delphi process: A methodology used for the elicitation of opinions of experts*. The RAND Corporation, Santa Monica (California), 1968.
3. Batista RN, Hodge MJ. Setting priorities and selecting topics for clinical practice guidelines. *CMAJ* 1995;153:1233-6.
4. Field MJ, Lohr KN (eds). *Guidelines for clinical practice: from development to use*. Institute of Medicine, National Academy Press, Washington DC, 1992.
5. Jackson R, Feder G. Guidelines for clinical guidelines. *BMJ* 1998;317:427-8.
6. Piano nazionale linee guida – Istituto superiore di sanità. *Manuale metodologico. Come produrre, diffondere e aggiornare raccomandazioni per la pratica clinica*. PNLG, Roma, 2004. Disponibile all'indirizzo: http://www.snlg-iss.it/manuale_metodologico_SNLG (visitato il 20-12-2010)
7. Sampson M, McGowan J, et al. An evidence-based practice guideline for the peer review of electronic search strategies. *J Clin Epidemiol* 2009;62:944-52.
8. Shaneyfelt TM, Mayo-Smith MF, Rothwangl J. Are guidelines following guidelines? The methodological quality of clinical practice guidelines in the peer-reviewed literature. *JAMA* 1999;281:1900-5.
9. Shekelle PG, Woolf SH, et al. Developing guidelines. *BMJ* 1999;318:593-6.
10. Skulmoski G, Hartman FT, Krahn J. The Delphi method for graduate research. *Journal of Information Technology Education* 2007;6:1-21.
11. Wiener B, Chacko S et al. Delphi survey of research priorities. *J Nurs Manag* 2009;17:532-8.

Definizione, epidemiologia e classificazione

Definizione

Le epidermolisi bollose ereditarie (EB) sono malattie rare dell'adesione epiteliale, trasmesse con modalità autosomica dominante o recessiva.

Comprendono quattro tipi maggiori: EB semplice o epidermolitica, EB giunzionale, EB distrofica o dermolitica e sindrome di Kindler (SK). Tutte le EB presentano fragilità della cute e delle mucose, che si associa alla formazione di bolle ed erosioni in seguito a traumi meccanici¹⁻⁴. La sindrome di Kindler è caratterizzata, oltre che da fragilità cutaneo-mucosa, anche da fotosensibilità e poichilodermia progressiva con estesa atrofia⁵. Le EB sono malattie invalidanti; la maggior parte dei pazienti presenta quadri clinici gravi, talvolta anche letali.

Epidemiologia

La prevalenza complessiva di EB semplice, EB giunzionale ed EB distrofica nella popolazione è stata stimata in 1/130.000 negli Stati Uniti⁶, 1/100.000 in Italia⁷, 1/20.000 in Scozia⁸. La SK è una patologia molto rara e probabilmente sottodiagnosticata, della quale sono stati descritti circa 200 casi.

Classificazione

La classificazione delle EB è particolarmente complessa per l'estrema eterogeneità clinica e genetica di questo gruppo di malattie, le cui basi molecolari sono state definite negli ultimi venti anni.

A partire dal 1988, un gruppo di studio internazionale composto da esperti del settore ha organizzato conferenze consenso per aggiornare i criteri per la diagnosi e la classificazione delle EB sulla base delle nuove acquisizioni clinico-molecolari^{4,9,10}. La presente trattazione fa riferimento alla terza revisione della classificazione delle EB, formulata nel 2007 e pubblicata nel 2008⁴. Con questo aggiornamento sono state incluse nel gruppo delle EB anche alcune malattie monogeniche molto rare e di recente definizione, che presentano fragilità cutanea e lesioni bollose indotte da traumatismi; i pazienti che sono affetti da queste malattie estremamente rare e orfane possono quindi beneficiare delle cure disponibili nei centri di riferimento per le EB⁴.

La classificazione delle EB nei quattro tipi maggiori è basata sul livello di formazione delle lesioni bollose nella cute⁴. All'interno di ciascun tipo si distinguono sottotipi maggiori (vedi tabella 1 a pagina 19), che a loro volta comprendono più varianti con quadri clinici e/o genetici diversi (vedi capitolo *Quadri clinici ed eziopatogenesi* a pagina 20). Per una trattazione specifica della giunzione dermo-epidermica (o membrana basale cutanea), dei componenti proteici dei complessi di adesione epitelio-mesenchimale e intercellulare nell'epidermide e delle loro funzioni si rimanda ad articoli di revisione^{3,11,12}.

Tabella 1. Classificazione delle epidermolisi bollose ereditarie in tipi e sottotipi maggiori

TIPO	SOTTOTIPI	
EB semplice o epidermolitica (EBS)	EBS soprabasale	EBS basale
EB giunzionale (EBG)	EBG di Herlitz	EBG, altre forme
EB distrofica o dermolitica (EBD)	EBD dominante	EBD recessiva
Sindrome di Kindler	/	

Bibliografia

1. Fine JD, Bauer EA et al (eds). Epidermolysis bullosa: clinical, epidemiologic and laboratory advances and the findings of the National Epidermolysis Bullosa Registry. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1999.
2. Ashton GH. Kindler syndrome. Clin Exp Dermatol 2004;29:116-21.
3. Has C, Bruckner-Tuderman L. Molecular and diagnostic aspects of genetic skin diseases. J Dermatol Sci 2006;44:129-44.
4. Fine JD, Eady RA et al. 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;58:931-50.
5. Fischer IA, Kazandjieva J et al. Kindler syndrome: a case report and proposal for clinical diagnostic criteria. Acta Dermatovenereol Alp Pannonica Adriat 2005;14:61-7.
6. Pfendner E, Uitto J, Fine JD. Epidermolysis bullosa carrier frequencies in the US population. J Invest Dermatol 2001;116:483-4.
7. Tadini G, Gualandri L et al. The Italian registry of hereditary epidermolysis bullosa. G Ital Dermatol Venereol 2005;140:359-72.
8. Horn HM, Priestley GC et al. The prevalence of epidermolysis bullosa in Scotland. Br J Dermatol 1997;136:560-4.
9. Fine JD, Bauer EA et al. Revised clinical and laboratory criteria for subtypes of inherited epidermolysis bullosa. A consensus report by the Subcommittee on Diagnosis and Classification of the National Epidermolysis Bullosa Registry. J Am Acad Dermatol 1991;24:119-35.
10. Fine JD, Eady RA et al. Revised classification system for inherited epidermolysis bullosa: Report of the Second International Consensus Meeting of Diagnosis and Classification of epidermolysis bullosa. J Am Acad Dermatol 2000;42:1051-66.
11. Masanuga T. Epidermal basement membrane: its molecular organization and blistering disorders. Connect Tissue Res 2006;47:55-6.
12. Meves A, Stremmel C et al. The kindlin protein family: new members to the club of focal adhesion proteins. Trends Cell Biol 2009;19:504-13.

Quadri clinici ed eziopatogenesi

Epidermolisi bollose semplici o epidermolitiche (EBS)

Le EBS sono definite dalla presenza di lesioni bollose intraepidermiche e costituiscono il tipo più comune di EB, rappresentando oltre il 50% dei casi¹⁻². Le EBS sono suddivise in due sottotipi maggiori che a loro volta comprendono diverse varianti³ (vedi tabella 2):

- le EBS basali includono tutte le varianti più frequenti di EBS, ma anche alcune varianti rare; sono dovute a citolisi dei cheratinociti basali e caratterizzate dalla presenza di lesioni bollose prevalentemente cutanee, che risolvono senza esiti cicatriziali maggiori
- le EBS soprabasali comprendono tre varianti estremamente rare in cui le lesioni si formano negli strati soprabasali dell'epidermide.

Le EBS sono trasmesse con modalità autosomica dominante o recessiva. Le EBS basali comprendono diverse varianti cliniche dovute a mutazioni nei geni KRT5, KRT14 e PLEC1; per due delle tre varianti di EBS soprabasali sono noti i geni causativi: PKP1 e DSP (vedi tabella 2).

Tabella 2. Classificazione delle epidermolisi bollose semplici (EBS) in sottotipi maggiori e varianti

Sottotipo	Variante clinica*	Ereditarietà	Gene (proteina) alterato
Basale	EBS localizzata**	AD	KRT5 e KRT14 (cheratine 5 e 14)
	EBS generalizzata***	AD	KRT5 e KRT14 (cheratine 5 e 14)
	EBS di Dowling-Meara	AD	KRT5 e KRT14 (cheratine 5 e 14)
	EBS con distrofia muscolare	AR	PLEC1 (plectina)
	<i>EBS con atresia pilorica</i>	AR	PLEC1 (plectina)
	<i>EBS di Ogna</i>	AD	PLEC1 (plectina)
	<i>EBS recessiva</i>	AR	KRT14 (cheratina 14)
	<i>EBS con pigmentazione mottled</i>	AD	KRT5 (cheratina 5)
	<i>EBS con eritema circinato migrante</i>	AD	KRT5 (cheratina 5)
Soprabasale	<i>EB acantolitica letale</i>	AR	DSP (desmoplachina)
	<i>EB da deficit di placofilina-1</i>	AR	PKP1 (placofilina-1)
	<i>EBS superficialis</i>	AD	NN****

Legenda: AD = autosomico dominante; AR = autosomico recessivo

Note:

* varianti rare in corsivo

** precedente denominazione: EBS di Weber-Cockayne

*** precedente denominazione: EBS di Köbner

**** NN: non noto. Identificata una mutazione in COL7A1 in una famiglia inizialmente descritta come EBS superficialis: per questa famiglia è stata riformulata la diagnosi di EB distrofica dominante

EBS basali

Le EBS basali comprendono nove varianti, di cui cinque rare.

L'EBS localizzata (o EBS di Weber-Cockayne; OMIM 131800) ha un esordio tra il primo anno e la seconda decade di vita. È caratterizzata da lesioni bollose di solito limitate ai piedi e alle mani, che tipicamente si aggravano nella stagione estiva, e da frequente iperidrosi. Si può osservare la formazione di lesioni bollose al cavo orale, in particolare nell'infanzia (almeno un episodio in circa il 25% dei pazienti), o la comparsa di cheratodermia palmo-plantare focale in età adulta. Non sono presenti alterazioni ungueali o dentali³⁻⁶. L'EBS localizzata e quella generalizzata sono le forme più comuni di EBS, rappresentando oltre l'80% dei casi¹. L'EBS localizzata è dovuta a una mutazione autosomica dominante nel gene KRT5, che codifica per la cheratina 5, oppure nel gene KRT14, che codifica per la cheratina 14, entrambe proteine dei tonofilamenti del citoscheletro dei cheratinociti basali negli epitelii stratificati^{3,4,7-11}.

L'EBS generalizzata (o EBS di Köbner; OMIM 131900) esordisce alla nascita ed è caratterizzata da lesioni cutanee preferenzialmente acroposte, ma che possono interessare tutta la superficie corporea, specie durante la stagione estiva, e comportare occasionalmente esiti cicatriziali atrofici. Le manifestazioni cliniche comprendono anche lesioni bollose della mucosa orale (in circa il 50% dei casi), frequente cheratodermia palmo-plantare focale a sviluppo progressivo, occasionali distrofie ungueali e, raramente, milia. Nella maggioranza dei pazienti si osserva un miglioramento del quadro clinico dopo la pubertà³⁻⁶. L'EBS generalizzata è dovuta ad una mutazione autosomica dominante nei geni KRT5 e KRT14^{3,4,7-11}.

L'EBS di Dowling-Meara (OMIM 131760) esordisce alla nascita ed è una forma di EB generalizzata caratterizzata da lesioni cutanee bollose diffuse con caratteristica distribuzione erpetiforme, lesioni del cavo orale e, raramente, laringee e oculari. Le manifestazioni, particolarmente gravi nel primo anno di vita, presentano un progressivo miglioramento fino all'età adulta. Le lesioni cutanee possono guarire con modesti esiti cicatriziali atrofici. Tra le manifestazioni cliniche più frequenti vi sono, inoltre, distrofie ungueali e cheratodermia palmo-plantare progressiva, mentre è occasionale la formazione di milia. Non si osservano alterazioni dei denti e dei capelli^{3-6,12}. I dati del Registro nazionale statunitense delle EB hanno evidenziato un rischio aumentato di sviluppo di carcinomi basocellulari nei pazienti con EBS di Dowling-Meara (rischio cumulativo: 43,6% a 55 anni)^{13,14}. Anche l'EBS di Dowling-Meara è dovuta ad una mutazione autosomica dominante nei geni KRT5 e KRT14^{3,4,7-11}.

L'EBS con distrofia muscolare (EBS-DM; OMIM 226670), molto più rara delle varianti descritte sopra, è caratterizzata da lesioni bollose cutanee congenite generalizzate, spesso emorragiche, che possono risolvere con modesti esiti cicatriziali atrofici e milia. Si associano lesioni della mucosa orale e, raramente, laringea (con possibilità di complicanze respiratorie) e distrofie ungueali. Altre manifestazioni descritte in una parte dei pazienti sono: anomalie dentali, stenosi uretrale, ipercheratosi palmo-plantare focale e alopecia localizzata. La distrofia muscolare, a cui è legata la prognosi della malattia, esordisce tra il primo anno e la quarta decade di vita e presenta un decorso progressivo^{3,15}. In due pazienti è stato descritto anche lo sviluppo di miocardiopatia dilatativa¹⁶. La EBS-DM è dovuta a mutazioni autosomiche recessive nel gene PLEC1 che codifica per la plectina, proteina

citoplasmatica degli emidesmosomi, le maggiori strutture di adesione tra i cheratinociti basali degli epiteli stratificati e la membrana basale. L'espressione della plectina anche a livello del muscolo striato spiega il coinvolgimento muscolare.

Varianti rare

L'EBS con pigmentazione *mottled* (OMIM 131960) ha caratteristiche simili alla variante generalizzata di EBS, contraddistinta da tipiche macule iperpigmentate e ipopigmentate con distribuzione a mosaico o reticolare, più evidenti agli arti e all'addome^{3,17,18}. Nella quasi totalità dei casi studiati è dovuta ad una mutazione *hotspot* autosomica dominante (p.P25L) nel gene KRT5; sono state inoltre descritte altre due mutazioni autosomiche dominanti, una in KRT5 e una in KRT14, associate con questo fenotipo¹⁷⁻¹⁹.

L'EBS con eritema circinato migrante (OMIM 609352), variante estremamente rara a esordio connatale o perinatale, descritta nel 2003 in due pazienti di origine asiatica, è caratterizzata da lesioni vescico-bollose su base eritematosa con disposizione arciforme (eritema circinato) che si estendono centrifugamente (migrante) e guariscono con iperpigmentazione. È dovuta ad una mutazione autosomica dominante nel gene KRT5^{3,20}.

L'EBS recessiva (OMIM 601001), con modalità di presentazione clinica variabile da lesioni bollose congenite, generalizzate e gravi a forme localizzate, è definita solo in base alla trasmissione autosomica recessiva^{3,10,21,22}. Il gene-malattia è KRT14.

L'EBS con atresia pilorica (EBS-AP: OMIM 612138), variante estremamente rara (7 casi riportati in letteratura) di recente descrizione, presenta alla nascita, oltre all'atresia pilorica, lesioni bollose cutanee generalizzate e, frequentemente, aplasia *cutis* congenita, malformazioni del padiglione auricolare e dell'ala del naso. La gravidanza di feti EBS-AP è di solito complicata da *polidramnios*, conseguente all'atresia pilorica. Si tratta di una forma estremamente grave e precocemente letale. È dovuta a mutazioni autosomiche recessive nel gene PLEC1^{3,23-26}.

L'EBS di Ognà (OMIM 131950), variante estremamente rara con esordio alla nascita, descritta originariamente in una piccola comunità norvegese, è caratterizzata dalla formazione di bolle emorragiche, lesioni ecchimotiche e da onicodistrofia. È dovuta a una mutazione missenso autosomica dominante nel gene PLEC1^{3,27}.

EBS soprabasali

Le EBS soprabasali comprendono tre varianti, tutte estremamente rare.

L'EB acantolitica letale (OMIM 609638) è una variante della quale è stato descritto un solo caso precocemente letale, che presentava erosioni cutanee congenite estese a gran parte della superficie corporea, alopecia universale, perdita delle lamine ungueali e denti neonatali²⁸. È dovuta a mutazioni autosomiche recessive del gene DSP che codifica per la desmoplachina, una proteina componente dei desmosomi, le maggiori strutture di adesione intercellulari dell'epidermide^{3,28}.

L'EB da deficit di placofilina-1 (o sindrome di displasia ectodermica/fragilità cutanea, o sindrome di McGrath; OMIM 604536), variante della quale sono stati descritti una decina di casi in letteratura. È caratterizzata da eritrodermia con erosioni generalizzate e lesioni bollose superficiali alla nascita: l'eritrodermia scompare di solito nel primo anno di vita e la fragilità cutanea tende a migliorare nel tempo. Sono inoltre presenti cheilite,

alopecia, distrofie ungueali e, frequentemente, ipoidrosi e ipercheratosi palmo-plantare a sviluppo progressivo^{3,29-31}. È dovuta a mutazioni autosomiche recessive nel gene PKP1 che codifica per la placofilina-1, una proteina componente dei desmosomi^{3,29-31}.

L'**EBBS superficialis** (OMIM 607600) è caratterizzata da erosioni acroposte o generalizzate a esordio connatale o nei primi mesi di vita, esiti cicatriziali atrofici e milia, distrofie ungueali e frequenti lesioni vescico-bollose del cavo orale^{3,4}. L'esistenza di questa variante è controversa in quanto in una delle due famiglie descritte originariamente è stata successivamente identificata una mutazione nel gene COL7A1, che codifica per il collagene di tipo VII e, quindi, diagnosticata come EB distrofica dominante^{3,32}.

Epidermolisi bollose giunzionali (EBG)

Le EBG sono definite dalla formazione di lesioni bollose tra l'epidermide e il derma, a livello della lamina lucida della membrana basale cutanea. Le lesioni guariscono con formazione di tessuto di granulazione ipertrofico e/o esiti atrofici. Nel loro insieme, le EBG rappresentano circa il 10% dei casi di EB².

Le EBG hanno origine da mutazioni trasmesse con modalità autosomica recessiva e comprendono diverse varianti cliniche dovute a mutazioni nei geni LAMA3, LAMB3, LAMC2, COL17A1, ITGB4 e ITGA6³ (vedi tabella 3).

L'attuale classificazione distingue due sottotipi maggiori³: l'EBG di Herlitz e le altre forme di EBG, che includono sei varianti di cui tre estremamente rare (vedi tabella 3).

EBG di Herlitz

L'EBG di Herlitz (EBG-H; anche detta EBG letale o EBG di Herlitz-Pearson; OMIM 226700) ha un esordio connatale, con lesioni bollose e disepitelizzate generalizza-

Tabella 3. Classificazione delle epidermolisi bollose giunzionali (EBG) in sottotipi maggiori e varianti

Sottotipo	Variante clinica*	Ereditarietà	Gene (proteina) alterato
EBG di Herlitz	–	AR	LAMA3, LAMB3, LAMC2 (laminina-332)
EBG, altre varianti	EBG non Herlitz generalizzata	AR	LAMA3, LAMB3, LAMC2 (laminina-332); COL17A1 (collagene di tipo XVII)
	EBG non Herlitz localizzata	AR	COL17A1 (collagene di tipo XVII)
	EBG con atresia pilorica	AR	ITGA6 e ITGB4 (integrina $\alpha 6\beta 4$)
	<i>EBG inversa</i>	AR	LAMA3, LAMB3, LAMC2 (laminina-332)
	<i>EBG a esordio tardivo</i>	AR	NN**
	<i>Sindrome laringo-onico-cutanea</i>	AR	LAMA3A (catena $\alpha 3a$ della laminina-332)

Legenda: AR = autosomico recessivo

Note: * varianti rare in corsivo; ** NN: non noto

te a carico della cute e delle mucose degli apparati digerente, respiratorio e genito-urinario. Le lesioni si estendono e si aggravano progressivamente nei primi mesi di vita^{3,4,6,12,33-36}.

A livello respiratorio, la formazione di lesioni e successive stenosi laringotracheali, con sintomatologia di pianto rauco (in circa il 47% dei casi), *stridor* (in circa il 44% dei casi) e distress respiratorio, domina il quadro clinico e richiede frequentemente la tracheotomia^{4,12,37-39}. Tra le possibili complicanze dell'interessamento genito-urinario vi sono: stenosi del meato uretrale (in circa l'11% dei casi), ritenzione urinaria (in circa il 9% dei casi), idronefrosi secondaria a stenosi ureterali (in circa il 7% dei casi) e ipertrofia vescicale (in circa il 4% dei casi)^{12,40}. È tipica la formazione di tessuto di granulazione ipertrofico in sede di lesione e la successiva guarigione con esiti atrofici^{3,4}. Sono anche costantemente presenti alterazioni ungueali (perdita delle lamine e perionissi), dentarie (ipoplasia dello smalto) e, nel 39-47,5% dei casi, oculari (abrasioni e cicatrici corneali, *ectropion*)^{3,4,12,14,41-43}. Completano il quadro clinico anemia, ipoalbuminemia e scarso accrescimento^{3,4,12,14,36}. La prognosi è infausta con *exitus* frequentemente entro il primo anno di vita, per complicanze infettive o secondarie al coinvolgimento mucoso^{3,4,14,33,34,44,45}.

La EBG-H è dovuta a mutazioni autosomiche recessive nei geni LAMA3, LAMB3, LAMC2, che codificano rispettivamente per le tre catene della laminina-332 (laminina-5): $\alpha 3$, $\beta 3$ e $\gamma 2$ ^{3,4,10,26,33,34,45}. La laminina-332 è espressa nelle membrane basali degli epitelii sia semplici sia stratificati ed è essenziale per l'adesione epiteliale.

Altre varianti di EBG

Questo sottotipo di EBG comprende sei varianti, di cui tre rare.

L'EBG non Herlitz generalizzata (detta anche EBG mite, o EB generalizzata *atrophicans mite*, o EBG non letale, o EBG *disentis*; OMIM 226650), a esordio connatale, presenta uno spettro di alterazioni cliniche simili a quelle dell'EBG di Herlitz, ma di minore gravità e quindi compatibili con la vita. Le lesioni bollose cutanee sono generalizzate, anche se di estensione variabile (mediamente tra il 5 e il 20% della superficie corporea) e preferenzialmente localizzate agli arti^{3,4,6,33,46}. Le lesioni guariscono con esiti cicatriziali atrofico-discromici; in una parte dei pazienti si osserva la formazione di tessuto di granulazione ipertrofico. Tra le lesioni mucose sono molto frequenti quelle del cavo orale (formazione almeno occasionale di vescico-bolle senza esiti cicatriziali in circa l'80% dei casi), seguono quelle oculari (abrasioni corneali nel 25-30% dei casi, cicatrici corneali nel 13%)^{3,4,12,41-43}. Molto più raro è il coinvolgimento genito-urinario, che può comportare stenosi uretrale (in circa il 2% dei casi) e ritenzione urinaria (nel 4% dei casi)^{3,4,40}. Sono costantemente presenti distrofie ungueali e dentarie, con ipoplasia dello smalto e carie^{3,4,14,33,46,47}. Una parte dei pazienti presenta inoltre un'alopecia da atrofia follicolare, evidente già nell'adolescenza, che interessa il cuoio capelluto e, in grado variabile, i peli terminali^{3,33,46,47}. La formazione di milia è occasionale^{3,4}. In una percentuale non definita di pazienti si osserva lo sviluppo di nevi melanocitici di grandi dimensioni, atipici, con un *pattern* dermatoscopico distintivo (questi nevi possono essere osservati anche nelle EBD e nelle EBS basali generalizzate); l'incidenza del melanoma non è aumentata^{13,14,48}. Tra le complicanze descritte si ricorda la possibile insorgenza di carcinomi squamocellulari cutanei in età adulta⁴⁹.

L'EBG non Herlitz generalizzata è dovuta a mutazioni autosomiche recessive nei geni LAMA3, LAMB3, LAMC2 e COL17A1, che codifica per il collagene di tipo XVII

(BP180), proteina transmembrana degli emidesmosomi^{3,10,26,33,45-47}. Da segnalare, infine, la descrizione di alcuni casi di EBG non Herlitz in cui i pazienti presentano aree di cute indenni da malattia, dovute a mosaicismismo somatico revertante⁵⁰⁻⁵³.

L'EBG non Herlitz localizzata (OMIM 226650) è una variante, anch'essa a esordio alla nascita, della quale sono stati descritti singoli casi, caratterizzati da lesioni bollose cutanee localizzate prevalentemente ai siti di traumatismo (mani, piedi, gomiti e ginocchia), distrofie ungueali e alterazioni dentali (ipoplasia dello smalto). L'interessamento mucoso è assente o limitato a lesioni bollose occasionali e transitorie del cavo orale. Si può osservare un diradamento dei peli terminali o, più frequentemente, nessuna alterazione pilifera.

Questa variante è dovuta a mutazioni autosomiche recessive nel gene COL17A^{13,46,54}. È stata inoltre descritta una famiglia in cui una mutazione dominante nel gene COL17A1 causa, oltre a ipoplasia dello smalto dentale, un fenotipo molto mite di EBG localizzata⁵⁵.

L'EBG con atresia pilorica (EBG-AP; detta anche sindrome di Carmi; OMIM 226730), a esordio connatale, si manifesta con estese lesioni cutanee e mucose; si distingue per la costante associazione con un'ostruzione congenita completa dello sbocco gastrico. La prognosi è nella maggioranza dei casi infausta entro il primo anno di vita, anche dopo correzione chirurgica dell'atresia pilorica^{3,12,56,57}. La gravidanza dei feti con EBG-AP è spesso complicata da *polidramnios*. È relativamente frequente l'associazione con aplasia *cutis* congenita e con anomalie del tratto genito-urinario, che comprendono rene policistico o displastico, idronefrosi, stenosi ureterali o uretrali, alterazioni vescicali^{3,10,12,26,56,57}. L'interessamento gastroenterico può estendersi dall'esofago al colon: la manifestazione clinica più frequente è la diarrea, spesso ematica. Sono frequenti anche le alterazioni dentarie, con ipoplasia dello smalto, e le distrofie ungueali e sono state descritte lesioni oculari e laringee. I casi non letali sono rari; le lesioni cutanee possono essere localizzate ed esordire anche nell'infanzia, mentre l'atresia pilorica è sempre congenita. La EBG con atresia pilorica è dovuta a mutazioni autosomiche recessive nei geni ITGA6 e ITGB4, che codificano per l'integrina $\alpha 6 \beta 4$, proteina transmembrana degli emidesmosomi^{3,10,26,56,57}.

Varianti rare

La **sindrome laringo-onico-cutanea** (detta anche sindrome di Shabbir o sindrome LOGIC, cioè sindrome con tessuto di granulazione laringeo e oculare in bambini del subcontinente indiano; OMIM 245660), che per il momento sembra essere confinata alla popolazione indiana del Punjab, esordisce nelle prime settimane o mesi di vita con pianto flebile e rauco ed è caratterizzata da formazione di tessuto di granulazione in sede laringea, che frequentemente rende necessaria la tracheotomia; lesioni analoghe della mucosa congiuntivale, con formazione di simblefaron e pterigio corneale che spesso esitano in cecità; ulcerazioni cutanee spontanee con formazione di tessuto di granulazione esuberante e scarsa tendenza alla guarigione, localizzate prevalentemente a mani, piedi, gomiti, ginocchia e viso; lesioni analoghe in sede peri e subungueale, con distrofia ungueale; alterazioni dentali con ipoplasia dello smalto. Non si osservano lesioni bollose. La prognosi è frequentemente infausta, con *exitus* in età infantile, per ostruzione respiratoria acuta o cronica. Nei pazienti che sopravvivono si assiste di solito a un progressivo, lento miglioramento della sintomatologia^{12,58,59}.

La malattia è causata da una mutazione omozigote *founder* (c.151insG) nel gene

LAMA3a che codifica per l'isoforma $\alpha 3a$ (LAMA3a; 38 esoni) della laminina-332⁵⁹.

L'EBG inversa (OMIM 226650) è una forma estremamente rara di EBG generalizzata non letale, che si manifesta alla nascita ed è caratterizzata da interessamento prevalente delle zone di piega. È causata da mutazioni autosomiche recessive nei geni che codificano per la laminina-332^{3,60}.

L'EBG a esordio tardivo (detta anche: EB progressiva; OMIM 226440) è una variante estremamente rara caratterizzata dall'esordio nell'adolescenza o anche in età adulta, con lesioni bollose localizzate e acroposte, distrofie ungueali e dentali (ipoplasia dello smalto). È descritta l'associazione con iperidrosi e anche con sordità^{3,61}. Il gene responsabile non è noto.

Epidermolisi bollose distrofiche o dermolitiche (EBD)

Le EBD si definiscono in base alla localizzazione delle lesioni bollose al di sotto della lamina densa della membrana basale cutanea nel derma papillare e si distinguono per la lenta guarigione, con cicatrici retraenti e formazione di milia. Nel loro insieme, le EBD rappresentano tra il 25% e il 35% dei casi di EB^{1,2}.

Si distinguono due sottotipi maggiori di EBD, definiti in base alla modalità di trasmissione autosomica recessiva o dominante. All'interno di questi due sottotipi maggiori vengono poi distinte diverse varianti cliniche (vedi tabella 4). Tutte le varianti di EBD sono dovute a mutazioni nel gene COL7A1, che codifica per il collagene di tipo VII, principale componente delle fibrille di ancoraggio che assicurano l'adesione della membrana basale degli epitelii stratificati al sottostante mesenchima (vedi tabella 4)⁶²⁻⁷³.

Tabella 4. Classificazione delle epidermolisi bollose distrofiche (EBD) in sottotipi maggiori e varianti

Sottotipo	Variante clinica*	Ereditarietà	Gene (proteina) alterato
EBDR	EBDR generalizzata grave**	AR	COL7A1 (collagene VII)
	EBDR generalizzata, altre forme	AR	COL7A1 (collagene VII)
	<i>EBDR inversa</i>	AR	COL7A1 (collagene VII)
	<i>EBDR acrale</i>	AR	COL7A1 (collagene VII)
	<i>EBDR pruriginosa</i>	AR	COL7A1 (collagene VII)
	<i>EBDD pretibiale</i>	AR	COL7A1 (collagene VII)
	<i>EBDR centripeta</i>	AR	COL7A1 (collagene VII)
	<i>EBDR, dermolisi bollosa transitoria del neonato</i>	AR	COL7A1 (collagene VII)
EBDD	<i>EBDD generalizzata</i>	AD	COL7A1 (collagene VII)
	<i>EBDD acrale</i>	AD	COL7A1 (collagene VII)
	<i>EBDD pruriginosa</i>	AD	COL7A1 (collagene VII)
	<i>EBDD pretibiale</i>	AD	COL7A1 (collagene VII)
	<i>EBDD ungueale</i>	AD	COL7A1 (collagene VII)
	<i>EBDD, dermolisi bollosa transitoria del neonato</i>	AD	COL7A1 (collagene VII)

Legenda: AD = autosomico dominante; AR = autosomico recessivo

Note: *varianti rare in corsivo **precedente denominazione: EBDR di Hallopeau-Siemens

EBD recessive (EBDR)

L'EBDR generalizzata grave (detta anche EBDR di Hallopeau-Siemens; OMIM 226600) esordisce alla nascita con lesioni bollose, ulcerazioni diffuse e continuamente recidivanti alla cute (è mediamente interessato il 25-50% della superficie corporea) e alle mucose rivestite da epitelio squamoso stratificato (cavo orale, laringe, trachea, esofago, ano, uretra, vagina, cornea). Si caratterizza per la gravità degli esiti cicatriziali retraenti, che a livello cutaneo comportano la comparsa di pseudosindattilia progressiva (con perdita delle laminae ungueali) fino alla completa fusione delle dita delle mani (in oltre il 95% dei casi) e dei piedi e ad anchilosi in flessione degli arti e del capo^{3,4,6,14,62-68,73,74}. È costante anche la formazione di milia e frequente quella di aree di alopecia cicatriziale. A livello della mucosa orale gli esiti cicatriziali delle lesioni bollose causano microstomia, anchiloglossia e obliterazione dei vestiboli orali (nel 70-80% dei casi); sono inoltre presenti carie dentali multiple secondarie alla scarsa igiene orale^{3,4,14}. L'interessamento esofageo si manifesta clinicamente con disfagia e odinofagia ed è caratterizzato dallo sviluppo di aderenze e stenosi di grado variabile, più frequentemente a carico del terzo superiore, con gravi problemi nutrizionali (rischio cumulativo di stenosi: circa 35% a 5 anni di età, circa 57% a 10 anni, circa 79% a 20 anni)^{3,4,12,35}. Possono inoltre essere presenti ragadi e stenosi anale e costipazione cronica (nel 75% dei casi)^{3,4,12,35}. A livello oculare si osservano erosioni corneali (nel 37-74% dei casi) con esiti cicatriziali (nel 42-50%) che possono anche causare cecità (circa nel 6% dei casi), oltre a blefariti (nel 17% dei casi) e simblefaron (nel 10-15% dei casi)^{3,4,12,41,43}. La più comune complicanza a carico dell'apparato genito-urinario è la stenosi del meato uretrale (in circa l'8% dei casi)^{12,40}. L'interessamento laringo-tracheale è molto raro, ma può richiedere la tracheotomia^{12,37,39}. Le complicanze sistemiche più frequenti sono: ritardo di accrescimento staturo-ponderale, anemia multifattoriale, sovrainfezioni, pubertà ritardata e osteoporosi^{3,4,14,75}. L'aspettativa di vita è significativamente ridotta (rischio cumulativo di decesso: 28,99% a 25 anni, 38,67% a 30 anni, 59,12% a 35 anni, 76,64% a 40 anni)^{3,4}. La causa più frequente di morte è il carcinoma squamocellulare: il rischio di comparsa di questa neoplasia è significativamente superiore a quello della popolazione generale già a partire dalla seconda decade di vita (rischio cumulativo: 7,5% a 20 anni, 67,8% a 35 anni, 80,2% a 45 anni)^{3,4,13,14}. Tra le altre cause di decesso vi sono l'insufficienza renale (rischio cumulativo: 12,3% a 35 anni) e la cardiomiopatia dilatativa (descritta in circa il 5% dei pazienti)⁷⁶⁻⁷⁸. La malattia è trasmessa con modalità autosomica recessiva^{3,4,10,62-68,70,73}.

L'EBDR generalizzata, altre forme (detta anche EBDR non Hallopeau-Siemens; OMIM 226600) viene distinta dalla variante di Hallopeau-Siemens per le deformità meno gravi. Comprende uno spettro di forme cliniche con esordio alla nascita, di gravità molto variabile per entità del coinvolgimento cutaneo e mucoso^{3,4,64,66-68,70}. Le lesioni cutanee interessano mediamente il 10-25% della superficie corporea, con costante coinvolgimento delle estremità^{3,4,6,64,66-68,70}, in parte dei casi, le lesioni tendono a migliorare a partire dall'adolescenza. Sono sempre presenti esiti cicatriziali, anche se di entità molto variabile, milia e distrofie ungueali; in una parte dei pazienti si osserva anche alopecia cicatriziale localizzata^{3,4,6,64,66-68,70,74}. A livello mucoso, oltre all'interessamento del cavo orale (lesioni bollose almeno occasionali in circa il 70% dei pazienti), è frequente il coinvolgimento esofageo (nel 37% dei casi) e quello oculare (lesioni corneali nel 32,45% dei casi), mentre

sono rare le complicanze a livello genito-urinario^{3,4,6,12,35,40,43,64,66-68,70}. Tra le possibili complicanze sistemiche vi sono anemia e ritardo di accrescimento staturo-ponderale. Anche in questi pazienti è descritta l'insorgenza di carcinomi squamocellulari (rischio cumulativo: 11,8% a 25 anni, 22,3% a 35 anni, 35,8% a 45 anni)^{13,14}. Il rischio cumulativo di decesso riportato nel Registro nazionale delle EB statunitense è del 20,61% a 40 anni⁴. La malattia è trasmessa con modalità autosomica recessiva^{3,4,10,62-68,70,72,73}.

EBD dominanti (EBDD)

L'**EBDD generalizzata** (OMIM 131750) è una forma con esordio alla nascita che presenta un ampio spettro di manifestazioni cliniche. Le lesioni bollose sono localizzate preferenzialmente agli arti (dorso delle mani e dei piedi, superfici estensorie degli arti inferiori e superiori), ma possono insorgere su tutto l'ambito cutaneo (mediamente è interessato il 5-10% della superficie corporea)^{3,4,6,64,66-68,70}. È frequente un miglioramento della sintomatologia cutanea a partire dall'adolescenza. La presenza di milia è costante e sono frequenti le cicatrici atrofiche a "buccia d'arancia" ai gomiti, alle ginocchia e al dorso delle mani, mentre è occasionale il reperto di cicatrici albo-papuloidi. Sono inoltre sempre presenti distrofie ungueali e si osservano spesso lesioni al cavo orale (nel 37% dei pazienti); l'interessamento dell'esofago è raro (rischio cumulativo di stenosi: 6% a 50 anni)^{4,12,35}. Anche le lesioni oculari e genito-urinarie sono rare^{12,40,43}. La malattia è trasmessa con modalità autosomica dominante^{3,4,10,63-68,70,72}.

Varianti rare di EBD e di EBDD

L'**EBDR inversa** (OMIM 226600) è una variante generalizzata, con esordio alla nascita, caratterizzata dall'interessamento prevalente delle zone di piega (cavi ascellari, inguine, solco intergluteo, eccetera) con formazione di cicatrici retraenti^{3,4,14,64,74,79}. Le lesioni delle mani e dei piedi possono portare a pseudosindattilia e contratture in flessione (rischio cumulativo: circa 25% a 15 anni). Sono costantemente presenti distrofie ungueali. Tipico, anche se raro, l'interessamento del condotto uditivo esterno con possibili esiti stenotici^{12,39}. Anche il coinvolgimento delle mucose è importante, con lesioni del cavo orale (lesioni bollose in circa il 90% dei casi, frequente microstomia e anchiloglossia, carie dentali multiple), dell'esofago con formazione di stenosi (fino all'86% dei casi), dell'ano e della vagina^{3,4,12,35}. Una parte dei pazienti presenta anemia e ritardo di accrescimento. Anche in questa variante vi è un rischio aumentato di sviluppo di carcinomi squamocellulari (rischio cumulativo: 23,3% a 50 anni)^{13,14}. La malattia si trasmette con modalità autosomica recessiva^{3,4,62,64,79}.

L'**EBDD (e l'EBDR) acrale** è caratterizzata da un esordio di solito nel primo anno di vita, da lesioni localizzate prevalentemente alle mani e ai piedi, da distrofie ungueali, cicatrici atrofiche e milia. È trasmessa con modalità autosomica dominante o recessiva^{3,64,68,80}.

L'**EBDD (e l'EBDR) pretibiale** (OMIM 131850), a esordio tra il primo anno e la seconda decade di vita, si manifesta con vescico-bolle tipicamente localizzate alle regioni pretibiali che risolvono con formazione di lesioni papulo-lichenoidi, spesso pruriginose. Possono inoltre essere interessate le mani e i piedi. Sono presenti anche distrofie ungueali e milia. È trasmessa con modalità autosomica dominante o recessiva^{3,64,81}.

La **dermolisi bollosa transitoria del neonato** (OMIM 131705), variante generalizza-

ta con esordio alla nascita, è caratterizzata dalla regressione spontanea delle lesioni bollose, di solito entro il primo anno di vita. Gli esiti cicatriziali permanenti sono minimi. Sono frequenti le distrofie ungueali, che possono persistere anche in età adulta. È trasmessa con modalità autosomica dominante o recessiva^{3,82,83}.

L'EBDD (e l'EBDR) pruriginosa (OMIM 604129), definita in base al prurito particolarmente intenso associato, è caratterizzata dalla formazione di lesioni papulo-nodulari o in placca, lichenoidi ed escoriate, e di cicatrici lineari ipertrofiche (da grattamento) prevalentemente localizzate agli arti, oltre a milia e distrofie ungueali. Le lesioni bollose possono manifestarsi alla nascita, nell'infanzia o nell'adolescenza e sono di entità molto variabile, con possibile interessamento anche delle mucose. L'insorgenza del prurito, a eziologia tuttora sconosciuta, può avvenire nell'infanzia e adolescenza o in età adulta e determina un netto peggioramento del quadro clinico e la comparsa delle lesioni tipiche. Almeno in un caso è stato descritto lo sviluppo di carcinoma squamocellulare nella sede delle lesioni lichenoidi. Questa variante è trasmessa con modalità autosomica dominante o recessiva^{3,10,69,71,84}.

