

## Caso Clínico

# RECÉM-NASCIDO COM EPIDERMÓLISE BOLHOSA JUNCIONAL NÃO-HERLITZ - A IMPORTÂNCIA DO DIAGNÓSTICO PRÉ-NATAL

Leonor Lopes<sup>1,2</sup>, Paulo Leal Filipe<sup>2</sup>, Ana Berta Sousa<sup>3</sup>, Maria João Lages<sup>4</sup>, Fernanda Dinis<sup>5</sup>, Carolina Gouveia<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Interna do Internato Complementar de Dermatologia/Resident, Dermatology and Venereology, Serviço de Dermatologia e Venereologia, Centro Hospitalar Lisboa Norte, Portugal

<sup>2</sup>Professor Doutor do Serviço de Dermatologia e Venereologia/Professor of Dermatology and Venereology, Serviço de Dermatologia e Venereologia do Centro Hospitalar Lisboa Norte/Dermatology and Venereology Department of Centro Hospitalar Lisboa Norte, Portugal

<sup>3</sup>Serviço de Genética do Centro Hospitalar Lisboa Norte/Genetics Department of Centro Hospitalar Lisboa Norte, Portugal

<sup>4</sup>Serviço de Neonatologia do Hospital Dona Estefânia/Neonatology Department of Dona Estefânia Hospital, Lisboa, Portugal

<sup>5</sup>Serviço de Pediatria do Centro Hospitalar do Divino Espírito Santo/Pediatric Department of Hospital do Espírito Santo, Évora, Portugal

**RESUMO** – A epidermólise bolhosa junctional é uma genodermatose caracterizada por fragilidade cutânea e formação de erosões e bolhas a nível da junção dermo-epidérmica, após trauma *minor*. Reportamos o caso clínico de um recém-nascido, sexo masculino, caucasiano, com erupção cutânea caracterizada por bolhas tensas e erosões nas mãos, abdómen e couro cabeludo. Realizou-se uma biópsia cutânea para imunofluorescência directa com painel de anticorpos, que foi compatível com o diagnóstico de epidermólise bolhosa junctional não-Herlitz. No estudo genético identificou-se 2 mutações no gene COL17A1. Destaca-se nos antecedentes familiares, um irmão com dermatose bolhosa, falecido na terceira semana de vida por intercorrência infecciosa, sem ter sido possível efectuar o diagnóstico definitivo que possibilitasse o diagnóstico pré-natal. Salientamos a importância da referenciação rápida destes doentes a centros especializados, de forma a possibilitar o diagnóstico precoce desta patologia, uma orientação clínica adequada e um correto aconselhamento genético, incluindo o diagnóstico pré-natal em futuras gravidezes.

**PALAVRAS-CHAVE** – Epidermólise bolhosa junctional não-Herlitz; Diagnóstico prénatal; Recém-nascido.

## NON-HERLITZ JUNCTIONAL EPIDERMOLYSIS BULLOSA - THE IMPORTANCE OF PRENATAL DIAGNOSIS

**ABSTRACT** – Junctional epidermolysis bullosa is a group of inherited blistering diseases characterized by increased skin fragility, blisters and erosions after minor trauma, due to tissue cleavage at the dermal-epidermal junction. We report the case of a male Caucasian infant, born with erosions and tense blisters on the hands, abdomen and scalp. Immunofluorescence antigen mapping revealed paucity of collagen XVII immunolabelling, compatible with the diagnosis of non-Herlitz junctional epidermolysis bullosa. Molecular analysis of the COL17A1 gene revealed compound heterozygosity for two frameshift mutations. Family history was positive for a brother with a bullous dermatosis, who died from sepsis on the 3rd week of life without a definitive diagnosis that could enable precise risk estimation and prenatal diagnosis. We emphasize the importance of rapid referral to specialized centers, to provide early accurate diagnosis, adequate clinical management and prenatal diagnosis in subsequent pregnancies.

