



Indagine immunoistochimica ed ultrastrutturale delle alterazioni vasali nella pelle affetta da Porpora di Bateman

Sara Grassi¹, Riccardo Borroni¹, Monica Concardi², Ignazio Puccia², Marta Diegoli²,
Maurizia Grasso², Olga Ciocca¹, Eloisa Arbustini²

¹*Clinica Dermatologica e* ²*Centro per le Malattie Genetiche e Cardiovascolari, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Università degli Studi di Pavia, Pavia, Italia*

Indagine immunoistochimica ed ultrastrutturale delle alterazioni vasali nella porpora affetta da porpora di Bateman

La porpora di Bateman è una patologia caratterizzata dalla presenza di soffiusioni emorragiche di dimensioni variabili, non infiammatorie, talvolta associate a disepitelizzazioni, che insorgono elettivamente nel contesto della cute fotoinvecchiata. L'insorgenza delle lesioni purpuriche è stata da sempre attribuita a microtraumatismi apportati accidentalmente sulla superficie cutanea che causerebbero la rissi vasale per la mancanza di un adeguato sostegno strutturale collagenico. Sussistono tuttavia evidenze che la riduzione del contenuto di collagene di tipo I e III nel derma, che avviene durante l'invecchiamento, non è in grado *per se* di rendere ragione della complessità del quadro clinico e della sua evoluzione. I risultati ottenuti con l'indagine immunoistochimica ed ultrastrutturale qui proposta, condotta su altre componenti dermiche, il vaso e il mastocito, hanno mostrato da un lato un aumento del numero di vasi nella porpora di Bateman e non una loro rissi o diminuzione, un ispessimento delle loro membrane con aumento del collagene IV e dall'altro, un significativo aumento dei mastociti dermici nel contesto della porpora e segni di loro attivazione. Questi dati dimostrano nuovi possibili momenti patogenetici della porpora di Bateman, che hanno nel mastocita un probabile punto cruciale.

Immunohistochemical and ultrastructural study of the dermal changes in Bateman's purpura

Bateman's purpura is a disease characterized by the presence of hemorrhagic non-inflammatory patches of variable size, sometimes associated with disepithelisation, which arise in the context of chronically sun exposed skin of elderly. The onset of the purpuric lesions has been referred to occasionally microtraumas on skin surface, leading to the vessel rupture for the lack of an impaired structural collagen support. There is evidence that the reduction in content of collagen type I and III in the dermis, which occurs during aging, is unable to account for the complexity of the clinical picture and its evolution. The results obtained with the present immunohistochemical and ultrastructural study, considered the number and the wall of blood vessels, and the presence and the number of mast cells in the purpuric area. Our data show that the view that number of the vessel is unexpectedly increased in Bateman's purpura and their wall is thickened by collagen IV deposition. Mast cells are increased in number, and they show ultrastructural signs of activation, suggesting a pivotal role of mast cells in addressing dermal neoangiogenesis in Bateman's purpura.

Introduzione

La porpora di Bateman è una patologia di frequente riscontro nella popolazione di età avanzata ed è conosciuta anche come porpora senile. Tale patologia è caratterizzata dalla presenza di chiazze emorragiche di varie dimensioni, talora confluenti, di forma irregolare e a margini netti che insorgono elettivamente nelle sedi cronicamente fotoesposte, soprattutto al dorso delle mani, alla faccia estensoria degli avambracci e alle regioni pretibiali, preferibilmente nel derma. Le lesioni purpuriche tendono a persistere per circa due o tre settimane, andando incontro ad una variazione della colorazione che diviene giallo-brunastra per poi esitare in una iperpigmentazione [1]. Costantemente la risoluzione porta alla comparsa nell'area occupata in precedenza dalla porpora di una cicatrice irregolare, sottile e di aspetto stellato, di colore bianco-madreperlaceo, non rilevata sul piano cutaneo [2]. La porpora di Bateman può presentarsi anche con quadri clinici di maggiore gravità quali disepitelizzazioni, talvolta anche molto estese ed ematomi dissecanti. La prevalenza di tale patologia risulta essere di circa il 10% nella popolazione di età compresa tra i 70 e i 90 anni, ma questi valori sono verosimilmente sottostimati, con prevalente interessamento del sesso femminile [3]. La morbilità associata e la rilevanza della patologia sul piano epidemiologico fanno sì che essa sia una non trascurabile causa di accesso presso gli ambulatori di dermatologia o di medicina generale e talvolta anche ai Pronto Soccorsi. Ad oggi non si conosce una terapia efficace e l'unica opzione di cui si dispone è l'uso di presidi meccanici per la protezione delle superfici cutanee interessate dai microtraumi.

