

Aus der Universitäts-Hautklinik Tübingen

**Die diagnostische Bedeutung von Autoantikörpern
bei Patienten mit bullösem Pemphigoid**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

**vorgelegt von
Eckardt, Julia**

2018

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. K. Ghoreschi
2. Berichterstatter: Professor Dr. C. Deuter

Tag der Disputation: 07.08.2018

Meinen Eltern gewidmet

INHALT

1. EINLEITUNG	6
1.1 AUFBAU DER HAUT	6
1.2 BLASENBILDENDE AUTOIMMUNDERMATOSEN	8
1.3 DAS BULLÖSE PEMPHIGOID (BP)	10
1.3.1 EPIDEMIOLOGIE	10
1.3.2 PATHOPHYSIOLOGIE UND GENETIK	12
1.3.3 KLINIK	15
1.3.4 DIAGNOSTIK	17
1.3.5 KOMORBIDITÄTEN UND RISIKOFAKTOREN	22
1.3.6 DIFFERENTIALDIAGNOSEN	23
1.3.7 THERAPIE UND PROGNOSE	27
1.4 FRAGESTELLUNG	29
2. MATERIAL UND METHODEN	30
2.1 BESCHREIBUNG DER PATIENTEN- UND KONTROLLKOLLEKTIVE	30
2.2 DIAGNOSTISCHE PARAMETER	31
2.2.1 EOSINOPHILE GRANULOZYTEN	31
2.2.2 DERMATOPATHOLOGISCHE BEFUNDE	31
2.2.3 DIREKTE IMMUNFLUORESZENZ	31
2.2.4 INDIREKTE IMMUNFLUORESZENZ	32
2.2.5 BP180- UND BP230-ELISA	32
2.3 THERAPIE, KLINISCHES BILD UND FOLLOW-UP	33
2.4 STATISTISCHE AUSWERTUNG	33
2.5 ETHIKVOTUM	34
2.6 ERKLÄRUNG	34
3. ERGEBNISSE	35
3.1 DIE PATIENTEN- UND KONTROLLKOLLEKTIVE	35

3.1.1 GESCHLECHT	35
3.1.2 LEBENSALTER BEI DIAGNOSESTELLUNG	35
3.1.3 DAUER BIS DIAGNOSESTELLUNG	35
3.1.4 KOMEDIKATION	37
3.1.5 KOMORBIDITÄTEN	38
3.2 DIAGNOSTISCHE PARAMETER	39
3.2.1 EOSINOPHILE GRANULOZYTEN	39
3.2.2 HISTOLOGIE BEFUNDE	40
3.2.3 DIREKTE IMMUNFLUORESZENZ	41
3.2.4 INDIREKTE IMMUNFLUORESZENZ	44
3.2.5 BP180- UND BP230-ELISA	46
3.2.6 SENSITIVITÄT UND SPEZIFITÄT	49
3.3 THERAPIE	50
3.4 KLINISCHES BILD UND FOLLOW-UP	51
3.5 ERKLÄRUNG	55
<u>4. DISKUSSION</u>	<u>56</u>
4.1 DAS PATIENTENKOLLEKTIV	56
4.2 DIAGNOSTISCHE PARAMETER	58
4.3 THERAPIE, KLINISCHES BILD UND FOLLOW-UP	62
4.4 ERKLÄRUNG	64
<u>5. ZUSAMMENFASSUNG</u>	<u>65</u>
<u>6. LITERATURVERZEICHNIS</u>	<u>67</u>
<u>7. ERKLÄRUNG ZUM EIGENANTEIL</u>	<u>78</u>
<u>8. ABBILDUNGEN UND TABELLEN</u>	<u>79</u>
<u>9. VERÖFFENTLICHUNG</u>	<u>81</u>

10. DANKSAGUNG FEHLER! TEXTMARKE NICHT DEFINIERT.

11. LEBENSLAUF FEHLER! TEXTMARKE NICHT DEFINIERT.

Abkürzungsverzeichnis

µl	Mikroliter
Abb.	Abbildung
ABSIS	Autoimmune Bullous Skin Disorder Intensity Score
ACE	Angiotensin Converting Enzyme
ASS	Acetylsalicylsäure
BMZ	Basalmembranzzone
BP	Bullöses Pemphigoid
BPDAI	Bullous Pemphigoid Disease Area Index
C	Celcius
Ca	Karzinom
CD	cell derived
CI	Konfidenz Intervall
d	Tag
DEJ	dermo-epitheliale Junktionszone
DIF	direkte Immunfluoreszenz
Dsg	Desmoglein, Desmoglein
EBA	Epidermolysis bullosa acquisita
ED	Erstdiagnose
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
EM	Erstmanifestation
g	Gramm
GKS	Glukokortikosteroide
H&E	Hämatoxylin-Eosin
HLA	humanes Leukozyten-Antigen
IFN	Interferon
Ig	Immunglobulin
IIF	indirekte Immunfluoreszenz
IL	Interleukin
IVIG	intravenöse Immunglobuline
kDa	Kilodalton
kg	Kilogramm

LAD..... Lineare IgA-Dermatose
 läs läsional
 mg..... Milligramm
 MHCMajor Histocompatibility Complex
 ml Milliliter
 MTX Methotrexat
 NaCl Natriumchlorid
 niläsnicht läsional
 nm..... Nanometer
 OR Odds Ratio
 pläs periläsional
 SD.....Standardabweichung
 TH2-Lymphozyten..... T-Helferzellen Typ 2
 TNFTumornekrosefaktor
 TPMT Thiopurinmethyltransferase
 UUnits
 Z.n.Zustand nach

1. Einleitung

1.1 Aufbau der Haut

Die Haut ist bezogen auf die Oberfläche das zweitgrößte Organ des Menschen und hat vielerlei lebenswichtige Funktionen. Sie dient unter anderem als mechanische Barriere mit Schutzfunktion nach außen. Der Aufbau der Haut gliedert sich in Epidermis, Dermis und Subkutis (1-3).

Die Epidermis bildet die äußerste Epithelschicht der Haut. Sie besteht aus Keratinozyten mit unterschiedlicher Differenzierung. Die Keratinozyten sind durch Zell-Zell-Kontakte miteinander verbunden (2).

Die Dermis liegt zwischen Epidermis und dem subkutanen Fettgewebe (1). Im Bereich der Basalmembran ist die Epidermis mit der Dermis verbunden (2). Dieser Grenzbereich wird auch dermo-epitheliale Junktionszone (DEJ) genannt und wird von Proteinstrukturen, die das Zytoskelett der basalen Keratinozyten auf den Fibrillelementen der papillären Dermis verankern, gebildet. Die DEJ ist schematisch in Abb. 1 dargestellt. Intrazellulär befindet sich am dermalen Pol der Keratinozyten die hemidesmosomale Plaque (4). Die Proteine der hemidesmosomalen Plaque (zum Beispiel BP230/bullöses Pemphigoid-Antigen 1 oder Plektin) bilden einen wichtigen Teil der DEJ. Verschiedene transmembranöse Ankerfilamente (zum Beispiel BP180/bullöses Pemphigoid-Antigen 2 oder $\alpha 6\beta 4$ -Integrin) durchspannen die DEJ und verbinden die hemidesmosomale Plaque mit den Fibrillen der Dermis (4, 5). Ist diese mechanische Verankerung gestört, kommt es zu einer Ablösung der Epidermis von der Dermis und somit zu einer Blasenbildung (6).

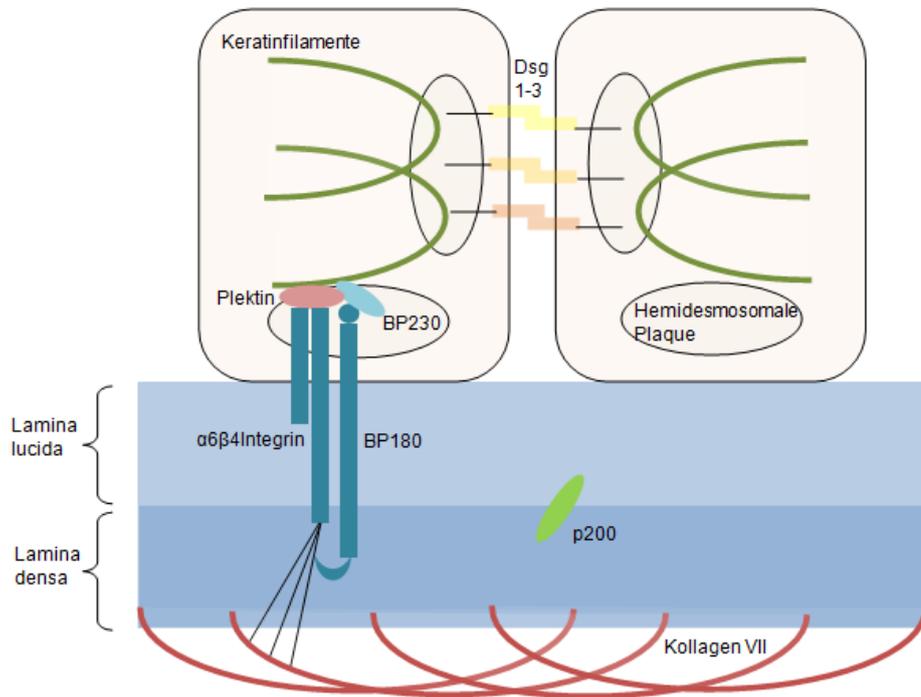


Abb. 1: Schematische Darstellung des Desmosoms und der DEJ modifiziert nach Kneisel et al., 2011 (7).

Bei dieser Abbildung soll der Fokus auf den für diese Arbeit relevanten Antigenstrukturen BP180 und BP230 liegen. Die DEJ ist stark vereinfacht dargestellt. BP230 stellt einen Teil der hemidesmosomalen Plaque im Zytoplasma der Zelle dar. BP180 verbindet mit weiteren Strukturproteinen die hemidesmosomale Plaque mit der Dermis (4, 7).