L'EBDD ungueale (OMIM 607523) è una variante estremamente rara che si manifesta, di solito entro il primo anno di vita, con distrofie ungueali isolate, senza altra sintomatologia cutaneo-mucosa di rilievo. È trasmessa con modalità autosomica dominante^{3,85}.

L'EBDR centripeta, variante estremamente rara a esordio di solito entro il primo anno di vita; è caratterizzata dalla distribuzione delle lesioni che inizialmente sono acroposte (mani, piedi, regioni pretibiali) e mostrano poi una tendenza all'estensione centripeta. Sono inoltre presenti esiti cicatriziali cutanei, milia e distrofie ungueali, ma non gastro-intestinali, genito-urinari e oculari. È trasmessa con modalità autosomica recessiva^{3,86}.

Nota: In tutte le varianti comuni di EBD e in diverse varianti rare sono stati descritti pazienti che presentavano alla nascita aplasia cutis congenita (assenza localizzata della cute). Questa manifestazione può essere associata anche con varianti di EBS basale (più frequentemente l'EBS-AP) e di EBG (più frequentemente l'EBG-AP)^{3,4,5,22-25,56,87}. L'aplasia cutis congenita associata a EB è tipicamente bilaterale e più spesso localizzata agli arti inferiori, al di sotto del ginocchio. Essa è dovuta verosimilmente alla formazione di lesioni bollose durante la vita intrauterina. L'esame istologico rileva un'assenza costante dell'epidermide con presenza del derma e di tessuto di granulazione, dimostrando che non si tratta di un'aplasia della cute a tutto spessore.

Forma mista di epidermolisi bollosa: la sindrome di Kindler

La sindrome di Kindler (detta anche poichilodermia di Theresa Kindler; OMIM 173650) è clinicamente caratterizzata da lesioni bollose indotte da traumatismo che esordiscono alla nascita o nei primi giorni di vita; fotosensibilità di grado variabile, con eritema e lesioni bollose fotoindotte, evidente dalla prima infanzia; poichilodermia progressiva (atrofia, telangectasie e pigmentazione reticolare) a sviluppo graduale dall'infanzia, prevalentemente localizzata al viso e al collo; atrofia cutanea generalizzata, con caratteristico aspetto a carta di sigaretta, particolarmente evidente sul dorso delle mani e piedi, sulle superfici estensorie di gomiti e ginocchia e sull'addome⁸⁸⁻⁹². La formazione delle lesioni mecano-bollose si riduce progressivamente con l'età, fino a divenire del tutto eccezionale nell'adulto. Anche la fotosensibilità tende a ridursi dopo l'adolescenza. L'atrofia cutanea e, in misura minore, la poichilodermia contribuiscono a un aspetto di senescenza precoce

della cute. Possono inoltre associarsi lesioni mucose: a livello del cavo orale si osserva quasi sempre gengivite cronica e frequentemente parodontopatia a insorgenza precoce; l'interessamento di altre mucose rivestite da epitelii stratificati, con possibile formazione di stenosi esofagea, uretrale, vaginale, anale e anche laringea, è più occasionale. Altre caratteristiche osservate in una percentuale variabile di pazienti sono: ipercheratosi palmo-plantare, pseudosindattilia parziale e contratture in flessione delle dita, bande costrittive tipo *pseudoainhum* delle dita e perdita delle falangi distali, distrofie ungueali, leucoplachia del cavo orale e labbra, *ectropion*, fimosi. In una piccola percentuale dei pazienti è anche presente interessamento intestinale a carico del tenue e del colon, con diarrea grave spesso emorragica⁹³. Infine, la descrizione relativamente frequente dell'insorgenza di carcinomi squamocellulari indica un'aumentata suscettibilità allo sviluppo di questa neoplasia^{88,91,92}.

Nella sindrome di Kindler il piano di clivaggio delle lesioni bollose può essere localizzato a livello dei cheratinociti basali, nella lamina lucida e al di sotto della lamina densa della membrana basale cutanea. La presenza di diversi livelli di formazione delle lesioni bollose, unita alle manifestazioni cliniche, è alla base della definizione della sindrome di Kindler come forma mista di EB³.

La sindrome di Kindler è trasmessa con modalità autosomica recessiva e causata da mutazioni nel gene *KIND1/FERMT1* che codifica per la kindlina-1, una proteina fortemente espressa nei cheratinociti basali e localizzata in strutture deputate all'adesione cellulare, i contatti focali^{3,89,91-96}.

Bibliografia

1. Horn HM, Priestley GC et al. The prevalence of epidermolysis bullosa in Scotland. *Br J Dermatol* 1997;136:560-4.
2. Pfindner E, Uitto J, Fine JD. Epidermolysis bullosa carrier frequencies in the US population. *J Invest Dermatol* 2001;116:483-4.
3. Fine JD, Eady RA et al. 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;58:931-50.
4. Fine JD, Bauer EA et al (eds). Epidermolysis bullosa: clinical, epidemiologic and laboratory advances and the findings of the National Epidermolysis Bullosa Registry. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1999.
5. Horn HM, Tidman MJ. The clinical spectrum of epidermolysis bullosa simplex. *Br J Dermatol* 2000;142:468-72.
6. Devries DT, Johnson LB et al. Relative extent of skin involvement in inherited epidermolysis bullosa (EB): composite regional anatomic diagrams based on the findings of the National EB Registry, 1986 to 2002. *J Am Acad Dermatol* 2004;50:572-81.
7. Pfindner EG, Sadowski SG, Uitto J. Epidermolysis bullosa simplex: recurrent and de novo mutations in the *KRT5* and *KRT14* genes, phenotype/genotype correlations, and implications for genetic counseling and prenatal diagnosis. *J Invest Dermatol* 2005;125:239-43.
8. Yasukawa K, Sawamura D et al. Epidermolysis bullosa simplex in Japanese and Korean patients: genetic studies in 19 cases. *Br J Dermatol* 2006;155:313-7.
9. Müller FB, Küster W et al. Novel and recurrent mutations in keratin *KRT5* and *KRT14* genes in epidermolysis bullosa simplex: implications for disease phenotype and keratin filament assembly. *Hum Mutat* 2006;27:719-20.

10. Abu Sa'd J, Indelman M et al. Molecular epidemiology of hereditary epidermolysis bullosa in a Middle Eastern population. *J Invest Dermatol* 2006;126:777-81.
11. Rugg EL, Horn HM et al. Epidermolysis bullosa simplex in Scotland caused by a spectrum of keratin mutations. *J Invest Dermatol* 2007;127:574-80.
12. Fine JD, Mellerio JE. Extracutaneous manifestations and complications of inherited epidermolysis bullosa: part I. Epithelial associated tissues. *J Am Acad Dermatol* 2009;61:367-84.
13. Fine JD, Johnson LB et al. Epidermolysis bullosa and the risk of life-threatening cancers: the National EB Registry experience, 1986-2006. *J Am Acad Dermatol* 2009;60:203-11.
14. Fine JD, Mellerio JE. Extracutaneous manifestations and complications of inherited epidermolysis bullosa: part II. Other organs. *J Am Acad Dermatol* 2009;61:387-402.
15. Shimizu H, Takizawa Y et al. Epidermolysis bullosa simplex associated with muscular dystrophy: phenotype-genotype correlations and review of the literature. *J Am Acad Dermatol* 1999;41:950-6.
16. Bolling MC, Pas HH et al. PLEC1 mutations underlie adult-onset dilated cardiomyopathy in epidermolysis bullosa simplex with muscular dystrophy. *J Invest Dermatol* 2010;130:1178-81.
17. Irvine AD, Rugg EL et al. Molecular confirmation of the unique phenotype of epidermolysis bullosa simplex with mottled pigmentation. *Br J Dermatol* 2001;144:40-5.
18. Harel A, Bergman R et al. Epidermolysis bullosa simplex with mottled pigmentation resulting from a recurrent mutation in KRT14. *J Invest Dermatol* 2006;126:1654-7.
19. Horiguchi Y, Sawamura D et al. Clinical heterogeneity of 1649delG mutation in the tail domain of keratin 5: a Japanese family with epidermolysis bullosa simplex with mottled pigmentation. *J Invest Dermatol* 2005;125:83-5.
20. Gu LH, Kim SC et al. A usual frameshift and delayed termination codon mutation in keratin 5 causes a novel type of epidermolysis bullosa simplex with migratory circinate erythema. *J Invest Dermatol* 2003;121:482-5.
21. Has C, Chang YR et al. Novel keratin 14 mutations in patients with severe recessive epidermolysis bullosa simplex. *J Invest Dermatol* 2006;126:1912-4.
22. Yiasemides E, Trisnowati N et al. Clinical heterogeneity in recessive epidermolysis bullosa due to mutations in the keratin 14 gene, KRT14. *Clin Exp Dermatol* 2008;33:689-97.
23. Charlesworth A, Gagnoux-Palacios L et al. Identification of a lethal form of epidermolysis bullosa simplex associated with a homozygous genetic mutation in plectin. *J Invest Dermatol* 2003;121:1344-8.
24. Nakamura H, Sawamura D et al. Epidermolysis bullosa simplex associated with pyloric atresia is a novel clinical subtype caused by mutations in the plectin gene (PLEC1). *J Mol Diagn* 2005;7:28-35.
25. Pfendner E, Uitto J. Plectin gene mutations can cause epidermolysis bullosa with pyloric atresia. *J Invest Dermatol* 2005;124:111-5.
26. Varki R, Sadowski S et al. Epidermolysis bullosa. I. Molecular genetics of the junctional and hemidesmosomal variants. *J Med Genet* 2006;43:641-52.
27. Koss-Harnes D, Hoyheim B et al. A site-specific plectin mutation causes dominant epidermolysis bullosa simplex Ogna: two identical de novo mutations. *J Invest Dermatol* 2002;118:87-93.
28. Jonkman MF, Pasmooij AM et al. Loss of desmoplakin tail causes lethal acantholytic epidermolysis bullosa. *Am J Hum Genet* 2005;77:653-60.
29. Whittock NV, Haftek M et al. Genomic amplification of the human plakophilin 1 gene and detection of a new mutation in ectodermal dysplasia/skin fragility syndrome. *J Invest Dermatol* 2000;115:368-74.
30. Ersoy-Evans S, Erkin G et al. Ectodermal dysplasia-skin fragility syndrome resulting from a new homozygous mutation, 888delC, in the desmosomal protein plakophilin 1. *J Am Acad Dermatol* 2006;55:157-61.
31. Tanaka A, Lai-Cheong JE et al. Novel truncating mutations in PKP1 and DSP cause similar skin phenotypes in two Brazilian families. *Br J Dermatol* 2009;160:692-7.
32. Martinez-Mir A, Liu J et al. EB simplex superfi-

cialis resulting from a mutation in the type VII collagen gene. *J Invest Dermatol* 2002;118:547-9.

33. Posteraro P, De Luca N et al. Laminin-5 mutational analysis in an Italian cohort of patients with junctional epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 2004;123:639-48.

34. Castori M, Floriddia G et al. Herlitz junctional epidermolysis bullosa: laminin-5 mutational profile and carrier frequency in the Italian population. *Br J Dermatol* 2008;158:38-44.

35. Fine JD, Johnson LB et al. Gastrointestinal complications of inherited epidermolysis bullosa: cumulative experience of the National Epidermolysis Bullosa Registry. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008;46:147-58.

36. Freeman EB, Köglmeier J et al. Gastrointestinal complications of epidermolysis bullosa in children. *Br J Dermatol* 2008;158:1308-14.

37. Liu RM, Papsin BC, de Jong AL. Epidermolysis bullosa of the head and neck: a case report of laryngotracheal involvement and 10-year review of cases at the Hospital for Sick Children. *J Otolaryngol* 1999;28:76-82.

38. Hore I, Bajaj Y et al. The management of general and disease specific ENT problems in children with Epidermolysis Bullosa - a retrospective case note review. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2007;71:385-91.

39. Fine JD, Johnson LB et al. Tracheolaryngeal complications of inherited epidermolysis bullosa: cumulative experience of the national epidermolysis bullosa registry. *Laryngoscope* 2007;117:1652-60.

40. Fine JD, Johnson LB et al. Genitourinary complications of inherited epidermolysis bullosa: experience of the national epidermolysis bullosa registry and review of the literature. *J Urol* 2004;172:2040-4.

41. Lin AN, Murphy F et al. Review of ophthalmic findings in 204 patients with epidermolysis bullosa. *Am J Ophthalmol* 1994, 118:384-90.

42. Tong L, Hodgkins PR et al. The eye in epidermolysis bullosa. *Br J Ophthalmol* 1999;83:323-6.

43. Fine JD, Johnson LB et al. Eye involvement in inherited epidermolysis bullosa: experience of the National Epidermolysis Bullosa Registry. *Am J*

Ophthalmol 2004;138:254-62.

44. Fine JD, Johnson LB et al. Cause-specific risks of childhood death in inherited epidermolysis bullosa. *J Pediatr* 2008;152:276-80.

45. Nakano A, Chao SC et al. Laminin 5 mutations in junctional epidermolysis bullosa: molecular basis of Herlitz vs non-Herlitz phenotypes. *Hum Genet* 2002;110:41-51.

46. Pasmooij AM, Pas HH et al. Localized and generalized forms of blistering in junctional epidermolysis bullosa due to COL17A1 mutations in the Netherlands. *Br J Dermatol* 2007;156:861-70.

47. Bauer JW, Lanschuetzer C. Type XVII collagen gene mutations in junctional epidermolysis bullosa and prospects for gene therapy. *Clin Exp Dermatol* 2003;28:53-6.

48. Lanschuetzer CM, Emberger M et al. Epidermolysis bullosa naevi reveal a distinctive dermoscopic pattern. *Br J Dermatol* 2005;153: 97-102.

49. Mallipeddi R, Keane FM et al. Increased risk of squamous cell carcinoma in junctional epidermolysis bullosa. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2004;18:521-6.

50. Jonkman MF, Scheffer H et al. Revertant mosaicism in epidermolysis bullosa caused by mitotic gene conversion. *Cell* 1997;88:543-51.

51. Pasmooij AM, Pas HH et al. Multiple correcting COL17A1 mutations in patients with revertant mosaicism of epidermolysis bullosa. *Am J Hum Genet* 2005, 77:727-40.

52. Pasmooij AM, Pas HH et al. Revertant mosaicism in junctional epidermolysis bullosa due to multiple correcting second-site mutations in LAMB3. *J Clin Invest* 2007;117:1240-8.

53. Jonkman MF, Pasmooij AM. Revertant mosaicism--patchwork in the skin. *N Engl J Med* 2009;360:1680-2.

54. Ruzzi L, Pas H et al. A homozygous nonsense mutation in type XVII collagen gene (COL17A1) uncovers an alternatively spliced mRNA accounting for an unusually mild form of non-Herlitz junctional epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 2001;116:182-7.

55. Almaani N, Liu L et al. Autosomal dominant

- junctional epidermolysis bullosa. *Br J Dermatol* 2009;160:1094-7.
56. Dank JP, Kim S et al. Outcome after surgical repair of junctional epidermolysis bullosa-pyloric atresia syndrome: a report of 3 cases and review of the literature. *Arch Dermatol* 1999;135:1243-7.
57. Nakano A, Pulkkinen L et al. Epidermolysis bullosa with congenital pyloric atresia: novel mutations in the 4 integrin gene (ITGB4) and genotype/phenotype correlations. *Pediatr Res* 2001;49:618-26.
58. Phillips RJ, Atherton DJ et al. Laryngo-onycho-cutaneous syndrome: an inherited epithelial defect. *Arch Dis Child* 1994;70:319-26.
59. McLean WH, Irvine AD et al. An unusual N-terminal deletion of the laminin alpha3a isoform leads to the chronic granulation tissue disorder laryngo-onycho-cutaneous syndrome. *Hum Mol Genet* 2003; 12:2395-2409. Erratum in: *Hum Mol Genet* 2004;13:365.
60. Gedde-Dahl T Jr, Dupuy BM et al. Junctional epidermolysis bullosa inversa (locus EBR2A) assigned to 1q31 by linkage and association to LAMC1. *Hum Mol Genet* 1994;3:1387-91.
61. Stouthamer A, Nieboer C et al. Normal expression of the 19-DEJ-1 epitope in two siblings with late-onset junctional epidermolysis bullosa. *Br J Dermatol* 2001;144:1054-7.
62. Hovnanian A, Rochat A et al. 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.
63. Whittock NV, Ashton GH et al. Comparative mutation detection screening of the type VII collagen gene (COL7A1) using the protein truncation test, fluorescent chemical cleavage of mismatch, and conformation sensitive gel electrophoresis. *J Invest Dermatol* 1999;113:673-86.
64. Gardella R, Castiglia D et al. Genotype-phenotype correlation in Italian patients with dystrophic epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 2002;119:1456-62.
65. Sawamura D, Goto M et al. Genetic studies of 20 Japanese families of dystrophic epidermolysis bullosa. *J Hum Genet* 2005;50:543-6.
66. Posteraro P, Pascucci M et al. Denaturing HPLC-based approach for detection of COL7A1 gene mutations causing dystrophic epidermolysis bullosa. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;338:1391-401.
67. Kern JS, Kohlhasse J et al. Expanding the COL7A1 mutation database: novel and recurrent mutations and unusual genotype-phenotype constellations in 41 patients with dystrophic epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 2006;126:1006-12.
68. Dang N, Klingberg S et al. Review of collagen VII sequence variants found in Australasian patients with dystrophic epidermolysis bullosa reveals nine novel COL7A1 variants. *J Dermatol Sci* 2007;46:169-78.
69. Drera B, Castiglia D et al. Dystrophic epidermolysis bullosa pruriginosa in Italy: clinical and molecular characterization. *Clin Genet* 2006;70:339-47.
70. Varki R, Sadowski S et al. Epidermolysis bullosa. II. Type VII collagen mutations and phenotype-genotype correlations in the dystrophic subtypes. *J Med Genet* 2007;44:181-92.
71. Almaani N, Liu L et al. New glycine substitution mutations in type VII collagen underlying epidermolysis bullosa pruriginosa but the phenotype is not explained by a common polymorphism in the matrix metalloproteinase-1 gene promoter. *Acta Derm Venereol* 2009;89:6-11.
72. Kern JS, Grüniger G et al. Forty-two novel COL7A1 mutations and the role of a frequent single nucleotide polymorphism in the MMP1 promoter in modulation of disease severity in a large European dystrophic epidermolysis bullosa cohort. *Br J Dermatol* 2009;161:1089-97.
73. van den Akker PC, van Essen AJ et al. Long-term follow-up of patients with recessive dystrophic epidermolysis bullosa in the Netherlands: expansion of the mutation database and unusual phenotype-genotype correlations. *J Dermatol Sci* 2009;56:9-18.
74. Fine JD, Johnson LB et al. Pseudosyndactyly and musculoskeletal contractures in inherited epidermolysis bullosa: experience of the National Epidermolysis Bullosa Registry, 1986-2002. *J Hand Surg [Br]* 2005;30:14-22.
75. Fewtrell MS, Allgrove J et al. Bone minerali-

- zation in children with epidermolysis bullosa. *Br J Dermatol* 2006;154:959-62.
76. Sidwell RU, Yates R, Atherton D. Dilated cardiomyopathy in dystrophic epidermolysis bullosa. *Arch Dis Child* 2000;83:59-63.
77. Fine JD, Hall M et al. The risk of cardiomyopathy in inherited epidermolysis bullosa. *Br J Dermatol* 2008;159:677-82.
78. Fine JD, Johnson LB et al; National Epidermolysis Bullosa Registry. Inherited epidermolysis bullosa and the risk of death from renal disease: experience of the National Epidermolysis Bullosa Registry. *Am J Kidney Dis* 2004;44:651-60.
79. Lin AN, Smith LT, Fine JD. Dystrophic epidermolysis bullosa inversa: report of two cases with further correlation between electron microscopic and immunofluorescence studies. *J Am Acad Dermatol* 1995;33:361-5.
80. Terracina M, Posteraro P et al. Compound heterozygosity for a recessive glycine substitution and a splice site mutation in the COL7A1 gene causes an unusually mild form of localized recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 1998;111:744-50.
81. Christiano AM, Lee JY et al. Pretibial epidermolysis bullosa: genetic linkage to COL7A1 and identification of a glycine-to-cysteine substitution in the triple-helical domain of type VII collagen. *Hum Mol Genet* 1995;4:1579-83.
82. Christiano AM, Fine JD, Uitto J. Genetic basis of dominantly inherited transient bullous dermatolysis of the newborn: a splice site mutation in the type VII collagen gene. *J Invest Dermatol* 1997;109:811-4.
83. Fassihi H, Diba VC et al. Transient bullous dermatolysis of the newborn in three generations. *Br J Dermatol* 2005;153:1058-63.
84. McGrath JA, Schofield OM, Eady RA. Epidermolysis bullosa pruriginosa: dystrophic epidermolysis bullosa with distinctive clinicopathological features. *Br J Dermatol* 1994;130:617-25.
85. Dharma B, Moss C et al. Dominant dystrophic epidermolysis bullosa presenting as familial nail dystrophy. *Clin Exp Dermatol* 2001;26:93-6.
86. Fine JD, Osment LS, Gay S. Dystrophic epidermolysis bullosa. A new variant characterized by progressive symmetrical centripetal involvement with scarring. *Arch Dermatol* 1985;121:1014-7.
87. Fine JD, Eady RA et al. Revised classification system for inherited epidermolysis bullosa: Report of the Second International Consensus Meeting on diagnosis and classification of epidermolysis bullosa. *J Am Acad Dermatol* 2000;42:1051-66.
88. Hovnanian A, Blanchet-Bardon C, de Prost Y. Poikiloderma of Theresa Kindler: report of a case with ultrastructural study, and review of the literature. *Pediatr Dermatol* 1989;6:82-90.
89. Lai-Cheong JE, Tanaka A et al. Kindler syndrome: a focal adhesion genodermatosis. *Br J Dermatol* 2009;160:233-42.
90. Penagos H, Jaen M et al. Kindler syndrome in native Americans from Panama: report of 26 cases. *Arch Dermatol* 2004;140:939-44.
91. Has C, Wessagowit V et al. Molecular basis of Kindler syndrome in Italy: novel and recurrent Alu/Alu recombination, splice site, nonsense, and frameshift mutations in the KIND1 gene. *J Invest Dermatol* 2006;126:1776-83.
92. Arita K, Wessagowit V et al. Unusual molecular findings in Kindler syndrome. *Br J Dermatol* 2007;157:1252-6.
93. Kern JS, Herz C et al. Chronic colitis due to an epithelial barrier defect: the role of kindlin-1 isoforms. *J Pathol* 2007;213:462-70.
94. Jobard F, Bouadjar B et al. Identification of mutations in a new gene encoding a FERM family protein with a pleckstrin homology domain in Kindler syndrome. *Hum Mol Genet* 2003;12:925-35.
95. Siegel DH, Ashton GH et al. Loss of kindlin-1, a human homolog of the *Caenorhabditis elegans* actin-extracellular-matrix linker protein UNC-112, causes Kindler syndrome. *Am J Hum Genet* 2003;73:174-87.
96. Ashton GH, McLean WH et al. Recurrent mutations in kindlin-1, a novel keratinocyte focal contact protein, in the autosomal recessive skin fragility and photosensitivity disorder, Kindler syndrome. *J Invest Dermatol* 2004;122:78-83.

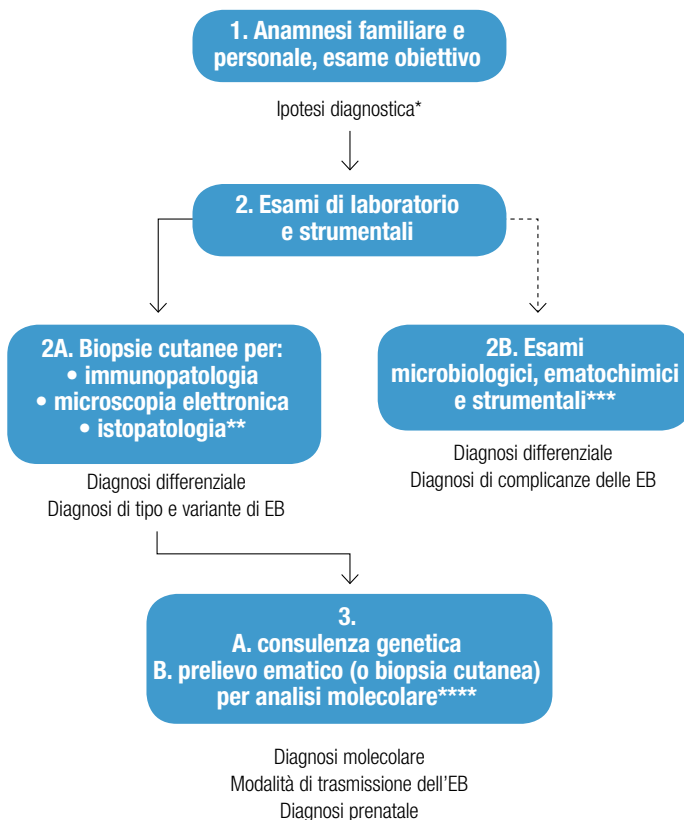
Percorso diagnostico e comunicazione della diagnosi

Premessa

Il percorso diagnostico delle epidermolisi bollose ereditarie (EB) prevede tre fasi sequenziali (vedi figura 4)¹⁻⁴:

- anamnesi familiare, anamnesi personale ed esame obiettivo
- esami di laboratorio e strumentali che comprendono:
 - biopsie cutanee per l'analisi immunopatologica, ultrastrutturale e, in casi selezionati, istopatologica
 - esami microbiologici, ematochimici e strumentali, se indicati
 - consulenza genetica, eventualmente seguita da analisi genetico-molecolare.

Figura 4. Diagramma di flusso del percorso diagnostico delle epidermolisi bollose ereditarie (EB)



Note:

* L'insieme dei dati clinici porta a formulare una o più ipotesi diagnostiche e a definire quali esami di laboratorio debbano essere eseguiti in seguito.

** L'indagine immunopatologica e quella ultrastrutturale sono indicate in tutti i pazienti con sospetta EB, mentre l'istopatologia viene eseguita in casi selezionati.

*** Questi esami sono indicati in casi selezionati.

**** La consulenza genetica pre test stabilisce anche l'indicazione a eseguire l'analisi molecolare.

Le varie fasi del percorso diagnostico, in particolare l'esecuzione di prelievi bioptici di cute e l'indagine genetico-molecolare, richiedono l'informazione e il consenso del soggetto o, in sua vece, degli aventi diritto, come descritto nei dettagli nel capitolo *Aspetti etico-deontologici*, a pagina 104.

Anamnesi familiare, personale ed esame obiettivo

Di fronte ad un paziente con lesioni vescico-bollose indotte da traumatismo e/o fragilità cutanea, la raccolta dell'anamnesi familiare e personale e l'esame obiettivo³, insieme alla richiesta di visita specialistica dermatologica (in caso il paziente sia seguito in ambito neonatologico o pediatrico o da altri specialisti), rappresentano la prima fase dell'iter diagnostico e portano a formulare una o più ipotesi diagnostiche e a decidere se e quali ulteriori accertamenti eseguire.

L'indagine anamnestică comprende:

- la ricerca di eventuali patologie materne, in particolari autoimmuni o infettive
- la ricerca di altri casi di EB o di altre malattie genetiche con fragilità cutanea nella famiglia
- la ricerca di eventuale consanguineità dei genitori o loro origine dalla medesima area geografica (in particolare se isolata)
- la costruzione di un albero genealogico
- l'andamento della gravidanza ed eventuali manifestazioni associate (per esempio *polidramnios*).

Un'accurata anamnesi familiare consente di porre e confermare contemporaneamente il sospetto diagnostico di EB nei casi familiari: in famiglie con diagnosi di tipo e variante di EB già accertata e caratteristiche cliniche compatibili nel soggetto analizzato non è necessario eseguire ulteriori indagini diagnostiche. Inoltre suggerisce una forma di EB autosomica recessiva in caso di consanguineità dei genitori.

Tuttavia, l'EB si presenta spesso come un evento sporadico nella famiglia: questi casi sono riconducibili a mutazioni autosomiche recessive o dominanti *de novo* (per la modalità di trasmissione delle diverse varianti di EB vedere il capitolo *Quadri clinici ed eziopatogenesi*, a pagina 20). In questi pazienti è necessario procedere agli esami su tessuto (in particolare all'indagine immunopatologica e ultrastrutturale). L'anamnesi familiare è inoltre rilevante ai fini della diagnosi differenziale tra EB ed altre malattie con fragilità cutanea e/o lesioni vescico-bollose (per maggiori dettagli vedere il capitolo *Diagnosi differenziale*, a pagina 50).

Nella raccolta dell'anamnesi fisiologica e patologica è importante determinare:

- l'età di insorgenza, l'estensione, la localizzazione e l'evoluzione delle manifestazioni cutanee (caratteristiche delle lesioni bollose, presenza o meno di esiti cicatriziali), nonché una loro eventuale origine da causa esterna
- l'interessamento degli annessi cutanei (in particolare unghie e peli)
- la presenza e la tipologia di eventuali manifestazioni extracutanee sia a carico di vari organi e apparati (denti, mucosa orale e distretto otorinolaringoiatrico, occhi, ap-

parati muscolo-scheletrico, gastroenterico, respiratorio, genito-urinario ed emopoietico), sia sistemiche (febbre e ritardo di accrescimento).

L'esame obiettivo dermatologico deve porre attenzione agli elementi che possono indirizzare la diagnosi, in particolare:

- distribuzione delle lesioni cutanee (generalizzata o localizzata, simmetrica o monolaterale, eccetera)
- morfologia delle lesioni cutanee (dimensioni e contenuto delle lesioni vescico-bollose, eventuale presenza di eritema e/o ipercheratosi, presenza di erosioni, ulcerazioni, croste, tessuto di granulazione ipertrofico, lesioni papulo-lichenoidi, milia, cicatrici atrofiche o retraenti, ipercheratosi palmo-plantare, eccetera)
- interessamento degli annessi cutanei (unghie, ghiandole sudoripare, capelli e peli terminali) e dei denti
- coinvolgimento delle mucose (cavo orale, congiuntiva, mucosa nasale, genitale e anale).

In parallelo devono essere esaminate tutte le manifestazioni extracutanee, la cui valutazione completa può richiedere diverse visite specialistiche: in primo luogo una visita pediatrica (se il paziente è seguito in ambito dermatologico) e, in base alla sintomatologia, una visita oculistica, odontoiatrica, otorinolaringoiatrica, neurologica, urologica o nefrologica, ortopedica, gastroenterologica e ginecologica.

Nell'insieme, la raccolta dei dati anamnestici e obiettivi porta a formulare una o più ipotesi diagnostiche. Essa è spesso sufficiente a porre specificamente il sospetto di EB, escludendo le altre patologie con fragilità cutanea e/o lesioni vescico-bollose (per maggiori dettagli vedi capitolo *Diagnosi differenziale*, a pagina 50). L'insieme dei dati clinici può inoltre orientare verso uno dei quattro tipi maggiori di EB (semplice, giunzionale, distrofica o sindrome di Kindler) e, in particolari casi, anche verso una specifica variante.

Per facilitare la raccolta dei dati anamnestici e obiettivi viene proposto un modello di cartella clinica riferita specificamente al momento della diagnosi (vedi appendice 2 *Cartella clinica* a pagina 120). La rilevanza dei dati clinici nell'indirizzare la diagnosi di tipo, sottotipo e variante di EB aumenta progressivamente con l'età del soggetto esaminato: nel neonato, in particolare, le manifestazioni dei quattro tipi maggiori di EB sono molto simili e difficilmente distinguibili clinicamente, a fronte di prognosi radicalmente diverse (nei primi giorni di vita sono differenziabili solo le forme di EB con atresia pilorica, che sono geneticamente eterogenee e, per la loro gravità, richiedono di solito anche la diagnosi molecolare).

Per porre una diagnosi tempestiva e accurata del tipo e della variante di EB è quindi necessario eseguire, all'esordio della malattia, anche le indagini di laboratorio, immunopatologiche e ultrastrutturali, previste dalla fase 2 del percorso diagnostico (vedi figura 4). Più raramente, al termine della raccolta dei dati clinici persiste il dubbio diagnostico con altre patologie e diventa quindi necessario eseguire indagini di laboratorio aggiuntive, come descritto in dettaglio nel paragrafo successivo, *Esami di laboratorio e strumentali*.

Esami di laboratorio e strumentali

Indagine immunopatologica, ultrastrutturale e istopatologica

Il percorso diagnostico delle EB prevede, quindi, l'esecuzione di prelievi biotici di cute per indagini immunopatologiche, ultrastrutturali e, in casi selezionati, istopatologiche^{1,3,4}. Nel loro insieme queste indagini sono utili, in casi selezionati, a porre la diagnosi differenziale tra EB e altre patologie con fragilità cutanea e/o lesioni vescico-bollose; inoltre consentono, se eseguite correttamente, di porre la diagnosi di tipo e di numerose varianti di EB. L'unica eccezione è la sindrome di Kindler: in questa patologia i reperti immunopatologici e ultrastrutturali sono suggestivi, ma non diagnostici e, in assenza delle manifestazioni cliniche caratteristiche, è opportuno confermare la diagnosi mediante test genetico.

Il ricorso a prelievi biotici multipli e a diverse tipologie di esami su tessuto è dovuto a diverse ragioni: l'impossibilità di determinare con tecniche istopatologiche standard il livello di formazione delle lesioni bollose nelle EBG e EBD, per l'insufficiente potere di risoluzione del microscopio ottico; il valore diagnostico e, in una parte dei casi, anche prognostico di reperti specifici evidenziabili solo con una determinata tecnica, cioè la microscopia elettronica (in particolare aggregati di tonofilamenti nell'EBS di Dowling-Meara) o l'indagine immunopatologica, quest'ultima in quanto in grado di rilevare l'espressione alterata di proteine specifiche^{1,4,5}.

L'analisi istopatologica deve essere eseguita sulla biopsia di una lesione vescico-bollosa recente ed è indicata specificamente³:

- in caso di dubbio diagnostico tra EB e altre patologie con fragilità cutanea e/o lesioni vescico-bollose che presentano quadri istologici specifici, in particolare altre genodermatosi quali l'eritrodermia ittiosiforme congenita bollosa, l'ipercheratosi epidermolitica, l'ittiosi bollosa di Siemens, l'incontinentia pigmenti, la mastocitosi bollosa
- in caso di sospetto diagnostico di una rarissima forma di EBS soprabasale (EBS acantolitica letale e EBS da deficit di placofilina-1), in quanto evidenzia il livello di separazione soprabasale e altre alterazioni dell'epidermide (spazi intercellulari dilatati, presenza di acantolisi) utili alla diagnosi.

In base alle dimensioni della lesione, si potrà quindi eseguire una biopsia incisionale o una biopsia mediante punch.

In caso di dubbio diagnostico tra EB ed infezioni da herpes virus (*Herpes simplex* neonatale e varicella congenita e neonatale) è utile praticare anche un esame citodiagnostico di Tzanck: il prelievo viene eseguito dal fondo di una lesione vescico-bollosa recente^{6,7}.

L'indagine immunopatologica e quella ultrastrutturale consentono di definire il piano di clivaggio e quindi il tipo maggiore di EB e di evidenziare rispettivamente alterazioni morfologiche delle strutture dei complessi di adesione epiteliali e alterazioni di espressione di specifiche componenti proteiche degli stessi complessi, rilevanti ai fini della diagnosi di singole varianti di EB e dell'identificazione del o dei geni candidati su cui eseguire la successiva analisi molecolare^{1,3-5}. Queste due indagini rappresentano

quindi un momento fondamentale nel protocollo diagnostico e, considerata l'elevata eterogeneità genetica delle EB, devono regolarmente precedere l'analisi genetico-molecolare. Per una trattazione dettagliata dei reperti delle indagini immunopatologica e ultrastrutturale e del loro significato ai fini della diagnosi di tipo e variante di EB si rimanda al capitolo *Indagini immunopatologiche e ultrastrutturali*, a pagina 66.

Infine, in caso di dubbio diagnostico tra EB e una patologia bollosa autoimmune, l'indagine immunopatologica deve comprendere una reazione di immunofluorescenza diretta che è diagnostica per tutte le malattie bollose autoimmuni (pemfigo nelle varie espressioni cliniche, pemfigoidi, dermatosi bollosa a IgA lineari, epidermolisi bollosa acquisita e dermatite erpetiforme)⁶. Per maggiori dettagli si rimanda al capitolo *Diagnosi differenziale*, a pagina 50.

Nel caso dell'indagine immunopatologica e ultrastrutturale, la scelta della sede del prelievo biotico e la sua modalità di esecuzione sono importanti per ottenere un campione idoneo per la diagnosi^{1,4,5}. In particolare, le lesioni bollose non recenti presentano estesi fenomeni di vacuolizzazione e necrosi cellulare o anche di parziale riepitellizzazione, che spesso non permettono di determinare con certezza la localizzazione del distacco iniziale. È quindi consigliabile eseguire il prelievo biotico sulla cute che si trova in prossimità di una lesione recente, preventivamente sottoposta a sfregamento meccanico (con il polpastrello o con una gomma da matita) al fine di indurre la formazione di microdistacchi. In caso di forme miti di EB con lesioni cutanee localizzate e anamnesi di fragilità cutanea minima è opportuno indurre la comparsa di una lesione bollosa visibile con metodiche fisiche (calore, frizione meccanica) e quindi eseguire i prelievi biotici sul margine della lesione; in alternativa si può effettuare la biopsia sul margine di una lesione bollosa recente (cioè insorta da meno di 24 ore). È preferibile eseguire due biopsie separate per l'indagine immunopatologica e per quella ultrastrutturale, ciascuna di un diametro di 3 o 4 mm, utilizzando un *punch*, cioè un cilindro tagliente monouso disponibile in commercio. La fragilità della cute nelle EB può comportare, in particolare nelle forme gravi, il distacco completo dell'epidermide dal derma durante l'esecuzione del prelievo biotico, e quindi compromettere le successive indagini immunopatologiche ed ultrastrutturali: per ottenere un campione biotico idoneo è opportuno incidere la cute a tutto spessore premendo con il *punch* senza ruotarlo e poi prelevare il frammento biotico pinzandolo profondamente alla base tramite mosquito.

Per quanto riguarda le procedure di trattamento e conservazione dei campioni biotici, è importante ricordare che l'analisi immunopatologica viene eseguita su sezioni congelate, in quanto la maggior parte degli anticorpi utilizzati per determinare il livello di formazione della lesione bollosa e di espressione delle diverse proteine alterate nella EB possono essere impiegati con risultati ottimali solo su tessuto congelato (l'antigene corrispondente non viene più riconosciuto dall'anticorpo dopo fissazione in formalina e inclusione in paraffina)^{1,4,5}. Il prelievo biotico deve quindi essere congelato rapidamente, preferibilmente in azoto liquido, e conservato a una temperatura di -20 °C o inferiore fino al momento dell'effettuazione dell'indagine. In caso di invio della biopsia a un centro di riferimento è necessario utilizzare ghiaccio secco per mantenere la condizione di congelamento. Il prelievo biotico per l'analisi ultrastrutturale deve invece essere immerso in un fissativo idoneo (per esempio il liquido di Karnovsky), dove può

essere conservato anche per alcuni giorni, per esempio se la biopsia viene inviata a un centro di riferimento.

Considerata la varietà delle alterazioni ultrastrutturali e immunopatologiche osservabili nelle EB e la possibilità di artefatti legati a campioni biotici non idonei, è consigliabile eseguire queste indagini in centri di riferimento che abbiano un'esperienza specifica nella diagnosi di laboratorio delle EB⁴ (vedi capitolo *Percorso diagnostico delle epidermolisi bollose ereditarie nella rete nazionale delle malattie rare*, a pagina 112).

Esami microbiologici, ematochimici e strumentali

Oltre all'analisi immunopatologica e ultrastrutturale di una biopsia cutanea, che sono fondamentali per porre la diagnosi di EB, alcuni esami di laboratorio e strumentali possono essere, in casi selezionati, di ausilio nel percorso diagnostico di questo gruppo di patologie^{3,6,7} (vedi anche il capitolo *Diagnosi differenziale*, a pagina 50) e delle eventuali complicanze^{1,8-12}.

In particolare, gli esami microbiologici sono utili nella diagnosi differenziale tra EB e patologie infettive con lesioni vescico-bollose, sia batteriche (impetigine bollosa) sia virali (*Herpes simplex* neonatale, varicella congenita e neonatale)^{6,7}; per maggiori dettagli vedere il capitolo *Diagnosi differenziale*, a pagina 50.