**KEY-WORDS** – Epidermolysis bullosa, junctional; Infant; Prenatal diagnosis.

## Caso Clínico

**Conflitos de interesse:** Os autores declaram não possuir conflitos de interesse.

*No conflicts of interest.*

**Suporte financeiro:** O presente trabalho não foi suportado por nenhum subsídio ou bolsa.

*No sponsorship or scholarship granted.*

**Direito à privacidade e consentimento escrito / Privacy policy and informed consent:** Os autores declaram que pediram consentimento ao doente para usar as imagens no artigo. *The authors declare that the patient gave written informed consent for the use of its photos in this article.*

Recebido/Received - Agosto/August 2014; Aceite/Accepted – Setembro/September 2014

*Por decisão dos autores, este artigo não foi redigido de acordo com os termos do novo Acordo Ortográfico.*

### Correspondência:

Dr.<sup>ª</sup> Leonor Neto Lopes

Serviço de Dermatologia e Venereologia  
Centro Hospitalar Lisboa Norte – Hospital de Santa Maria  
Morada: Avenida Professor Egas Moniz  
1649-035 Lisboa, Portugal  
Tel.: 00351 217805197  
Fax: 00351217954447  
E-mail: leonorlopes@gmail.com

### INTRODUÇÃO

A epidermólise bolhosa corresponde a um grupo de doenças hereditárias raras, que têm em comum a fragilidade cutânea e a formação de bolhas espontâneas ou induzidas por traumatismo cutâneo menor<sup>1-3</sup>. É classificada em 3 subtipos dependendo do nível de clivagem na pele: intraepidérmico, na epidermólise bolhosa simples; lâmina lucida, na forma juncional; e abaixo da lâmina densa, na epidermólise bolhosa distrófica<sup>1,2</sup>.

Reportamos um caso clínico de um recém-nascido com epidermólise bolhosa juncional não-Herlitz (EBJ-nH) causada por mutações no gene que codifica o colagénio tipo XVII (COL17A1), e destacamos a importância do diagnóstico etiológico, que possibilita o diagnóstico pré-natal em gravidezes subsequentes.

### CASO CLÍNICO

Recém-nascido do sexo masculino, caucasiano, nascido às 37 semanas de gestação por cesariana, com peso ao nascer de 2560g, Apgar 9/10, foi transferido do hospital de Évora para o Hospital Dona Estefânia por uma erupção cutânea caracterizada por bolhas tensas e erosões localizadas nas mãos, abdómen e couro cabeludo com 1 dia de evolução.

Durante a primeira semana de vida assistiu-se a um agravamento clínico – picos febris e aparecimento de novas bolhas e erosões disseminadas predominantemente nas regiões sujeitas a pressão, dorso, genitais, pavilhões auriculares e na mucosa oral. Analiticamente, verificou-se uma elevação da PCR de 4,5mg/dL para 13,9mg/dl. Foram efetuadas colheitas para exame bacteriológico (erosão com exsudado sero-purulento na região axilar esquerda) com isolamento de um *Staphylococcus aureus* sensível à flucloxacilina, clindamicina e eritromicina. Foi iniciada antibioticoterapia de largo espectro com piperacilina-tazobactam, vancomicina e fluconazol por via endovenosa, instituídos profilaticamente. Simultaneamente, foi realizada uma biópsia cutânea no braço direito, enviada para mapeamento por imunofluorescência antigénica, e foram efetuadas colheitas de sangue ao recém-nascido e pais, para posterior estudo molecular no *National Diagnostic Epidermolysis Bullosa Laboratory* do *St. John's Institute of Dermatology*, em Londres.

Na história familiar salienta-se um irmão nascido 21 meses antes com um quadro sobreponível de dermatose bolhosa (Fig. 1), que faleceu na terceira semana de vida por complicação infecciosa. A esta criança foi realizada uma biópsia cutânea para microscopia eletrónica, sugestiva de Epidermólise bolhosa simples. O estudo molecular dos genes KRT5 e KRT14 associados à EB simples, não identificou

## Caso Clínico



**Fig 1** - Imagem clínica do recém-nascido com Epidermólise bolhosa juncional não-Herlitz.

nenhuma mutação causal. O casal foi acompanhado em Consulta de Genética tendo sido informado de que, na ausência de diagnóstico molecular, a probabilidade estimada de ter outro filho com a mesma doença era de 0% (se a criança afetada tinha uma forma de EB simples AD por mutação de novo) a 25% (se se tratasse de uma forma autossômica recessiva de EB distrófica ou juncional).