Scopo del lavoro

Nonostante la porpora di Bateman sia conosciuta da circa duecento anni [4], ancora del tutto inadeguate sono le proposte in chiave patogenetica [5]. Le lesioni purpuriche a livello della superficie estensoria degli avambracci, al dorso delle mani o alla superficie pretibiale viene comunemente attribuita ai microtraumi ripetuti, anche di lieve entità, che provocherebbero la ressi dei vasi nel contesto di un derma impoverito nel suo contenuto di collagene (principalmente di tipo I e III). E' noto che la riduzione del collagene I e III, importante costituente dell'impalcatura dermica, è un fenomeno tipico del processo di invecchiamento, ma non da tutti concordemente accettato. Esso non interessa esclusivamente la cute cronicamente fotoesposta, bensì anche la cute delle sedi non fotoesposte e altri tessuti, quali l'osso. Poiché la teoria patogenetica basata sul traumatismo che causerebbe la ressi vasale e l'emorragia, a causa del ridotto sostegno collagenico, non è in grado di spiegare completamente l'insorgere dell'emorragia cutanea, la persistenza del sanguinamento e la sua risoluzione con cicatrici del tutto peculiari. La finalità di questo lavoro è quella di indagare altri componenti del derma, in particolare il vaso e il mastocita, e documentare la presenza di eventuali alterazioni numeriche del vaso e a carico della parete, attraverso un'indagine immunoistochimica ed ultrastrutturale della porpora di Bateman.

Materiali e metodi

Nel presente lavoro sono stati presi in esame 8 pazienti affetti da porpora di Bateman che dal gennaio 2011 ad luglio 2011 sono giunti alla nostra osservazione presso la Clinica Dermatologica dell'Università degli studi di Pavia, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo. I pazienti studiati presentavano all'esame obiettivo dermatologico chiazze emorragiche e cicatrici stellate a livello della

superficie dorsale delle mani e/o degli avambracci e l'esame istologico di cute prelevata in sede di lesione confermava la diagnosi di porpora di Bateman. Sono stati esclusi i pazienti che assumevano terapia con anticoagulanti, acido acetilsalicilico, fibrinolitici, steroidi per uso sistemico o locale, immunosoppressori ed antinfiammatori. Un gruppo di controllo è stato costituito da 3 pazienti che pur presentando i tipici segni dell'invecchiamento cutaneo fotoindotto a livello degli avambracci e del dorso delle mani avevano anamnesi negativa per lesioni cutanee di porpora di Bateman.