Esami ematochimici specifici sono poi indicati nella diagnosi differenziale tra EB e altre patologie con lesioni vescico-bollose, in particolare l'acrodermatite enteropatica (dosaggio plasmatico o sierico dello zinco), alcune forme di porfiria (dosaggio delle porfirine nel siero, nelle urine e nelle feci) e anche l'*incontinentia pigmenti* (formula leucocitaria per la dimostrazione di un'eosinofilia)⁶.

Inoltre, altre indagini sierologiche (immunofluorescenza indiretta, immunoblotting ed ELISA per collagene XVII – antigene del pemfigoide bolloso di 180 kDa, BP180 – e desmogleina 1 e 3) possono rappresentare un utile complemento all'immunofluorescenza diretta nella diagnosi differenziale tra EB e patologie bollose autoimmuni⁶.

Infine, gli esami ematochimici e microbiologici possono essere richiesti anche nel corso dell'iter diagnostico delle EB in presenza di complicanze specifiche, in particolare nel sospetto di sovrainfezioni o di sepsi, nonché per la valutazione delle condizioni generali del paziente con EB.

Al momento di porre la diagnosi deve poi essere sempre valutata la correlazione tra il quadro clinico e i risultati degli esami di laboratorio, per ridurre al minimo i possibili errori legati a falsi positivi o negativi.

A completamento dell'iter diagnostico e dopo aver posto la diagnosi del tipo e della variante di EB, è opportuno in alcuni casi eseguire indagini strumentali (vedi capitolo *Quadri clinici ed eziopatogenesi*, a pagina 20):

- Rx esofagogramma (pazienti affetti da EBD e pazienti sintomatici affetti da sindrome di Kindler) per valutare la presenza e l'entità dell'interessamento esofageo^{1,8,9}
- ecografia renale, urografia e/o cistoscopia (pazienti affetti da EBG e EBD, sintomatici) per evidenziare eventuali alterazioni renali e/o stenosi ureterali¹⁰
- ecografia cardiaca (pazienti affetti da EBD, sintomatici) per evidenziare un'eventuale miocardiopatia dilatativa^{11,12}

- MOC DEXA (Mineralometria ossea computerizzata *Dual Photon Xray Absorbimetry*; pazienti affetti da forme gravi di EBD) per la misurazione della densitometria ossea per evidenziare un'eventuale osteopenia e osteoporosi¹³.

Consulenza genetica e analisi genetico-molecolare

Dopo aver definito il tipo e la variante di EB (e quindi il o i geni candidati) sulla base dei dati clinici e dei risultati delle analisi di laboratorio, in particolare immunopatologiche e ultrastrutturali, è opportuno inviare il paziente alla consulenza genetica, anche per la valutazione dell'eventuale indicazione a effettuare l'analisi molecolare. La trattazione dettagliata del significato e delle modalità della consulenza genetica è riportata nel capitolo *Consulenza genetica*, a pagina 77.

La consulenza genetica rappresenta quindi il momento finale del percorso diagnostico delle EB: prima di eseguirla è necessario avere identificato il o i geni candidati e avere valutato nell'ambito di una consulenza genetica pretest se tale indagine sia indicata^{3,4}. Costituiscono casi particolari quei pazienti che giungono all'osservazione manifestando già, per un ritardo diagnostico, i segni tipici di quattro varianti di EB - EBS con pigmentazione *mottled*, EBS con eritema circinato migrante, sindrome laringo-onicot cutanea, EBD recessiva generalizzata grave¹⁴⁻¹⁶ e per i quali la diagnosi sia clinica sia molecolare è agevolata. Infatti nei primi tre casi si può evitare di praticare biopsie cutanee e, previa consulenza genetica, procedere direttamente al test genetico, in quanto la malattia è di solito dovuta a una singola mutazione ricorrente¹⁴⁻¹⁶. Nel caso dell'EBD recessiva generalizzata grave la presenza delle tipiche deformità delle estremità rende la diagnosi clinicamente certa di solito già a partire dalla seconda infanzia e dà un'indicazione importante all'analisi molecolare del gene COL7A1.

La diagnosi molecolare si effettua su DNA genomico estratto da sangue periferico o, in casi particolari, su RNA estratto da biopsia cutanea o da cheratinociti o fibroblasti coltivati a partire da una biopsia cutanea. La trattazione dettagliata del significato e delle modalità della diagnosi molecolare è riportata nel capitolo *Analisi genetico-molecolare*, a pagina 86.

Comunicazione della diagnosi

Il percorso diagnostico dell'EB in epoca neonatale comprende alcuni aspetti peculiari da considerare ai fini della gestione pratica del percorso stesso e, soprattutto, della comunicazione della diagnosi, che rappresenta un momento cruciale nell'assistenza alle famiglie dei pazienti con EB.

Questi aspetti sono:

- il neonato affetto da EB è spesso separato dalla madre già dalla nascita e trasferito presso un centro specializzato; il bambino è quindi accompagnato e accudito solo dal padre, almeno per i primi giorni fino alla dimissione della madre
- in questi casi, l'ipotesi diagnostica di EB, senza entrare nel merito del tipo specifico, si comunica inizialmente al padre, che è solo, privo del sostegno della moglie e che

deve anche far fronte alla responsabilità di trasmettere una diagnosi grave e talvolta tragica alla moglie, senza l'ausilio di una figura esperta

- una volta dimessa, la madre arriva in ospedale già traumatizzata dalla separazione dal suo neonato, consapevole della diagnosi riferitale dal marito, in modo a volte non adeguato e non preciso, e vede suo figlio molto compromesso esteticamente. A questo punto le viene comunicata la diagnosi e le relative possibili complicanze in epoca neonatale, sottolineando – correttamente da un punto di vista medico – la gravità della fragilità muco-cutanea, ma senza talvolta valutare completamente le conseguenze di questo discorso sulla psiche della mamma. Come conseguenza, la madre ha spesso paura, sia per l'aspetto estetico sia per la preoccupazione di nuocere al bimbo, di toccare, coccolare e allattare al seno il proprio figlio. In alcuni casi, la madre attraversa anche una fase di rifiuto, durante la quale adduce alibi diversi per andare a trovare sempre meno il proprio figlio (“ho un altro bimbo a casa”, “abitiamo tanto lontano”, “non abbiamo trovato un alloggio in questa città”, eccetera)
- in epoca neonatale, l'aspetto clinico delle lesioni può essere suggestivo, ma mai diagnostico, del tipo di EB; pertanto i genitori non potranno ricevere notizie precise sulla prognosi fino all'esecuzione del prelievo biotico e al completamento del percorso diagnostico
- la scarsa preparazione specifica del personale medico, infermieristico e anche degli psicologi in tema di EB e la mancanza di letteratura sulla comunicazione della diagnosi portano ad agire solo in base al proprio buon senso e senza adeguate basi scientifiche.

Tutti questi aspetti dovrebbero essere tenuti in considerazione nella scelta delle modalità di comunicazione della diagnosi.

Per quanto riguarda i primi tre punti, si propone di evitare il più possibile di trasferire il neonato, almeno fino alla dimissione della madre. Un'assistenza medica adeguata potrebbe essere garantita tramite contatti telefonici tra l'ospedale dove è nato un bimbo affetto da EB e il personale medico (in particolare il neonatologo e il dermatologo) e paramedico di un centro di riferimento. L'assistenza necessaria nei primi giorni di vita è infatti puramente neonatologica, ovviamente con le accortezze legate alla fragilità cutanea. Analogamente, il prelievo dei campioni biologici necessari per la diagnosi potrebbe essere eseguito nell'ospedale locale, previo contatto telefonico con un laboratorio di riferimento (vedi capitolo *Percorso diagnostico delle epidermolisi bollose ereditarie nella rete nazionale delle malattie rare*, a pagina 112).

Ancora più auspicabile sarebbe l'organizzazione futura, da parte di centri di riferimento selezionati, di équipe di personale medico e/o paramedico specializzato in grado di recarsi nell'ospedale locale per informare i colleghi sulla patologia. Tale servizio è già da tempo operativo in Inghilterra. Entrambe queste modalità organizzative permetterebbero di evitare il distacco del bimbo dalla madre, la responsabilizzazione esclusiva del padre e anche di ridurre i danni cutanei legati al trasporto in un'epoca in cui la cute è estremamente fragile. Infine, la madre avrebbe così la possibilità di elaborare gradualmente la diagnosi, di vedere e di accettare il proprio figlio.

La comunicazione della diagnosi dovrebbe essere affidata a personale medico esperto della malattia e in particolare a un dermatologo che abbia una conoscenza specifica dell'EB o, in caso di un neonato ricoverato in ospedale periferico, dovrebbe essere gestita in fase iniziale dal personale medico locale con il supporto almeno telefonico di un centro di riferimento. Essa non deve assolutamente trascurare la gravità della patologia, specialmente in epoca neonatale, ma la modalità di trasmissione delle informazioni deve essere adeguata al livello culturale della coppia, per non incrementare ulteriormente le angosce e le paure dei genitori e non causare rifiuto del neonato o paura della sua gestione. È opportuno, inoltre, sottolineare l'importanza di accudire e coccolare il neonato, nonché il beneficio nell'evoluzione della malattia dell'allattamento al seno materno, anche a scapito di qualche bolla nuova.

La comunicazione deve essere graduale, se necessario ripetuta e bisogna verificare che i genitori l'abbiano effettivamente recepita e dare loro la possibilità di porre domande, anzi indurli a farlo. La ripetizione dei colloqui, anche quotidiana, con i genitori è indispensabile al fine di garantire un'informazione corretta e far sentire loro che sono accompagnati, passo per passo, in questo percorso difficile e a loro ignoto. In quest'ambito, è auspicabile che la coppia abbia la possibilità di fruire di un supporto psicologico adeguato. Infine, una relazione scritta contenente i suggerimenti essenziali per la gestione del paziente con EB, consegnata ai genitori all'atto della dimissione, rappresenta un utile e logico complemento della fase di comunicazione della diagnosi.

Quesiti e raccomandazioni

Quesito 1 Quali fasi deve comprendere il percorso diagnostico delle epidermolisi bollose ereditarie (EB) al fine di formulare una diagnosi appropriata e tempestiva?

VI/A

Raccomandazione

La seguente raccomandazione è indirizzata ai dermatologi, ai genetisti medici, ai medici di medicina generale, ai neonatologi e ai pediatri.

Si raccomanda di considerare che l'iter diagnostico delle EB prevede tre fasi sequenziali:

- anamnesi familiare, anamnesi personale ed esame obiettivo
- esami di laboratorio e strumentali che comprendono: biopsie cutanee per l'analisi immunopatologica, ultrastrutturale e, in casi selezionati, istopatologica; in casi selezionati, esami microbiologici, ematochimici e strumentali
- consulenza genetica, eventualmente seguita da analisi genetico-molecolare.

Quesito 2 Di fronte ad un paziente con lesioni vescico-bollose indotte da traumatismo e/o fragilità cutanea quali aspetti anamnestici e clinici devono essere considerati per formulare una o più ipotesi diagnostiche appropriate?

Raccomandazioni

Le seguenti raccomandazioni sono indirizzate ai dermatologi, ai genetisti medici, ai medici di medicina generale, ai neonatologi e ai pediatri.

VI/A

Si raccomanda di raccogliere un'anamnesi familiare accurata (vedi appendice 2 *Cartella clinica* a pagina 120), anche mediante la costruzione di un'albero genealogico, specie riguardo a:

- eventuali patologie materne autoimmuni o infettive
- presenza di altri familiari affetti da EB e/o fragilità cutanea
- eventuale consanguineità tra i genitori del paziente in esame o loro origine geografica (in particolare se isolata)
- andamento della gravidanza ed eventuali complicanze (polidramnios).

Nella raccolta dell'anamnesi personale, si raccomanda di considerare in particolare i seguenti aspetti:

- età d'esordio della malattia
- estensione, localizzazione ed evoluzione delle lesioni cutanee (caratteristiche, presenza o meno di esiti cicatriziali)
- possibile origine da causa esterna delle lesioni stesse
- interessamento degli annessi cutanei (unghie e peli)
- coinvolgimento extracutaneo (denti, mucosa orale e distretto otorinolaringoiatrico, occhi, apparato respiratorio, gastrointestinale, muscolo-scheletrico, genito-urinario ed ematopoietico).

Quesito 3 Nel caso di un paziente con lesioni vescico-bollose indotte da traumatismo e/o fragilità cutanea, quali specialisti devono essere consultati per formulare una o più ipotesi diagnostiche appropriate e definire le indagini più opportune da eseguire?

Raccomandazione

La seguente raccomandazione è indirizzata ai dermatologi, ai genetisti medici, ai medici di medicina generale, ai neonatologi e ai pediatri.

VI/A

A seconda dell'ambito in cui è seguito il paziente, si raccomanda di richiedere visita specialistica dermatologica per esaminare le lesioni cutanee e di considerare che le eventuali

manifestazioni extracutanee delle EB possono richiedere diverse consulenze specialistiche, in primo luogo pediatrica, e poi – a seconda della sintomatologia – oculistica, odontoiatrica, otorinolaringoiatrica, neurologica, urologica, ortopedica, gastroenterologica e ginecologica.

Quesito 4 Nel caso di un paziente con lesioni vescico-bollose indotte da traumatismo e/o fragilità cutanea, quali aspetti sono importanti da valutare nell'esame obiettivo dermatologico per formulare una o più ipotesi diagnostiche appropriate e definire le indagini di laboratorio da eseguire?

Raccomandazione

La seguente raccomandazione è indirizzata ai dermatologi.

V/A

Si raccomanda di valutare i seguenti elementi:

- distribuzione delle lesioni cutanee (generalizzata o localizzata, simmetrica o monolaterale, eccetera)
- morfologia delle lesioni cutanee (dimensioni e contenuto delle lesioni vescico-bollose, presenza di eritema e/o ipercheratosi, erosioni, ulcerazioni, croste, tessuto di granulazione ipertrofico, lesioni papulo-lichenoidi, milia, cicatrici atrofiche o retraenti, ipercheratosi palmo-plantare, eccetera)
- interessamento degli annessi cutanei (unghie, ghiandole sudoripare, capelli e peli terminali) e dei denti
- coinvolgimento delle mucose (cavo orale, congiuntiva, mucosa nasale, genitale e anale).

Quesito 5 In caso di sospetto clinico di EB, quali indagini di laboratorio è sempre opportuno eseguire e secondo quali modalità?

Raccomandazioni

Le seguenti raccomandazioni sono indirizzate ai dermatologi, ai genetisti medici, ai neonatologi e ai pediatri.

V/A

Al fine di accertare la diagnosi e di definire il tipo e la variante di EB, si raccomanda di eseguire due prelievi biotici di cute, uno per l'indagine immunopatologica e l'altro per quella ultrastrutturale.

VI/A

Per ottenere campioni idonei, si raccomanda di eseguire le biopsie su cute perilesionale, preventivamente sottoposta a sfregamento meccanico (con il polpastrello o con una gomma

da cancellare) al fine di indurre la formazione di microdistacchi. Per le biopsie è inoltre preferibile utilizzare un *punch* (disponibile in commercio) di 3 o 4 mm di diametro: per evitare il distacco dell'epidermide dal derma durante l'esecuzione del prelievo biotico, è opportuno incidere la cute a tutto spessore premendo con il *punch* senza ruotarlo e poi prelevare il frammento biotico pinzandolo profondamente alla base tramite mosquito.

Per conservare correttamente i campioni, la biopsia per l'indagine immunopatologica deve essere congelata, preferibilmente in azoto liquido, immediatamente dopo il prelievo e mantenuta congelata (a una temperatura di -20°C o inferiore) sino al momento dell'effettuazione dell'indagine. In caso di spedizione del campione biotico a un centro di riferimento è necessario utilizzare ghiaccio secco per mantenere la condizione di congelamento. La biopsia per l'indagine ultrastrutturale deve invece essere immersa in un fissativo idoneo (per esempio il liquido di Karnovsky), nel quale può essere conservata per alcuni giorni a temperatura ambiente, per esempio se la biopsia viene inviata ad un centro di riferimento.

Per garantire l'appropriatezza della diagnosi, si raccomanda infine di inviare i campioni per l'indagine immunopatologica e ultrastrutturale a centri di riferimento con esperienza specifica sulla malattia, in grado di interpretare correttamente eventuali artefatti o risultati atipici.

Quesito 6 Quali altre indagini di laboratorio possono essere utili per porre la diagnosi differenziale tra EB e altre patologie con lesioni bollose e fragilità cutanea? Quando e secondo quali modalità devono essere eseguite?

Raccomandazioni

Le seguenti raccomandazioni sono indirizzate ai dermatologi, ai genetisti medici, ai medici di medicina generale, ai neonatologi e ai pediatri.

V/A

Si raccomanda di eseguire una terza biopsia, in corrispondenza di una lesione recente, per l'indagine istopatologica in caso di:

- dubbio diagnostico tra EB e altre patologie con fragilità cutanea e lesioni vescico-bollose che presentano quadri istologici specifici, in particolare genodermatosi
- sospetto diagnostico di una rarissima forma di EB semplice soprabasale, in cui l'esame istologico evidenzia il livello di separazione soprabasale e altre alterazioni dell'epidermide utili alla diagnosi (spazi intercellulari dilatati, presenza di acantolisi).

In caso di dubbio diagnostico tra EB e una patologia bollosa autoimmune, si raccomanda di richiedere anche l'immunofluorescenza diretta (da eseguire su sezioni ottenute dalla biopsia prelevata per l'indagine immunopatologica) e di considerare le indagini sierologiche a completamento di questa indagine.

In caso di dubbio diagnostico tra EB e infezioni da herpes virus, si raccomanda di considerare l'esame citodiagnostico di Tzanck, oltre agli esami microbiologici (esame colturale e/o PCR). Gli esami microbiologici sono anche indicati nella diagnosi differenziale con patologie di origine batterica.

Infine si raccomanda di considerare che esami ematochimici specifici sono utili nella diagnosi differenziale tra EB e altre patologie con lesioni vescico-bollose, in particolare l'acrodermatite enteropatica, alcune forme di porfiria e l'*incontinentia pigmenti*.

Quesito 7 Quali ulteriori indagini di laboratorio e strumentali sono indicate per completare l'inquadramento del paziente con EB? In quali casi è opportuno eseguirle?

Raccomandazioni

Le seguenti raccomandazioni sono indirizzate ai dermatologi, ai genetisti medici, ai medici di medicina generale, ai neonatologi e ai pediatri.

Si raccomanda di considerare nel percorso diagnostico e nella identificazione di eventuali complicanze del paziente con EB i seguenti esami di laboratorio e strumentali:

VI/A

- esami ematochimici e microbiologici nel sospetto di sovrainfezioni o di sepsi

V/A

- Rx esofagogramma per valutare la presenza e l'entità dell'interessamento esofageo nei pazienti affetti da EB distrofica e nei pazienti sintomatici affetti da sindrome di Kindler
- ecografia renale e urografia per evidenziare eventuali alterazioni renali e/o stenosi ureterali in pazienti sintomatici affetti da EB giunzionale e da EB distrofica
- ecocardiografia per evidenziare un'eventuale miocardiopatia dilatativa in pazienti sintomatici affetti da EB distrofica
- MOC DEXA per evidenziare un'eventuale osteopenia e osteoporosi in pazienti affetti da forme gravi di EB distrofica.

Quesito 8 Dopo avere posto una diagnosi di EB ereditaria in base ai dati clinici e di laboratorio, averne definito il tipo e possibilmente la variante, quali sono le fasi conclusive dell'iter diagnostico?

Raccomandazioni

Le seguenti raccomandazioni sono indirizzate ai dermatologi, ai medici di medicina generale, ai neonatologi e ai pediatri.

VI/A

Si raccomanda di richiedere una consulenza genetica, anche per valutare l'indicazione all'esecuzione del test diagnostico molecolare. Il test genetico rappresenta il momento finale del percorso diagnostico delle EB e ha lo scopo di migliorare l'accuratezza diagnostica e/o di offrire uno strumento valido per stabilire il rischio di ricorrenza e pianificare una diagnosi prenatale.

VI/B

Al fine di eseguire correttamente i prelievi per l'analisi genetico-molecolare, si raccomanda di identificare il centro di riferimento per quest'indagine e di concordare preventivamente la tipologia (sangue periferico o, in casi particolari, biopsia cutanea) e le modalità di conservazione del campione biologico da inviare.

Bibliografia

1. Fine JD, Bauer EA et al (editors). Epidermolysis bullosa: clinical, epidemiologic and laboratory advances and the findings of the National Epidermolysis Bullosa Registry. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1999.
2. Fine JD, Eady RA et al. Revised classification system for inherited epidermolysis bullosa: report of the Second International Consensus Meeting on diagnosis and classification of epidermolysis bullosa. *J Am Acad Dermatol* 2000;42:1051-66.
3. Has C, Bruckner-Tuderman L. Molecular and diagnostic aspects of genetic skin diseases. *J Dermatol Sci* 2006;44:129-44.
4. Fine JD, Eady RA et al. 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;58:931-50.
5. Yiasemides E, Walton J et al. A comparative study between transmission electron microscopy and immunofluorescence mapping in the diagnosis of epidermolysis bullosa. *Am J Dermatopathol* 2006;28:387-94.
6. Venencie P, Devictor D. Bulles du nouveau-né. *Ann Dermatol Venerol* 1999;126:957-64.
7. Zvulunov A. Life-threatening cutaneous conditions in neonates. *Clin Dermatol* 2005;23:134-43.
8. Shimizu H, Sato M et al. Immunohistochemical, ultrastructural, and molecular features of Kindler syndrome distinguish it from dystrophic epidermolysis bullosa. *Arch Dermatol* 1997;133:1111-7.
9. Hovnanian A, Blanchet-Bardon C, de Prost Y. Poikiloderma of Theresa Kindler: report of a case with ultrastructural study, and review of the literature. *Pediatr Dermatol* 1989;6:82-90.

10. Fine JD, Johnson LB et al. Genitourinary complications of inherited epidermolysis bullosa: experience of the National Epidermolysis Bullosa Registry and review of the literature. *J Urol* 2004;172:2040-4.
11. Sidwell RU, Yates R, Atherton D. Dilated cardiomyopathy in dystrophic epidermolysis bullosa. *Arch Dis Child* 2000;83:59-63.
12. Fine JD, Hall M et al. The risk of cardiomyopathy in inherited epidermolysis bullosa. *Br J Dermatol* 2008;159:677-82.
13. Fewtrell MS, Allgrove J et al. Bone mineralization in children with epidermolysis bullosa. *Br J Dermatol* 2006; 154:959-62.
14. Gu LH, Kim SC et al. A usual frameshift and delayed termination codon mutation in keratin 5 causes a novel type of epidermolysis bullosa simplex with migratory circinate erythema. *J Invest Dermatol* 2003;121:482-5.
15. McLean WH, Irvine AD et al. An unusual N-terminal deletion of the laminin alpha3a isoform leads to the chronic granulation tissue disorder laryngo-onycho-cutaneous syndrome. *Hum Mol Genet* 2003;12:2395-409 (Erratum in: *Hum Mol Genet* 2004;13:365).
16. Harel A, Bergman R et al. Epidermolysis bullosa simplex with mottled pigmentation resulting from a recurrent mutation in KRT14. *J Invest Dermatol* 2006;126:1654-7.

Diagnosi differenziale

Premessa

La diagnosi clinica di epidermolisi bollosa ereditaria (EB) è spesso semplice, soprattutto per gli esperti. In una parte dei casi essa viene tuttavia effettuata in ritardo per la rarità e la conseguente scarsa conoscenza della malattia.

Una diagnosi precoce e tempestiva permette di instaurare una gestione adeguata del paziente e un'assistenza specifica volta a ridurre la formazione di lesioni bollose e a prevenire complicanze cutanee e sistemiche¹⁻³. Questo è vero in particolare nel neonato affetto da forme gravi di EB, in cui la morbosità e la mortalità sono elevate e la diagnosi differenziale è più complessa, anche per la sovrapposizione clinica delle diverse varianti di EB.

Questa sezione tratta specificamente della diagnosi differenziale tra EB e altre patologie genetiche o acquisite che presentano lesioni vescico-bollose (vedi tabella 5), mentre le procedure per la diagnosi di laboratorio dei diversi tipi, sottotipi e varianti di EB sono descritte nei capitoli *Indagini immunopatologiche e ultrastrutturali*, a pagina 66 e *Analisi genetico-molecolare*, a pagina 86.

Tabella 5. Patologie in diagnosi differenziale con le epidermolisi bollose ereditarie

Genodermatosi	Lesioni da causa esterna	Patologie infettive
Eritrodermia ittiosiforme bollosa congenita (OMIM 113800)*	Bolle da suzione*	Impetigine bollosa*
Ittiosi bollosa di Siemens (OMIM 146800)	Bolle iatrogene (elettrodi, fototerapia, farmaci topici)*	Sindrome delle 4 S (<i>Staphylococcal Scalded Skin Syndrome</i> , SSSS)*
Acrodermatite enteropatica* (OMIM 201100)	Ustione*	<i>Herpes simplex</i> neonatale*
Aplasia <i>cutis</i> congenita* (OMIM 107600)	Punture d'insetto	Varicella congenita e varicella neonatale*
<i>Incontinentia pigmenti</i> * (OMIM 308300)	Fito(foto)dermatiti	Sifilide congenita
Pachionichia congenita (OMIM 167200 e 167210)		
Porfiria eritropoietica congenita (OMIM 263700) e porfiria epatoeritropoietica (OMIM 176100)		
Dermatosi erosiva e vescicolosa congenita a cicatrizzazione reticolata*		
Sindrome di Hay-Wells (sindrome anchiloblefaron-displasia ectodermica-labio/palatoschisi; OMIM 106260)		

Nota: * Le patologie evidenziate con asterisco sono quelle che, per frequenza o presentazione clinica, pongono i più significativi problemi di diagnosi differenziale con le EB nel neonato e nel lattante.

Le patologie vescico-bollose da porre in diagnosi differenziale con le EB variano a seconda dell'epoca di insorgenza della malattia, ma anche dell'età in cui il paziente giunge all'osservazione del medico. Quasi tutte le EB giunzionali, la grande maggioranza delle EB distrofiche e le forme più gravi di EB semplici si manifestano alla nascita o comunque in epoca neonatale con lesioni bollose a contenuto sieroso o emorragico e/o con vaste aree disepitelizzate. Le lesioni insorgono di solito su cute afflegmasica e sono localizzate primariamente nelle zone di frizione e soggette a traumatismo (mani, piedi, in particolare calcagni, superficie estensoria dei gomiti e ginocchia, bocca, regione del pannolino). Inoltre, in una parte dei casi, sono presenti lesioni a livello delle mucose ed alterazioni ungueali, nonché coinvolgimento di altri organi ed apparati (per una trattazione dettagliata delle manifestazioni cliniche delle diverse varianti di EB vedi capitolo *Quadri clinici ed eziopatogenesi*, a pagina 20).

Di seguito sono elencate le patologie vescico-bollose del neonato e del lattante da considerare nella diagnosi differenziale con le EB^{1,2,4-6}. Sono evidenziate in neretto le malattie che, per frequenza o presentazione clinica, pongono i problemi più significativi e che verranno quindi discusse singolarmente.

Genodermatosi:

- **eritrodermia ittiosiforme bollosa congenita (ipercheratosi epidermolitica; OMIM 113800)**

	Patologie autoimmuni	Malattie infiammatorie, proliferative e reazioni da farmaci
	Pemfigo neonatale*, pemfigo volgare, pemfigo foliaceo e pemfigo paraneoplastico	Mastocitosi bollosa
	Pemfigoide <i>gestationis</i> neonatale (<i>Herpes gestationis</i>)*	Sindrome di Stevens-Johnson e sindrome di Lyell
	Pemfigoide bolloso*, pemfigoide delle mucose	
	Dermatosi bollosa a IgA lineari*	
	Epidermolisi bollosa acquisita	
	Dermatite erpetiforme di Duhring	

- ittiosi bollosa di Siemens (OMIM 146800)
- **acrodermatite enteropatica** (OMIM 201100)
- **aplasia cutis congenita** (OMIM 107600)
- **incontinentia pigmenti** (OMIM 308300)
- *peeling skin syndrome* (OMIM 270300 e 609796)
- pachionichia congenita (OMIM 167200 e 167210)
- porfiria eritropoietica congenita (OMIM 263700) e porfiria epatoeritropoietica (OMIM 176100)
- **dermatosi erosiva e vescicolosa congenita a cicatrizzazione reticolata**
- sindrome di Hay-Wells (sindrome anchiloblefaron-displasia ectodermica-labio/palato-schisi; OMIM 106260)

Lesioni da causa esterna:

- **bolle da suzione**
- **bolle iatrogene (elettrodi, fototerapia, farmaci topici)**
- **ustione**

Patologie infettive:

- **impetigine bollosa**
- **sindrome delle 4 S (*Staphylococcal Scalded Skin Syndrome*, SSSS)**
- ***Herpes simplex* neonatale**
- **varicella congenita e neonatale**
- sifilide congenita

Patologie autoimmuni:

- **pemfigo neonatale**
- **pemfigoide *gestationis* neonatale (*Herpes gestationis*)**
- **pemfigoide bolloso**
- **dermatosi bollosa a IgA lineari**

Malattie infiammatorie, proliferative e reazioni da farmaci:

- mastocitosi bollosa
- sindrome di Stevens-Johnson e di Lyell

Le poche forme di EB che possono esordire anche nell'infanzia (in particolare l'EB semplice localizzata e poi l'EB distrofica pretibiale e quella pruriginosa) si pongono in diagnosi differenziale con:

- le dermatosi bollose autoimmuni, nelle quali l'immunopatologia è caratteristica (dermatosi bollosa a IgA lineari, pemfigo, pemfigoide bolloso e delle mucose, epidermolisi bollosa acquisita, dermatite erpetiforme di Duhring)
- la pachionichia congenita e la mastocitosi bollosa, facilmente distinguibili sulla base delle manifestazioni cliniche e dei reperti istopatologici^{2,7-9}
- le lesioni bollose da causa esterna (traumatismi, punture d'insetto, fito o fotodermatiti, eccetera), queste ultime differenziabili in base alla distribuzione, presentazione ed evoluzione clinica delle lesioni e all'anamnesi.

Ancora più rari sono i casi di EB (in particolare EB semplice localizzata, EB distrofica pretibiale e EB distrofica pruriginosa e EB giunzionale ad esordio tardivo) che possono avere esordio in età adulta o giovane adulta, pertanto difficilmente ci si trova a porre una prima diagnosi di EB in questa fascia di età. In questi casi la diagnosi differenziale si pone con le dermatosi bollose autoimmuni e con le lesioni bollose da causa esterna. Queste patologie si possono distinguere dalle EB in base ai criteri anamnestici, clinici (sede, distribuzione, presentazione ed evoluzione), nonché ai reperti istopatologici e immunopatologici.

Infine, la diagnosi differenziale della sindrome di Kindler (SK) merita un accenno separato, in quanto questa particolare forma di EB è caratterizzata, oltre che da fragilità cutanea e lesioni mecano-bollose prevalentemente acroposte ad esordio connatale o perinatale, da fotosensibilità di grado variabile che si manifesta nella prima infanzia, poichilodermia (iper e ipopigmentazione, telangectasie e atrofia) del viso e collo a sviluppo progressivo dall'infanzia e atrofia cutanea generalizzata^{3,10-12}. La SK entra quindi in diagnosi differenziale anche con le malattie genetiche che presentano fotosensibilità e/o poichilodermia, in particolare:

- la sindrome di Rothmund-Thomson (OMIM 268400), caratterizzata da fotosensibilità precoce e sviluppo progressivo di poichilodermia del viso, delle natiche e degli arti; si associano frequentemente alopecia, bassa statura con alterazioni scheletriche e cataratta giovanile¹³
- la sindrome di Bloom (OMIM 210900), contraddistinta a livello cutaneo da fotosensibilità con eritema a farfalla, telangectasie del viso evidenti già nella prima infanzia e successivo sviluppo di discromie; sono inoltre caratteristici di questa sindrome il ritardo di accrescimento (sia in utero sia dopo la nascita), il dismorfismo facciale, le infezioni ricorrenti e l'aumentata suscettibilità alle neoplasie¹⁴
- la discheratosi congenita (OMIM 127550, 305000, 224230), caratterizzata dall'associazione della triade di distrofia ungueale, pigmentazione reticolata (aree iper e ipopigmentate, spesso con telangectasie) con partenza dalle sedi fotoesposte e leucoplachia, con insufficienza midollare; possono essere inoltre presenti una costellazione di sintomi minori a carico dell'occhio, dei denti, degli apparati scheletrico, respiratorio, genito-urinario, e gastrointestinale e del sistema nervoso centrale, nonché un rischio aumentato per neoplasie¹⁵
- lo xeroderma pigmentoso (OMIM 278700, 278720, 278730, 278740, 278750, 278760, 278780, 610651), in cui la fotosensibilità e lo sviluppo graduale nell'infanzia di poichilodermia sono tipicamente associate allo sviluppo precoce di neoplasie multiple (in particolare carcinomi basocellulari e squamocellulari e melanoma); una parte dei pazienti presenta anche alterazioni neurologiche¹⁶
- la poichilodermia sclerosante ereditaria (OMIM 173700), una rarissima genodermatosi (con una decina di casi descritti in letteratura) caratterizzata da poichilodermia a esordio nell'infanzia e più evidente nelle pieghe, bande ipercheratosiche e sclerotiche localizzate alle zone flessorie e acrosclerosi¹⁷.

La presenza di fragilità cutanea e di lesioni bollose indotte da traumatismo (o, nei pazienti adulti, il loro dato anamnestico), permette di distinguere la sindrome di Kindler dalle patologie elencate sopra.

Genodermatosi

Eritrodermia ittiosiforme congenita bollosa o ipercheratosi epidermolitica (EICB)

È una rara genodermatosi, a trasmissione generalmente autosomica dominante, dovuta a mutazioni nei geni che codificano per le cheratine 1 e 10. Subito dopo la nascita si sviluppano, su un eritema diffuso di vario grado, lesioni bollose flaccide a contenuto sieroso, che si rompono facilmente lasciando vaste erosioni superficiali. Le lesioni bollose sono esacerbate dai traumi e dalla frizione e vanno frequentemente incontro a sovrainfezione. È spesso presente anche un'ipercheratosi con desquamazione. Nei primi anni di vita la componente eritrodermica e bollosa tende a scomparire, mentre si osserva la graduale formazione di lesioni ipercheratosiche aderenti, maleodoranti, di colorito grigio-brunastro, particolarmente evidenti e di aspetto verrucoso ai gomiti, alle ginocchia, ai polsi, alle caviglie e alle pieghe. In alcuni pazienti è presente un'ipercheratosi palmo-plantare di vario grado.

L'EICB entra in diagnosi differenziale con le EB in particolare nel periodo neonatale, quando prevale la componente bollosa ed erosiva. La presenza di un eritema diffuso e spesso di ipercheratosi con desquamazione rappresenta un carattere distintivo dell'EICB. La diagnosi clinica di EICB deve essere confermata tramite biopsia cutanea per indagine istopatologica che mostra un quadro denominato ipercheratosi epidermolitica, caratterizzato da un aumento dello spessore dello strato corneo (ipercheratosi) e da fenomeni di vacuolizzazione perinucleare dei cheratinociti che interessano diffusamente le assisi superiori del malpighiano e il granuloso^{2,5}.

Acrodermatite enteropatica (AE)

L'acrodermatite enteropatica (AE) è una patologia rara che può essere ereditaria (in seguito alla mutazione nel gene SLC39A4) a trasmissione autosomica recessiva e dovuta a un difetto dell'assorbimento intestinale o del trasporto tissutale dello zinco, oppure acquisita, per ridotta assunzione o deplezione delle riserve di zinco in presenza di un normale assorbimento (per esempio nei nati prematuri). Le due forme hanno le stesse caratteristiche cliniche: una eruzione eritematosa, vescico-bollosa ed erosiva in sede periorificiale (periorale, perinasale e regione del pannolino) e acrale. Inoltre, talvolta si osserva una onicodistrofia e/o un diradamento o perdita dei capelli, delle ciglia e delle sopracciglia. Il coinvolgimento intestinale è molto frequente, con diarrea intermittente che può causare irritabilità, squilibri elettrolitici e ritardo di accrescimento. Questa sintomatologia nell'AE ereditaria compare generalmente a qualche settimana o mese dalla nascita e comunque sempre poco dopo la sospensione dell'allattamento al seno materno (infatti il latte materno, ricco di zinco supplisce alla carenza), mentre l'età di esordio delle forme acquisite varia in funzione dell'eziopatogenesi.

Il quadro clinico è di solito suggestivo per la diagnosi, che viene generalmente confermata dalla zinchemia ridotta. La terapia sostitutiva con zinco comporta una rapida regressione della sintomatologia, fungendo anche da criterio diagnostico *ex juvantibus*^{5,18}.

Aplasia cutis congenita (ACC)

L'ACC consiste nell'agenesia focale dell'epidermide, variabilmente associata alla mancata formazione del derma e talvolta anche delle strutture ossee sottostanti¹⁹. La localizzazione

più frequente è al cuoio capelluto, in prossimità del vertice. Più raro è il riscontro di ACC in altre sedi cutanee. L'ACC può manifestarsi con una singola lesione o con lesioni multiple, generalmente autorisolutive, che esitano in cicatrici spesso atrofiche.

L'ACC può essere isolata o rappresentare un segno di numerose patologie, tra cui le EB semplici basali, le EB giunzionali e le EB distrofiche, diverse displasie ectodermiche – per esempio l'ipoplasia dermica focale (OMIM 305600), la sindrome di Hay-Wells (OMIM 106260) e la sindrome EEC (OMIM 129900 e 604292) –, la sindrome di Adams-Oliver, in cui si associano ipoplasia della porzione distale degli arti ed anomalie vascolari (OMIM 100300), e la sindrome da bande amniotiche.

Le ACC estese richiedono inizialmente una gestione sovrapponibile a quella delle EB e la diagnosi differenziale non è sempre facile. Di fronte a un neonato con ACC, in assenza di fragilità cutaneo-mucosa e di comparsa di nuovi elementi nei primi giorni o mesi di vita, si possono di solito escludere tutte le forme di EB, anche se sono descritti casi rari, in particolare di EB distrofica acrale, che possono presentare a lungo un'ACC isolata.

Incontinentia pigmenti (IP)

L'IP è trasmessa con modalità *X-linked* dominante e dovuta a mutazioni nel gene NEMO (o IKK-gamma). I segni cutanei, spesso presenti alla nascita, evolvono generalmente in quattro fasi²⁰. La fase iniziale, quella vescico-bollosa, è di interesse per la diagnosi differenziale delle EB. Questa fase si manifesta, nel neonato o nel lattante nella maggior parte dei casi di sesso femminile (la malattia è quasi sempre letale nel maschio), con chiazze o placche eritematose, ricoperte da lesioni vescicolose o vescico-bollose o vescico-pustolose tese, localizzate principalmente agli arti e al dorso, tipicamente disposte lungo le linee di Blaschko.

La diagnosi differenziale con le EB, oltre al quadro clinico caratteristico e all'ipereosinofilia periferica spesso presente, si basa sull'aspetto istologico. Infatti questo evidenzia una vescicola spongiosa intraepidermica non acantolitica, numerosi eosinofili intraepidermici e sottoepidermici e singoli cheratinociti necrotici nell'epidermide. L'immunofluorescenza diretta è negativa^{5,20}. Infine, nel sospetto di IP può essere d'aiuto anche la valutazione clinica della madre (potenzialmente affetta da una forma lieve non diagnosticata) in cui si possono rilevare i segni caratteristici della quarta fase della malattia, per esempio le linee atrofiche ipopigmentate distribuite lungo le linee di Blaschko, più frequentemente agli arti inferiori, o altre alterazioni come anomalie dentali. Tuttavia l'assenza di questi segni non esclude l'ipotesi diagnostica di *incontinentia pigmenti*.

Dermatosi erosiva e vescicolare congenita a cicatrizzazione reticolata

Si tratta di una patologia molto rara con eziopatogenesi sconosciuta, di cui sono stati descritti circa 15 casi in letteratura, tutti sporadici²¹⁻²³. Si manifesta alla nascita, di solito nei prematuri, con erosioni, ulcerazioni e lesioni vescico-bollose che interessano gran parte della superficie corporea, in particolare il tronco, cuoio capelluto e arti; sono risparmiati il volto e le regioni palmo-plantari. Le lesioni regrediscono spontaneamente di solito entro i primi tre mesi di vita ed esitano in una caratteristica cicatrizzazione reticolata. Tra le anomalie associate descritte vi sono alterazioni ungueali, alopecia cicatriziale, intolleranza al calore con possibile ipertermia e alterazioni neurologiche.