No caso do nosso doente a imunofluorescência directa com painel de anticorpos para proteínas da junção dermo-epidérmica, envolvidas nos diferentes subtipos de EB, revelou extensa separação ao nível da junção dermo-epidérmica, com uma redução marcada, praticamente ausente, de imuno-reactividade para o colagénio XVII, sugestiva de EBJ-nH. O estudo molecular revelou heterozigotia combinada para duas mutações *frameshift* no gene COL17A1: c.880delC (p.Leu294CysfsX14) no exão 12 de origem paterna, e c.1824delA (p.Lys608LysfsX75) no exão 22 de origem materna. Após obtenção destes resultados foi pedido a pesquisa destas mutações no irmão falecido que confirmou presença de ambas, permitindo o diagnóstico póstumo de EBJ-nH.

A identificação da base molecular da doença nesta família permite determinar com precisão o risco de recorrência (25%) e oferecer ao casal a possibilidade de diagnóstico pré-natal em gestações subsequentes.

### DISCUSSÃO

A epidermólise bolhosa juncional (EBJ) é fenotipicamente heterogénea<sup>4</sup>, podendo ser classificada em três subtipos principais: Herlitz, não-Herlitz, e com atresia do piloro<sup>2,5</sup>. A hipoplasia do esmalte é a única característica clínica presente em todos os subtipos de EBJ<sup>6</sup>. A variante não-Herlitz (também denominada EBJ generalizada moderada) é caracterizada por bolhas e erosões generalizadas, predominantemente nas áreas de trauma ou fricção, que cicatrizam com atrofia e hiper ou hipopigmentação residual, lesões mucosas ligeiras e distrofia ungueal. A alopecia atrófica está presente quase invariavelmente nesta forma de epidermólise e foi considerada, durante muito tempo, a manifestação fenotípica distintiva desta doença<sup>5</sup>. A variante Herlitz (atualmente denominada EBJ generalizada severa) é definida por fragilidade cutâneo-mucosa marcada, com envolvimento cutâneo variável mas mucoso moderado a grave, presença de cicatrizes atróficas, distrofia ungueal, quistos de milia, contraturas, pseudo-sindactilia e pela presença de tecido de granulação peri-orifical exuberante<sup>1,2,5,6</sup>. Neste subtipo verifica-se envolvimento de outros órgãos e sistemas como o trato gastrointestinal, genito-urinário, ocular e respiratório<sup>2</sup>. A EBJ com atresia do piloro caracteriza-se pela presença de bolhas generalizadas à nascença e atresia congénita do piloro (mais raramente de outras porções

## Caso Clínico

do trato gastrointestinal)<sup>6</sup>. Está também associada a um risco significativo de anomalias congénitas do trato geniturinário e a morte prematura<sup>6</sup>. O prognóstico da epidermólise bolhosa depende do subtipo da doença. A variante Herlitz tem uma mortalidade e morbilidade elevada, ocorrendo em metade dos casos morte nos primeiros dois anos de vida<sup>2,6</sup>. Apesar da variante não-Herlitz ter um prognóstico mais favorável, também poderão falecer durante o período neonatal, maioritariamente, por complicações infecciosas, obstrução das vias aéreas superiores e insuficiência respiratória<sup>1,2,5</sup>.