1.2 Blasenbildende Autoimmundermatosen

Blasenbildende Autoimmundermatosen sind Erkrankungen der Haut und/oder der Schleimhäute, welche meist chronisch verlaufen. Durch zirkulierende Autoantikörper, die gegen Ankerproteine der DEJ oder gegen interzelluläre Ankerproteine der Epithelzellen gerichtet sind, kommt es zu einem Adhäsionsverlust. Dies kann zu einer Akantholyse und so sekundär zu einer klinisch sichtbaren Blasenbildung führen (6). Je nach Lokalisation der Spaltbildung wird von intra- oder subepidermalen blasenbildenden Autoimmundermatosen gesprochen. Bei Störung der intraepidermalen Haftung der Keratinozyten und intraepidermaler Blasenbildung liegt eine Erkrankung der Pemphigus-Gruppe vor. Die wichtigsten Zielantigene der Pemphigus-Erkrankungen sind Desmoglein (Dsg) 1 und Dsg 3 (8).

Bei der Gruppe der Pemphigoid-Erkrankungen, die das bullöse Pemphigoid, die lineare IgA-Dermatose oder die Epidermolysis bullosa acquisita (EBA) umfasst, liegt der Adhäsionsverlust und somit die Blasenbildung subepidermal (4, 6, 8).

In Tabelle 1 sind die wichtigsten blasenbildenden Autoimmundermatosen und ihre entsprechenden Antigenstrukturen zusammengefasst.

Tabelle 1: Bullöse Autoimmundermatosen und ihre Antigenstrukturen modifiziert nach Schmidt et al., 2010 (9).

BP, bullöses Pemphigoid; Dsg, Desmoglein; IgA, Immunglobulin A; kDA, Kilodalton; LAD, lineare IgA-Dermatose.

Spaltbildung	Krankheitsbild	Antigenstrukturen
Epidermale Spaltbildung	Pemphigus vulgaris	Dsg 3, Dsg 1, Dsg 4, Plaktoglobin, E-Cadherin, $\alpha 9$ Acetylcholinrezeptor, Pemphaxin
	Pemphigus foliaceus	Dsg 1, Plaktoglobin
	Paraneoplastischer Pemphigus	Dsg 3, Envoplaktin, Periplaktin, Desmoplaktin
	IgA Pemphigus	1/2, 170 kDa Antigen, BP230, Plektin, Dsg 1, Desmocollin 1, Dsg 3
Subepidermale Spaltbildung	Bullöses Pemphigoid	BP180, BP230
	Pemphigoid gestationes	BP180, BP230
	Lineare IgA-Dermatose	LAD-1, BP230
	Schleimhautpemphigoid	BP180, Laminin 332, $\alpha 6\beta 4$ Integrin, Laminin 331, BP230
	Anti-Laminin $\gamma 1/ p200$ Pemphigoid	Laminin $\gamma 1/ p200$
	Epidermolysis bullosa acquisita	Kollagen VII
	Dermatitis herpetiformis	Transglutaminase, Gliadin, Endomysium

1.3 Das bullöse Pemphigoid (BP)

Bis 1953 wurde eine akute und eine chronische Form des Pemphigus vulgaris unterschieden, die historisch zunächst auch das Krankheitsbild des bullösen Pemphigoids umfasste. Der Pemphigus vulgaris acutus mit einem fulminanten Verlauf und früh auftretenden Schleimhautläsionen zeigte histologisch eine Akantholyse der Epidermis und eine intraepidermale Spaltbildung. Im Gegensatz dazu ließ sich beim Pemphigus vulgaris chronicus, der sich durch eine langsamere Progression und keinen oder späten Schleimhautbefall auszeichnete, eine subepidermale Spaltbildung nachweisen und die Akantholyse fehlte. 1953 veröffentlichte Lever einen wissenschaftlichen Artikel über den Pemphigus, in dem er dann den Pemphigus vulgaris chronicus, der histologisch eigentlich kein Pemphigus war, als bullöses Pemphigoid (BP) bezeichnete (5, 10, 11).

1.3.1 Epidemiologie

Das BP ist die häufigste blasenbildende Autoimmundermatose in Europa (12). Die Inzidenz ist regional unterschiedlich. In einer Studie aus Deutschland lag die mittlere Inzidenz bei 13,4 Neuerkrankungen pro 1.000.000 Einwohner pro Jahr (13). In den letzten Jahren wurde in einigen Ländern ein Anstieg der Inzidenz beobachtet (14). In Frankreich wird laut einer Studie sogar von einer Inzidenz von 21,7 Neuerkrankungen pro 1.000.000 Einwohner pro Jahr ausgegangen (15). Ein Anstieg der Inzidenz könnte aber auch durch den demographischen Wandel und einer besseren Diagnostik und Dokumentation erklärt werden (14, 16).

Das BP tritt vor allem bei älteren Menschen auf. Insbesondere jenseits des 60. Lebensjahres steigt das Risiko an einem BP zu erkranken. Eine retrospektive Studie von Jung et al. zeigte, dass Patienten, die älter als 90 Jahre sind im Vergleich zu Patienten unter 60 Jahren, ein 297-fach höheres Risiko haben, an einem BP zu erkranken (12, 17). Bezüglich der Geschlechterverteilung bei den an BP-Erkrankten gibt es unterschiedliche Daten. Während ältere Studien berichten, dass Frauen häufiger als Männer betroffen seien (15, 18), zeigen andere Untersuchungen, dass Männer ein erhöhtes Risiko hätten an einem BP zu erkranken (12). In seltenen Fällen können auch Kinder oder Säuglinge an ei-

nem BP erkranken. Hierzu existieren diverse Case Reports. Über die genaue Inzidenz des BPs bei Kindern lässt sich jedoch keine genaue Aussage treffen (19-21).

1.3.2 Pathophysiologie und Genetik

Immunpathologisch finden sich beim BP Autoantikörper vom Typ Immunglobulin G (IgG) gegen zwei hemidesmosomale Proteine der Basalmembran. Die Antikörper richten sich gegen die extrazelluläre NC16-A Domäne des Glykoproteins BP180 sowie gegen das C-terminale Ende des intrazellulären BP230 Glykoproteins der Hemidesmosomen (5, 22-25). Die körpereigenen Antigene werden von antigenpräsentierenden Zellen erkannt und den T-Zellen präsentiert. Diese stimulieren B-Zellen und es kommt zu einer Autoantikörperbildung (26).

Zusätzlich zur Autoantikörperbildung ist eine Entzündungsreaktion bei der Entstehung der Blasen bedeutend (27, 28). Im Folgenden werden die verschiedenen Komponenten, welche bei der Pathophysiologie eine Rolle spielen, genauer erläutert.

BP180

BP180 hat seinen Namen durch sein Molekulargewicht von 180 Kilodalton (kDa) und ist ein transmembranöses Ankerfilament der DEJ (4, 29). Die N-terminale Domäne von BP180 liegt intrazellulär und ist mit den basalen Keratinozyten verankert. Der C-terminale Anteil durchspannt die Lamina lucida und ist im Bereich der Lamina densa mit der Basalmembran verankert (5). Der extrazelluläre Anteil von BP180 besteht aus 15 Kollagensequenzen, die durch nicht-kollagene Sequenzen getrennt werden. Patienten mit BP haben Antikörper des Typs IgG gegen die extrazelluläre NC16-A Domäne entwickelt (29, 30).

BP230

Das BP230 Glycoprotein ist 230 kDa groß und ist ein zytoplasmatischer Bestandteil der Hemidesmosomen. Es interagiert C-terminal mit den Intermediärfilamenten der Keratinozyten und N-terminal mit der intrazellulären Domäne von BP180 sowie Integrin. Bisher wird angenommen, dass die Antikörper gegen BP230 vermehrt die C-terminale Domäne des Glykoproteins binden (22, 29, 31).

Zellen und Zytokine

Im Mausmodell konnte gezeigt werden, dass nur eine subepidermale Spaltbildung entsteht, wenn zusätzlich zur Antikörperbindung eine inflammatorische Reaktion stattfindet (27, 28). Die Entstehung der Blasen wird durch eine Komplementaktivierung, Mastzelldegranulation, Makrophagenaktivierung und die Einwanderung von neutrophilen Granulozyten induziert (27).

Liu et al. demonstrierten in *In-vivo*-Experimenten, dass es nur zu einer Blasenbildung kommt, wenn im Tiermodell der Komplementfaktor C5 aktiviert ist. C5 führt zur Degranulation der Mastzellen, welche dann proinflammatorische Zytokine freisetzen und somit eine Entzündungsreaktion induzieren. Es wurde außerdem gezeigt, dass sowohl der alternative als auch der klassische Weg der Komplementaktivierung für die Spaltbildung von Bedeutung sein sollen (5, 32).

Bei der Pathogenese des BPs spielen verschiedenste Mediatoren eine Rolle. Es konnten beispielsweise Histamin, Leukotrien B₄, Interleukin (IL) -1, -2, -4, -5, -6, -8, -10, -13, -17, -22, -23 und Tumornekrosefaktor-Alpha (TNF- α) und Interferon-Gamma (IFN- γ) im Blaseninhalt von Patienten nachgewiesen werden. (5, 33-40). IL-4, -5, und -13 dienen der Stimulation der Antikörperbildung von B-Zelle und werden von TH2-Lymphozyten freigesetzt. IL-5 ist außerdem für die Proliferation und die Differenzierung der eosinophilen Granulozyten von Relevanz. Diese Zytokine zeigten sich im Vergleich zu den Zytokinen der TH1-Lymphozyten (IL-2, IFN- γ) stärker erhöht. Bei der Pathogenese des BPs scheint somit die TH2-Immunantwort eine bedeutende Rolle zu spielen (35, 41). IL-10, welches einen wichtigen Beitrag bei Immunantworten leistet, wird unter anderem von den regulatorischen T-Lymphozyten ausgeschüttet. Es zeigte sich interessanterweise in den Blasen erhöht, jedoch nicht im peripheren Blut der Patienten. Welche Rolle die regulatorischen T-Lymphozyten bei der Pathogenese des BPs spielen bleibt weiterhin zu klären (42, 43). Mastzellen rekrutieren durch die Freisetzung verschiedenster Mediatoren neutrophile Granulozyten und fördern so die inflammatorische Reaktion (5, 44). Die neutrophilen Granulozyten setzen proteolytische Enzyme frei, welche die Basalmembran zerstören und so zur Spaltbildung beitragen (45).