L'istologia non è specifica e mostra nelle lesioni attive spongiosi dell'epidermide con un infiltrato infiammatorio dermico, mentre nelle sedi cicatriziali si osserva di solito un'assenza delle ghiandole eccrine.

La diagnosi differenziale con l'EB si basa sull'estensione delle lesioni erosivo-ulcerate alla nascita e sulla loro rapida evoluzione cicatriziale con aspetto reticolare, sulla comparsa limitata di lesioni bollose in seguito a traumi, sulla possibile presenza di ipertermia, nonché sull'assenza dei criteri immunopatologici e ultrastrutturali diagnostici delle EB (vedi capitolo *Indagini immunopatologiche e ultrastrutturali*, a pagina 66).

Lesioni da causa esterna

Le lesioni bollose del neonato causate da agente esterno sono tra quelle che più frequentemente si pongono in diagnosi differenziale con le EB⁵.

Bolle da suzione

Essendo dovute a suzione nella vita fetale, sono presenti alla nascita; di solito sono molto localizzate, generalmente a livello delle labbra o delle mani, e risolvono spontaneamente in pochi giorni.

Bolle iatrogene

Sono riconducibili alle procedure effettuate in epoca neonatale (elettrodi, fototerapia, farmaci topici). L'anamnesi, la distribuzione e la risoluzione spontanea delle lesioni costituiscono gli elementi dirimenti per la diagnosi.

Ustione fisica

Viene causata più frequentemente dal calore (in particolare dall'uso di acqua troppo calda per lavare il neonato). In questo caso i criteri diagnostici clinici si basano sui seguenti parametri:

- polimorfismo delle lesioni (si osservano contemporaneamente lesioni eritematose ed elementi bollosi su base eritematosa)
- distribuzione delle lesioni, che può essere suggestiva; infatti sono più frequentemente coinvolte le regioni acrali e gli arti inferiori (il neonato, prima della caduta del cordone, non si immerge completamente nell'acqua). Le sedi coinvolte sono solitamente regioni cutanee contigue, con risparmio delle pieghe, che difficilmente vengono a contatto con l'agente casuale. Anche il decorso, verso la guarigione e senza comparsa di nuove lesioni, è estremamente rilevante ai fini della diagnosi. Infine l'anamnesi, quando viene ammessa l'ustione, è dirimente.

Patologie infettive

Impetigine bollosa

Nel neonato le lesioni bollose si localizzano prevalentemente in sede periombelicale (in caso di infezione del cordone), in sede periorifizia, alle pieghe ascellari o inguinali.

Si tratta di bolle a stampo, flaccide, fugaci e a rapida diffusione, localizzate spesso intorno al focolaio di partenza. Le lesioni bollose, che si rompono molto rapidamente, lasciano erosioni superficiali con collaretto periferico.

L'esame colturale del liquido della bolla mette in evidenza la presenza dell'agente patogeno (stafilococco o streptococco).

La guarigione, dopo trattamento antibiotico adeguato, è rapida^{4,5}.

Sindrome delle 4 S (*Staphylococcal Scalded Skin Syndrome, SSSS*)

Colpisce i neonati o i lattanti^{1,4,5}. È una patologia potenzialmente letale, causata da *Staphylococcus aureus* che colonizza il 3% delle donne in gravidanza producendo due esotossine esfoliative (ETA e ETB)^{1,5}. La malattia insorge generalmente dopo 3 giorni dalla comparsa di un'infezione mucosa (rinofaringite, congiuntivite), cutanea (onfalite, impetigine) o profonda. Le condizioni generali del bambino, che è sofferente e febbrile, sono fortemente compromesse. La sintomatologia cutanea è caratterizzata da un esantema simile a quello della scarlattina, che inizia in sede periorificiale e a livello delle pieghe e si estende in 24-48 ore a tutta la cute. In alcune ore si manifestano zone di scollamento spontaneo dell'epidermide che si distacca in lembi di grandi dimensioni e si copre di bolle flaccide. Si formano quindi vaste erosioni eritematose, ricoperte da squamo-croste. Le mucose sono indenni.

La coltura delle bolle è sterile, a differenza dell'impetigine. Nei rari casi di dubbio diagnostico, l'istologia permette di dimostrare il clivaggio negli strati superiori dell'epidermide.

Herpes simplex neonatale e varicella congenita e neonatale

Le lesioni elementari sono vescicolose e/o pustolose; raramente confluiscono a formare bolle e talvolta è visibile la patognomonica ombelicatura centrale⁵. L'herpes neonatale ha un'incidenza di 2-5 casi su 10.000 neonati¹. Nel caso dell'*Herpes simplex* la distribuzione è localizzata, con lesioni raggruppate, o multifocale cutaneo-mucosa; nel caso della varicella è generalizzata, con estensione cranio-caudale.

L'anamnesi materna è spesso positiva per herpes genitale o per varicella durante la gravidanza.

L'esame colturale su tampone dal fondo di una lesione vescicolosa e/o la ricerca del DNA virale mediante PCR sul liquido della vescicola e sul sangue, nonché l'esame citodiagnostico di Tzanck, consentono di confermare la diagnosi e di instaurare tempestivamente una terapia adeguata.

Patologie autoimmuni

Questo gruppo di patologie, sebbene estremamente rare nel neonato e nel lattante, pone numerose difficoltà di diagnosi differenziale clinica con le EB^{5,9,24-26}.

Pemfigo neonatale

È molto raro e può manifestarsi nei neonati da madri affette da pemfigo volgare (con malattia attiva o in remissione) o, eccezionalmente, foliaceo^{5,24,25}. È transitorio e secondario al passaggio transplacentare di anticorpi materni diretti contro le desmogleine, componenti proteiche dei desmosomi, strutture di adesione intercellulare dell'epidermide. Le lesioni

bollose sono localizzate o generalizzate, ma non distribuite preferenzialmente nelle zone sottoposte a traumatismo. Si tratta generalmente di elementi flaccidi su cute aflegmasica, che si rompono facilmente dando origine a erosioni, e di erosioni del cavo orale.

La diagnosi, sospettata innanzitutto sulla base dell'anamnesi materna, si conferma con l'ausilio dell'immunofluorescenza indiretta su esofago di scimmia, che permette di dimostrare la presenza nel siero del neonato di IgG dirette contro la sostanza cementante intercellulare dell'epitelio; recentemente sono stati utilizzati test ELISA che mostrano la positività del siero per gli anticorpi anti-desmogleina ^{324,25}. Raramente si deve ricorrere all'immunofluorescenza diretta su una biopsia di cute perilesionale, che evidenzia il deposito degli autoanticorpi IgG negli spazi intercellulari dell'epidermide. La malattia è rapidamente autorisolutiva.

Pemfigoide *gestationis* neonatale (*Herpes gestationis*)

I figli di madri affette da pemfigoide *gestationis* (*Herpes gestationis*) presentano raramente (nel 2,8-5% dei casi) un'eruzione cutanea transitoria di lesioni vescico-bollose su base eritematosa, dovuta al passaggio transplacentare di autoanticorpi^{5,26,27}.

La presenza della malattia nella madre orienta facilmente verso una diagnosi precoce. Questa deve essere confermata su una biopsia di cute perilesionale con l'immunofluorescenza diretta (deposito lineare di complemento lungo la membrana basale cutanea), o su siero con l'immunofluorescenza indiretta su cute umana normale (IgG anti-membrana basale cutanea) o con test ELISA per il collagene XVII (antigene del pemfigoide bolloso di 180 kDa, BP180)²⁶.

Anche in questo caso la malattia è rapidamente autorisolutiva.

Pemfigoide bolloso

È raro nel lattante ed è caratterizzato dalla comparsa di bolle tese di grandi dimensioni generalmente su cute eritematosa, a volte con aspetti orticarioidi o a bersaglio⁹. Il prurito è intenso, le lesioni sono simmetriche e prediligono le estremità (mani, piedi e volto), le regioni flessorie degli arti, la superficie anteromediale delle cosce e dell'addome. Talora è colpita anche la mucosa orale. È spesso presente ipereosinofilia periferica. Non ci sono esiti cicatriziali, né grani di milio.

L'immunofluorescenza diretta è diagnostica ed è positiva per deposito lineare di IgG sulla membrana basale cutanea. Inoltre possono essere positive anche l'immunofluorescenza indiretta e l'immunoblotting o il test ELISA per il collagene XVII.

Dermatosi bollosa a IgA lineari

La malattia è molto rara nel neonato e lattante, mentre è più comune in età successive^{7,8}. La clinica è caratterizzata dall'insorgenza di vescico-bolle tese, con disposizione ad arco o a coccarda, che si localizzano principalmente su glutei, perineo, tronco, cosce, regione periorale e capillizio. È possibile il coinvolgimento mucoso.

L'immunofluorescenza diretta è diagnostica ed è sempre positiva per deposito lineare di IgA sulla membrana basale cutanea.

Quesiti e raccomandazioni

Quesito 1 Quali patologie è opportuno considerare nella diagnosi differenziale delle epidermolisi bollose ereditarie (EB)?

Raccomandazioni

Le seguenti raccomandazioni sono indirizzate ai dermatologi, ai genetisti medici, ai medici di medicina generale, ai neonatologi e ai pediatri.

VI/A

Per effettuare una diagnosi appropriata e tempestiva, si raccomanda di considerare nella diagnosi differenziale delle EB le altre patologie genetiche o acquisite che presentano lesioni vescico-bollose (vedi tabella 5, a pagina 50). Queste patologie variano a seconda dell'epoca di insorgenza della malattia, ma anche dell'età in cui il paziente giunge all'osservazione del medico. In particolare, si raccomanda di tenere presente che quasi tutte le EB giunzionali, la grande maggioranza delle EB distrofiche e le forme più gravi di EB semplici hanno un esordio alla nascita o in epoca neonatale. Nella diagnosi differenziale delle EB nel neonato e lattante sono quindi da prendere in considerazione patologie con lesioni vescico-bollose afferenti ai gruppi delle genodermatosi, delle lesioni da causa esterna, delle patologie infettive, delle patologie bollose autoimmuni, delle malattie infiammatorie, proliferative e delle reazioni da farmaci (vedi tabella 5, a pagina 50).

Per quanto riguarda le poche forme di EB che possono esordire anche nell'infanzia (in particolare l'EB semplice localizzata, l'EB distrofica pretibiale e quella pruriginosa), queste devono essere poste in diagnosi differenziale con:

- le dermatosi bollose autoimmuni, nelle quali l'immunopatologia è caratteristica (dermatosi bollosa a IgA lineari, pemfigo, pemfigoide bolloso e delle mucose, EB acquisita, dermatite erpetiforme di Duhring)
- la pachionichia congenita e la mastocitosi bollosa, facilmente distinguibili sulla base delle manifestazioni cliniche e dei reperti istopatologici
- le lesioni bollose da causa esterna (traumatismi, punture d'insetto, fito o fotodermatiti, eccetera), differenziabili in base alla distribuzione, alla presentazione e all'evoluzione clinica delle lesioni e all'anamnesi.

VI/A

Si raccomanda di considerare che difficilmente ci si trova a porre una prima diagnosi di EB in età giovane adulta o adulta. Pochissime varianti di EB (in particolare l'EB semplice localizzata, l'EB distrofica pretibiale, l'EB distrofica pruriginosa e l'EB giunzionale a esordio tardivo) possono avere esordio in questa fascia di età.

In questi casi, la diagnosi differenziale si pone con le dermatosi bollose autoimmuni e con le lesioni bollose da causa esterna. Queste patologie si possono distinguere dalle EB in base ai criteri anamnestici, clinici (sede, distribuzione, presentazione ed evoluzione), nonché ai reperti istopatologici e immunopatologici.

Quesito 2 Quali sono le genodermatosi che, per frequenza o presentazione clinica, pongono i problemi più significativi di diagnosi differenziale con le EB nel neonato e nel lattante? Quali dati clinici e di laboratorio è opportuno considerare ai fini di una diagnosi appropriata e tempestiva?

Raccomandazioni

Le seguenti raccomandazioni sono indirizzate ai dermatologi, ai genetisti medici, ai neonatologi e ai pediatri.

VI/A

Nella diagnosi differenziale con l'**eritrodermia ittiosiforme congenita bollosa** (o **ipercheratosi epidermolitica**), si raccomanda di considerare che questa rara genodermatosi, a trasmissione generalmente autosomica dominante, è contraddistinta dalla presenza di un eritema cutaneo diffuso e spesso di ipercheratosi con desquamazione. L'indagine istopatologica mostra un quadro patognomnico.

VI/A

Nella diagnosi differenziale con l'**acrodermatite enteropatica**, si raccomanda di tenere presente che questa patologia rara, ereditaria o acquisita, è caratterizzata da manifestazioni cutanee vescico-bollose ed erosive su base eritematosa, generalmente localizzate in sede periorifizia e acrale. Ai fini della diagnosi differenziale è inoltre importante il coinvolgimento intestinale, che è quasi costante e si manifesta con diarrea intermittente. La diagnosi viene generalmente confermata dalla zinchemia ridotta. La terapia sostitutiva con zinco comporta una rapida regressione della sintomatologia, fungendo anche da criterio diagnostico *ex juvantibus*.

VI/A

Nella diagnosi differenziale con l'**aplasia cutis congenita** (ACC), si raccomanda di considerare che questa è caratterizzata da un'agenesia focale dell'epidermide, variabilmente associata alla mancata formazione del derma e talvolta anche delle strutture ossee sottostanti. L'ACC può essere isolata o rappresentare un segno di numerose patologie, tra cui le EB semplici basali, le EB giunzionali e le EB distrofiche, varie displasie ectodermiche, la sindrome di Adams-Oliver e la sindrome da bande amniotiche. Di fronte a un neonato con ACC, in assenza di fragilità cutaneo-mucosa e di comparsa di nuovi elementi nei primi giorni o mesi di vita, si possono di solito escludere tutte le forme di EB, anche se sono descritti rari casi, in particolare di EB distrofica acrale, che possono presentare a lungo un'ACC isolata.

VI/A

Nella diagnosi differenziale con l'**incontinentia pigmenti** si raccomanda di tenere presente che questa genodermatosi è trasmessa con modalità *X-linked* dominante, esordisce nel neonato o nel lattante quasi sempre di sesso femminile ed è caratterizzata da segni cutanei che evolvono generalmente in quattro fasi. La fase iniziale, vescico-bollosa, è di interesse per

la diagnosi differenziale delle EB e si manifesta con chiazze o placche eritematose, ricoperte da lesioni vescicolose o vescico-bollose o vescico-pustolose tese, tipicamente disposte lungo le linee di Blaschko. Altri elementi di rilievo per la diagnosi differenziale sono l'ipereosinofilia periferica spesso presente e l'esame istologico. Infine, un esame obiettivo attento della madre può rivelare segni minimi della quarta fase di malattia, quali le linee atrofiche ipopigmentate distribuite lungo le linee di Blaschko, o anomalie extracutanee.

VI/A

Nella diagnosi differenziale con la **dermatosi erosiva e vesciculosa congenita a cicatrizzazione reticolata**, si raccomanda di considerare che questa patologia è molto rara e si manifesta alla nascita, di solito nei prematuri, con erosioni, ulcerazioni e lesioni vescico-bollose che interessano gran parte della superficie corporea, in particolare il tronco, il cuoio capelluto e gli arti e risparmiano il volto e le regioni palmo-plantari. Le lesioni regrediscono spontaneamente di solito entro i primi tre mesi di vita ed esitano in una cicatrizzazione caratteristica. La diagnosi differenziale con l'EB si basa sull'estensione delle lesioni erosivo-ulcerate alla nascita, sulla loro rapida evoluzione cicatriziale con aspetto reticolare, sulla comparsa limitata di lesioni bollose in seguito a traumi, sulla possibile presenza di ipertermia, nonché sull'assenza dei criteri immunopatologici e ultrastrutturali diagnostici delle EB.

Quesito 3 Quali criteri clinico-anamnestici sono da considerare nella diagnosi differenziale tra le EB e le lesioni vescico-bollose da causa esterna nel neonato e nel lattante?

Raccomandazioni

Le seguenti raccomandazioni sono indirizzate ai dermatologi, ai neonatologi e ai pediatri.

VI/A

Nella diagnosi differenziale con le **bolle da suzione**, si raccomanda di considerare che queste sono presenti alla nascita (essendo dovute a suzione nella vita fetale), di solito sono molto localizzate, generalmente a livello delle labbra o delle mani e risolvono spontaneamente in pochi giorni.

VI/A

Nella diagnosi differenziale con le **bolle iatrogene**, si raccomanda di tenere presente che queste sono riconducibili alle procedure effettuate in epoca neonatale (elettrodi, fototerapia, farmaci topici). L'anamnesi, la distribuzione e la risoluzione spontanea delle lesioni costituiscono gli elementi dirimenti per la diagnosi.

VI/A

Nella diagnosi differenziale con le **ustioni fisiche**, si raccomanda di tenere conto che queste sono causate più frequentemente dal calore (per esempio dall'acqua troppo calda usata per

lavare il neonato). I criteri diagnostici clinici si basano sui seguenti parametri: polimorfismo delle lesioni, con presenza sia di aree eritematose che di elementi bollosi; distribuzione delle lesioni, con coinvolgimento più frequente delle regioni acrali e degli arti inferiori e interessamento di aree di cute contigue con risparmio delle pieghe. Anche il decorso, verso la guarigione e senza comparsa di nuove lesioni, è estremamente rilevante ai fini della diagnosi. Infine l'anamnesi, quando viene ammessa l'ustione, è dirimente.

Quesito 4 Quali criteri clinico-anamnestici e indagini di laboratorio sono da considerare nella diagnosi differenziale tra le EB e le patologie infettive nel neonato e del lattante?

Raccomandazioni

La seguenti raccomandazioni sono indirizzate ai dermatologi, ai neonatologi e ai pediatri.

VI/A

Nella diagnosi differenziale con l'**impetigine bollosa** neonatale si raccomanda di tenere conto della localizzazione delle lesioni bollose (in sede periombelicale in caso di infezione del cordone, o periorifizia, o su regioni ascellari e inguinali) e della loro morfologia (bolle a stampo, flaccide e fragili ed erosioni superficiali con collaretto periferico). Inoltre le lesioni si diffondono con rapidità, spesso intorno al focolaio di partenza. L'esame colturale del liquido della bolla evidenzia la presenza dell'agente patogeno.

VI/A

Nella diagnosi differenziale con la **sindrome delle 4 S** (*Staphylococcal Scalded Skin Syndrome*, SSSS) si raccomanda di tenere conto dei seguenti fattori: la malattia insorge generalmente dopo 3 giorni dalla comparsa di un'infezione mucosa (rinofaringite, congiuntivite), cutanea (onfalite, impetigine) o profonda; le condizioni generali del bambino, che è sofferente e febbrile, sono fortemente compromesse; la comparsa delle lesioni bollose, che sono diffuse, di grandi dimensioni e flaccide, è preceduta da un esantema simile a quello della scarlattina, con inizio in sede periorifizia e a livello delle pieghe e con rapida estensione a tutta la cute. La coltura delle bolle è sterile, a differenza dell'impetigine. Nei rari casi di dubbio diagnostico, l'istologia permette di dimostrare il clivaggio negli strati superiori dell'epidermide.

VI/A

Nella diagnosi differenziale con l'**Herpes simplex neonatale** e la **varicella congenita e neonatale**, si raccomanda di tenere presente che le lesioni elementari di queste patologie sono vescicole e/o pustole, che raramente confluiscono a formare bolle e che talvolta è visibile la patognomica ombelicatura centrale. Nel caso dell'*Herpes simplex* la distribuzione è localizzata, con lesioni raggruppate, o multifocale cutaneo-mucosa; nel caso della varicella

la distribuzione è generalizzata con estensione cranio-caudale. L'anamnesi materna è generalmente positiva per herpes genitale o per varicella durante la gravidanza. L'esame colturale su tampone dal fondo di una lesione vescicolare e/o la ricerca del DNA virale mediante PCR sul liquido della vescicola e sul sangue, nonché l'esame citodiagnostico di Tzanck, consentono di confermare la diagnosi.

Quesito 5 Quali criteri clinico-anamnestici e indagini di laboratorio sono da considerare nella diagnosi differenziale tra le EB e le patologie bollose autoimmuni nel neonato e nel lattante?

Raccomandazioni

Le seguenti raccomandazioni sono indirizzate ai dermatologi, ai neonatologi e ai pediatri.

VI/A

Nella diagnosi differenziale con il **pemfigo neonatale**, si raccomanda di tenere presente che questa patologia bollosa autoimmune si manifesta esclusivamente in neonati da madri affette da pemfigo volgare o, eccezionalmente, foliaceo ed è autorisolutiva. Le lesioni bollose non sono distribuite preferenzialmente nelle zone sottoposte a traumatismo. La diagnosi, sospettata innanzitutto sulla base dell'anamnesi materna, si conferma mediante l'immunofluorescenza indiretta che evidenzia la presenza di anticorpi circolanti. Raramente si deve ricorrere all'immunofluorescenza diretta su biopsia di cute.

VI/A

Nella diagnosi differenziale con il **pemfigoide gestationis neonatale** (*Herpes gestationis*) si raccomanda di considerare che la malattia è sempre presente nella madre. La diagnosi deve poi essere confermata con l'immunofluorescenza diretta, con l'immunofluorescenza indiretta o con il test ELISA per il collagene XVII (antigene del pemfigoide bolloso di 180 kDa, BP180) sul siero. Anche in questo caso la malattia è rapidamente autorisolutiva.

VI/A

Nella diagnosi differenziale con il **pemfigoide bolloso**, si raccomanda di tenere presente che questo è raro nel lattante ed è caratterizzato dalla comparsa di bolle tese di grandi dimensioni generalmente su cute eritematosa, a volte con aspetti orticarioidi o a bersaglio. Il prurito è intenso, le lesioni sono simmetriche e prediligono le estremità, le regioni flessorie degli arti e l'addome. È spesso presente ipereosinofilia periferica. L'immunofluorescenza diretta è diagnostica. Inoltre possono essere positive anche l'immunofluorescenza indiretta e l'*immunoblotting* o il test ELISA per il collagene XVII.

Nella diagnosi differenziale con la **dermatosi bollosa a IgA lineari**, si raccomanda di tenere presente che la malattia è molto rara nel neonato e nel lattante, mentre è più comune

in età successive. La clinica è caratterizzata dall'insorgenza di vescico-bolle tese, con tipica disposizione ad arco o a coccarda, che si localizzano principalmente su glutei, perineo, tronco, cosce, regione periorale e cuoio capelluto. È possibile il coinvolgimento mucoso. L'immunofluorescenza diretta è diagnostica.

Quesito 6 Quali patologie sono da considerare nella diagnosi differenziale della sindrome di Kindler e quali dati clinico-anamnestici sono importanti per distinguere?

Raccomandazione

La seguente raccomandazione è indirizzata ai dermatologi, ai genetisti medici, ai medici di medicina generale, ai neonatologi e ai pediatri.

VI/A

Si raccomanda di considerare che la sindrome di Kindler è caratterizzata, oltre che da fragilità cutanea e lesioni mecano-bollose, da fotosensibilità di grado variabile, da poichilodermia (iper e ipopigmentazione, telangectasie e atrofia) progressiva del viso e del collo e da atrofia cutanea generalizzata. Questo particolare tipo di EB entra quindi in diagnosi differenziale anche con le malattie genetiche che presentano fotosensibilità e/o poichilodermia, e in particolare con:

- la sindrome di Rothmund-Thomson
- la sindrome di Bloom
- la discheratosi congenita
- lo xeroderma pigmentoso
- la poichilodermia sclerosante ereditaria.

La presenza di fragilità cutanea e di lesioni bollose indotte da traumatismo permette di distinguere la sindrome di Kindler dalle patologie citate.

Bibliografia

1. Zvulunov A. Life-threatening cutaneous conditions in neonates. Clin Dermatol 2005;23:134-43.
2. Has C, Bruckner-Tuderman L. Molecular and diagnostic aspects of genetic skin diseases. J Dermatol Sci 2006;44:129-44.
3. Fine JD, Eady RA et al. 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;58:931-50.
4. Sahn EE. Vesiculopustular diseases of neonates and infants. Curr Opin Pediatr 1994;6:442-6.
5. Venencie P, Devictor D. Bulles du nouveau-né. Ann Dermatol Venereol 1999, 126:957-64.

6. Fine JD, Eady RA et al. Revised classification system for inherited epidermolysis bullosa: report of the Second International Consensus Meeting on diagnosis and classification of epidermolysis bullosa. *J Am Acad Dermatol* 2000;42:1051-66.
7. Eichenfield LF, Honig PJ. Blistering disorders in childhood. *Pediatr Clin North Am* 1991;38:959-76.
8. Ho JC, Ng PL et al. Childhood linear IgA bullous disease triggered by amoxicillin-clavulanic acid. *Pediatr Dermatol* 2007;24:E40-3.
9. Waisbourd-Zinman O, Ben-Amitai D et al. Bullous pemphigoid in infancy: clinical and epidemiologic characteristics. *J Am Acad Dermatol* 2008;58:41-8.
10. Hovnanian A, Blanchet-Bardon C, de Prost Y. Poikiloderma of Theresa Kindler: report of a case with ultrastructural study, and review of the literature. *Pediatr Dermatol* 1989;6:82-90.
11. Ashton GH. Kindler syndrome. *Clin Exp Dermatol* 2004;29:116-21.
12. Penagos H, Jaen M et al. Kindler syndrome in native Americans from Panama: report of 26 cases. *Arch Dermatol* 2004;140:939-44.
13. Larizza L, Roversi G, Volpi L. Rothmund-Thomson syndrome. *Orphanet J Rare Dis* 2010;5:2.
14. Kaneko H, Kondo N. Clinical features of Bloom syndrome and function of the causative gene, BLM helicase. *Expert Rev Mol Diagn* 2004;4:393-401.
15. Kirwan M, Dokal I. Dyskeratosis congenita: a genetic disorder of many faces. *Clin Genet* 2008;73:103-12.
16. Hengge UR, Emmert S. Clinical features of xeroderma pigmentosum. *Adv Exp Med Biol* 2008;637:10-8.
17. Grau Salvat C, Pont V et al. Hereditary sclerosing poikiloderma of Weary: report of a new case. *Br J Dermatol* 1999;140:366-8.
18. Maverakis E, Fung MA et al. Acrodermatitis enteropathica and an overview of zinc metabolism. *J Am Acad Dermatol* 2007;56:116-24.
19. Martinez-Regueira S, Vazquez-Lopez ME et al. Aplasia cutis congenita in a defined population from northwest Spain. *Pediatr Dermatol* 2006;23:528-32.
20. Ehrenreich M, Tarlow MM et al. Incontinentia pigmenti (Bloch-Sulzberger syndrome): a systemic disorder. *Cutis* 2007;79:355-62.
21. Sidhu-Malik NK, Resnick SD, Wilson BB. Congenital erosive and vesicular dermatosis healing with reticulated supple scarring: report of three new cases and review of the literature. *Pediatr Dermatol* 1998;15:214-8.
22. Stein S, Stone S, Paller A. Ongoing blistering in a boy with congenital erosive and vesicular dermatosis healing with reticulated supple scarring. *J Am Acad Dermatol* 2001;45:946-8.
23. Metz BJ, Hicks J, Levy M. Congenital erosive and vesicular dermatosis healing with reticulated supple scarring. *Pediatr Dermatol* 2005;22:55-9.
24. Campo-Voegeli A, Muñiz F et al. Neonatal pemphigus vulgaris with extensive mucocutaneous lesions from a mother with oral pemphigus vulgaris. *Br J Dermatol* 2002;147:801-5.
25. Ugajin T, Yahara H et al. Two siblings with neonatal pemphigus vulgaris associated with mild maternal disease. *Br J Dermatol* 2007;157:192-14.
26. Aoyama Y, Asai K et al. Herpes gestationis in a mother and newborn: immunoclinical perspectives based on a weekly follow-up of the enzyme-linked immunosorbent assay index of a bullous pemphigoid antigen noncollagenous domain. *Arch Dermatol* 2007;143:1168-72.
27. Jenkins RE, Hern S, Black MM. Clinical features and management of 87 patients with pemphigoid gestationis. *Clin Exp Dermatol* 1999;24:255-9.

Indagini immunopatologiche e ultrastrutturali

Premessa

Le indagini immunopatologiche (anche note come mappaggio antigenico) per la diagnosi delle epidermolisi bollose (EB) si eseguono su sezioni congelate ottenute al criostato dalla biopsia cutanea, utilizzando un pannello di anticorpi che riconoscono proteine implicate nell'adesione dei cheratinociti al sottostante mesenchima o intercheratinocitaria e tecniche di immunofluorescenza indiretta o amplificata^{1,2}.

Le indagini ultrastrutturali si eseguono su sezioni ultrasottili, ottenute all'ultramicrotomo a partire dalla biopsia cutanea fissata e processata secondo metodiche standard per la microscopia elettronica a trasmissione e poi colorate con acetato di uranile e piombo citrato¹⁻³.

Entrambi questi tipi di analisi permettono in primo luogo di definire il sito di clivaggio nella cute, e quindi di distinguere²:

- EB semplici (EBS), caratterizzate da clivaggio intraepidermico; all'interno di queste, le analisi permettono di differenziare le forme basali dalle rarissime varianti soprabasali
- EB giunzionali (EBG), in cui il clivaggio è nella lamina lucida della giunzione dermo-epidermica (GDE)
- EB distrofiche (EBD), in cui il clivaggio è sotto la lamina densa della GDE.

Nella sindrome di Kindler (SK) il clivaggio è più frequentemente localizzato a livello del citoplasma dei cheratinociti basali, ma può anche essere situato nella lamina lucida o al di sotto della lamina densa della GDE: la determinazione del piano di clivaggio in questa patologia non ha quindi valore diagnostico⁴⁻⁷. Le tabelle 6 e 7 indicano rispettivamente i reperti ultrastrutturali e di mappaggio antigenico tipici dei diversi tipi di EB.

La sensibilità e la specificità di queste due tecniche per definire il tipo di EB (in particolare EBS, EBG ed EBD) sono considerate in generale paragonabili^{1,2}; un recente studio comparativo suggerisce tuttavia che il mappaggio antigenico in immunofluorescenza sia superiore all'analisi ultrastrutturale³. Rispetto alla microscopia elettronica, l'indagine immunopatologica è inoltre più rapida, meno costosa e non richiede apparecchiature particolari, a parte il criostato. Infine, con entrambe le metodiche si possono, seppur raramente, ottenere dei falsi negativi, in particolare in caso di assenza di aree di clivaggio nella biopsia cutanea (questa evenienza si verifica talvolta in pazienti con forme miti e localizzate di EB).

Oltre a definire il sito di clivaggio, l'indagine ultrastrutturale permette di evidenziare alterazioni morfologiche quantitative e/o qualitative di strutture implicate nell'adesione dermo-epidermica o intercheratinocitaria, come indicato nella tabella 6. Tra queste alterazioni, sono diagnostiche di varianti specifiche di EB:

- la presenza di aggregati di tonofilamenti nell'EBS di Dowling-Meara. Questi aggregati costituiscono un reperto costante in cute lesionale e sono visibili nella maggior parte dei casi anche in sede perilesionale o in cute clinicamente sana^{1,2,10}. È opportuno sot-

Tabella 6. Sito di clivaggio e altri reperti ultrastrutturali caratteristici nei 4 tipi di epidermolisi bollosa (EB) e in alcune varianti

Tipo e variante di EB	Sito di clivaggio	Altri reperti
EB semplice (EBS)	Intraepidermico	
EBS localizzata e generalizzata, EBS con pigmentazione <i>mottled</i> , EBS con eritema circinato migrante	Citoplasma dei cheratinociti basali, talvolta con estensione al primo strato soprabasale	–
EBS di Dowling-Meara	Citoplasma dei cheratinociti basali (subnucleare)	Aggregati di tonofilamenti nei cheratinociti basali ^(a)
EBS con distrofia muscolare, EBS con atresia pilorica, EBS di Ogna	Citoplasma dei cheratinociti basali, subito sopra la placca citoplasmatica degli emidesmosomi	Diminuita inserzione dei tonofilamenti sugli emidesmosomi e ridotto numero di emidesmosomi
EBS recessiva	Citoplasma dei cheratinociti basali (subnucleare)	Assenza o marcata riduzione dei tonofilamenti nei cheratinociti basali ^(a)
EBS acantolitica letale	Nel primo strato soprabasale dell'epidermide, con cheratinociti acantolitici	Retrazione perinucleare dei tonofilamenti in tutta l'epidermide
EBS da deficit di placofilina-1	Negli strati intermedi dell'epidermide: separazione intercheratinocitaria con spazi intercellulari dilatati	Addensamento perinucleare dei tonofilamenti, con desmosomi ridotti di numero e ipoplastici
EB giunzionale (EBG)	Lamina lucida^(a)	
EBG di Herlitz	Lamina lucida	Emidesmosomi molto ridotti di numero e rudimentali con assenza completa di placca densa sub-basale
EBG non Herlitz	Lamina lucida	Emidesmosomi ridotti di numero e ipoplastici con diminuita inserzione dei tonofilamenti o raramente normali
EBG con atresia pilorica	Lamina lucida e, focalmente, cheratinociti basali subito sopra la placca citoplasmatica degli emidesmosomi	Emidesmosomi ridotti di numero e variamente ipoplastici con diminuita inserzione dei tonofilamenti
EB distrofica (EBD)	Sub-lamina densa^(b)	
EBD recessiva generalizzata grave	Sub-lamina densa	Fibrille di ancoraggio assenti o rudimentali
EBD recessiva generalizzata, altre forme, EBD recessiva inversa	Sub-lamina densa	Fibrille di ancoraggio ridotte di numero e morfologicamente ipoplastiche o rudimentali
EBD dominante generalizzata, EBD pruriginosa, EBD pretibiale	Sub-lamina densa	Fibrille di ancoraggio ridotte di numero e morfologicamente ipoplastiche o normali
EBD acrale	Sub-lamina densa	Fibrille di ancoraggio normali o ridotte di numero
Dermolisi bollosa transitoria del neonato	Sub-lamina densa	Inclusioni citoplasmatiche a contenuto granulare (corpi stellati) nei cheratinociti basali ^(a) , fibrille di ancoraggio ridotte e ipoplastiche
Sindrome di Kindler	Piani di clivaggio multipli: citoplasma dei cheratinociti basali, lamina lucida e sub-lamina densa	Numerose duplicazioni della lamina densa della membrana basale cutanea ^(f)

(a) Nelle varianti di EBG non menzionate il sito di clivaggio è nella lamina lucida

(b) Il sito di clivaggio è sotto la lamina densa in tutte le varianti di EBD, anche quelle non specificamente menzionate

(c) Reperto costante in cute lesionale, osservabile nella

maggioranza dei casi anche in cute perilesionale e clinicamente normale

(d) Descritto almeno un caso, dovuto a omozigosi per una mutazione missenso, con tonofilamenti normali⁸

(e) Reperto costante in pazienti con malattia attiva

(f) Reperto caratteristico anche se non diagnostico

Tabella 7. Localizzazione della marcatura per proteine strutturali implicate nell’adesione epitelio-mesenchimale in corrispondenza delle aree di distacco nei quattro tipi di epidermolisi bollose (EB)

Tipo di EB	Plectina	Integrina $\alpha 6 \beta 4$	Collagene XVII	Laminina-332	Collagene IV	Collagene VII
EB semplice	P*	P	P	P	P	P
EB giunzionale	T	T* o T/P	T* o T/P	P*	P	P
EB distrofica	T	T	T	T	T	T* o T/P*
Sindrome di Kindler	T o P o T/P	T o P o T/P	T o P o T/P	P o T/P	P o T/P	P o T/P

Legenda:

P = pavimento dell’area di distacco; T = tetto dell’area di distacco.

* La marcatura può essere ridotta o assente in varianti specifiche (vedi tabella 8 a pagina 70)

tolineare che l’indagine ultrastrutturale è l’unica metodica di laboratorio non molecolare che consente di porre la diagnosi di EBS di Dowling-Meara

- l’assenza o la marcata riduzione dei tonofilamenti di cheratina nei cheratinociti basali nell’EBS recessiva^{2,10-12}
- l’assenza di fibrille di ancoraggio nell’EBD recessiva generalizzata grave^{1,2,13-15}
- la presenza di inclusioni citoplasmatiche a contenuto granulare, chiamate “corpi stellati”, nella dermolisi bollosa transitoria del neonato, osservabili nei pazienti con malattia attiva^{1,2,16}.

Tra gli altri reperti ultrastrutturali di rilievo vi sono:

- le alterazioni nell’inserzione dei tonofilamenti sugli emidesmosomi e della placca citoplasmatica interna degli stessi emidesmosomi nell’EBS con distrofia muscolare, nell’EBS di Ogna e nell’EBS con atresia pilorica; alterazioni simili sono tuttavia osservabili anche nelle EBG^{2,17-21}
- la riduzione di numero e le alterazioni strutturali degli emidesmosomi, presenti in grado variabile praticamente in tutte le forme di EBG^{1,2,17,22-29}
- la riduzione di numero e le alterazioni strutturali delle fibrille di ancoraggio, osservabili nella grande maggioranza dei casi di EBD^{1,2,13-16,30-32}
- le estese duplicazioni della lamina densa della membrana basale cutanea, reperto tipico e, secondo osservazioni recenti, precoce della SK^{4-7,33,34}; tale reperto non è tuttavia sufficientemente specifico per poter essere considerato da solo diagnostico.

È opportuno sottolineare che, in una parte dei casi, la dimostrazione della presenza di alterazioni ultrastrutturali degli emidesmosomi e delle fibrille di ancoraggio può richiedere l’uso di tecniche morfometriche non applicabili nella diagnostica di routine^{13,14,17,22}.

A sua volta, l’indagine immunopatologica permette, grazie all’uso di un adeguato pannello di anticorpi policlonali o monoclonali, di distinguere singole varianti di EB caratte-

rizzate da alterata espressione di componenti proteiche dei complessi di adesione epitelio-mesenchimali e intercheratinocitari e, in particolare, di differenziare² (vedi tabella 8):

- l'EBS recessiva, caratterizzata da una completa assenza o marcata riduzione di espressione della cheratina 14^{11,12,35}
- l'EBS con distrofia muscolare, l'EBS di Onga e l'EBS con atresia pilorica, caratterizzate da completa assenza o marcata riduzione di espressione di plectina^{18-20,36}
- l'EBS da deficit di placofilina-1, caratterizzata da completa assenza o marcata riduzione di espressione di placofilina-1^{37,38}
- l'EBG di Herlitz, caratterizzata da completa assenza di espressione di laminina-332 (laminina-5)^{1,27,28,39,40}. Da notare che, per la valutazione dell'espressione della laminina-332, sono disponibili anticorpi che riconoscono sia la proteina eterotrimerica sia le singole subunità ($\alpha 3$, $\beta 3$, $\gamma 2$); l'uso di questi ultimi non permette tuttavia di identificare con certezza la subunità difettiva e quindi il gene mutato³⁹
- l'EBG non Herlitz generalizzata da deficit parziale di laminina-332^{27,28,39}. Anche in questo caso l'uso di anticorpi specifici per le singole subunità della laminina-332 non consente di identificare quale sia il gene mutato tra i tre che codificano per questa isoforma di laminina³⁹
- l'EBG non Herlitz generalizzata o localizzata da deficit parziale o completo di collagene di tipo XVII (BP180)^{29,41,42}
- l'EBG con atresia pilorica, caratterizzata da una completa assenza o riduzione di espressione dell'integrina $\alpha 6\beta 4$; anche nel caso dell'integrina $\alpha 6\beta 4$ l'uso di anticorpi che riconoscono le singole subunità della proteina è di utilità limitata per l'identificazione del gene mutato tra i due che codificano per questa integrina²³⁻²⁶
- l'EBD recessiva generalizzata grave, caratterizzata da una completa assenza o estrema riduzione di espressione del collagene di tipo VII^{1,15,31,43,44}.

È importante sottolineare che, anche se i *pattern* sopra descritti sono comunemente considerati diagnostici in quanto presenti nella quasi totalità dei pazienti affetti, sono state descritte singole eccezioni per diverse varianti di EB.

Tra gli altri reperti immunopatologici di interesse, si ricorda che diverse varianti di EBD possono presentare un'espressione ridotta e/o alterata del collagene VII^{1,15,16,30-32,43-46}.

Infine, la SK è di solito caratterizzata da un'assenza o riduzione di espressione di kindlina-1^{7,33}, ma non sono ancora disponibili anticorpi che abbiano specificità e sensibilità adeguate all'uso diagnostico. Invece è caratteristica, anche se da sola non diagnostica, la marcatura di spessore aumentato e di aspetto reticolare che si osserva con anticorpi anti-laminina-332, collagene IV e collagene VII in questa patologia^{5,6,34}.

