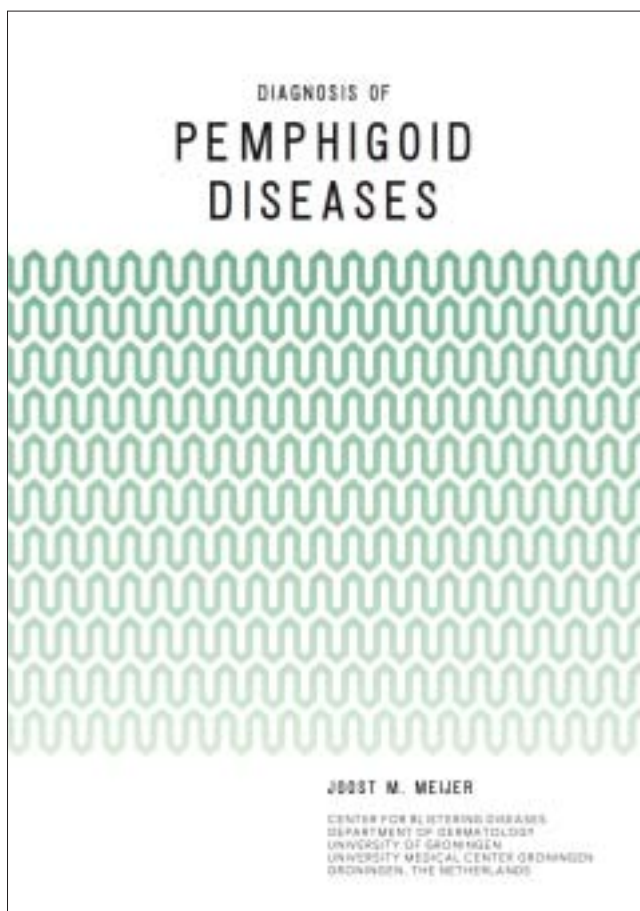




# Diagnosis of pemphigoid diseases

J.M. Meijer

Op maandag 5 november 2018 promoveerde Joost Meijer aan de Rijksuniversiteit Groningen met toekenning van het *judicium cum laude*. Hij verdedigde zijn proefschrift *Diagnosis of pemphigoid diseases* onder begeleiding van zijn promotor dermatoloog wijlen prof. dr. M.F. (Marcel) Jonkman en zijn copromotor, biochemicus dr. H.H. (Hendri) Pas. In het proefschrift worden verschillende diagnostische technieken en opgestelde minimale diagnostische criteria besproken voor de auto-immuunblaarziekte pemfigoïd, met daarnaast de focus op de non-bulleuze variant van de ziekte (non-bulleus pemfigoïd).



Pemfigoïd is een heterogene groep subepidermale auto-immuunblaarziekten van de huid en slijmvliezen. Deze auto-immuunblaarziekten worden gekenmerkt door circulerende autoantistoffen gericht tegen structurele eiwitten in de epidermale basaalembraanzone (BMZ). Verschillende subtypen van pemfigoïd kunnen worden onderscheiden, waaronder bulleus pemfigoïd (BP), non-bulleus pemfigoïd en daarnaast zeldzamere subtypen anti-p200-pemfigoïd, epidermolysis bullosa acquisita (EBA) en slijmvliespemfigoïd (MMP). Ondanks

overeenkomsten in symptomen kunnen de subtypen van pemfigoïd verschillen in klinische presentatie, aangedane antigenen, behandeling en prognose. In het proefschrift richten we ons op de diagnostiek en klinische presentaties van verschillende subtypen van pemfigoïd.

In **hoofdstuk 2** gaven we een introductie in de geschiedenis van pemfigoïd, met inzichten uit de eerste proefschriften over blaarziekten uit Nederland omstreeks 1800. Oorspronkelijk werd de term pemphigus gebruikt om het symptoom van blaren te beschrijven. Sinds 1953 wordt de entiteit bulleus pemfigoïd onderscheiden op basis van histopathologisch onderzoek. De introductie van immunofluorescentiemicroscopie zorgde voor een doorbraak in de diagnostische classificatie en differentiatie van subtypen van pemfigoïd, toegepast voor detectie van autoantistoffen in een huidbiopt of in serum. Recente inzichten laten zien dat een subgroep van patiënten jeuk en huidafwijkingen heeft zonder blaren en waarbij blaarvorming niet noodzakelijkerwijs optreedt. Deze atypische non-bulleuze varianten zijn geen zeldzaamheid, maar gerapporteerd in 20 tot 40% van de patiënten.