Neben neutrophilen Granulozyten, spielen eosinophile Granulozyten eine sehr wichtige Rolle bei der Pathogenese des BPs. Sowohl in der Bläschenflüssigkeit, also auch im Serum von Patienten lassen sich erhöhte Werte von eosinophilen Granulozyten nachweisen (46, 47).

Genetik

Zusätzlich zu den beschriebenen Mechanismen ist das humane Leukozyten-Antigen-System bei der Entstehung des BPs bedeutend. Die HLA-Gene codieren für die MHC-Proteine (Major Histocompatibility Complex) der antigenpräsentierenden Zellen und sind somit für die Interaktion von TH2-Zellen und B-Zellen von Bedeutung. Es konnte gezeigt werden, dass sowohl Patienten als auch gesunde Probanden, die das BP assoziierte Allel des HLA-DQ β 1*0301 exprimieren, vermehrt eine T-Zell Antwort gegen BP180 aufweisen (40, 48, 49).

1.3.3 Klinik

Klinisch zeigt sich bei Patienten mit BP ein heterogenes Erscheinungsbild (7). Zu Beginn dominiert bei einem Großteil der Patienten eine sogenannte nicht bullöse Prodromalphase. Dieses „prämonitorische Stadium“ zeichnet sich durch exkorierte, papulovesikulöse bzw. urtikarielle Plaques sowie einen schweren und quälenden Juckreiz aus und kann mehrere Monate bestehen (6, 11, 16, 50). Im blasenbildenden Stadium zeigen sich pralle, teils hämorrhagische Blasen und Bläschen auf normalem oder erythematösem Grund sowie urtikarielle oder infiltrierte Plaques. Die Effloreszenzen treten meist symmetrisch an den Beugen der Extremitäten sowie dem seitlichen Abdomen und den Intertrigines auf und heilen dann in der Regel als krustöse Erosionen narbenlos ab. Selten sind auch die Schleimhäute befallen. (6, 11, 16, 51, 52).

Das typische Erscheinungsbild des BPs ist beispielhaft in Abb. 2 und 3 dargestellt.

Bei dem Pemphigoid nodularis dominieren Prurigo-nodularis-ähnliche hyperkeratotische Hauterscheinungen, die häufig eine Therapieresistenz zeigen. Patienten mit Pemphigoid vegetans zeichnen sich durch Läsionen in den Intertrigines aus und beim vesikulösen Pemphigoid zeigen sich juckende Papulovesikel an den Streckseiten, ähnlich der Dermatitis herpetiformis Duhring, Das dyshydrosiforme BP ist eine weitere Sonderform und erinnert an ein dyshydrosiformes Ekzem (6, 7, 11, 53, 54).

In der Literatur werden in Bezug auf blasenbildende Dermatosen klinische Tests (Nikolski-Phänomen I und II) aufgeführt, welche aber im heutigen klinischen Alltag wenig relevant sind. Bei den intakten Blasen zeigt sich ein positives Nikolski-Phänomen II, das heißt die Blasen lassen sich durch Druck tangential verschieben. Beim BP kommt es nach Ausüben von tangentialem Druck zu keiner Abschilferung der Epidermis. Somit ist das Nikolski-Phänomen I anders als beim Pemphigus beim BP negativ (6, 11, 16).



Abb. 2: Das klinische Bild eines BPs.

Die Abbildung zeigt das klassische Erscheinungsbild eines BPs mit prallen Blasen, erythematösen Maculae und Erosionen am seitlichen Abdomen (Patientenfoto aus dem Bildarchiv der Universitäts-Hautklinik Tübingen).



Abb. 3: Das klinische Bild eines BPs.

Blasen, Erosionen und erythematöse Maculae an der rechten, oberen Extremität (Patientenfoto aus dem Bildarchiv der Universitäts-Hautklinik Tübingen).

1.3.4 Diagnostik

Bei allen Patienten mit einem Verdacht auf ein BP sollte zu Beginn eine genaue Anamnese erhoben werden. Insbesondere der Beginn des Auftretens der Läsionen sowie die Medikamentenanamnese und das Erfragen von Komorbiditäten und Pruritus sind relevant. Eine allgemeine körperliche Untersuchung wird außerdem empfohlen. Um die Krankheitsausdehnung des BP zu beschreiben, wurden verschiedene Scores (BPDAI, Bullous Pemphigoid Disease Area Index; ABSIS, Autoimmune Bullous Skin Disorder Intensity Score) entwickelt, die in prospektiven Studien validiert werden (16, 55).

Aufgrund der vielfältigen Erscheinungen, dem prämonitorischen Stadium und der Differentialdiagnosen, sind neben der klinischen Untersuchung diagnostische Laboruntersuchungen von Haut und Blut erforderlich (7, 56).

Histopathologie

Für die histopathologische Beurteilung wird empfohlen, eine Blase läsional zu biopsieren. Eine komplette oder die partielle Entnahme einer Blase ist möglich (4). Typisch für das BP sind eine subepidermale Spaltbildung und ein Entzündungsinfiltrat aus Leukozyten und eosinophilen Granulozyten (7, 16, 49) (Abb. 4). Das BP kann dermatohistopathologisch allein nicht eindeutig identifiziert werden. Eine subepidermale Spaltbildung findet sich auch bei einer EBA, einer Dermatitis herpetiformis Duhring, einer linearen IgA-Dermatose, einem Schleimhautpemphigoid oder einem Anti-p-200 Pemphigoid (57, 58). Primär ist die histopathologische Untersuchung zur Abgrenzung von Differentialdiagnosen wichtig (59). Die histopathologische Beurteilung dient beispielweise dazu, das Niveau der Spaltbildung bzw. der Blase im Biopsat zu definieren (4).

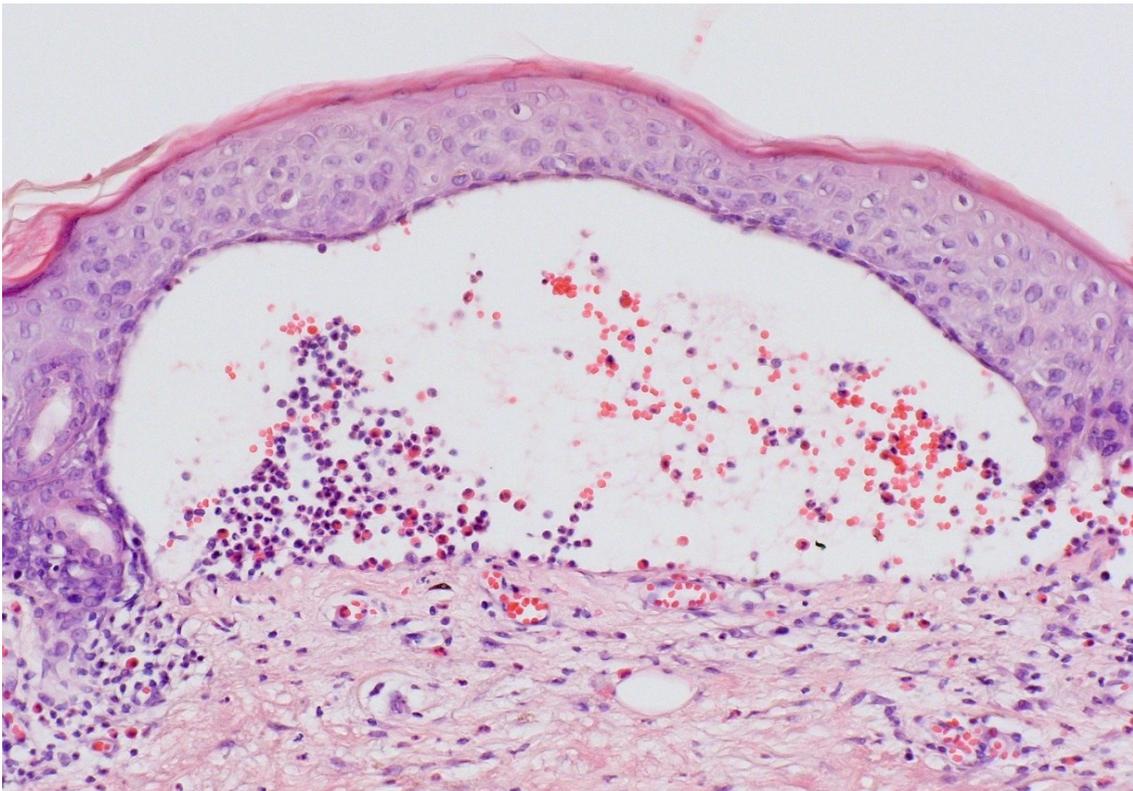


Abb. 4: Ein dermatohistologischer Befund aus einer läsionalen Probebiopsie von einem Patienten mit einem BP.

Die Abbildung zeigt eine subepidermale Spaltbildung mit einem entzündlichen Infiltrat (Dermatohistologie Universitäts-Hautklinik Tübingen).

Direkte Immunfluoreszenz

Die direkte Immunfluoreszenz (DIF) zum Nachweis gewebegebundener Autoantikörper und/oder des Komplementfaktors C3 gilt als der diagnostische Goldstandard. In der direkten Fluoreszenzmikroskopie periläsionaler Haut zeigen sich in der Regel Präzipitate von IgG und von der Komplementkomponente C3 entlang der DEJ (Abb. 5) (9). Bei einem BP können sich auch Ablagerungen von IgA entlang der Basalmembranzzone (BMZ) zeigen, diese sind aber meist weniger ausgeprägt als die Ablagerungen von IgG. So kann ein BP von einer linearen IgA-Dermatose unterschieden werden. Bei der Dermatitis herpetiformis Duhring finden sich IgA Ablagerungen in den dermalen Papillen, wohingegen die DIF bei einem Pemphigus epidermale interzelluläre Muster von IgG und C3 Ablagerungen aufweist. Ein BP lässt sich jedoch auch mittels DIF nicht sicher von den anderen blasenbildenden Dermatosen mit subepidermaler Spaltbildung abgrenzen (16, 52). Dennoch hat die DIF eine hohe Sensitivität und Spezifität von häufig über 90% (14, 60).