L'uso combinato delle metodiche di analisi immunopatologica e ultrastrutturale consente quindi sia una definizione diagnostica precoce (prima dell'insorgenza di sintomi clinici distintivi) e rapida del tipo di EB e di numerose varianti, con implicazioni prognostiche importanti, sia di restringere il numero dei geni candidati su cui eseguire, se indicata, la successiva analisi genetico-molecolare.

In conclusione, l'insieme di questi dati spiega la necessità di praticare in tutti i pazienti

Tabella 8. Espressione di proteine strutturali implicate nell’adesione epitelio-mesenchimale e intercheratinocitaria nei diversi tipi e varianti di epidermolisi bollose (EB)

Tipo e variante di EB	K14	Plec	Lam-332	Integrina α6β4
EB semplice (EBS)				
EBS localizzata, EBS generalizzata, EBS di Dowling-Meara, EBS, pigmentazione <i>mottled</i> , EBS con eritema circinato migrante	N	N	N	N
EBS con distrofia muscolare, EBS di Ogna, EBS con atresia pilorica	N	A o R	N	N
EBS recessiva	A	N	N	N
EBS da deficit di placofilina-1	N	N	N	N
EB giunzionale (EBG)				
EBG di Herlitz	N	N	A	N
EBG non Herlitz	N	N	N o R**	N
EBG con atresia pilorica	N	N	N	R o A
EBG inversa	N	N	R	N
Sindrome laringo-onico-cutanea	N	N	N	N
EB distrofica (EBD)				
EBD recessiva generalizzata grave	N	N	N	N
EBD recessiva generalizzata, altre forme	N	N	N	N
EBD recessiva inversa	N	N	N	N
EBD dominante generalizzata	N	N	N	N
EBD pretibiale	N	N	N	N
EBD pruriginosa	N	N	N	N
EBD acrale	N	N	N	N
Dermolisi bollosa transitoria del neonato	N	N	N	N
Sindrome di Kindler	N	N	N****	N

con sospetto diagnostico di EB due biopsie cutanee per eseguire sia il mappaggio antigenico in immunofluorescenza sia l’analisi ultrastrutturale.

Ove sia impossibile eseguire due biopsie, l’esame da privilegiare è l’immunopatologia, in quanto in generale più informativa (unica eccezione è l’EBS di Dowling-Meara, diagnosti- cabile solo con l’esame ultrastrutturale).

Coll XVII	Coll VII	PKP1*	KIND1*
N	N	-	-
N	N	-	-
N	N	-	-
N	N	A o R	-
N	N	-	-
N o R o A**	N	-	-
N	N	-	-
N	N	-	-
N	N	-	-
N	A	-	-
N	R o N	-	-
N	N o R***	-	-
N	N o R***	-	-
N	N o R***	-	-
N	N o R***	-	-
N	N	-	-
N	R****	-	-
N	N*****	-	A o R

Legenda:

K14: cheratina 14; Plec: plectina; Lam-332: laminina-332; Coll XVII: collagene XVII; Coll VII: collagene VII; PKP1: placofilina-1; KIND1: kindlina-1; N: marcatura di intensità normale; R: espressione ridotta; A: assente. Sono riportati in grassetto i reperti di rilievo ai fini diagnostici.

Note:

I dati riportati si riferiscono alla grande maggioranza dei casi descritti per ciascuna variante; per alcune varianti sono tuttavia riportati in letteratura casi singoli con pattern diversi.

** La marcatura con anticorpi anti-placofilina-1 e anti-kindlina-1 non fa parte del pannello diagnostico delle EB per l'estrema rarità della sindrome displasia ectodermica/fragilità cutanea e in quanto gli anticorpi anti-kindlina-1 non sono ancora standardizzati per uso diagnostico.*

*** A seconda del paziente risulta alterata l'espressione della laminina-332 o quella del collagene di tipo XVII (BP180).*

**** In una parte dei casi si può osservare una marcatura alterata (per esempio intracitoplasmatica nei cheratinociti basali o granulare nel derma papillare)*

***** Intensa marcatura intracitoplasmatica granulare nei cheratinociti basali nei pazienti con malattia attiva*

****** La marcatura per la laminina-332, il collagene VII ed anche il collagene IV è di spessore aumentato rispetto alla cute di controllo e mostra un tipico pattern reticolare.*

Considerata la complessità dei reperti immunopatologici e ultrastrutturali nelle EB, è opportuno che queste indagini diagnostiche vengano eseguite in centri di riferimento con un'esperienza specifica e quindi in grado di interpretare correttamente eventuali artefatti o risultati atipici (vedi capitolo *Percorso diagnostico delle epidermolisi bollose ereditarie nella rete nazionale delle malattie rare*, a pagina 112).

Quesiti e raccomandazioni

Quesito 1 Quali indagini di laboratorio si devono richiedere per confermare la diagnosi di epidermolisi bollosa ereditaria (EB) e definirne il tipo e la variante?

Raccomandazione

La seguente raccomandazione è indirizzata ai dermatologi, ai genetisti medici, ai medici di medicina generale, ai neonatologi e ai pediatri.

V/A

Nell'iter diagnostico delle EB, si raccomanda di richiedere sempre l'indagine immunopatologica (o mappaggio antigenico) e quella ultrastrutturale su biopsie di cute, in quanto queste analisi permettono di distinguere le diverse forme di EB in relazione al sito di clivaggio nella cute ed alle alterazioni specifiche. Nelle tabelle 6, 7 e 8 (alle pagine 67, 68, 70) sono riportati i reperti ultrastrutturali e immunopatologici nei diversi tipi e varianti di EB.

Quesito 2 Quali elementi si devono considerare per interpretare correttamente i risultati delle indagini ultrastrutturali e immunopatologiche?

Raccomandazioni

Le seguenti raccomandazioni sono indirizzate agli anatomo-patologi, ai dermatologi, ai genetisti medici, ai neonatologi e ai pediatri.

V/A

Per quanto riguarda l'indagine ultrastrutturale, si raccomanda di considerare che essa:

- utilizza la microscopia elettronica ed evidenzia, oltre al livello di formazione della lesione bollosa nella cute, alterazioni morfologiche quantitative e qualitative di strutture di adesione dermo-epidermica o intercheratinocitaria, diagnostiche di specifiche varianti di EB (vedi tabella 6 a pagina 67)
- rappresenta l'unica analisi di laboratorio non molecolare in grado di identificare soggetti con la variante di EB semplice di Dowling-Meara.

V/A

Per quanto riguarda l'indagine immunopatologica, si raccomanda di considerare che essa:

- evidenzia il livello di formazione della lesione bollosa nella cute (vedi tabella 7 a pag. 68)
- permette di porre la diagnosi di numerose varianti di EB, in particolare quelle più gravi, caratterizzate da una completa assenza o ridotta espressione di una specifica componente proteica dei complessi di adesione epitelio-mesenchimale o intercheratinocitaria (vedi tabella 8 a pagina 70).

Per quanto riguarda la valutazione comparativa delle due metodiche in termini di sensibilità e specificità, si raccomanda considerare che:

- l'indagine immunopatologica è paragonabile all'indagine ultrastrutturale per definire il tipo maggiore di EB (EB semplice, EB giunzionale, EB distrofica)
- vi sono reperti specifici, diagnostici di varianti diverse di EB, evidenziabili con una sola delle due metodiche.

Quesito 3 Quali sono i vantaggi e gli svantaggi dell'indagine immunopatologica?

Raccomandazione

La seguente raccomandazione è indirizzata agli anatomo-patologi, ai dermatologi, ai genetisti medici, ai neonatologi e ai pediatri.

V/A

Ai fini di un corretto utilizzo dell'indagine immunopatologica, si raccomanda di considerare che essa presenta i seguenti vantaggi:

- facilità di accesso
- disponibilità di un pannello specifico di anticorpi da utilizzare e di una metodologia standard
- costo limitato
- rapidità di esecuzione.

Gli svantaggi sono:

- possibilità di falsi negativi, in particolare in caso di assenza di aree di clivaggio nella biopsia cutanea e in presenza di un'espressione conservata di tutte le proteine implicate nelle varie forme di EB
- necessità di utilizzare criosezioni per uno studio completo dell'espressione delle proteine potenzialmente alterate nelle EB
- non disponibilità in commercio di alcuni anticorpi da utilizzare.

Quesito 4 Qual è l'utilità dell'uso combinato dell'indagine immunopatologica e ultrastrutturale nella diagnosi di EB?

Raccomandazione

V/A

La seguente raccomandazione è indirizzata agli anatomo-patologi, ai dermatologi, ai genetisti medici, ai medici di medicina generale, ai neonatologi e ai pediatri.

Si raccomanda di considerare che l'uso combinato delle indagini immunopatologiche e ultrastrutturali, consentendo una diagnosi certa e rapida del tipo e di numerose varianti di EB,

permette sia di valutare le implicazioni prognostiche in relazione al tipo e alla variante clinica di EB, sia di indirizzare l'indagine genetica, in quanto restringe il numero dei geni candidati su cui effettuare, se indicata, la successiva analisi genetico-molecolare. L'esecuzione di entrambe le indagini è quindi importante ai fini della formulazione di una previsione prognostica tempestiva e quanto più possibile accurata e della riduzione dei costi e del tempo impiegato per l'analisi genetico-molecolare, se indicata.

Bibliografia

1. Fine JD, Bauer EA, et al (editors). Epidermolysis bullosa: clinical, epidemiologic and laboratory advances and the findings of the National Epidermolysis Bullosa Registry. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1999.
2. Fine JD, Eady RA et al. 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;58:931-50.
3. Yiasemides E, Walton J et al. A comparative study between transmission electron microscopy and immunofluorescence mapping in the diagnosis of epidermolysis bullosa. *Am J Dermatopathol* 2006;28:387-94.
4. Hovnanian A, Blanchet-Bardon C, de Prost Y. Poikiloderma of Theresa Kindler: report of a case with ultrastructural study, and review of the literature. *Pediatr Dermatol* 1989;6:82-90.
5. Shimizu H, Sato M et al. Immunohistochemical, ultrastructural, and molecular features of Kindler syndrome distinguish it from dystrophic epidermolysis bullosa. *Arch Dermatol* 1997;133:1111-7.
6. Lanschuetzer CM, Muss WH et al. Characteristic immunohistochemical and ultrastructural findings indicate that Kindler's syndrome is an apoptotic skin disorder. *J Cutan Pathol* 2003;30:553-60.
7. Burch JM, Fassihi H et al. Kindler syndrome: a new mutation and new diagnostic possibilities. *Arch Dermatol* 2006;142:620-4.
8. Hovnanian A, Pollack E et al. A missense mutation in the rod domain of keratin 14 associated with recessive epidermolysis bullosa simplex. *Nat Genet* 1993;3:327-32.
9. McGrath JA, Ishida-Yamamoto A et al. Epidermolysis bullosa simplex (Dowling-Meara). A clinicopathological review. *Br J Dermatol* 1992;126:421-30.
10. Rugg EL, McLean WH et al. A functional "knockout" of human keratin 14. *Genes Dev* 1994;8:2563-73.
11. Chan Y, Anton-Lamprecht I et al. A human keratin 14 "knockout": the absence of K14 leads to severe epidermolysis bullosa simplex and a function for an intermediate filament protein. *Genes Dev* 1994;8:2574-87.
12. Jonkman MF, Heeres K et al. Effects of keratin 14 ablation on the clinical and cellular phenotype in a kindred with recessive epidermolysis bullosa simplex. *J Invest Dermatol* 1996;107:764-9.
13. Tidman MJ, Eady RA. 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;84:374-7.
14. McGrath JA, Ishida-Yamamoto A et al. Structural variations in anchoring fibrils in dystrophic epidermolysis bullosa: correlation with type VII collagen expression. *J Invest Dermatol* 1993;100:366-72.
15. Gardella R, Castiglia D et al. Genotype-phenotype correlation in Italian patients with dystrophic epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 2002;119:1456-62.
16. Fassihi H, Diba VC et al. Transient bullous der-

- molysis of the newborn in three generations. *Br J Dermatol* 2005;153:1058-63.
17. McMillan JR, McGrath JA et al. Hemidesmosomes show abnormal association with the keratin filament network in junctional forms of epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 1998;110:132-7.
 18. Shimizu H, Takizawa Y et al. Epidermolysis bullosa simplex associated with muscular dystrophy: phenotype-genotype correlations and review of the literature. *J Am Acad Dermatol* 1999;41:950-6.
 19. Koss-Harnes D, Hoyheim B et al. A site-specific plectin mutation causes dominant epidermolysis bullosa simplex Ogná: two identical de novo mutations. *J Invest Dermatol* 2002;118:87-93.
 20. Nakamura H, Sawamura D et al. Epidermolysis bullosa simplex associated with pyloric atresia is a novel clinical subtype caused by mutations in the plectin gene (PLEC1). *J Mol Diagn* 2005;7:28-35.
 21. Pfendner E, Uitto J. Plectin gene mutations can cause epidermolysis bullosa with pyloric atresia. *J Invest Dermatol* 2005;124:111-5.
 22. Tidman MJ, Eady RA. Hemidesmosome heterogeneity in junctional epidermolysis bullosa revealed by morphometric analysis. *J Invest Dermatol* 1986;86:51-6.
 23. Ruzzi L, Gagnoux-Palacios L et al. A homozygous mutation in the integrin $\alpha 6$ gene in junctional epidermolysis bullosa with pyloric atresia. *J Clin Invest* 1997;99:2826-31.
 24. Mellerio JE, Pulkkinen L et al. Pyloric atresia-junctional epidermolysis bullosa syndrome: mutations in the integrin $\beta 4$ gene (ITGB4) in two unrelated patients with mild disease. *Br J Dermatol* 1998;139:862-71.
 25. Dank JP, Kim S et al. Outcome after surgical repair of junctional epidermolysis bullosa-pyloric atresia syndrome: a report of 3 cases and review of the literature. *Arch Dermatol* 1999;135:1243-7.
 26. Nakano A, Pulkkinen L et al. Epidermolysis bullosa with congenital pyloric atresia: novel mutations in the $\beta 4$ integrin gene (ITGB4) and genotype/phenotype correlations. *Pediatr Res* 2001;49:618-26.
 27. Nakano A, Chao SC et al. Laminin 5 mutations in junctional epidermolysis bullosa: molecular basis of Herlitz vs non-Herlitz phenotypes. *Hum Genet* 2002;110:41-51.
 28. Posteraro P, De Luca N et al. Laminin-5 mutational analysis in an Italian cohort of patients with junctional epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 2004;123:639-48.
 29. Pasmooij AM, Pas HH et al. Localized and generalized forms of blistering in junctional epidermolysis bullosa due to COL17A1 mutations in the Netherlands. *Br J Dermatol* 2007;156:861-70.
 30. Lin AN, Smith LT, Fine JD. Dystrophic epidermolysis bullosa inversa: report of two cases with further correlation between electron microscopic and immunofluorescence studies. *J Am Acad Dermatol* 1995;33:361-5.
 31. Posteraro P, Pascucci M et al. Denaturing HPLC-based approach for detection of COL17A1 gene mutations causing dystrophic epidermolysis bullosa. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;338:1391-401.
 32. Drera B, Castiglia D et al. Dystrophic epidermolysis bullosa pruriginosa in Italy: clinical and molecular characterization. *Clin Genet* 2006;70:339-47.
 33. Ashton GH, McLean WH et al. Recurrent mutations in kindlin-1, a novel keratinocyte focal contact protein, in the autosomal recessive skin fragility and photosensitivity disorder, Kindler syndrome. *J Invest Dermatol* 2004;122:78-83.
 34. Has C, Wessagowit V et al. Molecular basis of Kindler syndrome in Italy: novel and recurrent Alu/Alu recombination, splice site, nonsense, and frameshift mutations in the KIND1 gene. *J Invest Dermatol* 2006;126:1776-83.
 35. Has C, Chang YR et al. Novel keratin 14 mutations in patients with severe recessive epidermolysis bullosa simplex. *J Invest Dermatol* 2006;126:1912-4.
 36. Charlesworth A, Gagnoux-Palacios L et al. Identification of a lethal form of epidermolysis bullosa simplex associated with a homozygous genetic mutation in plectin. *J Invest Dermatol* 2003;121:1344-8.

37. Hamada T, South AP et al. Genotype-phenotype correlation in skin fragility-ectodermal dysplasia syndrome resulting from mutations in plakophilin 1. *Exp Dermatol* 2002;11:107-14.
38. McMillan JR, Haftek M et al. Alterations in desmosome size and number coincide with the loss of keratinocyte cohesion in skin with homozygous and heterozygous defects in the desmosomal protein plakophilin 1. *J Invest Dermatol* 2003;121:96-103.
39. McMillan JR, McGrath JA et al. Immunohistochemical analysis of the skin in junctional epidermolysis bullosa using laminin 5 chain specific antibodies is of limited value in predicting the underlying gene mutation. *Br J Dermatol* 1997;136:817-22.
40. Castori M, Floriddia G et al. Herlitz junctional epidermolysis bullosa: laminin-5 mutational profile and carrier frequency in the Italian population. *Br J Dermatol* 2008;158:38-44.
41. Ruzzi L, Pas H et al. A homozygous nonsense mutation in type XVII collagen gene (COL17A1) uncovers an alternatively spliced mRNA accounting for an unusually mild form of non-Herlitz junctional epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 2001;116:182-7.
42. Jonkman MF, de Jong MC et al. Generalized atrophic benign epidermolysis bullosa. Either 180-kd bullous pemphigoid antigen or laminin-5 deficiency. *Arch Dermatol* 1996;132:145-50.
43. Kern JS, Kohlhase J et al. Expanding the COL7A1 mutation database: novel and recurrent mutations and unusual genotype-phenotype constellations in 41 patients with dystrophic epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 2006;126:1006-12.
44. Dang N, Klingberg S et al. Review of collagen VII sequence variants found in Australasian patients with dystrophic epidermolysis bullosa reveals nine novel COL7A1 variants. *J Dermatol Sci* 2007;46:169-78.
45. McGrath JA, Schofield OM, Eady RA. Epidermolysis bullosa pruriginosa: dystrophic epidermolysis bullosa with distinctive clinicopathological features. *Br J Dermatol* 1994;130:617-25.
46. Christiano AM, Fine JD, 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;109:811-4.

Consulenza genetica

Premessa

La consulenza genetica è un processo di comunicazione attraverso il quale i pazienti affetti da una malattia che può avere un'origine genetica e/o i loro familiari ricevono informazioni relative alle caratteristiche della malattia, alle modalità di trasmissione, al rischio di ricorrenza, alle opzioni riproduttive e alla presa in carico, comprese le possibili terapie.

Il fulcro della consulenza genetica è la diagnosi clinica. Pertanto il consulente genetista, oltre a eseguire l'esame obiettivo, valuta la documentazione disponibile, comprese le indagini di laboratorio e strumentali già eseguite, che possono essere integrate con ulteriori accertamenti utili al raggiungimento della diagnosi certa. Il genetista clinico, durante il colloquio, valuta l'eleggibilità dei test genetici diagnostici e le loro implicazioni diagnostiche, riproduttive e psicologiche.

Le informazioni collegate a una specifica malattia o a un gruppo di malattie simili possono avere implicazioni molto diverse in rapporto al sottotipo clinico.

Questi concetti generali si applicano anche alle epidermolisi bollose ereditarie.

La consulenza genetica nelle epidermolisi bollose ereditarie

La consulenza genetica delle epidermolisi bollose ereditarie (EB) viene di solito richiesta dal dermatologo che ha in carico il paziente, allo scopo di valutare l'opportunità di eseguire indagini molecolari mirate. Le indicazioni all'analisi genetica riguardano:

- la conferma di una diagnosi dubbia
- l'accertamento del rischio di ricorrenza della malattia nelle future gravidanze del paziente o di un suo consanguineo
- la ricerca di una diagnosi affidabile e precoce, quando siano note precise correlazioni genotipo-fenotipo
- la pianificazione della diagnosi prenatale.

Il test genetico rappresenta la fase finale di un percorso diagnostico complesso, che comprende la raccolta dettagliata dell'anamnesi familiare e personale, l'esame obiettivo generale, la classificazione del sottotipo della malattia mediante il mappaggio antigenico per immunofluorescenza e microscopia elettronica su biopsia cutanea. In assenza di questo percorso preliminare, l'elevata eterogeneità genetica e di *locus* (sono note centinaia di mutazioni in 13 geni) non giustifica, se non in casi eccezionali, il ricorso alle analisi molecolari.

Pertanto, nel corso della consulenza, il genetista medico verifica che siano state acquisite tutte le informazioni preliminari ricostruisce l'albero genealogico, verificando che non esistano nella famiglia altri casi non diagnosticati, accerta l'eventuale consanguineità dei genitori e l'origine etnica della famiglia.

Accertamento del modello di trasmissione nei casi familiari

La presenza di altri consanguinei affetti rappresenta spesso la spia per definire il modello di trasmissione della malattia e calcolare la probabilità di un individuo di essere portatore sano. Infatti, molte forme di EB possono essere ereditate con modalità autosomica sia dominante sia recessiva, mentre poche di esse sono trasmesse con un solo modello: in particolare, l'EB semplice con distrofia muscolare e quella con atresia pilorica, le EB giunzionali, la sindrome di Kindler, l'EB semplice da deficit di placofilina 1 (o sindrome da displasia ectodermica/fragilità cutanea) e l'EB acantolitica letale si trasmettono con modalità autosomica recessiva. Le forme dominanti vengono di solito trasmesse da una persona affetta in media al 50% dei figli, indipendentemente dal loro sesso, mentre quelle recessive sono trasmesse da genitori portatori non affetti in media al 25% dei figli, indipendentemente dal sesso.

In base al modello autosomico recessivo, le persone affette possono avere solo figli portatori sani e quindi non affetti, tranne nel caso in cui il partner sia portatore sano della stessa patologia, evento eccezionale nel caso delle malattie rare come le EB ereditarie, se i partner non sono consanguinei. Le EB, sia quelle dominanti sia quelle recessive, hanno penetranza completa, ma la loro espressione clinica può essere molto variabile. Pertanto, soprattutto nel caso delle forme molto lievi, la ricorrenza familiare può anche non essere ovvia quando si faccia riferimento solo ai dati anamnestici. Per questo può essere necessaria la valutazione diretta dei consanguinei di primo grado del soggetto in esame.

Il caso sporadico

Spesso, dopo avere raccolto l'anamnesi e valutato direttamente i familiari apparentemente non affetti, l'EB si presenta come un evento sporadico nella famiglia. Di conseguenza, nei casi sporadici di EB distrofica non è possibile distinguere quelli dovuti a mutazioni autosomiche recessive da quelli dovuti a mutazioni autosomiche dominanti insorte *de novo*. In questi pazienti, l'analisi molecolare costituisce l'unico strumento in grado di distinguere il modello di trasmissione e di definire il rischio riproduttivo dei genitori e del paziente stesso. Infatti, persino la consanguineità dei genitori, che costituisce di per sé la spia di una patologia autosomica recessiva, non consente a priori di stabilire con certezza il modello di trasmissione.

Una volta che sono state identificate nel paziente le eventuali mutazioni, è necessario verificare sui genitori non affetti la presenza o assenza della o delle mutazioni. Ciò consente di stabilire la sua origine *de novo* nel caso di una mutazione dominante (avendo cura di accertare contestualmente la paternità), oppure la condizione di portatore sano nel caso di una forma recessiva.

Quando solo un genitore è eterozigote per la mutazione presente in omozigosi nel paziente affetto, deve essere ricercata, con le analisi molecolari, l'eventuale disomia uniparentale. Sono stati descritti infatti casi eccezionali di EB giunzionale (5 pazienti) e di EB distrofica (1 paziente) originati rispettivamente da disomia uniparentale del cromosoma 1 e del cromosoma 3¹⁻⁶.

Nei casi sporadici, il test genetico è perciò dirimente nel chiarire le modalità di tra-

smissione e il rischio di ricorrenza nelle successive gravidanze dei genitori del paziente in esame. Nel caso delle forme autosomiche dominanti *de novo* il rischio riproduttivo sarà quindi trascurabile, pur non potendo escludere un mosaicismo germinale, cioè una mutazione presente in una percentuale non quantificabile di precursori dei gameti nella gonade di un genitore. Nelle forme autosomiche recessive, i genitori portatori sani hanno a ogni concepimento un rischio del 25% di avere un figlio affetto, a prescindere dal sesso del nascituro. Nei rari casi di disomia uniparentale con un solo genitore eterozigote, il rischio deve essere valutato caso per caso, ma in generale è trascurabile, una volta che sia stata accertata la normalità del cariotipo dei genitori.

Origine etnica e sue applicazioni nella diagnosi molecolare

In Italia, così come in altre nazioni, è stata documentata la ricorrenza di alcune mutazioni nei geni COL7A1, KIND1, LAMB3, LAMC2 e COL17A1, associate a forme diverse di EB ereditaria (vedi capitolo *Analisi genetico-molecolare*, a pagina 86)⁷⁻¹¹. L'accertamento dell'origine etnica o geografica della famiglia è perciò utile nell'orientare il laboratorio che si fa carico della diagnosi nella ricerca della mutazione patogenetica. Lo screening della mutazione identificata nella famiglia e delle mutazioni ricorrenti potrebbe essere utile per accertare lo stato di portatore sano nel partner di un soggetto affetto o di un individuo eterozigote per una forma autosomica recessiva di EB, al fine di precisarne il rischio riproduttivo.

Tuttavia, in considerazione della rarità dei diversi sottotipi di EB ereditaria e dell'eterogeneità genetica di alcuni di essi, questo approccio non viene raccomandato¹². Costituiscono un'eccezione a questa regola generale la consanguineità, l'origine della famiglia da un isolato genetico a elevata endogamia o da aree geografiche nelle quali sia stata dimostrata la ricorrenza di mutazioni specifiche.

Il test genetico come test diagnostico

L'analisi genetica viene raccomandata non solo per finalità riproduttive, ma costituisce di fatto un vero e proprio strumento diagnostico in alcuni casi selezionati, soprattutto quando – a fronte di un'accurata raccolta di dati clinici e in seguito agli esami in immunofluorescenza e alla microscopia elettronica – non sia stata raggiunta una diagnosi certa. Questo può essere il caso, per esempio, di pazienti giovani che manifestino lesioni bollose acrali, eventualmente associate a minime alterazioni della pigmentazione. In questi casi non è sempre agevole differenziare una EB semplice basale dalla sindrome di Kindler, sia perché l'analisi della biopsia cutanea può fornire risultati equivoci (vedi capitolo *Indagini immunopatologiche e ultrastrutturali*, a pagina 66), sia perché la giovane età non consente di prendere in considerazione alcuni elementi fenotipici caratteristici che di solito compaiono in età più avanzata. Un altro esempio è l'EB acantolitica letale, per la quale, data la scarsità dei dati relativi alle caratteristiche istologiche e ultrastrutturali della malattia a causa del limitato numero di pazienti finora caratterizzati, l'analisi molecolare costituisce l'unico strumento in grado di confermare la diagnosi¹³.

In alternativa, il test genetico può accelerare notevolmente la diagnosi, in presenza di correlazioni genotipo-fenotipo stringenti. Infatti, la presenza di alcune lesioni cutanee peculiari in associazione con la formazione di bolle può indirizzare verso

uno specifico sottotipo clinico, indipendentemente dai risultati della biopsia cutanea.

Al momento, il ricorso a un test molecolare sul DNA estratto dal sangue periferico, prima della conferma diagnostica sulla biopsia cutanea, è indicato solo in un limitato numero di casi, come nella EB semplice con pigmentazione *mottled*, in quella con eritema circinato migrante e nella sindrome laringo-onico-cutanea con o senza lesioni bollose evidenti¹⁴⁻¹⁷.

La conoscenza di queste caratteristiche è importante per pianificare un percorso razionale per la conferma della diagnosi mediante test di laboratorio, un'attività nella quale il genetista medico dovrebbe venire attivamente coinvolto.

Definizione del rischio di ricorrenza

Come detto nei paragrafi precedenti, la presenza di altri familiari affetti consente di solito di comprendere la modalità di trasmissione della malattia. Tuttavia anche alcuni casi sporadici possono essere facilmente inquadrati a livello genetico, come nel caso delle EB giunzionali, in quanto tutte le varianti sono trasmesse con modalità autosomica recessiva. Viceversa, le modalità di segregazione dei casi sporadici di EB distrofica possono essere definite solo con le analisi molecolari.

Una volta chiarita la modalità di trasmissione, considerata la penetranza completa delle forme autosomiche dominanti e l'eventuale consanguineità dei genitori nelle forme recessive, è possibile calcolare il rischio di ricorrenza per ogni familiare potenzialmente a rischio. Dopo questa valutazione è possibile stabilire l'opportunità di estendere le analisi molecolari agli altri familiari, anche in rapporto alle loro decisioni riproduttive e comunque nel rispetto della riservatezza. In particolare, le persone affette da una forma dominante la trasmettono, in media, alla metà dei loro figli, mentre i consanguinei di primo grado dei pazienti affetti da EB autosomica recessiva, a eccezione dei genitori, hanno di solito un rischio trascurabile. Pertanto lo screening molecolare di una coppia è indicato solo nelle situazioni discusse in precedenza.

Diagnosi prenatale

La diagnosi prenatale può essere indicata nelle coppie portatrici (eterozigoti) della stessa variante molecolare di EB autosomica recessiva, oppure nei casi in cui un partner sia affetto da una forma autosomica dominante. In casi molto rari a trasmissione autosomica dominante di EB semplice¹⁸ e distrofica¹⁹, e anche a trasmissione autosomica recessiva di EB giunzionale²⁰ è stato riscontrato un mosaicismo germinale. È perciò utile discutere con la coppia la possibilità di monitorare con la diagnosi prenatale anche le gravidanze dei genitori che hanno avuto figli affetti con EB considerate dovute a mutazioni *de novo*.

In passato, la più importante tecnica di diagnosi prenatale era la biopsia cutanea fetale, che attualmente trova applicazione in casi estremamente selezionati²¹. Questa tecnica consiste nel prelievo di 4 campioni di cute fetale attraverso la fetoscopia diretta o attraverso il monitoraggio ecografico, tra la quindicesima e la ventiduesima settimana di amenorrea. Due campioni vengono utilizzati per l'analisi in microscopia elettronica e gli altri per l'immunofluorescenza. Attualmente questo protocollo viene impiegato solo quando l'analisi genetico-molecolare non è informativa e il gene difettivo non è individuabile con certezza a causa dell'eterogeneità di *locus*. In questi casi una metodica alternativa – applicabile solo

alle varianti EB semplice con distrofia muscolare e con atresia pilorica ed EB giunzionale con atresia pilorica – è l'analisi per immunofluorescenza, con anticorpi diretti contro la plectina e l'integrina $\alpha 6\beta 4$, di criosezioni di villi coriali prelevati mediante villocentesi alla decima-dodicesima settimana di amenorrea²². L'integrina $\alpha 6\beta 4$ e la plectina, proteine difettive in queste varianti di EB, sono infatti espresse anche nel trofoblasto.

A oggi la tecnica di elezione, più precoce e accurata, per la diagnosi prenatale è l'analisi molecolare eseguita sul DNA estratto dal trofoblasto (villi coriali) prelevato per villocentesi alla decima-dodicesima settimana di amenorrea²¹. È comunque possibile estrarre il DNA per l'indagine anche dalle colture di amniociti prelevati alla sedicesima-diciottesima settimana di amenorrea.

Questa diagnosi può essere utilizzata anche quando non sia nota la specifica mutazione a rischio, in presenza di una EB geneticamente omogenea (per esempio nelle EB distrofiche) e di un albero genealogico informativo. Inoltre, nelle coppie a rischio per le varianti di EB giunzionale e semplice con atresia pilorica, l'ecografia prenatale è utile nel selezionare i casi da sottoporre ad approfondimenti diagnostici, in quanto è in grado di rilevare i segni indiretti dell'atresia pilorica, compreso il *polidramnios*, la dilatazione dello stomaco e l'aspetto "schiumoso" del liquido amniotico²³.

Un'alternativa all'analisi prenatale mediante villocentesi è la diagnosi preimpianto. Quest'ultima richiede una fecondazione *in vitro* con FIVET o ICSI e la selezione degli embrioni non affetti mediante la ricerca della mutazione sui blastomeri prelevati con la biopsia della blastocisti. La diagnosi preimpianto è stata utilizzata con successo per l'EB distrofica recessiva grave e l'EB semplice da deficit di placofilina-1 solo in Inghilterra²⁴⁻²⁶. Va ricordato che il successo complessivo, in termini di nati dalle gravidanze monitorate con la diagnosi molecolare preimpianto, è solo del 2,6%²⁷. Sebbene in letteratura il dosaggio dell'alfafetoproteina sul siero materno e/o sul liquido amniotico e dell'acetilcolinesterasi sul liquido amniotico siano stati indicati come possibili *marker* di EB^{28,29}, non viene raccomandato il loro uso come test diagnostici prenatali, in considerazione della loro scarsa sensibilità e specificità.

Quesiti e raccomandazioni

Quesito 1 In presenza di un paziente affetto da epidermolisi bollosa ereditaria (EB) quando e sulla base di quali indicazioni è opportuno richiedere la consulenza genetica?

Raccomandazioni

Le seguenti raccomandazioni sono indirizzate ai dermatologi, ai ginecologi, ai medici di medicina generale, ai neonatologi e ai pediatri.

VI/A

Si raccomanda di richiedere la consulenza genetica sulla base delle seguenti indicazioni:

- accertamento del rischio di ricorrenza della malattia nelle future gravidanze del paziente o di un suo consanguineo

- conferma di una diagnosi dubbia
- ricerca di una diagnosi affidabile e precoce, quando siano state definite precise correlazioni genotipo-fenotipo (in particolare nell'EB semplice con pigmentazione *mottled*, nell'EB semplice con eritema circinato migrante e nella sindrome laringo-onico-cutanea)
- pianificazione della diagnosi prenatale.

VI/A

Allo scopo di garantire una diagnosi quanto più possibile accurata attraverso un iter diagnostico appropriato, si raccomanda di considerare il test genetico come la fase finale di un percorso diagnostico complesso, che comprende la raccolta dettagliata della storia familiare e dell'anamnesi patologica, l'esame obiettivo generale, il mappaggio antigenico mediante immunofluorescenza e la microscopia elettronica su biopsia cutanea, per classificare correttamente il tipo di EB. In assenza di questo percorso preliminare, l'elevata eterogeneità genetica e di *locus* (sono note centinaia di mutazioni in 13 geni) non giustifica, se non in casi eccezionali, il ricorso alle analisi molecolari.

Quesito 2 Quali aspetti è opportuno considerare nella consulenza genetica di pazienti con EB?

Raccomandazioni

Le seguenti raccomandazioni sono indirizzate ai genetisti medici.

VI/A

In caso di diagnosi dubbia, si raccomanda di richiedere, quando possibile, ulteriori accertamenti e di valutare l'utilità dell'analisi molecolare.

VI/A

Allo scopo di stabilire il modello di trasmissione più adatto al paziente in esame, si raccomanda di ricostruire l'albero genealogico e di individuare eventuali altri familiari potenzialmente affetti (che quindi dovrebbero essere valutati direttamente), nonché la presenza di consanguineità dei genitori di un soggetto malato.

VI/A

Si raccomanda di indagare l'origine etnica e geografica dei genitori di un soggetto affetto allo scopo di indirizzare l'analisi molecolare, che in base alle indicazioni ottenute potrà essere eseguita iniziando dalla ricerca delle mutazioni ricorrenti nei diversi geni e/o presenti in una specifica area geografica.

VI/A

Si raccomanda di considerare l'opportunità di eseguire l'analisi molecolare nei casi sporadici di EB, in particolare le forme giunzionali e distrofiche, in quanto permette di distinguere le modalità di trasmissione (autosomica dominante o recessiva) nella maggior parte delle varianti di EB distrofica; di identificare i rari pazienti con EB giunzionale e distrofica originati

per disomia uniparentale; di definire il rischio di ricorrenza della malattia nelle successive gravidanze dei genitori di un soggetto affetto e del paziente stesso, e quindi di pianificare il monitoraggio molecolare delle gravidanze.

VI/E

Per le forme autosomiche recessive, in assenza di consanguineità, si raccomanda di non effettuare lo screening dei portatori tra i familiari di un individuo affetto (a esclusione dei genitori), a eccezione dei soggetti che appartengono a piccole comunità a elevata endogamia e ad aree geografiche nelle quali è stata dimostrata la ricorrenza di mutazioni specifiche. Questa raccomandazione ha lo scopo di evitare l'esecuzione di test inutili che non permetterebbero di giungere a un'adeguata valutazione del rischio di ricorrenza, a meno di integrarli con lo screening del partner, che rappresenta attualmente un'indagine con un rapporto costo-beneficio eccessivamente elevato.

Quesito 3 In caso di familiarità per EB, quali sono le indicazioni a una diagnosi prenatale? Quali sono le metodiche disponibili?

Raccomandazioni

Le seguenti raccomandazioni sono indirizzate ai genetisti medici e ai ginecologi.

VI/A

Allo scopo di selezionare adeguatamente le coppie candidate alla diagnosi prenatale, si raccomanda di offrire la diagnosi prenatale solo ai genitori entrambi portatori di mutazioni nello stesso gene responsabile di una forma di EB a eredità autosomica recessiva, oppure quando uno di essi è affetto da una forma autosomica dominante.

VI/B

Dato che in casi isolati di EB semplice e distrofica dominante e anche di EB giunzionale recessiva è stato riscontrato un mosaicismo germinale, i genitori di un soggetto affetto da EB da mutazioni insorte apparentemente *de novo* devono essere informati sulla possibilità di monitorare con la diagnosi prenatale le gravidanze successive.

Allo scopo di pianificare il protocollo di diagnosi prenatale più tempestivo e appropriato per la coppia in esame, si raccomanda di considerare che:

VI/A

- al momento, la tecnica di elezione, più precoce e accurata, è l'analisi molecolare sul DNA estratto dal trofoblasto (villi coriali) prelevato mediante villocentesi alla decima-dodicesima settimana di amenorrea
- la biopsia cutanea fetale è consigliabile solo in casi estremamente selezionati, ovvero nelle famiglie nelle quali non sia stata identificata la o le mutazioni patogenetiche e non si tratti di una forma di EB geneticamente omogenea con una segregazione atipica informativa. Lo stesso vale per l'immunofluorescenza sui villi coriali, che è applicabile solo alle varianti di EB giunzionale e semplice con atresia pilorica e di EB semplice con distrofia muscolare. Nel

caso della biopsia di cute fetale, si raccomanda inoltre di eseguire il prelievo del materiale da sottoporre a indagine in tempo utile, affinché i risultati dell'analisi siano disponibili entro i limiti di legge per consentire alla coppia di effettuare le scelte che ritiene più appropriate

VI/A

- nel caso di una coppia con un rischio riproduttivo per le varianti di EB giunzionale e semplice con atresia pilorica, l'ecografia prenatale nel secondo trimestre può essere utile per monitorare la gravidanza e identificare i feti sui quali effettuare ulteriori approfondimenti diagnostici, in quanto è in grado di rilevare i segni indiretti dell'atresia pilorica

VI/D

- sebbene il dosaggio dell'alfafetoproteina sul siero materno e/o sul liquido amniotico e della acetilcolinesterasi sul liquido amniotico siano stati indicati come possibili *marker* di EB, l'uso di queste analisi come test diagnostici prenatali viene sconsigliato, a causa della loro scarsa sensibilità e specificità

VI/C

- la diagnosi preimpianto viene eseguita in pochi centri al mondo e per un numero limitato di varianti di EB; in particolare in Inghilterra sono stati sviluppati protocolli validati per la diagnosi preimpianto di EB distrofica recessiva grave e di EB semplice da deficit di placofilina-1.