A EBJ-nH é uma doença autossómica recessiva causada por mutações nos genes que codificam três sub-unidades da laminina-332 (LAMA3, LAMB3, LAMC2), o colagénio tipo XVII (COL17A1) ou, raramente, a  $\beta$ 4-integrina (ITGB4)<sup>1,2</sup>. As mutações mais frequentes no gene que codifica o colagénio XVII conduzem à ausência de síntese proteica (mutações *frameshift* ou *non-sense*), embora possam ocorrer mutações *missense* que resultam na produção de uma proteína anómala<sup>5</sup>. O principal desafio na epidermólise bolhosa é obter a correta classificação da doença, uma vez que tem importantes implicações prognósticas e no aconselhamento genético. Para alcançar o diagnóstico correto é necessário definir a localização do plano de clivagem, o que se pode realizar através da microscopia eletrónica. Como este método é dispendioso e dependente da experiência do operador, surgiu o mapeamento por imunofluorescência antigénica que, atualmente, assumiu o papel preponderante no diagnóstico por constituir um método rápido, simples e com uma precisão semelhante ao anterior. Assim, permite não só detetar o nível de formação da bolha, como testar a expressão normal, reduzida ou ausente de várias proteínas estruturais consoante os anticorpos utilizados. Após a definição do subtipo de epidermólise bolhosa, e identificação do gene candidato, pode proceder-se à pesquisa da mutação causal através de estudos moleculares<sup>1</sup>.

Os cuidados neonatais são de extrema importância na sobrevida destes doentes, principalmente, nas formas mais graves de epidermólise bolhosa. O tratamento deve ser orientado por uma equipa multidisciplinar tendo em consideração a extensão e severidade da doença e as necessidades individualizadas a nível nutricional, de manutenção da temperatura corporal, de controlo da dor e da anemia e de prevenção de infeções secundárias. O tratamento das lesões cutâneas é específico para o tipo de epidermólise e para cada lesão individual (Tabela 1). A longo prazo as principais atitudes nesta patologia são: prevenir o aparecimento de lesões cutâneas através de uma escolha cuidada do

**Tabela 1 - Abordagem específica para a realização de pensos e para a prevenção e tratamento da infeção secundária.**

TRATAMENTO DE FERIDAS
• Administrar analgésicos 20 a 30 minutos antes da realização dos pensos.
• Rutura das bolhas com agulha esterilizada.
• Aplicar um penso primário atraumático não aderente nas erosões e bolhas. Exemplos: <i>Mepitel</i> <sup>®</sup> ou <i>Urgotul</i> <sup>®</sup> .
• Penso secundário para conferir proteção e absorção do exsudado. Exemplo: hidrocolóides sintéticos não-aderentes.
• Os pensos devem ser fixos por uma malha tubular fina e atraumática e nunca devem estar aderentes à pele.
• Evitar a utilização de pensos com prata e recorrer a antissépticos e antibióticos tópicos em caso de colonização bacteriana.
ÁREA DA FRALDA
• Fralda bem adaptada para reduzir a fricção local e o risco de formação de bolhas e erosões.
• Nas erosões aplicar gaze que deve ser substituída a cada muda de fralda.

calçado e do vestuário, controlar a dor e vigiar complicações<sup>7</sup>.

A um recém-nascido com dermatose bolhosa devem-se colocar como principais diagnósticos diferenciais: doenças infecciosas (impetigo bolhoso, herpes *simplex*, síndrome da pele escaldada estafilocócica), doenças imunológicas (dermatose IgA linear, pênfigo e o penfigoide bolhoso) e doenças hereditárias como as epidermólises bolhosas<sup>7</sup>. Por isso, o diagnóstico diferencial é baseado na história clínica do doente e nos exames complementares de diagnóstico (histopatologia, imunofluorescência direta e nas culturas bacterianas).

Uma observação clínica extraordinária consiste na aquisição de regiões de pele normal em pacientes com EBJ-nH generalizada associada a mutações no gene COL17A1. Este fenómeno, designado mosaicismos reverso ou terapia génica natural, resulta da correção de uma mutação germinal por uma mutação somática espontânea<sup>8,9</sup>. O mosaicismos reverso parece ser extremamente frequente em doentes com mutações no COL17A1, e representa uma oportunidade para o desenvolvimento de terapias celulares em que as próprias células corrigidas do paciente são utilizadas como fonte para o transplante cutâneo.