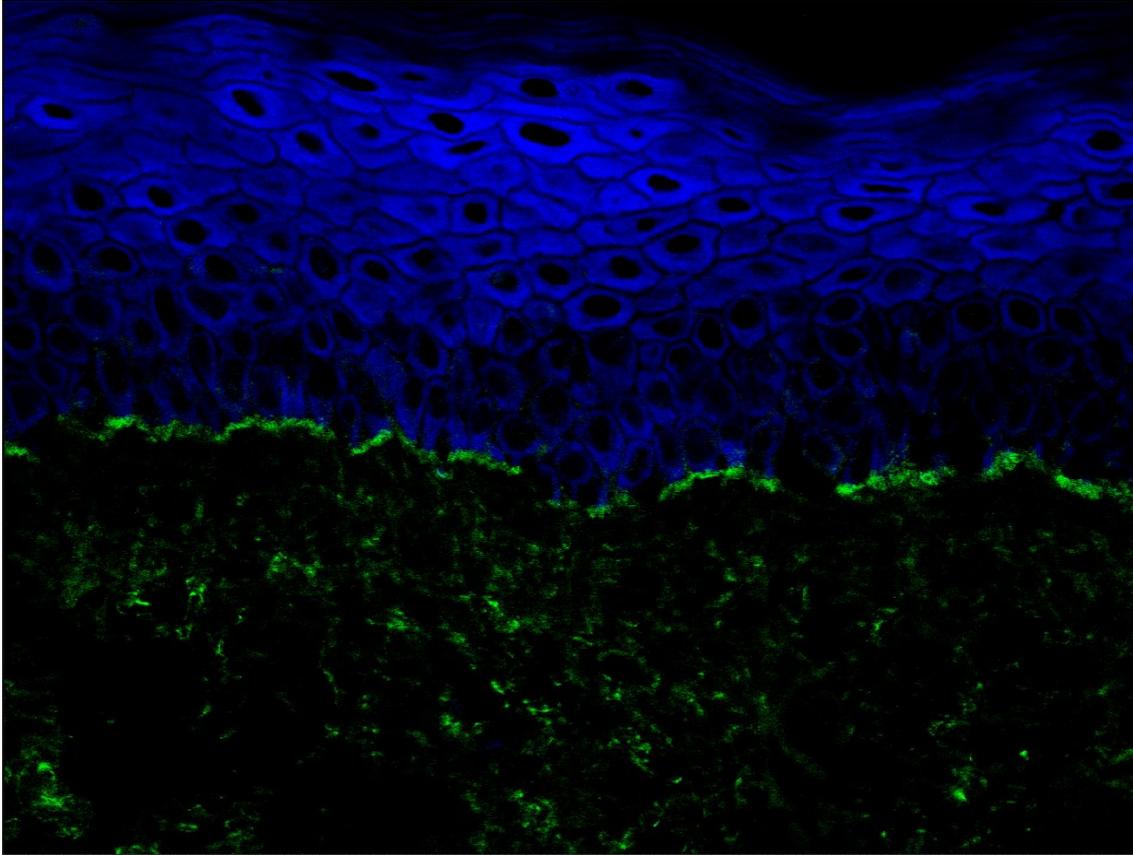


Abb. 5: Immunfluoreszenzbefund bei einem Patienten mit BP.

In der Abbildung zeigt sich ein typischer Befund in der Immunfluoreszenz in Form von linearen Ablagerungen von IgG entlang der Basalmembran in der DIF von periläsionaler Haut eines Patienten mit einem BP (Leica TCS-SP/Leica DM RB, Vergrößerung: 1:400, Universitäts-Hautklinik Tübingen). Die Gegenfärbung ist mit Evans Blue erfolgt.

Indirekte Immunfluoreszenz

Zur Detektion zirkulierender Antikörper im Patientenserum eignet sich die indirekte Immunfluoreszenz (IIF) (7). Als Substrate dienen beispielsweise Affenrösophagus oder humane Spalthaut. Durch die Inkubation von humaner Haut mit 1 molarer NaCl (Natriumchlorid) Lösung bildet sich ein artifizieller Spalt im Bereich der Lamina lucida. Dort binden Antikörper aus dem Patientenserum nach Inkubation an die passenden Antigene der Spalthaut. Bei Patienten mit einem BP binden die IgG-Antikörper des Serums im Blasendach, wo die Zielantigene BP180 und BP230 exprimiert werden. Bei Serum von Patienten mit einer EBA binden diese hingegen an der dermalen Seite, also am Blasenboden des Spalts, an ihr Zielantigen Kollagen Typ VII (Abb. 1) (7, 9, 61).

Es lassen sich so außerdem zirkulierende IgA-Antikörper bei einem IgA-Pemphigus, bzw. einer Dermatitis herpetiformis Duhring (Endomysium Antikörper) sowie IgG-Antikörper gegen epidermale Strukturen bei einem Pemphigus nachweisen (7, 9, 62). Zum Nachweis des paraneoplastischen Pemphigus kommen außerdem Affen- oder Rattenurothel sowie Meerschweinchenrösophagus als Substrat infrage, da sich mit diesen Substraten Antikörper gegen Plaktine nachweisen lassen (7). In der Literatur wird die Sensitivität der IIF mit 70-80%, die Spezifität mit über 90% angegeben (14, 63).

BP180- und BP230-ELISA

Zum spezifischen Nachweis zirkulierender Antikörper bei Patienten mit blasenbildenden Autoimmundermatosen eignen sich Methoden wie Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) oder ein Immunoblot (7). Es existieren verschiedene kommerzielle ELISAs für BP Antikörper. Zum Nachweis von Antikörpern gegen BP180 und BP230 werden rekombinante Proteine, die immunogene Komponenten der Antigene enthalten, eingesetzt (7, 64). Für BP180-ELISA Systeme wurde eine Sensitivität von 86-97% berichtet und für BP230-ELISA Systeme entsprechend eine Sensitivität von 56-59%. Die Spezifität von anti-BP-ELISAs ist in der Regel exzellent und liegt bei über 97% (64-67).

In Studien konnte außerdem gezeigt werden, dass die Reaktivität im ELISA bzw. der Serumspiegel der Antikörper gegen BP180 mit der Krankheitsaktivität korrelieren kann und sich deshalb zur Therapiekontrolle eignet (29, 66, 68).

1.3.5 Komorbiditäten und Risikofaktoren

Das BP wird mit einer Vielzahl an Triggern und Komorbiditäten in Verbindung gebracht (69). In dieser Arbeit werden deshalb nur die am häufigsten diskutierten Assoziationen aufgeführt.

Eine Assoziation zwischen malignen Tumoren und dem BP wird kontrovers diskutiert. Einige Studien konnten einen Zusammenhang der Erkrankungen zeigen, es gibt aber auch diverse Studien, die keinen Zusammenhang feststellten, sondern das häufigere Auftreten von malignen Erkrankungen mit dem Alter der Patienten in Zusammenhang bringen (70-73).

Ong et al. und Schulze et al. konnten eine Assoziation zwischen malignen hämatologischen Erkrankungen und dem BP nachweisen (73, 74).

Ein Zusammenhang zwischen neurologischen Erkrankungen und dem BP wird außerdem diskutiert. Es zeigte sich ein vermehrtes Auftreten von Demenz, Parkinson, Epilepsie und Schlaganfällen bei Patienten mit BP. (69, 75-77).

Bisher wurden diverse Medikamente beschrieben, die im Verdacht stehen, ein BP auslösen zu können. Es konnte zum Beispiel die Einnahme von Neuroleptika, Schleifendiuretika und Aldosteron-Antagonisten in Zusammenhang mit einem BP gebracht werden (78, 79).

1.3.6 Differentialdiagnosen

Differentialdiagnostisch muss bei dem Verdacht auf eine blasenbildende Erkrankung eine Vielzahl von Dermatosen in Betracht gezogen werden (56). Intraepidermal blasenbildende Dermatosen wie die Gruppe der Pemphigus-Erkrankungen, können oftmals durch das klinische Bild (schlaffe versus pralle Blasen, Schleimhautbeteiligung) und die Lokalisation der Spaltbildung mittels Histologie und DIF von einem BP abgegrenzt werden (8). Weitere subepidermal blasenbildende Dermatosen, welche bei Verdacht auf ein BP ausgeschlossen werden müssen oder dem BP ähnlich sind, werden im Folgenden genauer erläutert.

1.3.6.1 Schleimhautpemphigoid

Sind primär die Schleimhäute betroffen, wird von einem Schleimhautpemphigoid gesprochen (8, 80). Häufig betroffen sind Konjunktiven, Mundschleimhaut, Genitalien, Ösophagus und Larynx. In der Mundhöhle zeigen sich oft Gingivitiden, Blasen und Ulcerationen (Abb.7). Im Blut der Patienten lassen sich Antikörper gegen verschiedene Strukturproteine der DEJ nachweisen (BP180, BP230, Laminin 5 und 6, die $\alpha 6$ - und $\beta 4$ -Ketten von $\alpha 6\beta 4$ -Integrin, Typ-VII-Kollagen). Zeigen sich ausschließlich Läsionen in den Augen, wird dies als okuläres Pemphigoid bezeichnet (Abb. 8). Beim okulären Pemphigoid finden sich oft Antikörper gegen $\beta 4$ -Integrin (80). Beim Schleimhautpemphigoid kann es zu einer narbigen Abheilung kommen, was zu sehr schweren Komplikationen führen kann. Okulär führen rezidivierende Konjunktivitiden zu Symblephara und im Verlauf kommt es zu Entropium und Trichiasis. Zusätzlich kann es sekundär zu einer Verhornung des Epithels kommen und letztendlich können die Komplikationen zur Erblindung führen (6, 80). Eine Sonderform des vernarbenden Pemphigoids ist das Pemphigoid vom Typ Brunsting Perry. Hier ist die Haut im Kopf-Hals Bereich betroffen (80). Insbesondere bei den vernarbenden Formen der Schleimhautpemphigoids kann eine Therapie mit Cyclophosphamid indiziert sein (81).