Bibliografia

1. Pulkkinen L, Bullrich F et al. Maternal uniparental disomy of chromosome 1 with reduction to homozygosity of the LAMB3 locus in a patient with Herlitz junctional epidermolysis bullosa. *Am J Hum Genet* 1997;61:611-9.
2. Takizawa Y, Pulkkinen L et al. Maternal uniparental meroisodisomy in the LAMB3 region of chromosome 1 results in lethal junctional epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 1998;110:828-31.
3. Takizawa Y, Pulkkinen L et al. Mutation report: complete paternal uniparental isodisomy of chromosome 1: a novel mechanism for Herlitz junctional epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 2000;115:307-11.
4. Fassihi H, Wessagowit V et al. Complete paternal uniparental isodisomy of chromosome 1 resulting in Herlitz junctional epidermolysis bullosa. *Clin Exp Dermatol* 2005;30:71-4.
5. Castori M, Floriddia G et al. Complete maternal isodisomy causing reduction to homozygosity for a novel LAMB3 mutation in Herlitz junctional epidermolysis bullosa. *J Dermatol Sci* 2008;51:58-61.
6. Fassihi H, Lu L et al. Complete maternal isodisomy of chromosome 3 in a child with recessive dystrophic epidermolysis bullosa but no other phenotypic abnormalities. *J Invest Dermatol* 2006;126:2039-43.
7. Ruzzi L, Pas H et al. A homozygous nonsense mutation in type XVII collagen gene (COL17A1) uncovers an alternatively spliced mRNA accounting for an unusually mild form of non-Herlitz junctional epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 2001;116:182-7.
8. Gardella R, Castiglia D et al. Genotype-phenotype correlation in italian patients with dystrophic epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 2002;119:1456-62.
9. Posteraro P, Pascucci M et al. Denaturing HPLC-based approach for detection of COL17A1 gene mutations causing dystrophic epider-

- molysis bullosa. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;338:1391-401.
10. Has C, Wessagowit et al. Molecular basis of Kindler syndrome in Italy: novel and recurrent Alu/Alu recombination, splice site, nonsense, and frameshift mutations in the KIND1 gene. *J Invest Dermatol* 2006;126:1776-83.
 11. Castori M, Floriddia G et al. Herlitz junctional epidermolysis bullosa: laminin-5 mutational profile and carrier frequency in the Italian population. *Br J Dermatol* 2008;158:38-44.
 12. Klausegger A, Pulkkinen L et al. Is screening of the candidate gene necessary in unrelated partners of members of families with Herlitz junctional epidermolysis bullosa? *J Invest Dermatol* 2001;116:474-5.
 13. Jonkman MF, Pasmooij AM et al. Loss of desmoplakin tail causes lethal acantholytic epidermolysis bullosa. *Am J Hum Genet* 2005;77:653-60.
 14. Uttam J, Hutton E et al. The genetic basis of epidermolysis bullosa simplex with mottled pigmentation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:9079-84.
 15. Gu LH, Kim SC et al. A usual frameshift and delayed termination codon mutation in keratin 5 causes a novel type of epidermolysis bullosa simplex with migratory circinate erythema. *J Invest Dermatol* 2003;121:482-5.
 16. McLean WH, Irvine AD et al. An unusual N-terminal deletion of the laminin alpha3a isoform leads to the chronic granulation tissue disorder laryngo-onycho-cutaneous syndrome. *Hum Mol Genet* 2003;12:2395-409.
 17. Figueira EC, Crotty A et al. Granulation tissue in the eyelid margin and conjunctiva in junctional epidermolysis bullosa with features of laryngo-onycho-cutaneous syndrome. *Clin Experiment Ophthalmol* 2007;35:163-6.
 18. Nagao-Watanabe M, Fukao T et al. Identification of somatic and germline mosaicism for a keratin 5 mutation in epidermolysis bullosa simplex in a family of which the proband was previously regarded as a sporadic case. *Clin Genet* 2004;66:236-8.
 19. Cserhalmi-Friedman PB, Garzon MC et al. Maternal germline mosaicism in dominant dystrophic epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 2001;117:1327-8.
 20. Cserhalmi-Friedman PB, Anyane-Yeboah K, Christiano AM. Paternal germline mosaicism in Herlitz junctional epidermolysis bullosa. *Exp Dermatol* 2002;11:468-70.
 21. Fassihi H, Eady RA et al. Prenatal diagnosis for severe inherited skin disorders: 25 years' experience. *Br J Dermatol* 2006;154:106-13.
 22. D'Alessio M, Zambruno G et al. Immunofluorescence analysis of villous trophoblasts: a tool for prenatal diagnosis of inherited epidermolysis bullosa with pyloric atresia. *J Invest Dermatol* 2008;128:2815-9.
 23. Azarian M, Dreux S et al. Prenatal diagnosis of inherited epidermolysis bullosa in a patient with no family history: a case report and literature review. *Prenat Diagn* 2006;26:57-9.
 24. Thornhill AR, Pickering SJ et al. Preimplantation genetic diagnosis of compound heterozygous mutations leading to ablation of plakophilin-1 (PKP1) and resulting in skin fragility ectodermal dysplasia syndrome: a case report. *Prenat Diagn* 2000;20:1055-62.
 25. Fassihi H, Grace J et al. Preimplantation genetic diagnosis of skin fragility-ectodermal dysplasia syndrome. *Br J Dermatol* 2006;154:546-50.
 26. Fassihi H, Renwick PJ et al. Single cell PCR amplification of microsatellites flanking the COL7A1 gene and suitability for preimplantation genetic diagnosis of Hallopeau-Siemens recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *J Dermatol Sci* 2006;42:241-8.
 27. Human Genetic Commission. Making babies: reproductive decisions and genetic technologies, 2006.
 28. Yacoub T, Campbell CA et al. Maternal serum and amniotic fluid concentrations of alpha-fetoprotein in epidermolysis bullosa simplex. *Brit Med J* 1979;1:307.
 29. Bick DP, Balkite EA et al. The association of congenital skin disorders with acetylcholinesterase in amniotic fluid. *Prenat Diagn* 1987;7:543-9.

Analisi genetico-molecolare

Epidermolisi bollose semplici o epidermolitiche (EBS)

Quasi tutte le epidermolisi bollose semplici (EBS) del sottotipo basale sono causate da mutazioni dominanti che comportano sostituzioni di residui di aminoacidi (mutazioni missenso), oppure piccole inserzioni o delezioni (mutazioni *frameshift*) nei geni codificanti per le cheratine K5 e K14, o raramente da mutazioni PTC (*Premature Termination Codon*) recessive negli stessi geni. La variante EBS con distrofia muscolare è causata da mutazioni recessive nel gene PLEC1 che codifica per la plectina. Mutazioni recessive in PLEC1 sono state associate anche a varianti con atresia del piloro frequentemente letali alla nascita o nell'infanzia. Sono stati inoltre descritti in letteratura casi singoli di EBS dovute a mutazioni recessive in ITGB4 e COL17A1, che coinvolgono il dominio citoplasmatico della subunità integrinica $\beta 4$ e del collagene di tipo XVII, rispettivamente^{1,2}.

Le EBS del sottotipo soprabasale sono causate da mutazioni recessive in PKP1 e DSP codificanti rispettivamente le proteine dei desmosomi placofilina-1 e desmoplachina (vedi tabella 9 a pagina 87). Il materiale biologico di elezione per la ricerca di mutazioni è il DNA genomico estratto dal sangue venoso periferico, prelevato in provette contenenti EDTA come anticoagulante.

EBS di sottotipo basale

Le forme **EBS localizzata, generalizzata, di Dowling-Meara, con pigmentazione mottled e con eritema circinato migrante** sono causate da mutazioni nei geni KRT5 o KRT14 (HGMD, *Human Gene Mutation Database* Cardiff: www.hgmd.org; vedi tabella 9 a pagina 87). In entrambi i geni le mutazioni si concentrano in alcune regioni, come gli esoni 1, 5, 7 e 9 di KRT5 e 1, 2, 4, 6 di KRT14³⁻⁸.

La ricerca del difetto genetico in KRT5 si esegue sul DNA genomico estratto dal sangue periferico, secondo un protocollo che prevede l'amplificazione e il sequenziamento diretto degli esoni contenenti gli *hot spot* di mutazione³. In particolare, due specifiche mutazioni dominanti ricorrenti localizzate nell'esone 1 (p.P25L) e 9 (c.1649delG) di KRT5 sono state invariabilmente associate rispettivamente alle forme EBS con pigmentazione *mottled* ed EBS con eritema circinato migrante^{9,10}. In caso di risultato negativo, lo screening viene esteso agli altri esoni, mediante sequenziamento del DNA.

Anche per il gene KRT14, la strategia per la ricerca delle mutazioni è simile^{4,6-8}. Date le dimensioni contenute di KRT14 (4,5 Kb), è anche possibile amplificare l'intero gene da DNA genomico, mediante una singola reazione di PCR ad ampia estensione (*long-range* PCR) e procedere poi al sequenziamento del prodotto della PCR usando opportuni *primer* interni¹¹. I casi sporadici di EBS sono dovuti a mutazioni *de novo* o, in casi eccezionali, a mosaicismi germinali presenti in uno dei due genitori^{7,12}.

I quindici casi noti di **EBS recessiva** sono per la maggior parte causati dalla presenza di mutazioni PTC su entrambi gli alleli del gene KRT14¹³⁻¹⁵ e, in due casi, da mutazioni missenso omozigoti^{16,17}. Una volta stabilita la diagnosi di questa variante, sulla base dei

Tabella 9. Classificazione molecolare delle EB e tipologia delle mutazioni nei geni coinvolti

Tipo di EB	Sottotipo di EB	Variante clinica	Ereditarietà	Proteina (gene) target	Tipo di mutazione
EB semplice (EBS)	EBS soprabasale	EB acantolitica letale	AR	Desmoplachina (DSP)	NS, Del
		EB da deficit di placofilina-1	AR	Placofilina -1 (PKP1)	Spl, Del, NS
	EBS basale	EBS localizzata, generalizzata, di Dowling-Meara, con PM, con ECM	AD	Cheratina-5 (KRT5)Cheratina-14 (KRT14)	MS, Del, Spl, In-frame delins
		EBS recessiva	AR	Cheratina-14 (KRT14)	MS, NS, Ins, Del, Spl
		EBS con DM	AR	Plectina (PLEC1)	NS, Del, Ins
		EBS con AP	AR	Plectina (PLEC1)	NS, Del, In-frame del, Spl
		EBS di Ogna	AD	Plectina (PLEC1)	MS
EB giunzionale (EBG)	EBG di Herlitz	EBG di Herlitz	AR	Laminina-332 (LAMA3, LAMB3, LAMC2)	NS, Ins, Del, Spl, RC
	EBG altri sottotipi	EBG non Herlitz generalizzata	AR	Collagene tipo XVII (COL17A1), laminina -332 (LAMA3, LAMB3, LAMC2)	MS, NS, Del, Ins, Spl
		EBG non Herlitz localizzata	AR	Collagene tipo XVII (COL17A1)	MS, NS, Del, Ins, Spl
		EBG con atresia pilorica	AR	integrina $\alpha 6\beta 4$ (ITGA6, ITGB4)	MS, NS, Del, Ins, Spl
		Sindrome laringo-onico-cutanea	AR	Laminina-332 (LAMA3)	NS, Ins, MS, Spl
EB distrofica o dermolitica (EBD)	EBD dominante (EBDD)	EBDD generalizzata, acrale, pruriginosa, pretibiale, ungueale, DBTN	AD	Collagene tipo VII (COL7A1)	MS, Spl, In-frame del
	EBD recessiva (EBDR)	EBDR generalizzata grave, generalizzata - altre forme, inversa, acrale, pruriginosa, pretibiale, centripeta, DBTN	AR	Collagene tipo VII (COL7A1)	MS, NS, Spl, Del, Ins, Reg, RC
Sindrome di Kindler			AR	Kindlina-1 (KIND1/FERMT1)	NS, Del, Ins, Spl, RC

Legenda:*AD* = autosomico dominante*AP* = atresia pilorica*AR* = autosomico recessivo*DBTN* = dermolisi bollosa transitoria del neonato*Del* = delezione*DM* = distrofia muscolare*ECM* = eritema circinato migrante*In-frame del* = delezione in-frame*In-frame delins* = delezione/inserzione in-frame*Ins* = inserzione*MS* = mutazione missenso*NS* = mutazione nonsenso*PM* = pigmentazione mottled*RC* = riarrangiamento complesso*Reg* = mutazione regolativa nel promotore*Spl* = mutazione nei siti di splicing**Nota:** i dati riportati si riferiscono alla grande maggioranza dei casi pubblicati; sono tuttavia possibili eccezioni

reperiti immunopatologici, si procede con l'analisi genetico-molecolare per la ricerca di mutazioni mediante amplificazione e sequenziamento diretto del gene KRT14.

L'EBS con distrofia muscolare è dovuta a mutazioni recessive nel gene PLEC1. Sono state descritte circa 30 mutazioni, la maggior parte di tipo PTC, concentrate nel *rod domain* della plectina, che è codificato dagli esoni 32 (3,3 Kb) e 33 (7,2 Kb). Una volta confermata la diagnosi clinica di questa variante, sulla base delle indagini immunopatologiche, si procede con l'analisi genetico-molecolare. Per la ricerca di mutazioni in PLEC1 si procede dapprima allo screening degli esoni 32 e 33, mediante il test PTT (*Protein Truncation Test*) o altre metodiche di screening delle mutazioni a partire da DNA genomico estratto da sangue venoso¹⁸. Una volta identificata la presenza di una mutazione in un determinato frammento di DNA, si procede al sequenziamento del frammento e alla caratterizzazione della mutazione. Nel caso in cui la ricerca risulti negativa, vengono analizzati gli altri esoni mediante analisi degli eteroduplex.

Per quanto riguarda le mutazioni in KRT5, KRT14 e PLEC1, la sensibilità globale delle metodiche di screening disponibili è superiore al 90%^{19,20}.

L'EBS con atresia pilorica è dovuta a mutazioni recessive nel gene PLEC1 di tipo PTC, identificate in un piccolo numero di famiglie (7 casi) che manifestano un coinvolgimento gastrico²¹⁻²³. Le mutazioni ricadono essenzialmente nei medesimi esoni e domini della proteina associati all'EBS con distrofia muscolare, e pertanto le metodiche di screening delle mutazioni sono analoghe. Le ragioni alla base delle differenze fenotipiche tra queste due varianti non sono note.

L'EBS di Ogna è una rarissima variante dovuta a una mutazione missenso dominante in PLEC1 (p.R2110W), localizzata nell'esone 32 all'estremità C-terminale del *rod domain*²⁴. Lo screening di questa mutazione si effettua mediante sequenziamento nucleotidico del DNA genomico amplificato con opportuni *primer*.

Nel caso particolare della diagnosi prenatale per EBS, l'analisi molecolare viene svolta, quando siano note la o le mutazioni malattia all'interno della famiglia, su DNA purificato da campione prelevato mediante villocentesi²⁵. Se l'analisi genetico-molecolare non è informativa, la diagnosi prenatale può essere comunque eseguita nelle EBS basali di Dowling-Meara, recessiva, con distrofia muscolare e con atresia pilorica utilizzando l'analisi immunopatologica e/o ultrastrutturale su biopsia di cute fetale²⁶. In alternativa, e solo nelle varianti EBS con distrofia muscolare e con atresia pilorica, può essere eseguita l'indagine immunopatologica su villi coriali con anticorpi anti-plectina. Questo test si basa sulla recente dimostrazione che la plectina è espressa, oltre che nella cute e nel muscolo, anche nel trofoblasto. Poiché le mutazioni patogenetiche in PLEC1 si associano a un'espressione estremamente ridotta o assente di plectina, la marcatura dei villi coriali in immunofluorescenza permette di distinguere un feto affetto da uno sano²⁷.

EBS di sottotipo soprabasale

Le rarissime varianti **EB acantolitica letale e da deficit di placofilina-1** sono dovute a mutazioni recessive di tipo PTC in geni che codificano per componenti dei desmosomi (vedi tabella 9 a pagina 87). La forma acantolitica letale, descritta in un singolo caso²⁸, è causata da mutazioni PTC in eterozigosi composta localizzate nell'ultimo esone (esone 24) del gene DSP che codifica per la desmoplachina. Il deficit di placofilina-1 è stato riportato

in pochi pazienti con displasia ectodermica e fragilità cutanea ed è associato a mutazioni troncanti nel gene PKP-1 (15 esoni)^{29,30}. Per entrambi i geni sono riportate delle strategie di screening mutazionale basate sull'amplificazione mediante PCR dei singoli esoni e delle regioni introniche adiacenti a partire da DNA genomico estratto dal sangue^{30,31}.

Epidermolisi bollose giunzionali (EBG)

Le EBG sono causate da mutazioni recessive dei geni LAMA3, LAMB3, LAMC2, COL17A1, ITGA6 e ITGB4 (HGMD, www.hgmd.org; vedi tabella 9 a pagina 87). La caratterizzazione genetico-molecolare di queste forme viene effettuata utilizzando protocolli diversi, in base alla variante dell'EBG¹⁹. Il materiale di partenza per la ricerca di mutazioni può essere il DNA genomico estratto dal sangue o l'RNA ottenuto da biopsia cutanea o da colture di cheratinociti primari. Anche nell'EBG sono state documentate, in casi eccezionali, nuove mutazioni riconducibili sia a eventi spontanei sia a mosaicismi germinali presenti nei genitori non affetti^{32,33}. Infine, è stato descritto un singolo caso di EBG non Herlitz localizzata con lesioni cutanee minime trasmesso con modalità autosomica dominante e dovuto a una mutazione eterozigote in COL17A1³⁴.

EBG di Herlitz

È causata da mutazioni, usualmente di tipo PTC (nonsense, *frameshift*), in uno dei tre geni LAMA3, LAMB3 e LAMC2 che codificano per le tre subunità polipeptidiche della laminina-332 (laminina-5). Poiché non è possibile identificare con certezza il gene interessato con le metodiche immunoistochimiche, è necessario analizzare tutti e tre i geni. Dato che la frequenza con la quale sono interessati i tre geni è, in ordine decrescente, LAMB3, LAMC2 e LAMA3, si procede inizialmente alla ricerca delle mutazioni in LAMB3 e LAMC2^{35,36}. In particolare, si analizzano prima le mutazioni *hot spot* e quelle ricorrenti nella popolazione italiana nel gene LAMB3 (p.R635X, p.W143X, c.31insC, denominata in precedenza 29insC) e nel gene LAMC2 (p.R95X, p.Y355X), mediante amplificazione del DNA genomico e analisi di restrizione con gli enzimi BglII (p.R635X), BstNI (p.W143X), AlwNI (c.31insC), TaqI (p.R95X) o mediante sequenziamento diretto del prodotto della PCR (p.Y355X)^{35,37-40}. In caso di risultato negativo, i geni LAMB3, LAMC2 e LAMA3 vengono analizzati nell'ordine, utilizzando tecniche rapide di screening (analisi degli eteroduplex del DNA) su DNA genomico, seguite dalla determinazione della sequenza nucleotidica dei prodotti positivi allo screening^{19,38,40,41}. Alternativamente, si può procedere all'analisi diretta della sequenza nucleotidica su amplificati da RNA retrotrascritto in cDNA (RT-PCR) per i geni LAMB3, LAMC2 e LAMA3^{35,36,42}. La sensibilità globale di queste metodiche è superiore al 90%^{19,38,40,41}. Da segnalare che in pochissimi casi (5 soggetti descritti in letteratura)⁴³⁻⁴⁵ l'EBG di Herlitz insorge in seguito a disomia uniparentale (paterna o materna) del cromosoma 1 (che contiene i geni LAMB3 e LAMC2), che comporta la riduzione allo stato di omozigosità della mutazione patogenetica. Nei casi in cui questa modalità sia sospettata, oltre allo screening dei geni per l'identificazione dell'allele mutato è necessario analizzare una batteria di sequenze polimorfiche (microsatelliti) disposte lungo tutto il cromosoma 1, per verificarne la segregazione nel soggetto affetto e nei genitori⁴³⁻⁴⁵.

Altri sottotipi di EBG

L'**EBG non Herlitz generalizzata** è causata più frequentemente da mutazioni nel gene COL17A1⁴⁶ e più raramente da mutazioni nei geni LAMB3, LAMC2 e LAMA3^{38,41}, mentre l'**EBG non Herlitz localizzata** è causata solo da mutazioni in COL17A1 compatibili con la sintesi di quantità ridotte di collagene XVII^{47,48}. Nelle forme con deficit di laminina-332, almeno una delle due mutazioni è usualmente una mutazione di *splicing* o missenso, le cui conseguenze sono compatibili con la sintesi di quantità ridotte della subunità polipeptidica corrispondente al gene mutato. Nei casi da deficit di BP180, determinato in base all'analisi immunopatologica, la ricerca delle mutazioni si esegue con lo screening dell'intero gene COL17A1, preceduto dalla ricerca della mutazione p.R795X, ricorrente nella popolazione italiana (50% delle mutazioni finora identificate), mediante analisi di restrizione con l'enzima HaeIII^{49,50} o alternativamente per analisi diretta della sequenza nucleotidica su amplificati da cDNA (RT-PCR)⁵¹. La sensibilità combinata di queste due metodiche è del 95%¹⁹.

Per i geni LAMB3, LAMC2 e LAMA3 si procede come descritto sopra per la variante di Herlitz. In questo caso l'analisi delle mutazioni più frequenti comprende anche la mutazione p.E210K nel gene LAMB3, da verificare mediante sequenziamento nucleotidico^{38,52,53}. In base ai dati della letteratura e alla casistica italiana nell'EBG non Herlitz, la sensibilità cumulativa di queste metodiche è superiore al 90%³⁸.

Complessivamente, nell'EBG Herlitz e non Herlitz da deficit di laminina-332 le mutazioni p.R635X, p.W143X, c.31insC, p.E210K in LAMB3 e p.R95X e p.Y355X in LAMC2 comprendono il 48% degli alleli mutati caratterizzati sinora nella popolazione italiana^{38,40}. Tre di queste mutazioni mostrano una distribuzione geografica regionale, essendo state identificate soltanto in pazienti provenienti dalla Campania (p.W143X), dalla Sicilia (p.R95X) e dalla Calabria (p.Y355X).

Infine è da segnalare che pochi ma significativi casi di EBG non Herlitz da deficit di BP180 o laminina-332 possono presentarsi in forma di mosaicismi somatici revertanti⁵⁴. La reversione somatica, osservata finora per i geni COL17A1 e LAMB3, agisce come meccanismo di recupero del fenotipo normale e ha come effetto visibile sul paziente la presenza di aree di cute indenni da malattia. Il fenomeno è dovuto a conversione genica⁵⁵, retro-mutazioni⁵⁶ o mutazioni in seconde posizioni⁵⁶⁻⁵⁸ che correggono o compensano il difetto della mutazione germinale, ripristinando la sintesi *in vivo* della proteina funzionale in gruppi di cellule somatiche. Per questi pazienti, il trapianto autologo di lembi epiteliali ottenuti da cheratinociti revertanti coltivati *in vitro* potrebbe rappresentare un'opportunità terapeutica⁵⁹.

Anche nell'**EBG con atresia pilorica**, forma causata da mutazioni dei geni ITGA6 e ITGB4, non è possibile individuare con certezza il gene interessato con metodiche immunoistochimiche. Dal momento che sono stati descritti soltanto 7 casi di EBG con atresia pilorica dovuta a difetti nel gene ITGA6, viene dapprima analizzato il gene ITGB4 e solo successivamente ITGA6^{19,27,60-64}. La ricerca delle mutazioni si esegue mediante screening dei geni su DNA genomico o per analisi diretta della sequenza nucleotidica su amplificati da cDNA (RT-PCR)^{65,66}. La sensibilità complessiva di queste metodiche è superiore all'80%^{19,63}.

Anche in questo caso la diagnosi prenatale è basata sulla ricerca della o delle mutazioni familiari sul DNA purificato da villocentesi²⁵. Quando non sia possibile identificare la o

le mutazioni causali delle diverse forme di EBG e sia richiesta una diagnosi prenatale, possono essere utilizzate metodiche di diagnosi indiretta, basate sull'analisi di marcatori polimorfici intragenici per i geni LAMA3, LAMB3, LAMC2, ITGB4, ITGA6 e COL17A1, previa dimostrazione della loro informatività nella famiglia in esame. A questo scopo è necessaria la disponibilità di campioni di DNA di almeno un figlio affetto e dei genitori. Tuttavia, data l'eterogeneità di *locus*, la diagnosi prenatale indiretta è consigliata solo quando sia stata identificata una delle due mutazioni⁶⁷.

Quando l'analisi genetico-molecolare non è informativa, la diagnosi prenatale può essere effettuata nelle forme gravi mediante l'analisi immunopatologica e ultrastrutturale di una biopsia di cute fetale²⁶, oppure, limitatamente alla variante di EBG con atresia pilorica, mediante marcatura in immunofluorescenza dei villi coriali con anticorpi diretti contro le subunità dell'integrina $\alpha 6 \beta 4$. Anche queste due proteine, analogamente alla plectina, sono infatti espresse sia nella cute sia nel trofoblasto. Poiché le mutazioni patogenetiche nei geni ITGB4 e ITGA6 comportano un'espressione estremamente ridotta o assente di integrina $\alpha 6 \beta 4$, la marcatura dei villi in immunofluorescenza permette di distinguere un feto affetto da uno sano²⁷.

La **sindrome laringo-onico-cutanea** (o **sindrome di Shabbir**), una particolare sindrome che per ora sembra essere confinata alla popolazione indiana del Punjab, è causata da una mutazione omozigote *founder* (c.151insG) nel gene LAMA3 che codifica per l'isoforma $\alpha 3a$ (LAMA3a; 38 esoni) della laminina-332. La mutazione comporta la perdita della regione N-terminale della catena $\alpha 3a$ in seguito all'utilizzo di un codone alternativo di inizio della traduzione a valle della mutazione⁶⁸. Solo in una delle famiglie indiane la mutazione ancestrale è stata trovata in combinazione con una mutazione nonsense localizzata in un esone che è comune a entrambe le isoforme ($\alpha 3a$ e $\alpha 3b$) codificate da LAMA3. Inoltre, è stato descritto un caso di paziente caucasico con fenotipo di EBG non Herlitz generalizzata e alcuni segni tipici della sindrome di Shabbir, dovuto a eterozigosi composta per una mutazione distinta dalla c.151insG, ma anch'essa localizzata nell'esone specifico della laminina $\alpha 3a$ (p.I17N), e per una seconda mutazione presente in un esone comune ad entrambe le isoforme ($\alpha 3a$ e $\alpha 3b$) codificate da LAMA3⁶⁹.

L'analisi mutazionale del gene LAMA3 si esegue mediante amplificazione del DNA genomico estratto da sangue con *primer* specifici per l'esone 1 $\alpha 3a$ -specifico e sequenziamento diretto del prodotto della PCR⁷⁰. Lo screening viene esteso ai rimanenti 37 esoni del gene LAMA3a per l'identificazione della seconda mutazione qualora la prima fosse presente in eterozigosi.

Epidermolisi bollose distrofiche o dermolitiche (EBD)

Tutte le varianti di EBD, sia dominanti sia recessive, sono causate da mutazioni nel gene COL7A1 (HGMD, www.hgmd.org; vedi tabella 9 a pagina 87).

L'identificazione di oltre 500 mutazioni ha messo in luce alcune correlazioni genotipo-fenotipo e ha permesso un approccio più mirato alla ricerca delle mutazioni⁷¹⁻⁸². La caratterizzazione molecolare può essere condotta su DNA genomico estratto dal sangue periferico, su RNA estratto dai fibroblasti dermici o dai cheratinociti primari coltivati *in vitro*, o direttamente da biopsia cutanea.

EBD dominanti (EBDD)

Sono dovute, con poche eccezioni⁸³, a mutazioni missenso eterozigoti che portano alla sostituzione di residui di glicina, o più raramente di altri aminoacidi, nel dominio collagenico del collagene di tipo VII. Di conseguenza, lo screening delle mutazioni viene dapprima eseguito sulle sequenze codificanti per il dominio collagenico, mediante amplificazione PCR e analisi degli eteroduplex del DNA seguita dal sequenziamento diretto del frammento positivo all'analisi.

Un certo numero di casi sporadici di EBDD sono dovuti a mutazioni spontanee o, più raramente, riconducibili a mosaicismi germinali presenti nei genitori^{74,84,85}.

EBD recessive (EBDR)

Sono dovute a diversi tipi di mutazione (PTC, missenso, *splicing*, eccetera), distribuite lungo tutta la sequenza del gene COL7A1. In particolare, nella variante EBDR generalizzata grave entrambe le mutazioni nei due alleli di COL7A1 sono di solito di tipo PTC, mentre nella variante EBDR generalizzata-altre forme almeno una delle due mutazioni in uno dei due alleli è usualmente una mutazione missenso o di *splicing*, le cui conseguenze sono compatibili con la sintesi di quantità ridotte di collagene VII. È stato descritto un caso di un soggetto con EBDR emizigote per una mutazione puntiforme in conseguenza di una grande delezione sul cromosoma 3p21.31 che rimuove l'intero *locus* COL7A1, e un altro recante una grande delezione intragenica omozigote^{80,86}. È stato inoltre riportato un solo paziente EBDR con disomia uniparentale del cromosoma 3 e riduzione allo stato di omozigosità della mutazione patogenetica⁸⁷.

Anche nelle EBDR sono riportate rare mutazioni insorte *de novo*^{77,85,88,89}. Sia nelle EBDR sia nelle EBDD si è osservata una concentrazione di mutazioni missenso negli esoni 73-75 codificanti per regioni interne al dominio collagenico^{74,77,85,88}. Sebbene la maggior parte di queste mutazioni siano “private”, sono note anche alcune mutazioni ricorrenti, diverse a seconda delle popolazioni. Nella tabella 10 sono riportate le 7 mutazioni più comuni, che coprono complessivamente circa il 45% delle mutazioni recessive caratterizzate finora nei pazienti italiani^{74,85,88,90}.

Tabella 10. Mutazioni frequenti in COL7A1 nei pazienti Italiani affetti da EBDR

Mutazione	N alleli	% degli alleli malattia	Origine geografica	Metodo di identificazione
c.497insA	17	13,9	Ubiquitaria	Sequenziamento
c.4783-1G → A	6	4,9	Sicilia	Sequenziamento
c.7344G → A	9	7,3	Ubiquitaria	Digestione con HphI
c.425A → G	6	4,9	Ubiquitaria	Digestione con Styl
p.G1664A	6	4,9	Puglia	Digestione con PstI
c.8441-14del21	6	4,9	Sicilia	Analisi su gel per dimensione o sequenziamento
c.8074delG	5	4,0	Puglia	Sequenziamento

L'analisi molecolare delle forme recessive di EBD viene perciò effettuata secondo un protocollo che prevede dapprima la ricerca delle 7 mutazioni più frequenti e l'analisi degli esoni 73-75 di COL7A1. Nel caso in cui questa ricerca dia risultati negativi, dato l'elevato numero di esoni che compongono COL7A1, è consigliabile, per accelerare la procedura di screening, utilizzare come materiale di partenza l'RNA estratto dai fibroblasti o dai cheratinociti, retrotrascritto in cDNA e quindi amplificato con 22 paia di *primer*^{74,91}. In alternativa, si procede allo screening dell'intera sequenza del COL7A1, amplificando il DNA genomico con 72 coppie di *primer*, sottoponendo poi i prodotti della PCR all'analisi degli eteroduplex⁹². Questi metodi permettono di evidenziare circa il 92% delle mutazioni. L'analisi degli eteroduplex mediante *denaturing*-HPLC (DHPLC) evidenzia la presenza di mutazioni puntiformi nel 97% dei casi⁸⁸. La definizione delle mutazioni viene successivamente eseguita mediante sequenziamento diretto del prodotto della PCR positivo allo screening con DHPLC.

Nel caso particolare della diagnosi prenatale, l'analisi molecolare è rivolta all'identificazione della o delle mutazioni familiari sul DNA purificato da materiale fetale prelevato mediante villocentesi²⁵. Quando invece la o le mutazioni causali familiari delle diverse forme di EBD non siano note, si possono utilizzare metodi di diagnosi indiretta, basati sull'analisi di marcatori polimorfici intragenici di COL7A1, per esempio gli RFLP per gli enzimi PvuII e AluI^{93,94} o i microsatelliti strettamente concatenati al gene COL7A1^{90,95}, dopo dimostrazione della loro informatività nella famiglia in esame. A questo scopo è necessaria la disponibilità di campioni di DNA di almeno un figlio affetto e dei genitori.

Quando l'analisi genetico-molecolare non è informativa, la diagnosi prenatale può comunque essere effettuata, nelle forme gravi, attraverso l'analisi immunopatologica e ultrastrutturale di una biopsia di cute fetale²⁶.

Sindrome di Kindler

La sindrome di Kindler è causata da mutazioni "perdita di funzione" nel gene KIND1 (o FERMT1) codificante per la kindlina-1 (anche nota come kindlerina), una proteina epitelio-specifica componente dei contatti focali^{96,97} (vedi tabella 9 a pagina 87). A oggi sono note poco meno di 40 mutazioni distribuite lungo tutta la sequenza di KIND1/FERMT1 (15 esoni), alcune delle quali confinate all'interno di certi gruppi etnici o talora presenti in popolazioni distinte^{98,99-102}. Nella popolazione italiana di origine caucasica (finora 12 famiglie), la maggior parte delle mutazioni sono ricorrenti per effetto *founder* e mostrano una distribuzione geografica specifica. La mutazione g.70250_74168del (23,8% degli alleli mutati) è stata identificata in 4 famiglie non correlate della Calabria, la mutazione c.1161delA (19%) in 2 famiglie dell'Italia centro-settentrionale (Toscana, Marche) e la mutazione IVS7-1G>A (14,3%) in 2 famiglie del Lazio^{99,103}. L'analisi molecolare nella sindrome di Kindler viene perciò effettuata secondo un protocollo che prevede dapprima la ricerca delle 3 mutazioni ricorrenti. Le mutazioni puntiformi IVS7-1G>A e c.1161delA vengono rivelate mediante amplificazione PCR del DNA genomico con *primer* designati nelle regioni introniche fiancheggianti gli esoni 8 e 10, seguita dal sequenziamento diretto dei prodotti della PCR. La ricerca della mutazione g.70250_74168del, che comporta la delezione di circa 3.900 nucleotidi di DNA intragenico, si effettua invece mediante una

PCR diagnostica che genera specifici frammenti di amplificazione facilmente analizzabili per elettroforesi su gel di agarosio.

Nel caso la ricerca delle mutazioni frequenti dia risultati negativi, si procede con l'amplificazione e il sequenziamento dei rimanenti esoni del gene. Queste metodiche combinate hanno permesso di evidenziare tutte le mutazioni presenti nei soggetti italiani con sindrome di Kindler^{98,102}.

Quesiti e raccomandazioni

Quesito 1 Quali aspetti è opportuno considerare nella pianificazione dell'indagine genetico-molecolare in un paziente con epidermolisi bollosa (EB)?

Raccomandazioni

Le seguenti raccomandazioni sono indirizzate ai dermatologi, ai genetisti medici, ai ginecologi, ai medici di medicina generale, ai neonatologi e ai pediatri.

Al fine di garantire una diagnosi molecolare appropriata e tempestiva si raccomanda:

V/A

- di considerare che l'EB è una malattia geneticamente eterogenea con 13 geni coinvolti (vedi tabella 9 a pagina 87); differenti tipi di mutazioni sono associati a ciascun gene e ogni tipo di EB comprende più mutazioni, in maggioranza famiglia-specifiche

V/A

- di procedere all'analisi genetica solo dopo aver confermato la diagnosi clinica sulla base delle indagini immunopatologiche e ultrastrutturali e aver richiesto la consulenza genetica per determinare l'indicazione al test genetico.

Quesito 2 Quali sono le modalità di trasmissione delle EB e quali sono i campioni biologici utilizzati per l'esecuzione del test genetico in famiglie con EB?

Raccomandazioni

Le seguenti raccomandazioni sono indirizzate ai dermatologi, ai genetisti medici, ai ginecologi, ai medici di medicina generale, ai neonatologi e ai pediatri.

V/A

Al fine di garantire una diagnosi molecolare appropriata di EB, si raccomanda di considerare che:

- quasi tutte le varianti di EB semplice (EBS) del sottotipo basale sono causate da mutazioni dominanti nei geni che codificano per la cheratina-5 e la cheratina-14, e solo raramente da mutazioni recessive nel gene della cheratina-14 e in quello della plectina
- le diverse varianti di EB giunzionale (EBG) sono trasmesse con modalità autosomica

recessiva e sono causate da mutazioni in uno dei geni che codificano per la laminina-332, l'integrina $\alpha 6\beta 4$ e il collagene XVII (BP180)

- tutte le varianti di EB distrofica (EBD) sono dovute a mutazioni recessive o dominanti nel gene che codifica per il collagene di tipo VII
- la sindrome di Kindler è causata da mutazioni autosomiche recessive nel singolo gene, KIND1 (noto anche come FERMT1)
- in tutti i tipi e sottotipi di EB la ricerca delle mutazioni di solito si esegue sul DNA genomico estratto da sangue venoso periferico, prelevato in provette contenenti EDTA come anticoagulante. Nell'EBG e nell'EBD il campione biologico da analizzare può anche essere l'RNA estratto da cheratinociti o da fibroblasti dermici (solo nel caso dell'EBD) coltivati *in vitro* da biopsia cutanea.

Quesito 3 Quali eccezioni all'ereditarietà mendeliana delle EB o modalità inusuali di insorgenza e segregazione del difetto genetico è opportuno considerare per una corretta valutazione del rischio di ricorrenza della malattia?

Raccomandazioni

Le seguenti raccomandazioni sono indirizzate ai genetisti medici.

V/A

Si raccomanda di considerare che:

- in rari casi, l'EBG di Herlitz e l'EBD recessiva (EBDR) possono insorgere in seguito a disomia uniparentale (paterna o materna) del cromosoma 1 (che contiene i geni LAMB3 e LAMB2) e del cromosoma 3 (che contiene il gene COL7A1). Nei casi in cui questa modalità sia sospettata, oltre allo screening dei geni per l'identificazione dell'allele mutato è necessario analizzare un numero adeguato di sequenze polimorfiche disposte lungo tutto il cromosoma 1 o 3, al fine di verificarne la segregazione nel soggetto affetto e nei suoi genitori
- un certo numero di casi sporadici di EBD e di EBS basali dominanti e molto raramente di EBDR e di EBG sono dovuti a mutazioni spontanee o, più raramente, riconducibili a mosaicismi germinali presenti nei genitori
- l'EB insorta per disomia uniparentale o attraverso mutazioni spontanee o riconducibili a mosaicismi germinali implica per la coppia in esame un rischio di ricorrenza nelle successive gravidanze nettamente inferiore a quello previsto nel caso di malattie a classica eredità mendeliana. La possibilità di valutare tale rischio deve essere determinata caso per caso in sede di consulenza genetica.

Quesito 4 Qual è la sensibilità delle metodiche di screening di mutazioni utilizzate correntemente? Come deve essere interpretato un test genetico negativo?

Raccomandazioni

Le seguenti raccomandazioni sono indirizzate ai dermatologi, ai genetisti medici, ai ginecologi, ai medici di medicina generale, ai neonatologi e ai pediatri.

Al fine di interpretare correttamente i risultati dell'analisi genetica, si raccomanda di considerare che:

V/A

- le metodiche di screening di mutazioni nei geni associati all'EBS basale, all'EBG e all'EBD hanno una sensibilità globale superiore al 90%; questo implica che in una minoranza di casi non è possibile conoscere con esattezza il tipo e la posizione della mutazione

VI/A

- un test genetico negativo non inficia la diagnosi di EB che è primariamente basata sulla combinazione dei dati clinici e dei reperti immunopatologici e ultrastrutturali.

Quesito 5 Quali aspetti è opportuno considerare ai fini di una razionalizzazione dell'analisi genetica?

Raccomandazioni

Le seguenti raccomandazioni sono indirizzate ai dermatologi, ai genetisti medici, ai neonatologi e ai pediatri.

V/A

Al fine di razionalizzare l'analisi genetica, si raccomanda di considerare che nella popolazione italiana sono presenti delle mutazioni ricorrenti:

- nei geni COL17A1, LAMB3 e LAMC2, che si associano più frequentemente ai casi di EBG non Herlitz e di Herlitz
- nel gene COL7A1, che causano l'EBDR
- nel gene KIND1/FERMT1, che causano la sindrome di Kindler.

In particolare, alcune di queste mutazioni mostrano una distribuzione geografica regionale e si associano ad alleli ancestrali.

V/A

Per ognuna di queste mutazioni ricorrenti esiste un metodo di screening diretto che deve essere utilizzato nella fase iniziale dell'analisi molecolare.

Quesito 6 Quali aspetti bisogna considerare nella pianificazione di una diagnosi prenatale basata sul test genetico? Qualora non sia noto il difetto genetico, esistono dei metodi alternativi per l'esecuzione del test prenatale?

Raccomandazioni

Le seguenti raccomandazioni sono indirizzate ai dermatologi, ai genetisti medici, ai ginecologi, ai medici di medicina generale, ai neonatologi e ai pediatri.