## NON-BULLEUS PEMFIGOÏD

In **hoofdstuk 3** brachten we de klinische en immunopathologische kenmerken van deze non-bulleuze variant van pemfigoïd in kaart met een systematische review, met bespreking van 132 gepubliceerde casus. Naast de aanwezige jeuk waren de meest voorkomende huidafwijkingen bij non-bulleus pemfigoïd erythemateuze en urticariële plaques, papels en noduli, of eczematuze huidafwijkingen. Deze huidafwijkingen komen frequent voor bij patiënten met andere jeukende inflammatoire huidziekten, waardoor artsen mogelijk pas de diagnose stellen wanneer blaarvorming aanwezig is; de gemiddelde vertraging tot het stellen van de diagnose was 22,6 maanden. Het is tot op heden niet volledig bekend waarom deze patiënten geen blaren ontwikkelen. Verschillende studies hebben de detectie beschreven van circulerende autoantistoffen die gericht zijn tegen de BP-antigenen BP180 of BP230 bij ouderen, ouderen met jeuk en ook bij gezonde bloeddonoren.

In **hoofdstuk 4** analyseerden we de detectie van deze specifieke BP-autoantistoffen in serum van 374 patiënten met non-bulleuze huidafwijkingen die onze polikliniek dermatologie bezochten en waarbij auto-immunblaarziekten waren uitgesloten op basis van een negatief huidbiopt voor directe immunofluorescentie (DIF)-microscopie. Bij 13,6% van deze patiënten werd ten minste één positieve serologische test gevonden, voornamelijk de BP180 NC16A en BP230 ELISA's, en immunoblot met autoantistoffen tegen BP230. Er werd geen associatie gezien tussen autoantistoffen en jeuk, mogelijk verbloed door dat jeuk bij het merendeel van de patiënten aanwezig was door verschillende huidziekten. Deze bevindingen roepen de vragen op of de aanwezigheid van deze specifieke autoantistoffen geassocieerd zijn met een subklinisch stadium van pemfigoïd, een risicofactor zijn voor ontwikkeling van de ziekte, of vals-positieve uitslagen vertegenwoordigen.

### DIAGNOSTISCHE STRATEGIE EN CRITERIA

In **hoofdstuk 5** onderzochten we de optimale diagnostische strategie voor bulleus en non-bulleus pemfigoïd, met het doel om minimale diagnostische criteria te ontwikkelen. We vergeleken verschillende gelijktijdig uitgevoerde diagnostische testen in een omvangrijk cohort van 1125 personen met een klinische verdenking op pemfigoïd. In tegenstelling tot het vergelijken van individuele testen, gebruikten wij multivariable logistische regressieanalyse. Bij 24% van in totaal 343 patiënten met pemfigoïd was de initiële presentatie non-bulleus. DIF op een huidbiopt bleek de meest sensitieve test en deze was positief bij 88% van de patiënten, maar bij patiënten met non-bulleus pemfigoïd was de test minder sensitief (81%). De overige circa 11% van patiënten met een negatief huidbiopt voor DIF kon worden geïdentificeerd door middel van een

positieve indirecte immunofluorescentie (IIF) op zoutgespleten humane huid (salt-split-skin [SSS])-analyse en daarnaast andere positieve serologische testen. De gecombineerde testen DIF en IIF SSS identificeerden 98,8% van de patiënten en daarom zouden deze gecombineerde testen beschouwd moeten worden als de minimaal uit te voeren laboratoriumtesten om daarmee het merendeel van de patiënten te herkennen. De BP180 NC16A ELISA had geen toegevoegde diagnostische waarde bovenop DIF en IIF SSS, bovendien was sprake van een aanzienlijk aantal vals-positieve resultaten. De voorgestelde minimale diagnostische criteria van pemfigoïd vereisen minstens twee positieve van de volgende drie criteria: 1) jeuk en/of predominant cutane blaren, 2) positieve lineaire deposities van IgG en/of complement C3 (in n-serrated patroon) langs de BMZ met DIF op een huidbiopt, 3) positieve epidermale (dak-)aankleuring van IgG met IIF SSS in serum.