Abb. 6: Konjunktivale Läsionen als typischer Befund bei einem okulären Pemphigoid.

Ein durch das okuläre Pemphigoid verursachtes Symblepharon im Bereich des Unterlids ist auf dieser Abbildung dargestellt (Universitäts-Hautklinik Tübingen).



Abb. 7: Mundschleimhautläsionen bei einem Patienten mit einem Schleimhautpemphigoid.

Am harten und weichen Gaumen des Patienten sind durch das Pemphigoid verursachte Läsionen sichtbar (Universitäts-Hautklinik Tübingen).

1.3.6.2 Pemphigoid gestationis

Pemphigoid gestationis, auch Herpes gestationis genannt, ist eine subepidermal blasenbildende Schwangerschaftsdermatose, die sich meist im zweiten oder dritten Trimenon der Schwangerschaft manifestiert, aber auch im ersten Trimenon oder postpartal auftreten kann. Die Inzidenz liegt zwischen 1:10000 und 1:50000 Schwangeren (82). Pemphigoid gestationis zeichnet sich durch Juckreiz, Papeln, erythematöse Plaques und Blasen aus. Häufig treten die Läsionen erstmals periumbillikal auf und breiten sich dann auf das gesamte Integument aus (82-84). Die zirkulierenden Antikörper im Kreislauf der Mutter richten sich wie beim BP gegen das BP180-Antigen, selten auch gegen BP230, und können über die Plazenta auf den Feten übertragen werden. So kann es auch zu Effloreszenzen bei dem Neugeborenen kommen (52, 83, 85). Die Hautveränderungen bei dem Neugeborenen sind meist wenig ausgeprägt und lassen sich symptomatisch gut behandeln. Durch eine kurze Halbwertszeit der mütterlichen Antikörper heilen diese in der Regel nach kurzer Zeit ab (86). Es hat sich allerdings gezeigt, dass das Risiko für eine Plazentainsuffizienz und eine dadurch bedingte Frühgeburtlichkeit des Fötus erhöht ist (82, 85). Rezidive in folgenden Schwangerschaften sind häufig (87).

1.3.6.3 Lineare IgA-Dermatose

Die lineare IgA-Dermatose zeichnet sich klinisch durch einen sehr heterogenen Phänotyp aus. Klassisch sind Plaques sowie perlschnurartig angeordnete Blasen (6). Sie tritt bei Erwachsenen als auch Kindern auf und gilt als die häufigste bullöse Autoimmundermatose des Kindesalters (4). Bei Kindern zeigen sich häufig Läsionen im Gesicht, im Genitalbereich sowie auf den Schleimhäuten (6). Typischerweise sind Antikörper gegen ein Antigen (LAD-1 Antigen), welches ein Fragment der extrazellulären Domäne des BP180 Adhäsionsprotein ist, vorhanden (4). Häufig ist die lineare IgA-Dermatose mit anderen Autoimmunerkrankungen, wie beispielsweise einer Colitis ulcerosa oder einer primär sklerosierenden Cholangitis, assoziiert (6). Zur Therapie der linearen IgA-Dermatose wird Dapson empfohlen (85).

1.3.6.4 Weitere Pemphigoid Krankheiten

In neueren Studien wurde das anti-p200 Pemphigoid beschrieben. Es ähnelt klinisch den anderen subepidermal blasenbildenden Dermatosen, zeichnet sich aber durch zirkulierende Antikörper gegen eine 200 kDa große Komponente der DEJ-Zone aus. Bei der Split-Skin Untersuchung binden die Antikörper im Unterschied zum BP an der dermalen Seite des Spalts (6, 88).

1.3.6.5 Epidermolysis bulla acquisita (EBA)

Die EBA ist eine mechanobullöse Autoimmundermatose mit IgG- (IgA-) Antikörpern gegen Kollagen VII, welches einen Hauptteil der dermalen Ankerfibrillen darstellt (7, 85). Durch kleine Traumata entstehen insbesondere an den Akren Blasen und Erosionen. Die Läsionen heilen unter Bildung von Narben und Milien ab (6, 85). Die EBA kann auch auf den Schleimhäuten auftreten und dort zu schweren Atrophien und Stenosen führen. Bestimmte Phänotypen der EBA können einem BP klinisch sehr ähnlich sein (6).

1.3.6.6 Dermatitis herpetiformis Duhring

Die Dermatitis herpetiformis Duhring ist eine chronisch rezidivierende blasenbildende Autoimmundermatose, die im Zusammenhang mit der glutensensitiven Enteropathie (Zöliakie) steht. Häufig ist die Zöliakie jedoch klinisch nicht manifest, sondern es zeigen sich bei Darmschleimhautbiopsien eine typische Zottenatrophie im Jejunum oder lymphozytäre Infiltrate in der Submukosa (89). Klinisch findet sich ein juckendes, vesikuläres Exanthem an den Streckseiten der Extremitäten sowie gluteal und am Kapillitium (6, 89). Die Schleimhäute sind selten betroffen. Die Dermatitis herpetiformis Duhring manifestiert sich meist im jungen Erwachsenenalter (6). Labordiagnostisch zeigen sich granuläre Ablagerungen von IgA in den Papillenspitzen in der DIF sowie zirkulierende Serumantikörper gegen die Gewebstransglutaminase (6, 89). Die Patienten sollten immer auf eine glutenfreie Ernährung umgestellt werden. Zur Behandlung der Hauterscheinungen kann zusätzlich Dapson angewandt werden (85).

1.3.7 Therapie und Prognose

Das BP ist eine chronische Erkrankung der Haut, welche nach Beendigung der Therapie häufig erneut auftritt. Ziele der Therapie des BPs sind eine Krankheitskontrolle und eine Reduktion der Nebenwirkungen der angewandten Medikamente (16, 51).

Bei einem milden (<10 % der Körperoberfläche betroffen) oder lokalisiertem BP wird eine topische Therapie mit Clobetasolpropionat (40 g/d) empfohlen. Topische Steroide weisen insbesondere bei mildem bis moderaten BP eine gute Wirksamkeit auf. Topische Steroide haben weniger Nebenwirkungen als systemische Glukokortikosteroide (GKS) und können bei einem wenig ausgeprägten Befund für die Krankheitskontrolle ausreichen (16, 90).

Bei einem schwereren Befall werden zur Induktionstherapie in der Regel zusätzlich zur topischen Therapie mit GKS systemische GKS eingesetzt. Bezüglich der Dosierung variieren die Studienergebnisse und Expertenmeinungen. Aufgrund der Nebenwirkungen wird deshalb empfohlen die Dosis so gering wie möglich zu halten. Eine initiale Dosis von maximal 0,5-0,75 mg/kg/d (Milligramm/Kilogramm/Tag) wird meist empfohlen, um das BP zu kontrollieren (16, 51, 52).

Um die Dosis der oralen GKS möglichst gering zu halten, ist eine Kombination mit Steroid-sparenden Immunmodulatoren oder Immunsuppressiva häufig indiziert (52, 91).

Azathioprin wird adjuvant mit einer Dosierung von 2-2,5 mg/kg/d eingesetzt. Da die Thiopurinmethyltransferase (TPMT) häufig Polymorphismen unterliegt und dies den Metabolismus von Azathioprin beeinflussen kann, muss die Dosis eventuell angepasst werden. Hauptnebenwirkungen sind Blutbildveränderungen (Neutropenie, Lymphopenie), gastrointestinale Beschwerden und eine Hepatotoxizität und somit sind regelmäßige Laborkontrollen notwendig. Bei einer Unverträglichkeit von Azathioprin kann alternativ Mycophenolatmofetil (2 g/d, Gramm/Tag) eingesetzt werden (16, 52, 92, 93).

Als weiteres Immunsuppressivum hat sich in Studien Methotrexat (MTX) als effizient erwiesen. MTX wird in einer Dosierung von 10-15 mg/Woche verabreicht und kann sowohl in Kombination mit Steroiden als auch als Monotherapie eingesetzt werden. Die Nebenwirkungen beinhalten auch Blutbildveränderungen und Leberwerterhöhungen (52, 94, 95).

Zusätzlich hat sich zur Behandlung eines ausgeprägten Pemphigoids eine gute Wirkung von Dapson in einer Dosierung von 1-1,5 mg/kg/d und Doxycyclin (200mg/d) gezeigt. Da Dapson jedoch häufig zu einer Anämie oder einer Methämoglobinämie führt, sollte auch hier das Blutbild (Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase, Methämoglobin) in regelmäßigen Abständen kontrolliert werden (52).

In einigen schwereren Fällen (insbesondere bei therapierefraktärem vernarbendem Schleimhautpemphigoid) wurde Cyclophosphamid zur Behandlung eingesetzt. Diese Therapie ist beim BP in der Regel nicht notwendig (94, 96).

Auch der Einsatz von Rituximab, ein monoklonaler Antikörper gegen das von B-Lymphozyten exprimierte CD20-Glycoprotein, wurde in einigen Fällen beschrieben (97). Das BP lässt sich jedoch meist mit einer konservativen Therapie gut kontrollieren. Reicht eine Therapie mit GKS und Immunsuppressiva nicht aus, kann die off-label Therapie mit dem CD20-Antikörper erwogen werden. (97-99).

Bei therapierefraktären Fällen kann der Einsatz von hochdosierten intravenösen Immunglobulinen (IVIG) oder eine Plasmapherese induziert sein, um die zirkulierenden Antikörper zu eliminieren (100-102).

Das Ziel der Konsolidierungstherapie ist eine schnellstmögliche Krankheitskontrolle und die langsame Dosisreduktion der oralen Steroide und eventuell der Immunsuppressiva. Abhängig von der Krankheitsaktivität und der Therapie sollten die Patienten in frequenten Abständen untersucht werden, um den Therapieerfolg und die therapiebedingten Nebenwirkungen zu überprüfen (16).