Al fine di pianificare il protocollo di diagnosi prenatale più appropriato, si raccomanda di considerare che:

V/A

- l'identificazione della o delle mutazioni patogenetiche in una famiglia affetta da EB consente di pianificare nelle successive gravidanze un test prenatale basato sulla ricerca della o delle mutazioni nel DNA estratto da villi coriali prelevati tra la decima e la dodicesima settimana di gestazione

V/B

- nei casi di EBG e di EBD in cui non sia stato possibile identificare le mutazioni patogenetiche, la diagnosi prenatale può essere eseguita utilizzando metodiche di diagnosi indiretta, basate sull'analisi di marcatori polimorfici intragenici, se informativi. A questo scopo è necessaria la disponibilità di campioni di DNA di almeno un figlio affetto e dei genitori. Inoltre, considerata l'eterogeneità di *locus* nell'EBG, è necessario conoscere una delle due mutazioni patogenetiche per essere certi di avere identificato il gene causativo.

V/A

- nelle varianti di EBS di Dowling-Meara, recessiva, con distrofia muscolare e con atresia pilorica e nelle famiglie con varianti gravi di EBG e di EBD, in cui non sia stata identificata la o le mutazioni patogenetiche e non sia possibile procedere con la diagnosi indiretta basata sulla segregazione di marcatori polimorfici intragenici, la diagnosi prenatale può essere eseguita utilizzando l'indagine immunopatologica e ultrastrutturale su biopsia di cute fetale. Quest'ultima procedura richiede personale particolarmente qualificato. È inoltre possibile ricorrere al test della marcatura dei villi coriali in immunofluorescenza con anticorpi diretti contro la plectina e l'integrina $\alpha 6\beta 4$ ma limitatamente alla diagnosi prenatale delle varianti EBS con distrofia muscolare e con atresia pilorica ed EBG con atresia pilorica.

Quesito 7 È possibile correlare il tipo di mutazione identificata in un paziente con EB con l'evoluzione della sua malattia?

Raccomandazione

La seguente raccomandazione è indirizzata ai dermatologi, ai genetisti medici, ai neonatologi e ai pediatri.

V/B

Si raccomanda di consultare i database mutazionali presenti in letteratura, estremamente informativi per alcuni geni (circa 500 annotazioni nel caso del gene COL7A1), che hanno un certo valore prognostico in quanto contengono utili riferimenti per formulare alcune correlazioni tra genotipo e fenotipo.

Bibliografia

1. Jonkman MF, Pas HH et al. Deletion of a cytoplasmic domain of integrin beta4 causes epidermolysis bullosa simplex. *J Invest Dermatol* 2002;119:1275-81.
2. Fontao L, Tasanen K et al. Molecular consequences of deletion of the cytoplasmic domain of bullous pemphigoid 180 in a patient with predominant features of epidermolysis bullosa simplex. *J Invest Dermatol* 2004;122:65-72.
3. Stephens K, Ehrlich P et al. Primers for exon-specific amplification of the KRT5 gene: identification of novel and recurrent mutations in epidermolysis bullosa simplex patients. *J Invest Dermatol* 1997;108:349-53.
4. Hut PH, vd Vlies P et al. Exempting homologous pseudogene sequences from polymerase chain reaction amplification allows genomic keratin 14 hotspot mutation analysis. *J Invest Dermatol* 2000;114:616-9.
5. Whittock NV, Eady RA, McGrath JA. Genomic organization and amplification of the human epidermal type II keratin genes K1 and K5. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;274:149-52.
6. Schuilenga-Hut PH, Vlies P et al. Mutation analysis of the entire keratin 5 and 14 genes in patients with epidermolysis bullosa simplex and identification of novel mutations. *Hum Mutat* 2003;21:447-53.
7. Pfendner EG, Sadowski SG, Uitto J. Epidermolysis bullosa simplex: recurrent and de novo mutations in the KRT5 and KRT14 genes, phenotype/genotype correlations, and implications for genetic counseling and prenatal diagnosis. *J Invest Dermatol* 2005;125:239-43.
8. Glász-Bóna A, Medvecz M et al. Easy method for keratin 14 gene amplification to exclude pseudogene sequences: new keratin 5 and 14 mutations in epidermolysis bullosa simplex. *J Invest Dermatol* 2009;129:229-31.
9. Irvine AD, Rugg EL et al. Molecular confirmation of the unique phenotype of epidermolysis bullosa simplex with mottled pigmentation. *Br J Dermatol* 2001;144:40-5.
10. Gu LH, Kim SC et al. A usual frameshift and delayed termination codon mutation in keratin 5 causes a novel type of epidermolysis bullosa simplex with migratory circinate erythema. *J Invest Dermatol* 2003;121:482-5.
11. Wood P, Baty DU et al. Long-range polymerase chain reaction for specific full-length amplification of the human keratin 14 gene and novel keratin 14 mutations in epidermolysis bullosa sim-

- plex patients. *J Invest Dermatol* 2003;120:495-7.
12. Nagao-Watanabe M, Fukao T et al. Identification of somatic and germline mosaicism for a keratin 5 mutation in epidermolysis bullosa simplex in a family of which the proband was previously regarded as a sporadic case. *Clin Genet* 2004;66:236-8.
 13. Ciubotaru D, Bergman R et al. Epidermolysis bullosa simplex in Israel: clinical and genetic features. *Arch Dermatol* 2003;139:498-505.
 14. Has C, Chang YR et al. Novel keratin 14 mutations in patients with severe recessive epidermolysis bullosa simplex. *J Invest Dermatol* 2006;126:1912-4.
 15. Yiasemides E, Trisnowati N et al. Clinical heterogeneity in recessive epidermolysis bullosa due to mutations in the keratin 14 gene, KRT14. *Clin Exp Dermatol* 2008;33:689-97.
 16. Hovnanian A, Pollack E et al. A missense mutation in the rod domain of keratin 14 associated with recessive epidermolysis bullosa simplex. *Nat Genet* 1993;3:327-32.
 17. Indelman M, Bergman R, Sprecher E. A novel recessive missense mutation in KRT14 reveals striking phenotypic heterogeneity in epidermolysis bullosa simplex. *J Invest Dermatol* 2005;124:272-4.
 18. Pfindner E, Rouan F, Uitto J. Progress in epidermolysis bullosa: the phenotypic spectrum of plectin mutations. *Exp Dermatol* 2005;14:241-9.
 19. Varki R, Sadowski S et al. Epidermolysis bullosa. I. Molecular genetics of the junctional and hemidesmosomal variants. *J Med Genet* 2006;43:641-52.
 20. Müller FB, Küster W et al. Novel and recurrent mutations in keratin KRT5 and KRT14 genes in epidermolysis bullosa simplex: implications for disease phenotype and keratin filament assembly. *Hum Mutat* 2006;27:719-20.
 21. Charlesworth A, Gagnoux-Palacios L et al. Identification of a lethal form of epidermolysis bullosa simplex associated with a homozygous genetic mutation in plectin. *J Invest Dermatol* 2003;121:1344-8.
 22. Pfindner E, Uitto J. Plectin gene mutations can cause epidermolysis bullosa with pyloric atresia. *J Invest Dermatol* 2005;124:111-5.
 23. Nakamura H, Sawamura D et al. Epidermolysis bullosa simplex associated with pyloric atresia is a novel clinical subtype caused by mutations in the plectin gene (PLEC1). *J Mol Diagn* 2005;7:28-35.
 24. Koss-Harnes D, Hoyheim B et al. A site-specific plectin mutation causes dominant epidermolysis bullosa simplex Ogna: two identical de novo mutations. *J Invest Dermatol* 2002;118:87-93.
 25. Pfindner EG, Nakano A et al. Prenatal diagnosis for epidermolysis bullosa: a study of 144 consecutive pregnancies at risk. *Prenat Diagn* 2003;23:447-56.
 26. Fassihi H, Eady RA et al. Prenatal diagnosis for severe inherited skin disorders: 25 years' experience. *Br J Dermatol* 2006;154:106-13.
 27. D'Alessio M, Zambruno G et al. Immunofluorescence analysis of villous trophoblasts: a tool for prenatal diagnosis of inherited epidermolysis bullosa with pyloric atresia. *J Invest Dermatol* 2008;128:2815-9.
 28. Jonkman MF, Pasmooij AM et al. Loss of desmoplakin tail causes lethal acantholytic epidermolysis bullosa. *Am J Hum Genet* 2005;77:653-60.
 29. McGrath JA, McMillan JR et al. Mutations in the plakophilin 1 gene result in ectodermal dysplasia/skin fragility syndrome. *Nat Genet* 1997;17:240-4.
 30. Whittcock NV, Haftek M et al. Genomic amplification of the human plakophilin 1 gene and detection of a new mutation in ectodermal dysplasia/skin fragility syndrome. *J Invest Dermatol* 2000;115:368-74.
 31. Whittcock NV, Ashton GH et al. Striate palmo-plantar keratoderma resulting from desmoplakin haploinsufficiency. *J Invest Dermatol* 1999;113:940-6.
 32. Castiglia D, Posteraro P et al. Novel mutations in the LAMC2 gene in non-Herlitz junctional epidermolysis bullosa: effects on laminin-5 assembly, secretion, and deposition. *J Invest Dermatol* 2001;117:731-9.

33. Cserhalmi-Friedman PB, Anyane-Yeboah K, Christiano AM. Paternal germline mosaicism in Herlitz junctional epidermolysis bullosa. *Exp Dermatol* 2002;11:468-70.
34. Almaani N, Liu L et al. Autosomal dominant junctional epidermolysis bullosa. *Br J Dermatol* 2009;160:1094-7.
35. Pulkkinen L, McGrath JA et al. Detection of sequence variants in the gene encoding the $\alpha 3$ chain of laminin-5 (LAMB3). *Hum Mutat* 1995;6:77-84.
36. Pulkkinen L, McGrath JA et al. Detection of novel LAMC2 mutations in Herlitz junctional epidermolysis bullosa. *Mol Med* 1997;3:122-33.
37. Aberdam D, Galliano M-F et al. Herlitz's junctional epidermolysis bullosa is linked to mutations in the gene (LAMC2) for the $\gamma 2$ subunit of nicein/kalinin (LAMININ-5). *Nature Genet* 1994;6:299-304.
38. Posteraro P, De Luca N et al. Laminin-5 mutational analysis in an Italian cohort of patients with junctional epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 2004;123:639-48.
39. Uitto J. Epidermolysis bullosa: the expanding mutation database. *J Invest Dermatol* 2004;123:XII-XIII.
40. Castori M, Floriddia G et al. Herlitz junctional epidermolysis bullosa: laminin-5 mutational profile and carrier frequency in the Italian population. *Br J Dermatol* 2008;158:38-44.
41. Nakano A, Chao SC et al. Laminin 5 mutations in junctional epidermolysis bullosa: molecular basis of Herlitz vs non-Herlitz phenotypes. *Hum Genet* 2002;110:41-51.
42. Vidal F, Baudoin C et al. Cloning of the laminin $\alpha 3$ chain gene (LAMA3) and identification of a homozygous deletion in a patient with Herlitz junctional epidermolysis bullosa. *Genomics* 1995;30:273-80.
43. Fassihi H, Wessagowit V et al. Complete paternal uniparental isodisomy of chromosome 1 resulting in Herlitz junctional epidermolysis bullosa. *Clin Exp Dermatol* 2005;30:71-4.
44. Takizawa Y, Pulkkinen L et al. Mutation report: complete paternal uniparental isodisomy of chromosome 1: a novel mechanism for Herlitz junctional epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 2000;115:307-11.
45. Castori M, Floriddia G et al. Complete maternal isodisomy causing reduction to homozygosity for a novel LAMB3 mutation in Herlitz junctional epidermolysis bullosa. *J Dermatol Sci* 2008;51:58-61.
46. Bauer JW, Lanschuetzer C. Type XVII collagen gene mutations in junctional epidermolysis bullosa and prospects for gene therapy. *Clin Exp Dermatol* 2003;28:53-6.
47. Pasmooij AM, van Zalen S et al. A very mild form of non-Herlitz junctional epidermolysis bullosa: BP180 rescue by outsplicing of mutated exon 30 coding for the COL15 domain. *Exp Dermatol* 2004;13:125-8.
48. Pasmooij AM, Pas HH et al. Localized and generalized forms of blistering in junctional epidermolysis bullosa due to COL17A1 mutations in the Netherlands. *Br J Dermatol* 2007;156:861-70.
49. Gatalica B, Pulkkinen L et al. Cloning of the human type XVII collagen gene (COL17A1), and detection of novel mutations in generalized atrophic benign epidermolysis bullosa. *Am J Hum Genet* 1997;60:352-65.
50. Ruzzi L, Pas H et al. A homozygous nonsense mutation in type XVII collagen gene (COL17A1) uncovers an alternatively spliced mRNA accounting for an unusually mild form of non-Herlitz junctional epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 2001;116:182-7.
51. Scheffer H, Stulp RP et al. Implications of intragenic marker homozygosity and haplotype sharing in a rare autosomal recessive disorder: the example of the collagen type XVII (COL17A1) locus in generalized atrophic benign epidermolysis bullosa. *Hum Genet* 1997;100:230-5.
52. Posteraro P, Sorvillo S et al. Compound heterozygosity for an out-of-frame deletion and a splice site mutation in the LAMB3 gene causes non-lethal junctional epidermolysis bullosa. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;243:758-64.
53. Mellerio JE, Eady RA et al. E210K mutation in the gene encoding the $\beta 3$ chain of laminin-5 (LAMB3) is predictive of a phenotype of genera-

- lized atrophic benign epidermolysis bullosa. *Br J Dermatol* 1998;139:325-31.
54. Jonkman MF, Pasmooij AM. Revertant mosaicism--patchwork in the skin. *N Engl J Med* 2009;360:1680-2.
 55. Jonkman MF, Scheffer H et al. Revertant mosaicism in epidermolysis bullosa caused by mitotic gene conversion. *Cell* 1997;88:543-51.
 56. Pasmooij AM, Pas HH et al. Multiple correcting COL17A1 mutations in patients with revertant mosaicism of epidermolysis bullosa. *Am J Hum Genet* 2005;77:727-40.
 57. Darling TN, Yee C et al. Revertant mosaicism: partial correction of a germ-line mutation in COL17A1 by a frame-restoring mutation. *J Clin Invest* 1999;103:1371-7.
 58. Pasmooij AM, Pas HH et al. Revertant mosaicism in junctional epidermolysis bullosa due to multiple correcting second-site mutations in LAMB3. *J Clin Invest* 2007;117:1240-8.
 59. Frank J, Happle R. Cutaneous mosaicism: right before our eyes. *J Clin Invest* 2007;117:1216-9.
 60. Pulkkinen L, Kimonis VE et al. Homozygous alpha6 integrin mutation in junctional epidermolysis bullosa with congenital duodenal atresia. *Hum Mol Genet* 1997;6:669-74.
 61. Ruzzi L, Gagnoux-Palacios L et al. A homozygous mutation in the integrin $\alpha 6$ gene in junctional epidermolysis bullosa with pyloric atresia. *J Clin Invest* 1997;99:2826-31.
 62. Gache Y, Romero-Graillet C et al. A novel homozygous mutation affecting integrin alpha6 in a case of junctional epidermolysis bullosa with pyloric atresia detected in utero by ultrasound examination. *J Invest Dermatol* 1998;111:914-6.
 63. Nakano A, Pulkkinen L et al. Epidermolysis bullosa with congenital pyloric atresia: novel mutations in the $\beta 4$ integrin gene (ITGB4) and genotype/phenotype correlations. *Pediatr Res* 2001;49:618-26.
 64. Allegra M, Gagnoux-Palacios L et al. Rapid decay of alpha6 integrin caused by a missense mutation in the propeller domain results in severe junctional epidermolysis bullosa with pyloric atresia. *J Invest Dermatol* 2003;121:1336-43.
 65. Vidal F, Aberdam D et al. Integrin $\beta 4$ mutations associated with junctional epidermolysis bullosa with pyloric atresia. *Nature Genet* 1995;10:229-34.
 66. Pulkkinen L, Kim DU, Uitto J. Epidermolysis bullosa with pyloric atresia. Novel mutations in the $\beta 4$ integrin gene (ITGB4). *Am J Pathol* 1998;152:157-66.
 67. Christiano AM, Pulkkinen L et al. Mutation-based prenatal diagnosis of Herlitz junctional epidermolysis bullosa. *Prenat Diagn* 1997;17:343-54.
 68. McLean WH, Irvine AD et al. An unusual N-terminal deletion of the laminin alpha3a isoform leads to the chronic granulation tissue disorder laryngo-onycho-cutaneous syndrome. *Hum Mol Genet* 2003;12:2395-409 (Erratum in: *Hum Mol Genet* 2004;13:365).
 69. Figueira EC, Crotty A et al. Granulation tissue in the eyelid margin and conjunctiva in junctional epidermolysis bullosa with features of laryngo-onycho-cutaneous syndrome. *Clin Experiment Ophthalmol* 2007;35:163-6.
 70. Pulkkinen L, Cserhalmi-Friedman PB et al. Molecular analysis of the human laminin alpha3a chain gene (LAMA3a): a strategy for mutation identification and DNA-based prenatal diagnosis in Herlitz junctional epidermolysis bullosa. *Lab Invest* 1998;78:1067-76.
 71. Christiano AM, Greenspan DS et al. A missense mutation in type VII collagen in two affected siblings with recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *Nat Genet* 1993;4:62-6.
 72. Hovnanian A, Rochat A et al. 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.
 73. Whittock NV, Ashton GH et al. Comparative mutation detection screening of the type VII collagen gene (COL7A1) using the protein truncation test, fluorescent chemical cleavage of mismatch, and conformation sensitive gel electrophoresis. *J Invest Dermatol* 1999;113:673-86.

74. Gardella R, Castiglia D et al. Genotype-phenotype correlation in Italian patients with dystrophic epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 2002;119:1456-62.
75. Kern JS, Kohlhasse J et al. Expanding the COL7A1 mutation database: novel and recurrent mutations and unusual genotype-phenotype constellations in 41 patients with dystrophic epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 2006;126:1006-12.
76. Dang N, Klingberg S et al. Review of collagen VII sequence variants found in Australasian patients with dystrophic epidermolysis bullosa reveals nine novel COL7A1 variants. *J Dermatol Sci* 2007;46:169-78.
77. Varki R, Sadowski S et al. Epidermolysis bullosa. II. Type VII collagen mutations and phenotype-genotype correlations in the dystrophica subtypes. *J Med Genet* 2007;44:181-92.
78. Dang N, Murrell DF. Mutation analysis and characterization of COL7A1 mutations in dystrophic epidermolysis bullosa. *Exp Dermatol* 2008;17:553-68.
79. Schumann H, Has C et al. Dystrophic epidermolysis bullosa pruriginosa is not associated with frequent FLG gene mutations. *Br J Dermatol* 2008;159:464-9.
80. Kern JS, Grüniger G et al. Forty-two novel COL7A1 mutations and the role of a frequent single nucleotide polymorphism in the MMP1 promoter in modulation of disease severity in a large European dystrophic epidermolysis bullosa cohort. *Br J Dermatol* 2009;161:1089-97.
81. van den Akker PC, van Essen AJ et al. Long-term follow-up of patients with recessive dystrophic epidermolysis bullosa in the Netherlands: expansion of the mutation database and unusual phenotype-genotype correlations. *J Dermatol Sci* 2009;56:9-18.
82. Almaani N, Liu L et al. New glycine substitution mutations in type VII collagen underlying epidermolysis bullosa pruriginosa but the phenotype is not explained by a common polymorphism in the matrix metalloproteinase-1 gene promoter. *Acta Derm Venereol* 2009;89:6-11.
83. Sakuntabhai A, Hammami-Hauasli N et al. Deletions within COL7A1 exons distant from consensus splice sites alter splicing and produce shortened polypeptides in dominant dystrophic epidermolysis bullosa. *Am J Hum Genet* 1998;63:737-48.
84. Cserhalmi-Friedman PB, Garzon MC et al. Maternal germline mosaicism in dominant dystrophic epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 2001;117:1327-8.
85. Drera B, Castiglia D et al. Dystrophic epidermolysis bullosa pruriginosa in Italy: clinical and molecular characterization. *Clin Genet* 2006;70:339-47.
86. Titeux M, Mejía JE et al. Recessive dystrophic epidermolysis bullosa caused by COL7A1 hemizygosity and a missense mutation with complex effects on splicing. *Hum Mutat* 2006;27:291-2.
87. Fassihi H, Lu L et al. Complete maternal isodisomy of chromosome 3 in a child with recessive dystrophic epidermolysis bullosa but no other phenotypic abnormalities. *J Invest Dermatol* 2006;126:2039-43.
88. Posteraro P, Pascucci M et al. Denaturing HPLC-based approach for detection of COL7A1 gene mutations causing dystrophic epidermolysis bullosa: identification of nine novel mutations. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;338:1391-401.
89. Drera B, Floriddia G et al. Branch point and donor splice-site COL7A1 mutations in mild recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *Br J Dermatol* 2009;161:464-7.
90. Gardella R, Belletti L et al. Identification of two splicing mutations in the collagen type VII gene (COL7A1) of a patient affected by the localisata variant of recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *Am J Hum Genet* 1996;59:292-300.
91. Gardella R, Zoppi N et al. Three homozygous PTC mutations in the collagen type VII gene of patients affected by recessive dystrophic epidermolysis bullosa: analysis of transcript levels in dermal fibroblasts. *Hum Mutat* 1999;13:439-52.
92. Christiano AM, Hoffman GG et al. Strategy for identification of sequence variants in COL7A1 and a novel 2-bp deletion mutation in recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *Hum Mutat* 1997;10:408-14.

93. Christiano AM, Chung-Honet LC et al. PCR-based detection of two exonic polymorphisms in the human type VII collagen gene (COL7A1) at 3p21.1. *Genomics* 1992;14:827-8.
94. Christiano AM, Greenspan DS et al. Cloning of human type VII collagen. Complete primary sequence of the alpha 1(VII) chain and identification of intragenic polymorphisms. *J Biol Chem* 1994;269:20256-62.
95. Christiano AM, LaForgia S et al. Prenatal diagnosis for recessive dystrophic epidermolysis bullosa in 10 families by mutation and haplotype analysis in the type VII collagen gene (COL7A1). *Mol Med* 1996;2:59-76.
96. Jobard F, Bouadjar B et al. Identification of mutations in a new gene encoding a FERM family protein with a pleckstrin homology domain in Kindler syndrome. *Hum Mol Genet* 2003;12:925-35.
97. Siegel DH, Ashton GH et al. Loss of kindlin-1, a human homolog of the *Caenorhabditis elegans* actin-extracellular-matrix linker protein UNC-112, causes Kindler syndrome. *Am J Hum Genet* 2003;73:174-87.
98. Lai-Cheong JE, Liu L et al. Five new homozygous mutations in the KIND1 gene in Kindler syndrome. *J Invest Dermatol* 2007;127:2268-70.
99. Ashton GH, McLean WH et al. Recurrent mutations in kindlin-1, a novel keratinocyte focal contact protein, in the autosomal recessive skin fragility and photosensitivity disorder, Kindler syndrome. *J Invest Dermatol* 2004;122:78-83.
100. Has C, Yordanova I et al. A novel large FERMT1 (KIND1) gene deletion in Kindler syndrome. *J Dermatol Sci* 2008;52:209-12.
101. Lai-Cheong JE, Tanaka A et al. Kindler syndrome: a focal adhesion genodermatosis. *Br J Dermatol* 2009;160:233-42.
102. Zhou C, Song S, Zhang J. A novel 3017-bp deletion mutation in the FERMT1 (KIND1) gene in a Chinese family with Kindler syndrome. *Br J Dermatol* 2009;160:1119-22.
103. Has C, Wessagowit V et al. Molecular basis of Kindler syndrome in Italy: novel and recurrent Alu/Alu recombination, splice site, nonsense, and frameshift mutations in the KIND1 gene. *J Invest Dermatol* 2006;126:1776-83.

Aspetti etico-deontologici

Premessa

La diagnosi di epidermolisi bollosa (EB) comporta un articolato percorso diagnostico. Il momento più complesso e delicato è l'analisi genetico-molecolare, soprattutto per le conseguenze su terzi che le informazioni con essa acquisite possono comportare.

Occorre però ricordare che l'intero iter diagnostico ha come fondamento l'informazione e il consenso del soggetto o in sua vece degli aventi diritto.

Va sottolineato, in particolare, come il consenso informato sia un percorso relazionale che ha lo scopo di creare le condizioni necessarie e sufficienti perché i soggetti coinvolti possano prendere decisioni riguardanti la propria vita¹. Per questo motivo, i diversi professionisti che interagiscono con il paziente e la sua famiglia devono cooperare al fine di creare le condizioni citate.

Essendo fondato su una relazione, il consenso informato non può essere ridotto alla sottoscrizione di un modulo. Il Codice deontologico dei medici del 2006² afferma a questo proposito, all'articolo 35 *Acquisizione del consenso*, che "il consenso scritto (...) è integrativo e non sostitutivo del processo informativo". Poiché si tratta di un percorso è necessario un tempo adeguato e proporzionato alla complessità e alla gravità della situazione. Ciò comporta che sin dal primo incontro si espliciti il possibile iter diagnostico con tutte le sue tappe e le sue possibili conseguenze, non solo per il paziente ma per eventuali altri soggetti coinvolti. Solo avendo presente l'intero percorso si potrà prendere una decisione consapevole e si renderanno partecipi e responsabili il paziente e i suoi genitori. A ogni specifico passaggio si dovranno precisare i dettagli dei singoli esami e si confermerà il consenso, ma è necessario un primo esplicito assenso all'intero percorso.

L'analisi genetico-molecolare

L'analisi genetico-molecolare rappresenta per l'EB un affinamento diagnostico rispetto alla diagnosi immunopatologica e ultrastrutturale, ed è necessaria in casi selezionati per formulare una diagnosi certa. L'analisi molecolare è anche importante in una parte dei casi sporadici di EB per la definizione delle modalità di trasmissione e per stabilire il rischio di ricorrenza. Infine, l'analisi molecolare è necessaria per eseguire, se richiesta, la diagnosi prenatale, preferibilmente mediante villocentesi entro il primo trimestre di gravidanza.

Se da una parte i test genetici consentono di formulare diagnosi sempre più accurate, dall'altra possono fornire una quantità enorme di notizie sul paziente, indipendentemente dalla specifica ragione per cui sono stati richiesti. Al contempo queste stesse notizie possono riguardare persone terze rispetto al paziente. Per questi motivi è necessaria una particolare attenzione³.

Nel caso specifico dell'EB, il paziente è il più delle volte un neonato o un bambino e quindi non è in grado di prendere decisioni e di esprimerle; la scelta compete quindi a chi esercita la potestà genitoriale. Inoltre, ci sono ancora diversi casi di pazienti adulti senza diagnosi genetica che la richiedono.

I soggetti interessati dalle conoscenze derivate dall'analisi genetica sono quindi di tre categorie: innanzitutto e primariamente il paziente, quindi le persone almeno potenzialmente portatrici del gene mutato e infine i futuri figli, considerando la possibile influenza di queste notizie sulle scelte procreative di una coppia. Si tratta di soggetti diversi, con peculiarità differenti, ma al tempo stesso legati dal risultato di un'indagine genetica. L'operatore sanitario deve aver presente questo intreccio di relazioni, con i suoi rilievi non solo tecnici e psicologici ma anche etico-deontologici, se vuole affrontare adeguatamente la proposta di un'indagine genetica nel percorso diagnostico delle EB.

I punti di partenza essenziali sono l'informazione e il consenso dei diversi soggetti interessati.

Poiché vi è un percorso logico e il consenso o meno di alcuni soggetti potrebbe consentire o pregiudicare il proseguimento del percorso stesso, la questione va affrontata partendo dal soggetto che si trova al centro dell'iter, ovvero il paziente.

Il paziente

Il coinvolgimento del minore

Il più delle volte il paziente è un bambino non in grado di comprendere le informazioni e di dare un consenso valido. Nel caso invece in cui si constati una maturità che permetta di comprendere le informazioni è necessario e doveroso coinvolgere il paziente⁴. Sulla questione del consenso informato da parte di un bambino, il Comitato nazionale per la bioetica afferma: "È difficile pensare a un consenso e un dissenso informato prima dei 7 anni. Successivamente, quando il bambino esplora meglio le proprie motivazioni e le confronta con ciò che gli altri dicono e fanno, è concepibile un consenso e un dissenso informato, certamente insieme a quello dei genitori. A partire dai 12 anni, nell'età adolescenziale, si può credere in un consenso o dissenso progressivamente consapevole".

Il Codice deontologico, all'articolo 38 *Autonomia del cittadino e direttive anticipate*, afferma: "Il medico, compatibilmente con l'età, con la capacità di comprensione e con la maturità del soggetto, ha l'obbligo di dare adeguate informazioni al minore e di tenere conto della sua volontà".

Diverse ricerche hanno mostrato che i minori con una buona maturità, quando sono informati della natura e delle conseguenze della loro patologia, affrontano meglio la loro situazione, con ripercussioni negative ridotte sotto il profilo sia psicologico sia sociale⁵.

L'informazione

L'informazione costituisce l'elemento essenziale per prendere una decisione.

Nel caso dell'EB le informazioni necessarie sono molte e possono essere fornite da un singolo specialista o da più figure professionali. È essenziale che venga illustrata l'intera proposta, a cui gli aventi diritto daranno un consenso che potrà essere confermato nel corso dell'iter diagnostico e terapeutico.

Il medico deve illustrare le modalità di svolgimento del percorso, soffermandosi in particolare sui rischi e sulle possibili complicanze del prelievo biotico di cute nei casi in cui questo sia richiesto in aggiunta o in alternativa al prelievo ematico. Occorre quindi

precisare il grado di sensibilità, specificità e predittività del test e il significato di parole quali mutazione genetica, trasmissione autosomica dominante o recessiva. Soprattutto è necessario far comprendere come vi possano essere esiti diversi, ciascuno con uno specifico grado di gravità.

Il linguaggio non deve essere tecnico, ma adeguato alla cultura dei destinatari.

Quante informazioni dare?

A questo proposito il Codice deontologico, all'articolo 33 *Informazione al cittadino*, afferma: "Il medico deve fornire al paziente la più idonea informazione sulla diagnosi, sulla prognosi, sulle prospettive e le eventuali alternative diagnostico-terapeutiche e sulle prevedibili conseguenze delle scelte operate. Il medico dovrà comunicare con il soggetto tenendo conto delle sue capacità di comprensione, al fine di promuoverne la massima partecipazione alle scelte decisionali e l'adesione alle proposte diagnostico-terapeutiche. Ogni ulteriore richiesta di informazione da parte del paziente deve essere soddisfatta".

Per questo motivo è importante che il medico comunichi le informazioni che ritiene necessarie perché il soggetto o i soggetti coinvolti possano prendere una decisione, e che sia disponibile di fronte a ulteriori domande di approfondimento, ricordando che non basta informare ma occorre che il destinatario comprenda le informazioni. Talvolta una maggiore informazione porta a una minore comprensione: lasciare tempo per assimilare le informazioni, rendendosi disponibili per ulteriori chiarimenti, facilita il lavoro di comprensione.

È necessario, inoltre, far presente ai soggetti interessati che le opzioni terapeutiche sono diverse a seconda della diagnosi.

Il medico deve garantire che il campione biologico prelevato per l'analisi genetica sia utilizzato solo per quella specifica indagine; nel caso di conservazione del materiale devono essere esplicitate la finalità e la durata, lasciando all'avente diritto la possibilità di chiederne la distruzione.

Se si tratta di una diagnosi prenatale, occorre informare adeguatamente i soggetti coinvolti sulle probabilità che il feto sia affetto dalla malattia, sulla gravità della malattia, sulle prospettive terapeutiche e sui rischi connessi con la tecnica utilizzata per l'acquisizione del campione biologico fetale. Le decisioni devono rispettare quanto previsto dalla legge sull'interruzione della gravidanza.

Il Codice deontologico, nell'articolo 46 *Test predittivi*, richiede che vengano rispettati i seguenti criteri: "I test diretti in modo esclusivo a rilevare o predire malformazioni o malattie su base ereditaria devono essere espressamente richiesti, per iscritto, dalla gestante o dalla persona interessata. Il medico deve fornire al paziente informazioni preventive e dare la più ampia e adeguata illustrazione sul significato e sul valore predittivo dei test, sui rischi per la gravidanza, sulle conseguenze delle malattie genetiche sulla salute e sulla qualità della vita, nonché sui possibili interventi di prevenzione e di terapia (...). È vietato eseguire test genetici o predittivi in centri privi dei requisiti strutturali e professionali previsti dalle vigenti norme nazionali e/o regionali".

Conclusa la parte riguardante il soggetto, occorre informare sulle conseguenze che l'indagine genetica può avere su terzi e sulla conseguente opportunità o necessità di informarli. Si inserisce qui la delicata questione delle notizie inattese, ossia di quei dati che non sono volontariamente oggetto di ricerca e di indagine ma che implicitamente emergono dall'ana-

lisi stessa. Si pensi per esempio alla paternità genetica che può essere esclusa in base ai risultati dell'analisi: da un lato i genitori non si sono rivolti alla struttura per ottenere questa informazione; dall'altra questo dato potrebbe incidere anche sulla vita e sulla salute di altri. Si consiglia di informare preventivamente i genitori di questa eventualità e di chiedere loro se intendono esserne informati, illustrando le conseguenze che ciascuna scelta implica.

Il consenso

Tenendo presente la necessità di coinvolgere il minore in riferimento alla sua maturità, resta da stabilire chi dovrà prendere le decisioni. Se il compito spetta ai genitori, questi possono esprimere consenso o dissenso. Se l'esame è dirimente per una diagnosi affidabile e, di conseguenza, per una terapia adeguata, diventa difficile accettare l'eventuale diniego. L'esame persegue il migliore interesse del paziente e quindi si rende necessario: si dovrebbe quindi parlare di *parental permission* più che di autorizzazione. A questo proposito il Codice deontologico, all'articolo 32 *Doveri del medico nei confronti dei soggetti fragili* sottolinea: "Il medico, in caso di opposizione dei legali rappresentanti alla necessaria cura dei minori e degli incapaci, deve ricorrere alla competente autorità giudiziaria".

Entrambi i genitori, a meno di condizioni oggettive che lo rendano impossibile, devono essere coinvolti nella decisione, vista non tanto la pericolosità dell'indagine diagnostica in sé, ma piuttosto la gravità dell'eventuale patologia e le sue possibili conseguenze su terzi.

È auspicabile che nelle forme neonatali più gravi l'informazione sia fornita contestualmente a entrambi i genitori, evitando se possibile il trasferimento del paziente in un centro di riferimento almeno fino alla dimissione dall'ospedale della madre.

Per questi motivi è bene che, al termine del percorso, sia prevista la sottoscrizione di un modulo di consenso. Il Codice deontologico, all'articolo 35 *Acquisizione del consenso*, afferma infatti: "Il medico non deve intraprendere attività diagnostica e/o terapeutica senza l'acquisizione del consenso esplicito e informato del paziente. Il consenso, espresso in forma scritta nei casi previsti dalla legge e nei casi in cui per la particolarità delle prestazioni diagnostiche e/o terapeutiche o per le possibili conseguenze delle stesse sulla integrità fisica si renda opportuna una manifestazione documentata della volontà della persona".

Infine, in questo caso specifico, è opportuno domandarsi se sia ammissibile il diritto a non sapere, che il Codice deontologico riconosce come principio generale nell'articolo 33 *Informazione al cittadino*: "La documentata volontà della persona assistita di non essere informata o di delegare ad altro soggetto l'informazione deve essere rispettata". Visto il ruolo dei genitori nel sostenere e nel cooperare all'assistenza del paziente e le possibili rilevanti responsabilità nel dare informazione a terzi potenzialmente coinvolti, si ritiene che la possibilità di non sapere rappresenti un'eccezione da giustificare adeguatamente. Resta il fatto che l'eventuale accettazione della volontà di non sapere da parte dei genitori non deve in alcun modo intralciare il processo diagnostico e terapeutico necessario alla cura del bambino.

I soggetti terzi

Nel caso l'indagine genetica dia risposta positiva, occorre valutare la necessità di informare i familiari che potrebbero trarne beneficio sia diretto sia indiretto, cioè nell'ambito di scelte procreative.

Una questione importante da trattare riguarda la possibilità che gli aventi diritto - i genitori del paziente o il paziente stesso quando maggiorenne - possano rifiutare l'autorizzazione a trasmettere queste informazioni. Il Codice deontologico all'articolo 12 *Trattamento dei dati sensibili* chiarisce la questione: "Al medico peraltro è consentito il trattamento dei dati personali del paziente in assenza del consenso dell'interessato solo ed esclusivamente quando sussistano le specifiche ipotesi previste dalla legge ovvero quando vi sia la necessità di salvaguardare la vita o la salute del paziente o di terzi nell'ipotesi in cui il paziente medesimo non sia in grado di prestare il proprio consenso per impossibilità fisica, per incapacità di agire e/o di intendere e di volere; in quest'ultima situazione peraltro, sarà necessaria l'autorizzazione dell'eventuale legale rappresentante laddove precedentemente nominato. Tale facoltà sussiste nei modi e con le garanzie dell'articolo 11 anche in caso di diniego dell'interessato ove vi sia l'urgenza di salvaguardare la vita o la salute di terzi".

Per questo motivo occorre stabilire se vi sia l'urgenza di salvaguardare non solo la vita ma anche la salute di terzi, o se invece l'informazione possa essere procrastinata.

La diagnosi preimpianto

La diagnosi preimpianto è oggetto di grande dibattito etico. Il Codice deontologico pone una serie di chiari limiti a questa possibilità, chiarendo quali debbano essere le finalità. In particolare, l'articolo 44 *Fecondazione assistita* afferma: "È proscritta ogni pratica di fecondazione assistita ispirata a selezione etnica e a fini eugenetici; non è consentita la produzione di embrioni ai soli fini di ricerca ed è vietato ogni sfruttamento commerciale, pubblicitario, industriale di gameti, embrioni e tessuti embrionali o fetali". L'articolo 45 *Interventi sul genoma* sottolinea: "Ogni eventuale intervento sul genoma deve tendere alla prevenzione e alla correzione di condizioni patologiche".

Tenendo conto della legge 40/2004 e delle successive linee guida, compreso il pronunciamento della Corte costituzionale (sentenza n. 151 D.L. 2009), è necessario informare la coppia non solo su quando potrebbe essere tecnicamente adeguata una diagnosi preimpianto, ma anche sulle questioni etiche sottese a questa scelta, allo scopo di garantire una scelta libera e responsabile.

La consulenza etica

La gravità della patologia e le implicazioni dell'analisi genetica comportano quindi problemi etici rilevanti.

È quindi necessario, all'interno di un approccio multidisciplinare, prevedere la possibilità di una consulenza etica fornita da esperti in etica clinica o, in mancanza di queste figure, dal Comitato di etica, che accompagni i diversi soggetti coinvolti nella decisione. È necessario che a questa consulenza possano accedere non solo gli operatori sanitari ma anche i pazienti e i loro genitori.

Il compito del consulente etico, come di ogni altro consulente in ambito sanitario, non è di sostituirsi ai decisori ma di facilitare la decisione, attraverso una consulenza non direttiva e cercando ove possibile di raggiungere una soluzione condivisa⁶.

Quesiti e raccomandazioni

Quesito 1 Su quali aspetti e considerazioni etico-deontologiche si basa il raggiungimento di un consenso informato nell'iter diagnostico delle EB?

Raccomandazioni

Le seguenti raccomandazioni sono indirizzate ai dermatologi, ai genetisti medici, ai medici di medicina generale, ai neonatologi, ai pediatri, agli psicologi, ai pazienti e ai loro familiari.

VI/A

Al fine di fornire un'informazione chiara ed esaustiva per il raggiungimento di un consenso esplicito e informato nei vari momenti dell'iter diagnostico, si raccomanda di:

- considerare che l'intero iter diagnostico ha come fondamento l'informazione e il consenso del soggetto (o, in sua vece, degli aventi diritto), all'interno di un percorso relazionale in cui le diverse figure professionali interagiscono con il paziente e la sua famiglia
- considerare che al momento della diagnosi il paziente è il più delle volte un neonato o bambino; quindi possibile che non sia in grado di prendere decisioni o di esprimerle in relazione all'età e alla maturità (vedi Codice deontologico, articolo 38 *Autonomia del cittadino e direttive anticipate*)
- aderire, nel corso dell'intero percorso diagnostico delle EB, all'articolo 35 *Acquisizione del consenso* e all'articolo 33 *Informazione al cittadino* del Codice deontologico
- considerare, in particolare, che è necessario che il paziente abbia l'informazione più adeguata e pertinente possibile sulla diagnosi (vedi Codice deontologico, articolo 33 *Informazione al cittadino*) e quindi comunicare quanto si ritiene necessario perché il soggetto o i soggetti possano prendere una decisione, valutando la comprensione dell'informazione fornita e rimanendo a disposizione per ulteriori domande di approfondimento
- prevedere la possibilità di una consulenza etica – svolta da esperti in etica clinica o, in mancanza di queste figure, dal Comitato di etica – che accompagni i diversi soggetti coinvolti nel percorso diagnostico delle EB, dagli operatori sanitari ai pazienti e ai loro familiari.