Nos últimos 30 anos, têm-se registado avanços significativos nas opções de diagnóstico pré-natal<sup>10</sup>. A biopsia de pele fetal foi o primeiro método disponível<sup>3,4,10</sup>.

Este realiza-se entre a 16<sup>a</sup> e a 20<sup>a</sup> semana de gestação e tem um risco aumentado de perda fetal<sup>4</sup>. Uma amostra pequena ou inadequada dificulta a interpretação dos testes, que podem ser inconclusivos<sup>4</sup>. Mais recentemente, opta-se pelo diagnóstico pré-natal molecular, que depende da identificação prévia da ou das mutações causais no caso índice. Neste caso o estudo é realizado em ADN fetal obtido por biópsia das vilosidades coriônicas (pelas 10-11<sup>a</sup> semanas de gestação) ou amniocentese (pelas 15-16<sup>a</sup> semanas de gestação). A alternativa ao diagnóstico pré-natal convencional é o diagnóstico genético pré-implantação. Neste os embriões são produzidos *in vitro* por técnicas de reprodução medicamente assistidas, e o estudo molecular é realizado em ADN obtido a partir do corpo polar ou por biópsia embrionária<sup>10</sup>. Desta forma é possível selecionar embriões não afetados que são posteriormente transferidos para o útero materno. Apesar da pesquisa constante de métodos mais rápidos, mais fiáveis e menos invasivos, as opções terapêuticas e de diagnóstico pré-natal são claramente insuficientes para estes doentes e suas famílias. Estas áreas estão em constante evolução e espera-se que técnicas de tratamento como as baseadas no fenómeno de mosaicismo reverso, e de diagnóstico pré-natal como o estudo do ADN fetal presente na circulação materna, venham revolucionar este campo.

### BIBLIOGRAFIA

1. Murrell DF. Dermatologic Clinics: Epidermolysis Bullosa: Part I – Pathogenesis and clinical features. *Dermatol Clin*. 2010; 28(2):1-190.
2. Fine JD, Bruckner-Tuderman L, Eady RA, Bauer EA, Bauer JW, Has C, et al. Inherited epidermolysis bullosa: updated recommendations on diagnosis and classification. *J Am Acad Dermatol*. 2014; 70(6):1103-26.
3. Christiano AM, LaForgia S, Paller AS, McGuire J, Shimizu H, Uitto J. Prenatal diagnosis for recessive dystrophic epidermolysis bullosa in 10 families by mutation and haplotype analysis I type VII collagen gene (COL7A1). *Mol Med*. 1996; 2(1):59-76.
4. Christiano AM, Pulkkinen L, Mcgrath JA, Uitto J. Mutation-based prenatal diagnosis of herlitz junctional epidermolysis bullosa. *Prenat Diagn*. 1997; 17(4):343-54.
5. Ruzzi L, Pas H, Posteraro P, Mazzanti C, Didona B, Owaribe K. 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.
6. Fine JD. Inherited epidermolysis bullosa. *Orphanet J Rare Dis*. 2010; 5:12.
7. Nessa L, Azam U, Mazumder PS, Akhter S. Junctional Epidermolysis Bullosa: A Case Report. *Bangladesh J Child Health*. 2013; 37(3): 175-9.
8. Pasmooij A, Nijenhuis M, Brander R, Jonkman M. Natural Gene Therapy May Occur in All Patients with Generalized Non-Herlitz Junctional Epidermolysis Bullosa with COL17A1 Mutations. *Invest Dermatol*. 2012; 132:1374-83.
9. Darling T, Yee C, Bauer J, Hintner H. Revertant mosaicism: partial correction of a germ-line mutation in COL17A1 by a frame-restoring mutation. *J Clin Invest*. 1999; 103:1371-7.
10. Murrell DF. Dermatologic Clinics. Epidermolysis bullosa: Part II – Diagnosis and management; *Dermatol Clin*. 2010r; 28(2):319-24.