1.4 Fragestellung

Das BP ist eine schwere Hautkrankheit, die gerade im prämonitorischen, nicht-bullösen Stadium oftmals klinisch schwierig zuzuordnen ist und bei den meisten Patienten eine systemische und langfristige Immunsuppression erfordert (6, 7). Aus diesen Gründen spielt die Labordiagnostik bei der Diagnosestellung, bei der Abgrenzung zu möglichen Differentialdiagnosen und bei der Therapieüberwachung eine bedeutende Rolle (7).

In der vorliegenden monozentrischen retrospektiven Studie wurden die diagnostischen Parameter, die für die Diagnosestellung eines BPs relevant sind, analysiert.

Zentrale Fragestellungen dieser Arbeit sind:

- Bestimmung der Sensitivität und Spezifität der Serum-Autoantikörperdiagnostik und der Gewebeuntersuchung mittels DIF und Histologie
- Eignung der Autoantikörpertiter im Serum für die Krankheitsaktivität und Adaption der Therapie

2. Material und Methoden

2.1 Beschreibung der Patienten- und Kontrollkollektive

Die Daten von 200 konsekutiven Patienten mit einem BP wurden retrospektiv ausgewertet. Die Patienten mit BP stellten sich zwischen Oktober 2010 und Dezember 2015 in der Universitäts-Hautklinik Tübingen vor und die Diagnose BP wurde anhand klinischer und labordiagnostischer Befunde gestellt. Eingeschlossen wurden Patienten, bei denen eine BP-passende Klinik dokumentiert war und die im Verlauf ihrer Diagnostik mindestens zwei BP-typische Diagnostikparameter aufwiesen. Hierzu gehören positive Ergebnisse im BP180-ELISA, BP230-ELISA, DIF, IIF, Histologie. Patienten mit einem Schleimhautpemphigoid wurden in diese Untersuchung nicht eingeschlossen. Zur Identifikation der Patienten wurde das Labor-EDV System SWISSLAB genutzt.

Für die Kontrollgruppe wurden konsekutive 400 Patienten ausgewählt, welche sich zwischen Januar 2014 und Mai 2015 in der Universitäts-Hautklinik Tübingen vorstellten und bei denen ein BP als mögliche Differentialdiagnose in Betracht gezogen wurde, sich dann aber im Verlauf nicht bestätigen lies. Auch die Patienten aus der Kontrollgruppe wurden über das Labor-EDV System SWISSLAB identifiziert.

Patienten mit anderen subepidermal blasenbildenden Dermatosen wurden aus dieser Studie ausgeschlossen.

Bei den Patienten beider Gruppen wurden die Antikörper gegen das BP180- und das BP230-Antigen zur Diagnosestellung mittels ELISA untersucht und somit waren die Daten aller 600 Patienten im Laborinformationssystem gespeichert.

Angaben, wie das Lebensalter bei Diagnosestellung, die Zeitspanne von Symptombeginn bis Diagnosestellung, sowie Geschlecht und Geburtsdatum stammen aus den elektronischen Krankenakten der Patienten (SAP-i.s.h.med).

2.2 Diagnostische Parameter

2.2.1 Eosinophile Granulozyten

Die absolute Zahl der eosinophilen Granulozyten wurde aus den Differentialblutbildbefunden, welche bei Erstvorstellung untersucht wurde entnommen. Lag die absolute Zahl der eosinophilen Granulozyten $>0,47 \cdot 10^3/\mu\text{l}$, wurde dies als eine absolute Eosinophilie gewertet. Hierzu wurden die Referenzwerte des Zentrallabors des Universitätsklinikums Tübingen verwendet (<http://vswim42003.med.uni-tuebingen.de/GenericDB2/LabUnta.asp>, 12/2016).

2.2.2 Dermatopathologische Befunde

Bei den meisten Patienten wurden im Rahmen der Diagnostik Hautbiopsien entnommen. Die Gewebeproben wurden dann in Formalin fixiert, in Paraffin eingebettet und im Labor wurden Gewebeschnitte für die histologische Beurteilung angefertigt. Diese wurden mit Hämatoxylin-Eosin (H&E) gefärbt und anschließend mittels Lichtmikroskopie von Dermatopathologen der Universitäts-Hautklinik Tübingen befundet.

Als „zu einem BP passend“ wurden folgende histologischen Befunde gewertet: eine subepidermale Spaltbildung, eine spongiotische Dermatitis, eosinophile Infiltrate sowie leukozytäre Infiltrate. Bei dem Vorhandensein von einem oder von mehreren der genannten morphologischen Kriterien wurde der histologische Befund vom Dermatohistologen als „zu einem BP passend“ gewertet. Aufgrund zahlreicher Differentialdiagnosen wurden leukozytäre Infiltrate als Kriterium bei der Kontrollgruppe jedoch nicht als „BP-typisch“ gewertet.

2.2.3 Direkte Immunfluoreszenz

Auch für die DIF wurden bei den Patienten im Rahmen der Diagnostik Hautbiopsien entnommen. Diese 4mm Stanzbiopsien wurden läsional, periläsional oder nicht läsional entnommen und entsprechend dokumentiert. Diese Proben wurden anschließend in Aqua gegeben, gekühlt und im Labor bei -20°C (Grad Celcius) im Gefrierschrank eingefroren. Danach wurden Kryoschnitte gefertigt. Das Gewebe wurde mit Fluoreszein markierten, handelsüblichen Antikörpern gegen C3, IgG, IgA, IgM und Fibrinogen inkubiert. Die Antikörper gegen IgG,

IgA und IgM stammen von der Firma Werfen (Kirchheim), die Antikörper gegen C3 und Fibrinogen sind von der Firma Dako (Hamburg). Die Objektträger wurden mit Fluoreszenzmikroskopen (Axio Lab.A1, Carl Zeiss, Oberkochen; Leica TCS-SP/Leica DM RB, Leica, Wetzlar) mikroskopiert und befundet. Homogene Ablagerungen von IgG und/oder C3 entlang der Basalmembran wurden als positiv für ein BP (Pemphigoid Muster) gewertet.

2.2.4 Indirekte Immunfluoreszenz

Die IIF wurde zur Detektion zirkulierender IgG-Serumautoantikörper durchgeführt. Als Gewebe wurde Affenösophagus verwendet. Die Gewebepräparate stammen von der Firma Instrumentation Laboratory/Werfen. Das Patientenserum wurde 1:10, 1:20, 1:40 und 1:80 verdünnt und auf den vorgefertigten Objektträgern inkubiert. Sind Autoantikörper im Serum des Patienten vorhanden, so binden diese an die Antigene des Gewebes. Es wurden in einer weiteren Inkubation Fluoreszein-markierte, humane Sekundär-Antikörper (FITC IgG conjugate von Instrumentation Laboratory/Werfen) hinzugegeben, welche an die an das Gewebe gebundenen Antikörper binden. Die Proben wurden anschließend unter dem Fluoreszenzmikroskop (Axio Lab.A1, Carl Zeiss, Oberkochen; Leica TCS-SP/Leica DM RB, Leica, Wetzlar) beurteilt. Als positiv bewertet wurden homogen lineare Fluoreszenzmuster entlang der BMZ. Ein fehlendes Muster oder ein epidermales Muster, das zum Beispiel bei Krankheiten aus der Pemphigus Gruppe vorkommt, wurden als negativ gewertet.

2.2.5 BP180- und BP230-ELISA

Die Seren der Patienten wurden mit ELISA Systemen von der Euroimmun AG (Lübeck) untersucht. Im BP180-NC16A-4X-ELISA wird ein rekombinantes BP180-NC16 Antigen verwendet. Der BP230-ELISA setzt ein C-terminales Teilstück des humanen BP230 ein. Dieses Teilstück des Antigens wird in *Escherichia coli* hergestellt und anschließend biochemisch aufgereinigt (103-105). Der ELISA wird automatisiert durchgeführt und die optische Dichte wurde bei 450 nm (Nanometer) mit einem QUANTA-Lyser 160 (Werfen) gemessen. Die Befunde beider ELISAs wurden so interpretiert, wie es in der Anweisung

(Beipackzettel) von der Euroimmun AG vorgeschlagen wird: Bei einem Cut-off von 20 U/ml (Units/Milliliter) wurden <20 U/ml als negativ, und ≥ 20 U/ml als positiv gewertet. Die untere Nachweisgrenze lag für beide Anti-BP-ELISAs bei 2 U/ml, die obere bei 200 U/ml.

Von einigen Patienten wurde zusätzlich der Autoantikörper Titerverlauf ausgewertet. Hierfür wurden Patienten ausgewählt, bei denen mindestens acht Besuche dokumentiert waren.

2.3 Therapie, klinisches Bild und Follow-up

Bei Patienten mit BP wurden die klinischen Befunde bei den jeweiligen Visiten (stationär sowie ambulant) und die Therapien anhand der Aktendokumentation entnommen und ausgewertet.

Um die Abhängigkeit der Krankheitsaktivität von der Höhe der Autoantikörpertiter auszuwerten, wurde der klinische Befund in drei Kategorien eingeteilt. Ein „aktives Stadium“, eines ohne Veränderungen auf der Haut, welches als „Remission“ bezeichnet wurde und ein Stadium, welches als „Rückfall“ bezeichnet wurde. Stellte sich ein Patient mit Läsionen auf der Haut vor, wurde dies dem aktiven Stadium zugeordnet. Zeigte er unter Therapie im Verlauf ein blandes Hautbild, wurde dies als „Remission“ bezeichnet und stellte sich der Patient nach einer Phase ohne Hauterscheinungen erneut mit Läsionen vor, wurde dies dem Stadium „Rückfall“ zugeordnet. Dies war notwendig, um die Krankheitsaktivität der Patienten einzuordnen und vergleichen zu können.

2.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe der Softwares Graph Pad PRISM Version 6 und SPSS Statistics 23.