Tutti i pazienti inclusi nello studio sono stati sottoposti, previa acquisizione e firma del consenso informato, a biopsia incisionale di tipo punch 4 mm eseguita in anestesia locale con mepivacaina con adrenalina. Un secondo gruppo di controllo di 3 soggetti è stato ottenuto utilizzando materiale bioptico di archivio di cute derivante da cute sana dell'avambraccio. I campioni di cute sono stati analizzati presso il laboratorio del Centro delle Malattie Genetiche Cardiovascolari del Policlinico San Matteo di Pavia. I campioni di cute ottenuti sono stati distinti in tre gruppi: porpora di Bateman, cute sana cronicamente fotoesposta e cute sana del giovane. Si sono considerati il numero dei vasi dermici e lo spessore delle loro pareti nella porpora, nella cute cronicamente fotoesposta e nel controllo sano. La valutazione del numero di vasi è stata condotta su sezioni di cute colorate mediante reazioni immunohistochimiche con anticorpo monoclonale anti-CD31, evidenziante gli endoteli. Si sono scelti per la misurazione tre campi microscopici all'ingrandimento 20x ed è stato contato il numero dei vasi che distavano di 500 μm dalla giunzione dermo-epidermica. Il numero di vasi osservati è stato rapportato all'area di ogni campo microscopico ad ingrandimento 20x, pari a 0,5 mm^2 ed è stata poi calcolato il suo valore medio nei tre gruppi studiati. Si sono inoltre presi in considerazione il numero dei mastociti dermici nei tre gruppi, evidenziati con colorazione blu di toluidina, e si sono effettuati analisi in microscopia elettronica (TEM) per valutarne la loro posizione dermica, e le loro caratteristiche di membrana e citoplasmatiche. L'analisi statistica è stata effettuata mediante l'utilizzo del test t Student.

I campioni di cute affetta da porpora senile di Bateman sono stati ottenuti da pazienti caucasici, due di sesso femminile e sei di sesso maschile e di età compresa tra 65-82 anni (età media $75,57 \pm 6,37$ anni). I campioni di cute cronicamente fotoesposta sono stati prelevati da tre soggetti caucasici, due di sesso maschile e uno di sesso femminile, di età compresa tra i 65 e 84 anni (età media $74,67 \pm 9,50$). I campioni di cute sana del giovane provengono da tre soggetti caucasici, due di sesso maschile ed uno di sesso femminile, di età compresa tra i 3-18 anni (età media $9 \pm 7,93$).

Risultati

La valutazione del numero di vasi per campo microscopico nei campioni di cute affetti da porpora senile di Bateman è risultata essere significativamente inferiore rispetto ai campioni di cute sana del giovane ($31,86 \pm 15,03$ vs $51,60 \pm 11,47$, $p=0,014$) ma superiore rispetto ai campioni di cute cronicamente fotoesposta ($31,86 \pm 15,03$ vs $21,00 \pm 10,52$, $p=0,11$) (Figure 1 e 2).

L'esame ultrastrutturale è stato condotto su cinque campioni di cute affetta da porpora senile di Bateman. L'analisi delle sezioni mediante microscopio ottico a trasmissione (TEM) ha consentito di evidenziare la costante presenza di numerose emazie stravasate nell'interstizio dermico che saltuariamente apparivano interessate da processi di eritrofagocitosi da parte di macrofagi. La parete vasale è caratterizzata da inspessimenti irregolari per la presenza di depositi di sostanza amorfa tra le cellule endoteliali e i periciti. Le cellule endoteliali sono apparse sempre a fenotipo attivato per la presenza di protrusioni citoplasmatiche aggettanti nel lume vasale (Figura 3A). L'attivazione cellulare è stata inoltre riscontrata a carico dei mastociti, sia quando essi fossero in posizione endoluminale sia quando osservati nell'interstizio. La superficie cellulare era caratterizzata da numerosi microvilli ed il citoplasma

presentava parziale degranolazione. I mastociti in sede parivasale appaiono talvolta in prossimità di fini soluzioni di continuo tra le cellule endoteliali (Figura 3B). Nei casi esaminati non sono state osservate vere soluzioni di continuità della parete vasale né impegno eritrocitario di essa. Sono state evidenziate tuttavia assottigliamenti dei processi citoplasmatici degli endoteli, sottilmente disgiunti, come osservabile in Figura 2B. Il mastocita è stato dimostrato in piccoli vasi, endoluminalmente, e nell'interstizio, frammisto a globuli rossi. La membrana cellulare è costantemente alterata dalla presenza di sottili e lunghi microvilli. I granuli endocitoplasmatici da una costante e piuttosto omogenea riduzione di elettrondensità, dati evidenzianti attivazione del mastocita.

Discussione

Il presente studio immunistochemicalo e ultrastrutturale della porpora di Bateman ha consentito di evidenziare specifiche alterazioni quali-quantitative a carico dei vasi dermici, di senso contrario alla ipotizzata loro diminuzione e alla loro rottura da noi mai osservata.