### JEUK BIJ OUDEREN DOOR NON-BULLEUS PEMFIGOÏD

Met veroudering komt ook jeuk. Wij stelden de hypothese dat non-bulleus pemfigoïd een niet-herkende reden van jeuk zou kunnen zijn en dat bewoners van verpleeghuizen een hoog-risicopopulatie zijn voor pemfigoïd, met een hoge gemiddelde leeftijd en aanwezigheid van geassocieerde neurodegeneratieve ziekte en polyfarmacie. In **hoofdstuk 6** onderzochten wij de prevalentie van jeuk en pemfigoïd bij verpleeghuisbewoners in de prospectieve SSENIOOR-studie. De prevalentie van jeuk van 47% bevestigde het frequente voorkomen van deze belemmerende klacht, bij het merendeel was jeuk chronisch aanwezig. Onze bevindingen lieten een hoge prevalentie zien van pemfigoïd van 6%, een tweehonderd maal hogere prevalentie vergeleken met de algemene populatie (0,026%). Opvallend genoeg werden meer patiënten geïdentificeerd met niet-herkend non-



Joost Meijer wordt gefeliciteerd door zijn promotor wijlen prof. dr. Marcel F. Jonkman.

bulleus pemfigoïd dan gediagnosticeerd met BP. Op basis van deze bevindingen is het aan te raden serologische screening voor pemfigoïd met IIF SSS op te nemen in de diagnostische benadering van ouderen met matige en ernstige jeuk, met of zonder blaren. Mogelijk zou de sterke associatie tussen neurodegeneratieve ziekte en pemfigoïd verklaard kunnen worden door neurodegeneratie en een daarop volgende kruisreactieve immuunrespons tussen neuronale en huidautoantigenen, veroorzaakt door verlies van immuuntolerantie. Deze inzichten suggereren dat pemfigoïd mogelijk te beschouwen is als een auto-immuunziekte bij ouderen die dieper gaat dan alleen de huid.

### SERRATIEPATRONEN IN EEN HUIDBIOPT

In **hoofdstuk 7** beschreven we de differentiatie van subtypen van pemfigoïd op basis van serratiepatronen door middel van DIF op een huidbiopt. Het maken van onderscheid tussen subtypen van pemfigoïd is belangrijk vanwege verschillen in behandeling, prognose en complicaties (verlittekening). Sinds ruim een decennium worden in Groningen serratiepatronen gebruikt om EBA met een u-serratiepatroon te onderscheiden van andere subtypen van pemfigoïd met een n-serratiepatroon. Wij vergeleken verschillende technische aspecten voor het gebruik van de techniek in de routinediagnostiek door de procedures en patroonherkenning van twee laboratoria te vergelijken in Groningen en Lübeck (Duitsland). Factoren zoals het transportmedium, de dikte van coupes, het microtoom en de beoordelaar van de coupe bleken de herkenning van serratiepatronen niet significant te beïnvloeden. De serratiepatronen kunnen goed worden onderscheiden, bleek uit het feit dat er 95,7% overeenstemming was tussen vier beoordelaars. Analyse van DIF-serratiepatronen is de meest informatieve en kosteneffectieve diagnostische methode voor pemfigoïd en zal mogelijk het aantal gediagnosticeerde (seronegatieve) patiënten met EBA substantieel laten toenemen.

We onderzochten in **hoofdstuk 8** de leerbaarheid en interpretatie van DIF-serratiepatronen door beoordelaars van verschillende expertiseniveaus te testen. Een onlinetest met een instructievideo werd ontwikkeld met 26 afbeeldingen van DIF-serratiepatronen van patiënten met pemfigoïd om de herkenning te trainen en toetsen. De test werd afgenomen bij drie groepen; 1) dermatologen en dermatologen in opleiding van het UMCG, 2) internationale experts op het gebied van auto-immuunblaarziekten, en 3) dermatologen en pathologen die deelnamen aan de Groninger Blaarcursus tussen 2002 en 2012. Er werd een duidelijke verbetering van herkenning van serratiepatronen waargenomen na de korte instructievideo, onafhankelijk van het niveau van de beoordelaar en met een gemiddelde herkenning van 80%. Het u-serratiepatroon werd beter herkend dan het n-serratiepatroon. De onlinetest is beschikbaar op [www.nversusu.umcg.nl](http://www.nversusu.umcg.nl).