Quesito 2 Quali elementi etico-deontologici sono da considerare in riferimento alla consulenza genetica e all'indagine genetico-molecolare?

Raccomandazioni

Le seguenti raccomandazioni sono indirizzate ai dermatologi, ai genetisti medici, ai neonatologi e ai pediatri.

VI/A

Per consentire al paziente o ai genitori di valutare tutte le implicazioni che questo tipo di indagine comporta e fornire una informazione adeguata e pertinente, si raccomanda di:

- considerare che l'analisi genetico-molecolare e la relativa consulenza genetica rappresentano il momento più complesso e delicato del percorso diagnostico, specie per le conseguenze delle informazioni ottenute sui soggetti terzi
- tenere presente che l'analisi genetico-molecolare coinvolge diversi soggetti (il paziente, le persone almeno portatrici del gene mutato, in particolare genitori e parenti di primo grado, e i futuri figli)
- chiarire gli scopi di tale indagine, in particolare se è necessaria per giungere a una diagnosi certa e affidabile, per la definizione della modalità di trasmissione e del rischio di ricorrenza o per una futura diagnosi prenatale
- chiarire, in sede di consulenza genetica pretest, il grado di sensibilità, specificità e predittività del test e il significato di espressioni quali mutazione genetica e modelli di ereditarietà; soprattutto è necessario far comprendere come vi possano essere esiti diversi, ciascuno con uno specifico grado di gravità
- fornire informazioni sulle modalità di svolgimento dell'indagine genetica, specie sui rischi e sulle possibili complicanze del prelievo biotipico della cute nei casi in cui questo sia richiesto in aggiunta o in alternativa al prelievo ematico
- chiarire tutte le implicazioni, le conseguenze e le ricadute della diagnosi genetico-molecolare di EB su soggetti terzi, e sottolineare l'importanza di informarli.

Quesito 3 Quali aspetti etico-deontologici vanno tenuti presenti nell'ambito della diagnosi prenatale e della diagnosi preimpianto?

Raccomandazioni

Le seguenti raccomandazioni sono indirizzate ai genetisti clinici.

VI/A

Per fornire un'informazione adeguata e completa nell'ambito della diagnosi prenatale e della diagnosi preimpianto, si raccomanda di:

- aderire in caso di diagnosi prenatale all'articolo 46 *Test predittivi* del Codice deontologico,

e in particolare informare adeguatamente i soggetti interessati sulle probabilità che il feto sia affetto, sulla gravità della malattia, sulle prospettive terapeutiche e sui rischi connessi con la tecnica utilizzata per la acquisizione del campione fetale

- illustrare dettagliatamente, nel caso di richiesta di informazioni sulla diagnosi preimpianto, il significato e le modalità tecniche, per quali forme di EB sia attualmente disponibile e dove, nonché la percentuale di successo e le implicazioni etiche.

Bibliografia

1. Tavani M, Picozzi M, Salvati G. Manuale di deontologia medica. Giuffrè, Milano, 2007.
2. Federazione nazionale degli ordini dei medici chirurghi e degli odontoiatri (FNOMCeO). Codice di deontologia medica. FNOMCeO, 2006. Disponibile all'indirizzo: <http://portale.fnomceo.it/PortaleFnomceo/showVoceMenu.2puntOT?id=5>
3. Conti A, Delbon P et al. Test genetici. Etica, deontologia, responsabilità. Giuffrè, Milano, 2007.
4. Comitato nazionale per la bioetica. Bioetica con l'infanzia. Dipartimento per l'informazione e l'editoria, Roma, 22 gennaio 1994.
5. Picozzi M, Cattorini P (a cura di). Dire la verità, comunicare la verità. Insubria University Press, Varese, 2005.
6. Picozzi M, Tavani M, Cattorini P. Verso una professionalizzazione del bioeticista. Giuffrè, Milano, 2003.

Percorso diagnostico delle epidermolisi bollose ereditarie nella rete nazionale delle malattie rare

Premessa

Le epidermolisi bollose (EB) ereditarie sono un ampio gruppo di patologie genetiche rare accomunate da fragilità della cute e delle mucose che si associa alla formazione di bolle ed erosioni in seguito a traumi meccanici. Ne esistono quattro tipi maggiori, distinti a loro volta in diversi sottotipi e varianti con aspetti diagnostici e prognostici ben diversi¹.

Per queste patologie la diagnosi clinica rappresenta un primo fondamentale passo nel percorso diagnostico che deve avvalersi, in fasi successive, di specifiche indagini immuno-patologiche, ultrastrutturali e molecolari¹.

Le EB sono incluse nel Decreto ministeriale (D.M.) 279/2001 *Regolamento di istituzione della rete nazionale delle malattie rare e di esenzione dalla partecipazione al costo per le prestazioni sanitarie correlate, ai sensi dell'articolo 5, comma 1, lettera b) del decreto legislativo 29 Aprile 1998, n. 124* (Supplemento ordinario n. 180/L della *Gazzetta Ufficiale* n. 160 del 12 luglio 2001).

La rete nazionale delle malattie rare

Il D.M. 279/2001 rappresenta l'impegno istituzionale per assicurare specifiche forme di tutela alle persone con malattie rare. Il decreto ministeriale prevede l'individuazione da parte delle Regioni, mediante atti formali (per esempio delibere) di presidi e centri per la prevenzione, la diagnosi e il trattamento delle malattie rare elencate nell'Allegato 1 del D.M.; per queste stesse malattie è assicurata, mediante l'attribuzione di un codice, l'esenzione dalla partecipazione al costo per le prestazioni sanitarie correlate. Per l'EB il codice di esenzione è RN0570.

Il decreto istituisce inoltre, presso l'Istituto superiore di sanità (ISS), il Registro nazionale malattie rare (D.M. 279/2001, articolo 3) per la raccolta e l'elaborazione dei dati epidemiologici italiani (il set di dati è stato concordato con le Regioni mediante l'accordo Stato-Regioni del 12 maggio 2007); i dati raccolti dai presidi e dai centri alimentano i Registri regionali, che a loro volta inviano semestralmente le informazioni al Registro nazionale.

Il Registro nazionale è situato all'interno del Centro nazionale malattie rare (CNMR) dell'ISS, la cui missione è svolgere "attività di ricerca, sorveglianza, consulenza e documentazione finalizzata alla prevenzione, diagnosi, trattamento, valutazione e controllo nel campo delle malattie rare e dei farmaci orfani" (*Gazzetta Ufficiale* n.157 del 7 luglio 2008). Le principali attività del CNMR includono la ricerca scientifica sperimentale (test genetici, identificazione di marcatori biologici, studi sulla qualità di vita, eccetera), l'elaborazione di linee guida per la gestione clinica di specifiche malattie rare, l'aggiornamento del Registro nazionale malattie rare e del Registro nazionale farmaci orfani, il coordinamento nazionale dei sistemi di registrazione delle malformazione congenite, la formazione degli operatori

sanitari e delle associazioni dei pazienti, l'informazione². In quest'ultimo ambito rientrano, oltre ai dati consultabili nel sito web del CNMR (www.iss.it/cnmr), anche l'attività svolta dal Telefono verde malattie rare (800.89.69.49), che fornisce informazioni aggiornate e validate sulle malattie rare, sui farmaci orfani, sui presidi e sui centri per la diagnosi e cura, sulle prestazioni sanitarie, sui trial clinici, eccetera. Il CNMR, inoltre, nel corso degli anni ha sviluppato numerose collaborazioni scientifiche, nazionali e internazionali, con vari istituti di ricerca e istituzioni, inclusa la Commissione europea².

In ottemperanza al D.M. 279/2001, attualmente tutte le Regioni hanno individuato presidi e centri (specifici per singole malattie o gruppi di esse) per la prevenzione, la diagnosi e il trattamento di patologie rare come l'EB. L'elenco completo e costantemente aggiornato di queste strutture, distribuite per Regione e sull'intero territorio nazionale, è consultabile sul sito web del CNMR (www.iss.it/cnmr). Inoltre, molte Regioni hanno istituito un Centro di coordinamento regionale per tutte le malattie rare e hanno attivato e realizzato il Registro regionale.

In base al D.M. 279/2001, il percorso per l'assistenza sanitaria sul territorio nazionale è organizzato in modo tale che una persona con sospetto di malattia rara sia indirizzata dal medico (medico di medicina generale, pediatra di libera scelta, specialista) al presidio o centro ospedaliero della Rete delle malattie rare. Il presidio della rete, dopo avere formulato la diagnosi, rilascia il certificato in cui viene indicata la diagnosi di malattia rara e il relativo codice di esenzione.

L'assistito, cui sia stata accertata da un presidio o centro della rete nazionale una malattia rara inclusa nell'Allegato 1 del D.M. 279/2001, può chiedere il riconoscimento del diritto all'esenzione all'Azienda unità sanitaria locale (AUSL) di competenza territoriale, allegando la certificazione rilasciata dal presidio (D.M. 279/2001, articolo 5, comma 4). L'assistito riconosciuto esente ha diritto alle prestazioni di assistenza sanitaria, prescritte con le modalità previste dalla normativa vigente, incluse nei livelli essenziali di assistenza, efficaci e appropriate per il trattamento e il monitoraggio della malattia e per la prevenzione degli ulteriori aggravamenti (D.M. 279/2001, articolo 6, comma 1). I presidi della rete assicurano l'erogazione in regime di esenzione anche di indagini genetiche sui familiari dell'assistito, qualora siano necessarie ai fini della diagnosi di malattia rara ereditaria (D.M. 279/2001, articolo 5, comma 2).

Le epidermolisi bollose nell'ambito della rete nazionale delle malattie rare: presente e futuro

Le malattie rare costituiscono nel loro insieme un grande ed eterogeneo gruppo di patologie (comprendono, infatti, tra 7.000 e 8.000 malattie), definite dalla bassa frequenza nella popolazione generale (prevalenza uguale o inferiore a 5 casi su 10.000 abitanti), spesso croniche, variamente invalidanti e caratterizzate da difficoltà diagnostica e scarse opzioni terapeutiche specifiche e risolutive³. La scelta di considerare le malattie rare complessivamente come un unico gruppo (seppure eterogeneo), piuttosto che come singole entità, ha permesso di intraprendere importanti iniziative di sanità pubblica a livello nazionale, europeo e internazionale³.

Molte malattie rare presentano alcune caratteristiche comuni, soprattutto per ciò che concerne gli aspetti clinici e socio assistenziali⁴. Per esempio, molte di esse esordiscono in

età pediatrica, hanno un coinvolgimento di più organi e apparati tale da richiedere un approccio multispecialistico, comportano difficoltà diagnostiche, hanno un decorso cronico e sono spesso invalidanti, possono essere causa di disabilità fisiche e mentali tali da richiedere continue cure mediche e intensi programmi riabilitativi³⁻⁵.

La numerosità delle patologie e la complessità del fenomeno da un lato, l'individuazione di caratteristiche e bisogni assistenziali comuni a molte patologie rare dall'altro, ha generato l'idea di avvalersi di una rete nazionale funzionale, costituita da reti regionali all'interno delle quali sono identificate strutture (presidi e centri) con competenze specifiche per affrontare i vari aspetti assistenziali delle malattie rare⁶.

I punti nevralgici dell'intero sistema sono numerosi: fra questi si sottolinea la necessità di una diagnosi corretta in tempi brevi, di una comunicazione funzionale fra i vari nodi della rete (presidi e centri) e di una gestione appropriata del paziente con una specifica malattia rara. Per favorire il raggiungimento di questi obiettivi, in diverse Regioni si stanno compiendo sforzi diretti all'individuazione di modelli organizzativi delle cure primarie, all'integrazione interregionale delle reti assistenziali e all'interazione tra i diversi livelli di assistenza.

Prendendo spunto da questi concetti generali, è possibile proporre dei modelli organizzativi per ottimizzare la rete dedicata alle EB.

Tra gli interventi di sanità pubblica da favorire per garantire una diagnosi tempestiva e una gestione appropriata del paziente con EB, è molto importante promuovere, nell'ambito dell'organizzazione delle cure primarie, la collaborazione tra medici di medicina generale, pediatri di libera scelta, infermieri di territorio e specialisti ambulatoriali. L'integrazione delle reti interregionali assistenziali richiede la formazione di reti di collaborazione tra i presidi di alta specializzazione, nei quali è possibile effettuare la diagnosi clinica e di laboratorio delle EB, e gli altri presidi sanitari identificati specificatamente per le EB e inclusi nella rete nazionale per la prevenzione, la sorveglianza, la diagnosi e la terapia (vedi paragrafo *La rete nazionale delle malattie rare*). È necessario che le diverse figure professionali coinvolte nella gestione clinica dei pazienti con EB siano in grado di offrire alla persona affetta l'assistenza più appropriata che il caso richiede, di applicare i protocolli diagnostici e terapeutici più idonei e aggiornati, erogando in modo equo ed efficiente in tutto il territorio nazionale prestazioni appropriate e di provata efficacia. Per garantire la continuità assistenziale, è auspicabile quindi un migliore coordinamento e una più efficace collaborazione tra i servizi di base e le strutture ospedaliere di secondo e terzo livello.

Per garantire la massima efficacia e appropriatezza delle cure, il paziente con sospetta EB dovrebbe inizialmente essere indirizzato presso centri di alta specializzazione, con esperienza documentata e specifica, per la diagnosi del tipo e della variante della malattia attraverso idonee indagini di laboratorio. Un'ottima alternativa alla mobilità del paziente è l'invio dei suoi campioni biologici ai suddetti centri, previo contatto diretto tra il personale sanitario della struttura che ospita il paziente e un centro di alta specializzazione.

Per quanto riguarda specificamente la diagnostica di laboratorio delle EB, in appendice è riportato un elenco dei centri nazionali coinvolti con le tipologie dei servizi diagnostici forniti (vedi appendice 3 *Centri di riferimento per la diagnostica di laboratorio delle EB*, a pagina 126).

Per le successive attività assistenziali che coinvolgono l'individuo nella gestione quoti-

diana della malattia, la persona con EB dovrà invece essere indirizzata ai presidi più vicini al suo luogo di residenza. L'utilizzo di presidi sanitari ad alta specializzazione per attività che possono essere svolte presso strutture meno specializzate comporta infatti un impiego non ottimale delle risorse disponibili.

Infine, l'interazione tra i diversi livelli di assistenza riguarda l'adozione condivisa di percorsi clinico-assistenziali e diagnostici (formulati anche sotto forma di linee guida), ma anche l'integrazione tra assistenza sanitaria ed assistenza sociale.

Le EB hanno un impatto medico e socioeconomico rilevante che grava sui soggetti affetti e sulle loro famiglie⁷. La formazione cronica di bolle ed erosioni su aree spesso estese di superficie cutanea e il coinvolgimento delle mucose comportano conseguenze significative non soltanto sull'aspetto fisico ma anche dal punto di vista psicologico, con importanti limitazioni in ambito personale e professionale⁸. Le pazienti di sesso femminile hanno più spesso la peggiore qualità di vita, aggravata spesso da disturbi d'ansia e depressione⁹. Per quanto concerne i familiari, la gravità della malattia, il grado di coinvolgimento cutaneo e la scarsa qualità di vita dei pazienti⁹ assumono di certo un significato negativo. Lo sviluppo e la somministrazione di questionari per la misurazione della qualità di vita dei pazienti con EB può rappresentare un valido strumento di monitoraggio della malattia e di identificazione delle future aree di intervento e di ricerca^{8,9}.

L'informazione e la comunicazione sono altri aspetti che rappresentano punti critici ai quali è importante prestare attenzione e sui quali è opportuno impegnare energie e risorse per migliorare la qualità dell'assistenza erogata. Un'informazione chiara, aggiornata ed esaustiva sul proprio stato di salute, sulla malattia dalla quale si è colpiti e sulla disponibilità dei servizi di assistenza è un diritto del cittadino. È auspicabile rafforzare sinergie e collaborazioni tra i diversi soggetti coinvolti nell'assistenza al paziente con EB: prima di tutto gli operatori sanitari, che occupandosi di malattie rare rappresentano una preziosa sorgente d'informazioni da mettere in rete; poi le realtà assistenziali locali (distretto sanitario, azienda sanitaria locale, eccetera), il cui sistema informativo deve fornire ai cittadini dati riguardanti le prestazioni erogate, i regimi di esenzione, eccetera; infine le associazioni dei pazienti, che svolgono un importante ruolo non solo nell'informazione. A questo proposito va ricordato che in Italia opera da circa venti anni DEBRA Italia (www.debraitaliaonlus.org), associazione fortemente impegnata a fornire informazioni e supporto ai malati e alle famiglie, con una particolare attenzione ai diritti esigibili. DEBRA Italia collabora con i centri di alta specializzazione e sostiene attivamente la ricerca. La qualità dell'assistenza sociosanitaria è valutata costantemente soprattutto grazie al *feedback* con la *community* online di malati e familiari. DEBRA Italia è membro attivo della più importante organizzazione europea dei malati rari, EURORDIS.

Infine, ancora in tema d'informazione, uno strumento molto importante per lo studio e il monitoraggio della malattia è rappresentato dal registro di patologia. Come in precedenza accennato, il D.M. 279/2001 istituisce il Registro nazionale malattie rare e raccoglie informazioni riferite al set di dati concordato con le Regioni. Tuttavia per patologie specifiche, come per esempio l'EB, la raccolta di dati aggiuntivi rispetto a quelli compresi nel set nazionale e di informazioni cliniche e molecolari più specifiche consentirebbe, da un lato, di definire meglio la storia naturale della patologia e le correlazioni genotipo-fenotipo, e dall'altro di acquisire informazioni utili alla migliore gestione dei pazienti sul territorio nazionale.

Perché un registro abbia successo, è necessario che il registro sia facile da consultare e che il sistema di acquisizione delle informazioni sia agile, grazie a uno stretto legame tra le strutture e i servizi sanitari coinvolti nella sua compilazione. L'esperienza e i dati del Registro nazionale italiano delle EB¹⁰, sviluppato a partire dal 1992 su iniziativa del GISED (Gruppo italiano di studi epidemiologici in dermatologia) e del Centro malattie cutanee ereditarie dell'Università di Milano possono costituire un'utile base di partenza per un possibile futuro sviluppo di un registro nazionale, da raccordare con l'attuale sistema di raccolta dei dati epidemiologici (registri regionali e registro nazionale malattie rare).

In conclusione, per un'appropriata gestione socio assistenziale delle persone con malattie rare, è necessario sviluppare una stretta collaborazione tra i servizi sanitari, i servizi sociali e le associazioni secondo una prospettiva interdisciplinare che porti a un linguaggio comune, frutto dell'aggiornamento scientifico e della comunicazione tra operatori diversi per formazione e competenze, ma orientati verso obiettivi comuni.

Quesito e raccomandazioni

Quesito 1 Come realizzare, garantire e valutare programmi di sanità pubblica rivolti al miglioramento diagnostico e alla tutela delle persone con epidermolisi bollose e dei loro familiari?

Raccomandazioni

Le seguenti raccomandazioni sono indirizzate ai professionisti della sanità pubblica e della politica sanitaria.

VI/A

Al fine di migliorare la diagnosi e la qualità dell'assistenza clinica e promuovere la ricerca clinica e di base, si raccomanda di identificare centri di riferimento dotati di strutture per la diagnostica immunopatologica, ultrastrutturale e genetico-molecolare (ospedali, dipartimenti universitari, IRCSS) dove sia possibile intraprendere un percorso diagnostico appropriato e definire i protocolli terapeutici.

VI/A

Per garantire alle persone con epidermolisi bollose e ai loro familiari la tempestività di una diagnosi precisa e la migliore assistenza sociosanitaria, si raccomanda di realizzare e promuovere una rete assistenziale che sia in grado di assicurare tutte le fasi del percorso diagnostico e assistenziale e la loro integrazione.

Raccomandazione

La seguente raccomandazione è indirizzata agli specialisti del Servizio sanitario nazionale.

VI/A

Al fine di garantire una diagnosi tempestiva e una terapia appropriata si raccomanda di inviare le persone con sospetto diagnostico di epidermolisi bollosa presso i centri di riferimento.

Raccomandazione

La seguente raccomandazione è indirizzata ai professionisti della sanità pubblica e della politica sanitaria, agli operatori sanitari e ai ricercatori.

VI/A

Per raccogliere dati clinici e di laboratorio che consentano di svolgere attività di sorveglianza delle epidermolisi bollose sul territorio nazionale, di definire delle misure epidemiologiche, di ottenere informazioni sulla storia naturale della malattia e di costituire una base dati per la ricerca di base e clinica, si raccomanda di istituire un registro di patologia come strumento di rilevazione delle informazioni utile per il controllo e lo studio della malattia.

Bibliografia

1. Fine JD, Eady RA et al. 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;58:931-50.
2. Taruscio D, Vittozzi L. The Italian approach to rare diseases and the action of the Italian National Centre for Rare Diseases. *Italian Journal of Public Health* 2009;6:267-72.
3. Schieppati A, Henter JI et al. Why rare diseases are an important medical and social issue. *Lancet* 2008;371:2039-41.
4. Wastfelt M, Fadeel B, Henter JI. A journey of hope: lessons learned from studies on rare diseases and orphan drugs. *J Intern Med* 2006;260:1-10.
5. Eurordis, European Organization for Rare Diseases. *EEurordisCare 2: Survey of the delay in diagnosis for 8 rare diseases in Europe (2004)*. Disponibile all'indirizzo: http://archive.eurordis.org/article.php3?id_article=454 (visitato il 24-01-2011).
6. Taruscio D, Ido MS et al. Tackling the problem of rare diseases in public health: the Italian approach. *Community Genet* 2003;6:123-4.
7. Bruckner-Tuderman L. Epidermolysis bullosa. *Eur J Dermatol* 2008;18:214-6.
8. Frew JW, Martin LK et al. Quality of life evaluation in epidermolysis bullosa (EB) through the development of the QOLEB questionnaire: an EB-specific quality of life instrument. *Br J Dermatol* 2009;161:1323-30.
9. Tabolli S, Sampogna F et al. Quality of life in patients with epidermolysis bullosa. *Br J Dermatol* 2009;161:869-77.
10. Tadini G, Gualandri L et al. The Italian registry of hereditary epidermolysis bullosa. *G Ital Dermatol Venereol* 2005;140:359-72.

Appendice 1. Glossario

Anchiloglossia: riduzione della mobilità della lingua da accorciamento del frenulo linguale

Aplasia cutis: mancato sviluppo congenito della cute

Cheilite: stato infiammatorio delle labbra

Cheratermia: ispessimento diffuso o circoscritto della cute, in particolare in sede palmo-plantare

Cheratinociti basali: cellule che formano lo strato più profondo (basale) dell'epidermide, separato dal sottostante derma da una membrana basale

Desmosomi, emidesmosomi: giunzioni della membrana cellulare delle cellule epiteliali con funzione di adesione intercellulare (desmosomi) o tra cellule e matrice extracellulare (emidesmosomi)

Ectropion: eversione uni o bilaterale della palpebra, di solito inferiore, con esposizione della superficie congiuntivale

Eritrodermia: arrossamento con desquamazione della cute che interessa almeno il 90% della superficie corporea

Genodermatosi: gruppo di malattie ereditarie che interessano unicamente o prevalentemente la cute e i suoi annessi (peli, ghiandole e unghie)

Lesioni acroposte: lesioni situate nelle sedi acrali, in particolare mani e piedi

Lesioni papulo-lichenoidi: lesioni cutanee apprezzabili alla palpazione, di piccole dimensioni (inferiori al centimetro), di consistenza dura, con superficie piana e colorito rosso-violaceo, con aspetti istologici peculiari

Microstomia: riduzione della dimensione dell'apertura orale

Milia: piccole cisti, grandi circa come un grano di miglio, ripiene di cheratina, che appaiono come rilievi bianco-giallastri della superficie cutanea

Mosaicismo somatico revertante: fenomeno in cui cellule somatiche, che sono portatrici di una mutazione, vanno incontro a un secondo evento genetico (una seconda mutazione o un evento ricombinativo) che ripristina il genotipo e il fenotipo selvatici (normali)

Mutazione missenso: sostituzione di un singolo nucleotide nel DNA che determina il cambiamento di un aminoacido

Mutazione omozigote founder: classe di mutazioni genetiche che originano da un comune antenato (fondatore). Esse sono riconoscibili perché localizzate in sequenze di DNA identiche in tutti i portatori

Obliterazione dei vestiboli orali: restringimento dello spazio delimitato dalle arcate dentarie e dalla superficie interna delle labbra e guance

OMIM: catalogo elettronico dei geni e delle malattie genetiche nell'uomo

Onicodistrofia: alterata struttura della lamina ungueale

Perionissi: stato infiammatorio della cute che circonda la lamina ungueale

Poichilodermia: lesione cutanea caratterizzata dall'associazione di atrofia, pigmentazione reticolata e telangectasie

Pseudoainhum: costrizione anulare, in particolare delle dita, che si sviluppa secondariamente in alcune malattie ereditarie e non

Pseudosindattilia: fusione secondaria, completa o parziale, dei tessuti molli di due o più dita di mani e/o piedi

Simblefaron: aderenza patologica tra la congiuntiva palpebrale e quella bulbare

Telangectasie: dilatazioni permanenti dei piccoli vasi cutanei che si presentano come piccole linee sinuose, rosso-violacee, di alcuni millimetri di lunghezza

Tessuto di granulazione ipertrofico: eccessivo sviluppo del tessuto di granulazione che si forma nel processo di guarigione di una ferita per ristabilire la continuità del tessuto

Tonofilamenti: filamenti intermedi di cheratina, del diametro di circa 10 nm, situati nel citoplasma delle cellule epiteliali, di cui contribuiscono a formare il citoscheletro

Appendice 2. Cartella clinica

PAZIENTE

Cognome e nome
Luogo e data di nascita

ANAMNESI FAMILIARE

Albero genealogico

	<i>Si</i>	<i>No</i>
Consanguineità tra i genitori	☐	☐
Famiglie originarie dalla medesima località	☐	☐
Casi familiari di E.B. già diagnosticati	☐	☐
<i>Se sì:</i>		
<i>Grado di consanguineità</i>	<i>Forma di E.B.</i>	
.....	☐ Semplice	
.....	☐ Giunzionale	
.....	☐ Distrofica	
.....	Variante:	
.....	☐ S. di Kindler	

	<i>Si</i>	<i>No</i>
Casi familiari di "fragilità" cutanea"	☐	☐
Precedenti aborti spontanei n.	☐	☐
Decessi in epoca neonatale per causa non nota	☐	☐

ANAMNESI FISIOLÓGICA

Età al momento della compilazione della cartella clinica:

Sesso: ☐ maschio ☐ femmina

Età gestazionale alla nascita:

Concepimento spontaneo: ☐ *Si* ☐ *No* specificare

Decorso della gravidanza:

Polidramnios: ☐ *Si* ☐ *No*

Parto: ☐ eutocico ☐ distocico per

Peso alla nascita: lunghezza:

Circonferenza cranica (cc): Apgar:

	<i>Si</i>	<i>No</i>
Nutrizione adeguata rispetto all'età	☐	☐
<i>Se no:</i>		
Difficoltà all'ingestione cibi solidi	☐	☐
Scarsa varietà di alimenti	☐	☐
Dieta prevalentemente liquida	☐	☐
<i>Altro:</i>		
Menarca	☐	☐
<i>Se sì:</i>		
Epoca di comparsa:	☐ < 10 anni	☐ Fra 10 e 12 anni ☐ > 12 anni
Cicli regolari	☐ <i>Si</i>	☐ <i>No</i>
Scolarità		
Professione		

ANAMNESI PATOLOGICA E ESAME OBIETTIVO GENERALE

	<i>Si</i>	<i>No</i>
Ricovero in reparto di terapia intensiva neonatale	☐	☐
Episodi di sepsi	☐	☐
Interventi chirurgici: (data e tipo):		
Altre patologie:		

Condizioni generali: Altezza Peso Circonferenza cranica

	<i>Si</i>	<i>No</i>
Pallore cutaneo e/o delle mucose	☐	☐
Riduzione del pannicolo adiposo	☐	☐
<i>Altro/note:</i>		

Interessamento delle mucose:	<i>Si</i>	<i>No</i>
Alla nascita	☐	☐
Primo mese di vita	☐	☐
Successivamente	☐	☐
<i>Se si specificare quali:</i>		

Cavo orale:	<i>Si</i>	<i>No</i>
Microstomia	☐	☐
Anchiloglossia	☐	☐
Riduzione profondità/Obliterazione vestiboli	☐	☐
Erosioni/ulcere	☐	☐
Atrofia delle papille linguali	☐	☐
<i>Altro/note:</i>		

Denti:	<i>Si</i>	<i>No</i>
Carie dentarie	☐	☐
Danni dello smalto	☐	☐
Disturbi della masticazione	☐	☐
Perdita prematura denti	☐	☐
Altro/note:		

Apparato otorinolaringoiatrico:	<i>Si</i>	<i>No</i>
Disfonia	☐	☐
Stridore inspiratorio e/o stenosi/ostruzione laringe	☐	☐
Ipoacusia	☐	☐
Otiti ricorrenti	☐	☐
Stenosi condotto uditivo esterno	☐	☐
Epistassi ricorrenti	☐	☐
Infezioni ricorrenti prime vie aeree	☐	☐
Altro/note:		

Occhio:	<i>Si</i>	<i>No</i>
Blefarite	☐	☐
Lesioni corneali/congiuntivali	☐	☐
Ectropion	☐	☐
Simblefaron	☐	☐
Disturbi della lacrimazione	☐	☐
Disturbi del visus	☐	☐
Altro/note:		

Apparato respiratorio:	<i>Si</i>	<i>No</i>
Disturbi della ventilazione	☐	☐
Infezioni ricorrenti bronco-polmonari	☐	☐
Altro/note:		

Apparato gastrointestinale:	<i>Si</i>	<i>No</i>
Atresia congenita del piloro	☐	☐
Disfagia	☐	☐
Disturbi della deglutizione	☐	☐
Vomito ricorrente	☐	☐
Stipsi cronica	☐	☐
Erosioni/sinechie perianali e/o stenosi anale	☐	☐
Stenosi/alterazioni	☐	☐
Esofagee radiologicamente dimostrate	☐	☐
Altro/note:		

Apparato muscolo-scheletrico:	<i>Si</i>	<i>No</i>
Limitazione movimenti di flessione-estensione degli arti e delle dita	☐	☐
Presenza di contratture e/o anchilosi	☐	☐
Pseudosindattilia	☐	☐
Debolezza muscolare ingravescente	☐	☐
Altro/note:		

Apparato genito-urinario:*Si**No*

Ritenzione urinaria

☐☐

Stenosi ureterale

☐☐

Stenosi meato uretrale esterno

☐☐

Anomalie genitali esterni

☐☐

Altro/note:

Apparato ematopoietico:*Si**No*

Anemia

☐☐

Altro/note:

ANAMNESI DERMATOLOGICA

Epoca di inizio delle lesioni bollose cutanee:

☐ Alla nascita☐ Primo mese☐ Successivamente

Precisare:

Regioni cutanee di comparsa delle prime lesioni:

☐ Più sedi contemporaneamente☐ Arti superiori☐ Arti inferiori☐ Sedi di trauma

Altro:

Estensione delle lesioni cutanee durante il primo mese di vita:☐ in aumento☐ imm modificata☐ in diminuzioneEstensione delle lesioni cutanee dopo il primo mese di vita:☐ in aumento☐ imm modificata☐ in diminuzione*Si**No*

Peggioramento durante il periodo estivo

☐☐Aumento nell'infanzia/adolescenza della "resistenza" cutanea
alla comparsa di nuove bolle☐☐*Se sì, ubiquitaria*☐☐

Sensazione di prurito

☐☐*Se sì, specificare le modalità di insorgenza e l'intensità*

Pregressi interventi per asportazione di carcinomi

☐☐

squamocellulari o altri tumori cutanei

Se sì, specificare

Alterazioni a carico di:

Capelli

☐☐

Peli terminali

☐☐

Lamine ungueali

☐☐

Ghiandole sudoripare

☐☐*Se sì, specificare epoca, comparsa e estensione:*

Infezioni cutanee ricorrenti

☐☐

Principali terapie topiche praticate

ESAME OBIETTIVO DERMATOLOGICO

Tipo di lesioni cutanee:	Sì	No
Vescico-bolle integre	☐	☐
Se sì, specificare _____		
Dimensioni	☐ < ½ cm	☐ > ½ cm
Tese	☐	☐
Flaccide	☐	☐
Sierose (prevalentemente)	☐	☐
Emorragiche (prevalentemente)	☐	☐
Escoriazioni	☐	☐
Ulcerazioni	☐	☐
Croste	☐	☐
Lesioni lichenoidi	☐	☐
Lesioni papulo-nodulari o in placca	☐	☐
Ipercheratosi palmo-plantare	☐	☐
Atrofia cutanea	☐	☐
Poichilodermia	☐	☐
Flogosi acrale	☐	☐
Distribuzione delle lesioni cutanee:	☐	☐
Generalizzata	☐	☐
Localizzata	☐	☐
Se localizzata, specificare le aree interessate: _____		
Pattern particolari delle lesioni cutanee:	☐	☐
Se sì, specificare	☐ A coccarda	☐ Lineare
Altri: _____		
Esito delle lesioni cutanee:	Sì	No
Cute normale	☐	☐
Cicatrici atrofiche	☐	☐
Cicatrici retraenti	☐	☐
Discromie	☐	☐
Pigmentazione "mottled"	☐	☐
Milia	☐	☐
Tessuto di granulazione ipertrofico	☐	☐
Altro: _____		
Stato degli annessi cutanei:	Normali/e	patologici/a
1. Capelli	☐	☐
Descrizione: _____		
2. Peli terminali	☐	☐
Descrizione: _____		

	<i>Si</i>	<i>No</i>
3. Lamine ungueali	☐	☐
Descrizione:		

4. Sudorazione	☐	☐
Descrizione:		

Descrizione dell'obiettività cutanea riscontrata in specifiche aree (es. mani, piedi, palpebre eccetera) e altre lesioni (per esempio: nevi melanocitici acquisiti di grandi dimensioni, atipici, eruttivi)

.....

.....

.....

Appendice 3. Centri di riferimento per la diagnostica di laboratorio delle EB

Ospedale/Istituzione	UO/Servizio/Laboratorio	Indirizzo	Responsabile
Dermatologia pediatrica, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano	I Divisione di dermatologia; dermatologia pediatrica	via Pace, 9 20122 Milano	Prof. Carlo Gelmetti
Università degli studi di Brescia	Dipartimento di scienze biomediche e biotecnologie; Sezione di biologia e genetica; Laboratorio di citogenetica e genetica molecolare	viale Europa, 11 25123 Brescia	Prof. Sergio Barlati
AOU integrata di Verona	UO di dermatologia clinica	piazzale A. Stefani, 1 37126 Verona	Prof. Giampiero Girolomoni
AO Università di Padova	Dipartimento di pediatria; Servizio di dermatologia pediatrica	via Cesare Battisti, 206 35128 Padova	Dott.ssa Anna Belloni Fortina
AOU San Martino di Genova	Unità di clinica dermatologica; Laboratorio di riferimento regionale per le malattie bollose (U18L)	viale Benedetto XV, 7 16132 Genova	Prof.ssa Aurora Parodi
AOU di Bologna Policlinico S.Orsola-Malpighi	Dipartimento di medicina interna dell'invecchiamento e malattie nefrologiche; UO di dermatologia	via Massarenti, 1 40138 Bologna	Prof.ssa Annalisa Patrizi
AOU di Modena Policlinico di Modena	UO di dermatologia	via del Pozzo, 71 41100 Modena	Prof. Alberto Giannetti
PAS Firenze CO Casa di cura Santa Chiara	UO immuno-allergologica e infettivologica	piazza Indipendenza, 11 50123 Firenze	Prof. Paolo Fabbri
Azienda Policlinico Umberto I di Roma	UOC Clinica dermatologica; UOS Centro di riferimento per le malattie rare di pertinenza dermatologica	viale del Policlinico, 155 00161 Roma	Prof. Stefano Calvieri Dott.ssa Sandra Giustini
Ospedale Pediatrico Bambino Gesù di Roma, OPBG-IRCCS	UOC di dermatologia	piazza S. Onofrio, 4 00165 Roma	Dott.ssa May El Hachem
Istituto dermatopatico dell'Immacolata di Roma, IDI-IRCCS	Laboratorio di biologia molecolare e cellulare	via Monti di Creta, 104 00167 Roma	Dott.ssa Giovanna Zambruno
AOU Policlinico Paolo Giaccone di Palermo	UOC di dermatologia e MTS	via del Vespro, 131 90127 Palermo	Prof. Maria Rita Bongiorno

Persona di riferimento	E-mail	Telefono/Fax	Servizi diagnostici
Dr. Gianluca Tadini	gtadinicmce@unimi.it	Tel. 02 55035326	Analisi immunopatologica; Analisi ultrastrutturale
Prof. Marina Colombi	colombi@med.unibs.it	Tel. 030 3717265	Analisi genetico-molecolare
Dott.ssa Donatella Schena	donatella.schena@ospedaleuniverona.it	Tel. 045 8122547 Fax 045 8027315	Analisi immunopatologica
Dott.ssa Anna Belloni Fortina; Prof. Mauro Alaibac; Sig. Andrea Saponeri	belloni@pediatria.unipd.it alaibac@unipd.it	Tel. 049 8212915/ 049 8212901 Fax 0498212903	Analisi immunopatologica
Dr. Emanuele Cozzani; Sig. Massimo Drosera	emanuele.cozzani@unige.it m.drosera@unige.it	Tel. 010 3538426 Fax 0103538401	Analisi immunopatologica
Dott.ssa Iria Neri	iria.neri@tin.it iria.neri@aosp.bo.it	Tel. 051 6363475 Fax 051 6363920	Analisi ultrastrutturale
Dott.ssa Cristina Vaschieri	segdermo@unimore.it	Tel. 059 4224264	Analisi immunopatologica; Analisi ultrastrutturale
Dott.ssa Marzia Caproni	fabbrri@unifi.it marzia.caproni@unifi.it	Tel. 055 6264376/70	Analisi immunopatologica
Dott.ssa Luigina Divona	sandra.giustini@uniroma1.it	Tel. 06 49976968 Fax 06 49976907	Analisi immunopatologica; Analisi ultrastrutturale
Dott.ssa May El Hachem	may.elhachem@opbg.net	Tel. 06 68592597/09 Fax 06 68592300	Analisi immunopatologica; Analisi ultrastrutturale
Dr. Daniele Castiglia	d.castiglia@idi.it	Tel. 06 66464734 Fax 06 66464705	Analisi immunopatologica; Analisi ultrastrutturale; Analisi genetico-molecolare
Prof. Giuseppe Pistone	istderm@unipa.it	Tel. 091 6554002 Fax 091 6554022	Analisi immunopatologica

Il Sistema nazionale per le linee guida (SNLG)

In Italia, l'elaborazione di linee guida e di altri strumenti di indirizzo finalizzati al miglioramento della qualità dell'assistenza avviene all'interno del Sistema nazionale per le linee guida (SNLG). La legislazione vigente propone l'adozione di linee guida come richiamo all'utilizzo efficiente ed efficace delle risorse disponibili e come miglioramento dell'appropriatezza delle prescrizioni.

Queste sono le finalità del SNLG con i compiti specifici di:

- produrre informazioni utili a indirizzare le decisioni degli operatori, clinici e non, verso una maggiore efficacia e appropriatezza, oltre che verso una maggiore efficienza nell'uso delle risorse;
- renderle facilmente accessibili;
- seguirne l'adozione esaminando le condizioni ottimali per la loro introduzione nella pratica;
- valutarne l'impatto organizzativo e di risultato.

Gli strumenti utilizzati per perseguire questi fini sono appunto linee guida clinico-organizzative, documenti di indirizzo all'implementazione e documenti di indirizzo alla valutazione dei servizi.

Nel caso delle linee guida per le malattie rare, delle quali questo testo fa parte, gli strumenti descritti diventano un mezzo volto soprattutto all'ottimizzazione della gestione clinica e assistenziale del paziente. La collaborazione creata tra Centro nazionale malattie rare (CNMR) e Sistema nazionale per le linee guida (SNLG) persegue il raggiungimento di questi obiettivi in una cornice metodologica standardizzata, nella ricerca di un'assistenza appropriata e attuale all'interno del Servizio sanitario nazionale.