I nostri risultati attestano, inoltre, una tendenza all'aumento del numero di vasi per mm^2 nella porpora di Bateman rispetto alla cute cronicamente fotoesposta. La densità vasale nella cute di soggetti affetti da porpora di Bateman risulta, invece, inferiore a quella della cute sana del giovane. L'assenza di segni morfologici di ressi vasale nel presente lavoro fa piuttosto ritenere probabile che l'emorragia sia il risultato di stimoli sulla parete vasale e su una esaltata permeabilità piuttosto che non la sua distruzione.

Il mastocita dermico è dotato di due distinte polarità per quanto riguarda le sostanze pro- ed anti-angiogenetiche da esso liberate. I principali mediatori pro-angiogenetici sono bFGF, aFGF, VEGF, TGF-beta, TNF-alfa, IL-8, GM-SCF e HGF; mentre tra i fattori anti-angiogenetici si possono ricordare l'angiostatina, endostatina, anti-trombina III clivata, trombospondina 1 e 2 e il fattore piastrinico 4. E' assai probabile che l'alto numero di mastociti preesistenti nella cute cronicamente fotoesposta, promuova sia la migrazione che la differenziazione della cellula precursore dell'endotelio, sia attraverso una rapida ed abbondante liberazione di VEGF, sia attraverso la liberazione di E-selectina preformata, a seguito della stimolazione mastocitaria, in larga misura mediata da TNF- α . La permeabilità vasale è pure un noto fenomeno indotto dal mastocita attivato mediante la liberazione di istamina, PGD_2 , LTB_4 , VEGF e OAF, fattori che a loro volta esplicano effetti pro-angiogenetici [5]. Questo può spiegare l'aumento del numero dei vasi nella porpora di Bateman.

L'angiogenesi necessita di una complessa sequenza di eventi: all'inizio l'attivazione delle cellule endoteliali, la degradazione enzimatica della membrana basale sottostante ai vasi pre-esistenti, e la degradazione, o inibizione, della matrice extracellulare dermica; la migrazione poi delle cellule endoteliali e la loro proliferazione nella direzione dello stimolo angiogenetico fino alla canalizzazione del vaso neformato contemporaneo al deposito di una nuova membrana basale, e l'inizio del flusso sanguigno in esso grazie alla formazione di anastomosi con i vasi contigui preesistenti [6].

Dall'osservazione in microscopia elettronica della cute affetta da porpora di Bateman emerge la presenza di un'attivazione degli endoteli vasali, documentata dalla presenza di pseudopodi e protrusioni della membrana citoplasmatica. I mastociti attivati e parzialmente degranulati in sede parivasale sarebbero responsabili dell'attivazione e dell'indirizzo migratorio delle cellule endoteliali in quel sito. Studi in vitro condotti su modelli tissutali diversi dalla cute, hanno messo in evidenza che l'eparina liberata dai mastociti ha un ruolo importante nello stimolare la migrazione delle cellule endoteliali per la formazione di nuovi vasi. Sono proprio le proteasi, in particolare le metalloproteasi 2 e 9, liberate dai mastociti, a degradare la membrana basale e a consentire la migrazione delle cellule endoteliali che formeranno nuovi vasi. La liberazione di eparina è concomitante a quella delle triptasi, chimasi e carbossipeptidasi A, poiché presente negli stessi granuli di secrezione [7]. L'eparina liberata dal mastociti-