In **hoofdstuk 9** beschreven wij een nieuwe geautomatiseerde techniek van computerondersteunde herkenning van serratiepatronen op basis van de vingerafdruk van EBA; het u-serratiepatroon. Wij ontwikkelden een automatische techniek die in DIF-afbeeldingen de BMZ identificeert en het u-serratiepatroon

detecteert door middel van trainbare (COSFIRE) filters die selectief zijn voor lijnuiteinden van het patroon, typisch voor het u-serratiepatroon. Met deze techniek bereikten we een gemiddelde herkenningsgraad van 82,2% in 180 DIF-afbeeldingen, wat betekent dat de resultaten vergelijkbaar of beter waren ten opzichte van de n-versus-u-test in hoofdstuk 8. De techniek van detectie van lijnuiteinden kan ook gebruikt worden voor andere toepassingen, zoals fundoscopie of detectie van vingerafdrukken.

### ANTI-P200 PEMFIGOÏD

Wij gebruikten in **hoofdstuk 10** de gecombineerde diagnostische technieken IIF-knock-outanalyse en analyse van serratiepatronen om twaalf patiënten te identificeren met het zeldzame subtype anti-p200-pemfigoïd. Geavanceerde serologische testen zijn nodig om deze diagnose te bevestigen. De klinische kenmerken waren heterogeen en de distributie van blaren op de handen en voeten kan een aanwijzing geven voor de diagnose. De ernst van de ziekte was hoger dan eerder aangenomen voor anti-p200-pemfigoïd. De circulerende autoantistoffen van patiënten met anti-p200-pemfigoïd lieten een dermale (bodem)aankleuring van IgG zien in IIF SSS, wat een eerste stap is in de identificatie van anti-p200-pemfigoïd. Autoantistoffen gericht tegen laminine  $\gamma 1$  werden gedetecteerd bij twee derde van onze patiënten met anti-p200-pemfigoïd, echter is de relevantie van deze autoantistoffen en de moleculaire identiteit van het antigeen nog niet bekend.

### BEHANDELSTRATEGIE VAN PEMFIGOÏD

Ten slotte evalueerden wij in **hoofdstuk 11** de behandeling van BP onder dermatologen en dermatologen in opleiding in Nederland ( $n = 175$ ) en vergeleken wij dit met de behandeling van dermatologen in het Verenigd Koninkrijk ( $n = 375$ ). Van de dermatologen en dermatologen in opleiding in Nederland gebruikte meer dan de helft van de respondenten clobetasol-creme van kaak tot teen (transcutaan systemische clobetasol-therapie). Deze behandeling werd vaak gecontinueerd na het bereiken van klinische remissie, ter voorkoming van recidief. Daarentegen gaven de dermatologen uit het Verenigd Koninkrijk de voorkeur aan lesionale applicatie van topicale corticosteroiden en het staken van deze behandeling na het bereiken van remissie. Vooral nationale richtlijnen en organisatie van gezondheidszorg blijken de verschillen te beïnvloeden. Systemische anti-inflammatoire antibiotica, voornamelijk doxycycline, werden regelmatig gebruikt in zowel Nederland (73%) als het Verenigd Koninkrijk (79%) als alternatieve of aanvullende behandeling. De helft van de respondenten beschouwde orale corticosteroiden als eerstekeusbehandeling, waarbij de meerderheid (58%) een adjuvant immunosuppressivum gebruikte. Om te kunnen beoordelen of dermatologen recente richtlijnen navolgen en resultaten van klinische trials betrekken in de behandeling van BP, zou de survey in de komende vijf jaar herhaald moeten worden.

---

### CORRESPONDENTIEADRES

Joost Meijer

E-mail: [j.m.meijer01@umcg.nl](mailto:j.m.meijer01@umcg.nl)