Zur Berechnung der Sensitivität wurden für jeden Parameter (BP180-, BP230-ELISA, DIF und IIF sowie Histologie Befunde) alle Patienten des Gesamtkollektivs ($n=600$) miteinbezogen, welche in mindestens zwei der anderen vier Parametern zu einem BP passende Befunde aufzeigten. Für die Spezifität wurden alle Patienten als Kontrollen gewertet, welche in mindestens drei der anderen Parameter zu einem BP nicht-passende Befunde zeigten.

Ein *P*-Wert <0,05 wurde als statistisch signifikant gewertet.

2.5 Ethikvotum

Zu Beginn der Datenerhebung wurde das Einverständnis der Ethikkommission eingeholt (Nummer 695/2014R).

2.6 Erklärung

Die Methoden der vorliegenden Arbeit sind auch Teil der Publikation „Diagnostic value of autoantibody titres in patients with bullous pemphigoid“, welche in der Fachzeitschrift „European Journal of Dermatology“ im Januar 2018 veröffentlicht wurde.

3. Ergebnisse

3.1 Die Patienten- und Kontrollkollektive

3.1.1 Geschlecht

Von den 200 BP-Patienten waren 92 männlich (46,00%) und 108 weiblich (54,00%). In der Kontrollgruppe waren 190 (47,50%) Patienten männlich und 210 (52,50%) weiblich (Tabelle 2).

3.1.2 Lebensalter bei Diagnosestellung

Das Lebensalter bei Erstdiagnose (ED) konnte bei 198 der 200 Patienten mit BP ausgewertet werden. Davon waren 91 männlich und 107 weiblich. Das mittlere Alter bei Diagnosestellung entsprach 78,4 Jahren (n=198, SD (Standardabweichung): 9,8 Jahre). Bei den männlichen Patienten lag das Lebensalter bei ED bei 78,1 Jahren (n=91, SD: 9,1 Jahre), bei den weiblichen Patienten bei 78,7 Jahren (n=107, SD: 10,3 Jahre) (Tabelle 2). Es lag eine Normalverteilung des Alters bei ED vor (Histogramm/QQ-Plot).

Das mittlere Alter des Kontrollkollektivs lag bei 63,7 Jahren (n=400, SD: 18,7 Jahre). Bei den weiblichen Kontrollen wurde ein mittleres Alter von 61,8 Jahren berechnet (n=210, SD: 20,2 Jahre). Bei den männlichen Kontrollen lag das mittlere Alter bei 65,9 Jahren (n=190, SD: 16,7 Jahre).

3.1.3 Dauer bis Diagnosestellung

Bei den BP-Patienten wurde die Dauer von Symptombeginn bis Diagnosestellung in Monaten untersucht. Diese konnte bei 170 Patienten (78 männlich, 92 weiblich) bestimmt werden. Wurde die Diagnose innerhalb eines Monats nach Symptombeginn gestellt, wurde dies mit „0 Monate“ bewertet. Die Monate bis zur Diagnosestellung waren nicht normalverteilt (Histogramm/QQ-Plot). Der Median lag bei 2 Monaten (Range: 0-59 Monate, 25% Perzentile: 1 Monat, 75% Perzentile: 5,3 Monate). Bei den männlichen Patienten lag dieser bei 1 Monat (Range: 0-38 Monate, 25% Perzentile: 1 Monat, 75 % Perzentile: 5 Monate) und bei den weiblichen Patienten bei 2 Monaten (Range 0-59 Monate, 25% Perzentile: 1 Monat, 75% Perzentile: 6 Monate) (Tabelle 2).

Tabelle 2: Demographische Daten der Patienten mit BP modifiziert nach Eckardt et al., 2018 (106).

	Alle	Männlich	Weiblich
Geschlecht	n=200	n=92 (46,00%)	n=108 (54,00%)
Mittleres Alter bei Diagnose	78,4 Jahre	78,1 Jahre	78,7 Jahre
Dauer bis Diagnose (Median)	2 Monate	1 Monat	2 Monate

3.1.4 Komedikation

Ein weiteres Untersuchungsziel war die Häufigkeit der Einnahme von Medikamenten, die als Trigger für BP in der Literatur genannt sind. Insbesondere wurde die Einnahme von ACE-Hemmer (Ramipril, Enalapril, Lisinopril, Benalapril, Fosinopril, Captopril) und von Schleifendiuretika (Furosemid, Torasemid), sowie von Acetylsalicylsäure (ASS) erfasst.

Von 196 Patienten der BP-Gruppe konnte dies aus den Krankenakten entnommen werden. Häufig wurden mehrere der untersuchten Medikamente gleichzeitig eingenommen. Bei Erstgespräch gaben 52/196 (26,53%) Patienten an, ACE-Hemmer einzunehmen, 56/196 (28,57%) berichteten über die Einnahme von Schleifendiuretika und 68/196 (34,69%) gaben eine Medikation mit ASS an (Tabelle 3).

Tabelle 3: Einnahme von Arzneimittel, die unter Verdacht stehen, ein BP zu triggern.

Komedikation	BP-Patienten (n=196)
ACE-Hemmer	52 (26,53%)
Ramipril	39
Enalapril	6
Benalapril	3
Fosinopril	2
Captopril	1
Lisinopril	1
Schleifendiuretika	56 (28,57%)
Furosemid	47
Torasemid	9
ASS	68 (34,69%)

3.1.5 Komorbiditäten

Da ein BP auch als paraneoplastische Krankheit auftreten kann, wurde zusätzlich untersucht, wie viele Patienten der BP-Gruppe (n=200) bei Diagnosestellung an einem malignen Tumor erkrankt waren. Außerdem wurden dokumentierte Malignome in der Vergangenheit erfasst (Tabelle 4).

Elf Patienten waren zum Zeitpunkt der Diagnosestellung an einem Malignom erkrankt. Bei einem Patienten waren gleichzeitig zwei Tumoren dokumentiert (Prostatakarzinom und Basalzellkarzinom). Bei 2 der 11 Patienten wurde das BP in der Krankenakte als ein paraneoplastisches Geschehen gewertet. Hierzu zählten eine Patientin mit Mammakarzinom und der zweite Patient litt an einem Pleuramesotheliom. 18 Patienten hatten in ihrer Krankengeschichte ein zurückliegendes Malignom. Bei diesen Patienten waren bei einem Patienten drei und bei einem weiteren Patienten zwei Malignome vermerkt.

Tabelle 4: Zurückliegende und aktuelle Malignome bei Patienten mit BP.

Ca, Karzinom; Z.n., Zustand nach.

Malignom	BP-Patienten (n=29)
Basalzell-Ca	4
Prostata-Ca	3
Melanom	1
Non-Hodgkin Lymphom	1
Plasmozytom	1
Mamma-Ca	1 (als Paraneoplasie gewertet)
Pleuramesotheliom	1 (als Paraneoplasie gewertet)
Z.n. Kolon-Ca	5
Z.n. Mamma-Ca	4
Z.n. Prostata-Ca	3
Z.n. Bronchial-Ca	2
Z.n. Ovarial-Ca	1
Z.n. Basalzell-Ca	1
Z.n. Larynx-Ca	1
Z.n. Ösophagus-Ca	1
Z.n. Magen-Ca	1
Z.n. Rektum-Ca	1
Z.n. Blasen-Ca	1

3.2 Diagnostische Parameter

3.2.1 Eosinophile Granulozyten

Eine absolute Zahl der Eosinophilen Granulozyten im Blutbild größer als $0,47 \cdot 1000/\mu\text{l}$ wurde als Eosinophilie gewertet (Referenzwert Universitätsklinikum Tübingen). Bei Erstvorstellung zeigten 53 von 157 Patienten (33,76%) mit dokumentiertem Blutbild in der BP-Gruppe eine absolute Eosinophilie. In der Kontrollgruppe konnte bei 35 von 185 (18,92%) untersuchten Blutbildern eine Eosinophilie nachgewiesen werden. Die Odds Ratio (OR) lag bei 2,184 (95% CI: 1,332-3,582; $P=0,002$, Fisher's Chi-Quadrat Test). Die absoluten Zahlen der eosinophilen Granulozyten der Patienten und der Kontrollgruppe sind in Abb. 8 dargestellt.

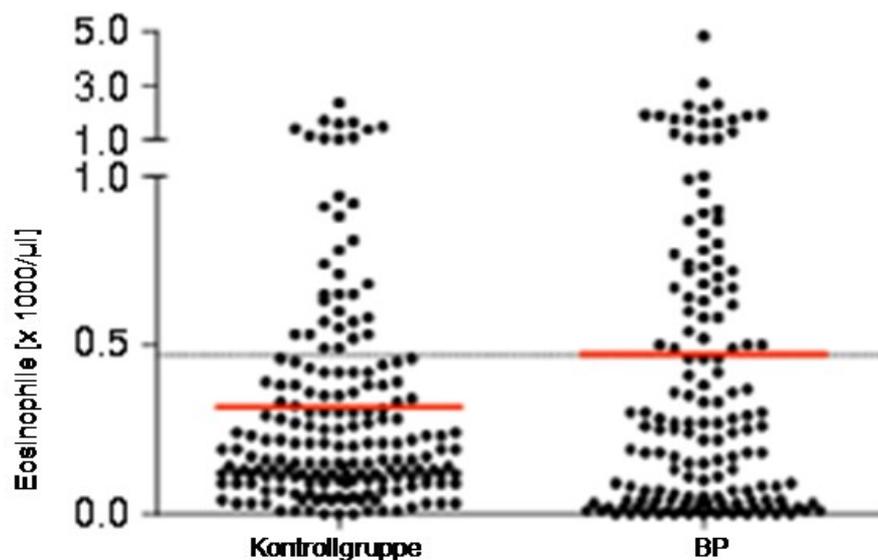


Abb. 8: Die absolute Zahl der eosinophilen Granulozyten bei BP-Patienten und der Kontrollgruppe aus Eckardt et al., 2018 (106).

Das arithmetische Mittel wird jeweils durch die rote Linie dargestellt. Die graue Linie markiert die Anzahl von $0,47 \cdot 1000$ eosinophile Granulozyten pro Mikroliter. Werte darüber wurden als Eosinophilie gewertet.