ta attivato giocherebbe un ruolo importante sia nell'insorgenza del processo emorragico che nel suo mantenimento, sia nella neoangiogenesi che caratterizzerà poi anche gli stadi risolutivi della chiazza purpurica, cioè la cicatrice stellata, caratterizzata da esaltata neoangiogenesi. La risoluzione delle chiazze emorragiche avviene infatti in circa tre settimane, un tempo maggiore rispetto a quanto necessario per la scomparsa di stravasi di emazie conseguenti a contusioni in sedi povere di mastociti. Per tale motivo quando vi è una lacerazione della superficie cutanea in cute affetta da porpora di Bateman si assiste ad un sanguinamento protratto. La tendenza alla formazione di nuovi vasi è quindi una caratteristica che contraddistingue la porpora di Bateman dalla cute cronicamente fotoesposta, che al contrario è caratterizzato da scarsa vascolatura. Lo stimolo promuovente l'angiogenesi nella porpora di Bateman potrebbe ricercarsi nell'attivazione del mastocita dermico. Ulteriori studi sono necessari per chiarire il ruolo del mastocita nella porpora di Bateman.

Tabelle e figure

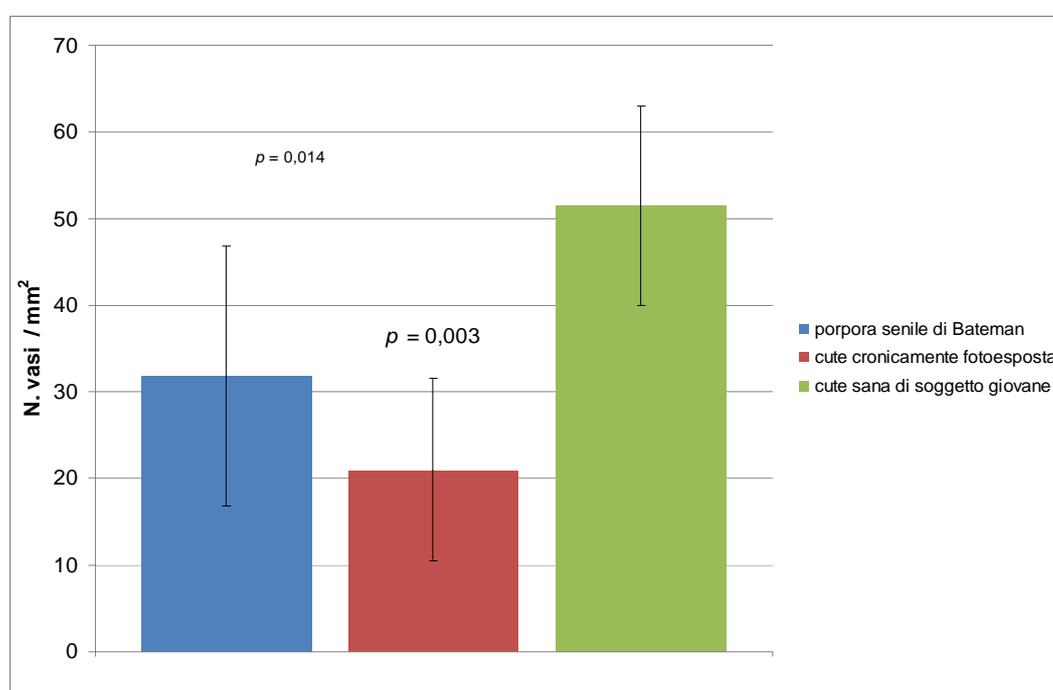


Figura 1. Numero di vasi per mm² nei tre gruppi di pazienti studiati.

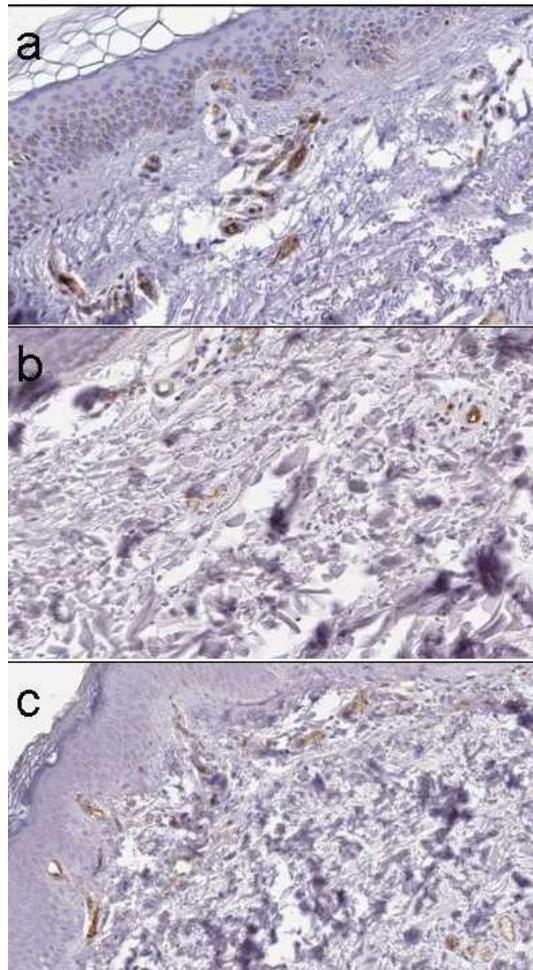


Figura 2. Colorazione IHC mediante anticorpo monoclonale anti-CD31: (a) porpora di Bateman: numero di vasi per mm^2 aumentato rispetto alla cute di controllo; (b) cute cronicamente fotosposta: numero di vasi per mm^2 inferiore alla cute giovane di controllo; (c) cute sana del giovane.

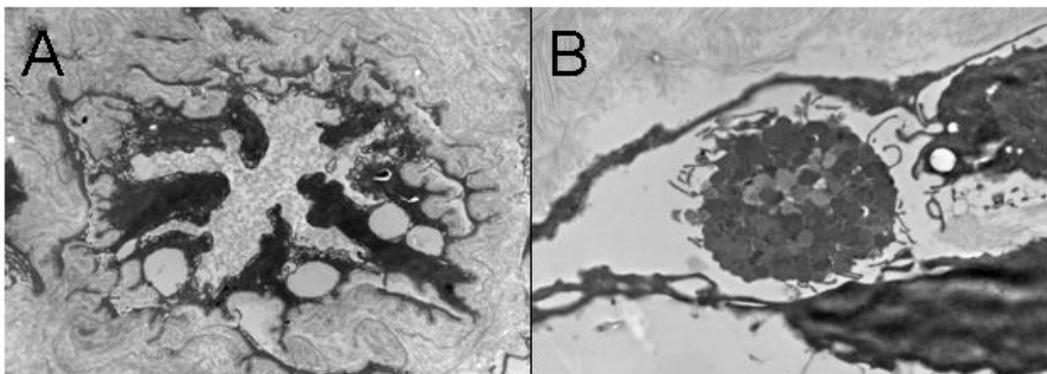


Figura 3. Porpora di Bateman: (A) attivazione dell'endotelio vasale sottoforma di voluminose protrusioni citoplasmatiche all'interno del lume e depositi di sostanza amorfa al di sotto di esso; (B) Mastocita attivato nel lume vasale che presenta numerosi microvilli sulla superficie del mastocita. Si osservi la vicinanza del mastocita prossimo ad una soluzione di continuo di due endoteli adiacenti.

Bibliografia

1. Tattersall RN, Seville R. Senile Purpura. *Quart J Med* 1959;19:133.
2. Colomb D. Stellate Spontaneous Pseudoscars. Senile and Presenile Forms: Especially Those Forms Caused by Prolonged Corticoid Therapy. *Arch Dermatol* 1972;105(4):551-554.
3. Kaya G, Saurat JH. Dermatoporosis: A new concept in skin aging. *European Geriatric Medicine* 2010;1:216-219.
4. Willans' Cutaneous Diseases. *Longmans*, London 1836.
5. Norrby K. Mast Cells and angiogenesis. *Apmis* 2002;110:355-371.
6. Carmaliet P. Angiogenesis in health and disease. *Nature Medicine* 2003;9(6):653-660.
7. Iddamal goda A, Quang Trong Le, Ito K. Mast cell tryptase and photoaging: possible involvement in the degradation of extra cellular matrix and basement membrane proteins. *Arch Dermatol Res* 2008;300(1):S69-S76.