3.2.2 Histologie Befunde

Die Auswertung der histologischen Befunde ist in Tabelle 5 dargestellt. Als „zu einem BP passend“ wurden eine subepidermale Spaltbildung, eosinophile Infiltrate, lymphozytäre Infiltrate sowie eine spongiotische Dermatitis in den Gewebeproben gewertet. Aufgrund der zahlreichen Differentialdiagnosen wurden lymphozytäre Infiltrate bei der Kontrollgruppe jedoch nicht als „zu einem BP passend“ gewertet. 181 histologische Befunde der BP-Gruppe wurden mit 239 histologischen Befunden der Kontrollgruppe verglichen (Tab. 5). Bei den Patienten mit BP zeigten sich bei 141/181 (77,90%) der Patienten ein typischer histologischer Befund. Bei der Kontrollgruppe wurde in 38/239 (15,83%) Befunden BP-charakteristische Merkmale beschrieben (Tabelle 5).

Tabelle 5: Die Auswertung der Histologie Befunde von der BP-Gruppe und dem Kontrollkollektiv.

	BP-Patienten, n (%)	Kontrollgruppe, n (%)
Zu BP passend	141 (77,90%)	38 (15,83%)
Nicht zu BP passend	40 (22,10%)	202 (84,17%)
Gesamt	181	240

3.2.3 Direkte Immunfluoreszenz

Bei den Patienten mit BP zeigten sich bei 142/177 (80,23%) ein BP-typischer Befund in der DIF. Bei der Kontrollgruppe zeigte sich lediglich bei 5 Patienten ein positiver Befund (n=191). Bei diesen 5 Patienten wurden dermatohistologisch und klinisch ein Erythema exsudativum multiforme, eine Narbe, ein Arzneimittellexanthem, eine Prurigoform der atopischen Dermatitis und ein Prurigo nodularis diagnostiziert.

Von 170 der 177 Immunfluoreszenzuntersuchungen waren bei der BP-Gruppe die Entnahmestellen bekannt. Wurde die Hautprobe läsional (läs) entnommen, war das Ergebnis bei 17 Patienten positiv (n=21). Bei einer periläsionalen (pläs) Biopsie ergaben sich bei 69/90 Fällen (76,67%) Ablagerungen von IgG und/oder C3 entlang der Basalmembran. Bei der nicht läsionalen (niläs) Entnahme der Probe auf gesunder Haut war bei 50 von 59 Proben ein BP-typischer Befund vorhanden (Tabelle 6).

Tabelle 6: Die Ergebnisse der DIF bei den Patienten mit BP und der Kontrollgruppe modifiziert nach Eckardt et al., 2018 (106).

Läs, läsional; niläs, nicht läsional; pläs, periläsional

Entnahmestelle	Positiv, n (%)	Negativ, n (%)
BP-Gruppe		
Läsional (n=21)	17 (80,95%)	4
Periläsional (n=90*)	69 (76,67%)	21
Nicht läsional (n=59)	50 (84,75%)	9
Läs, pläs, niläs (n=170)	136 (80,00%)	34
Gesamt (n=177)	142 (80,23%)	35
Kontrollgruppe		
Läsional (n=43)	0	43 (100%)
Periläsional (n=116*)	5	111 (95,69%)
Nicht läsional (n=31)	0	31 (100%)
Läs, pläs, niläs (n=190)	5	185 (97,37%)
Gesamt (n=191)	5	186 (97,38%)

Ferner wurden die Fluoreszenzmuster der DIF von beiden Gruppen verglichen. Die folgende Tabelle zeigt die Fluoreszenzmuster in der DIF bei den BP-

Patienten und der Kontrollgruppe unabhängig von den Entnahmestellen der Hautbiopsie.

Bei 142/177 Patienten (80,23%) der BP-Gruppe waren Ablagerungen von C3 und/oder IgG entlang der Basalmembran vorhanden. In der Kontrollgruppe war dies bei 5/191 (2,62%) Patienten der Fall. Bei 4/177 (2,26%) Patienten der BP-Gruppe zeigten sich IgA-Ablagerungen entlang der BMZ. Die Fluoreszenzmuster in der DIF von den Patienten und der Kontrollgruppe sind in Tabelle 7 dargestellt.

Tabelle 7: Die Fluoreszenzmuster in der DIF bei Patienten und Kontrollkollektiv.

Für jedes Antiserum sind die nachgewiesenen Fluoreszenzmuster und die entsprechende Anzahl der Patienten (n) in der Tabelle aufgelistet.

BMZ, Basalmembranzonenmuster; CytBod, Cytoid bodies; Dermis Ig, Immunglobuline dermal; Epid, interc, Epidermal interzellulär; LE-Band, Lupus erythematoses Band; LplanusFib, Lichen planus Fibrinogen; neg, negativ.

Fluoreszenzmuster	C3	IgG	IgA	IgM	Fibri- nogen
BP-Gruppe					
Neg	48	73	169	170	171
BMZ	127	104	4	2	0
LE-Band	0	0	0	1	1
Dermis Ig	1	0	0	0	0
Gefäße obere Dermis	0	0	1	0	1
CytBod	0	0	3	4	0
LplanusFib	0	0	0	0	2
Gefäße dermale Papillen	0	0	0	0	0
Epid. Interc.	0	0	0	0	0
Gefäße untere Dermis	0	0	0	0	0
BMZ + LE-Band	1	0	0	0	1
LplanusFib + LE-Band	0	0	0	0	1
Gesamt	177	177	177	177	177
Kontrollgruppe					
Neg	171	178	184	183	174
BMZ	5	2	3	0	0
LE-Band	7	4	0	2	3
Dermis Ig	0	0	0	0	0
Gefäße obere Dermis	4	0	1	0	3
CytBod	1	1	2	6	1
LplanusFib	0	0	0	0	8
Gefäße dermale Papillen	1	0	0	0	0
Epid. Interc.	2	6	1	0	0
Gefäße untere Dermis	0	0	0	0	1
BMZ + LE-Band	1	0	0	0	0
LplanusFib + LE-Band	0	0	0	0	1
Gesamt	191	191	191	191	191

3.2.4 Indirekte Immunfluoreszenz

Die IIF auf Affenösophagus ergab bei 77 von 106 Patienten der BP-Gruppe (72,64%) ein Basalmembranzonenmuster und wurde somit als positiv gewertet. Bei 5 Patienten waren epidermale Ablagerungen vorhanden und bei 24 Patienten ließen sich keine spezifischen Fluoreszenzmuster nachweisen. Somit wurde bei 29 BP-Patienten (27,36%) die IIF als negativ gewertet. Bei 4 von 5 Seren mit epidermalem Muster in der IIF wurden mittels ELISA Anti-Dsg 1 und 3 Antikörper getestet, die Ergebnisse waren negativ. Bei der Kontrollgruppe zeigte sich bei 6/133 (4,51%) Patienten ein BMZ-Muster und bei 32 (24,06%) Patienten ein epidermales Fluoreszenzmuster. Bei 21 dieser 32 Serumproben mit epidermalem Fluoreszenzmuster wurden mittels ELISA Anti-Dsg 1 und 3 Antikörper gescreent. Bei 10/21 Patienten konnten Antikörper gegen Dsg nachgewiesen werden. Diese Patienten erhielten eine Diagnose aus der Gruppe der "Pemphigus"-Krankheiten. Die Dsg1 und 3 Autoantikörper negativen Patienten erhielten folgende Diagnosen, wie in den Patientenakten dokumentiert: Ekzem (n=3), Morbus Grover, Exanthem, Pemphigus, Dermatitis, Leukoplakie, Lichen ruber, Erythema exsudativum multiforme. Bei einem Patienten war die Diagnose nicht dokumentiert. Die übrigen 11 der 32 Seren wurden nicht auf die Präsenz von Antikörpern gegen Dsg 1 und 3 getestet.

Bei 95 Patienten konnte kein Fluoreszenzmuster nachgewiesen werden. Somit war die IIF bei 127/133 (95,49%) Patienten der Kontrollgruppe mit durchgeführter Testung richtig negativ. Bei dem Großteil der Patienten mit BP (68/77, 88,31%) ließen sich beim BMZ-Muster Antikörpertiter $\geq 1:80$ nachweisen. Lediglich 9/77 (11,69%) zeigten Titer $\leq 1:40$ in der IIF (Tabelle 8).

Tabelle 8: Titerverteilung in der IIF bei Patienten mit BP und Kontrollen aus Eckardt et al., 2018 (106).

Titer	Fluoreszenzmuster BMZ, n	Epidermal, n
	BP-Gruppe	
1:10	3	0
1:20	2	0
1:40	4	3
1:80	37	1
>1:80	31	1
Gesamt	77	5
	Kontrollgruppe	
1:10	1	0
1:20	1	6
1:40	0	10
1:80	3	8
>1:80	1	8
Gesamt	6	32

3.2.5 BP180- und BP230-ELISA

Von 193 Patienten der BP-Gruppe sowie 400 Patienten der Kontrollgruppe konnten die ELISA Ergebnisse ausgewertet werden. Bei 167 Patienten der BP-Gruppe (n=193) ergab der BP180-ELISA ein positives Ergebnis. Beim BP230-ELISA war dies nur bei 111 Patienten der Fall. Bei 14 Patienten der Kontrollgruppe war der BP180 ELISA positiv. Der BP230 ELISA zeigte bei 22 Patienten der Kontrollgruppe ein positives Ergebnis. Von den BP180 und BP230 positiven Patienten der Kontrollgruppe (n=36) wurde bei der Mehrheit (n=20) ein Ekzem (atopisches oder prurigoformes Ekzem) diagnostiziert. Außerdem wurden bei diesen Patienten folgende Diagnosen gestellt: Exanthem (n=2), orale Aphthose (n=2), Pemphigus (n=2), Pruritus (n=2), diabetische bzw. Spannungsblase (n=2), Gingivitis (n=2), Lichen ruber (n=1), Psoriasis (n=1), Follikulitis (n=1) und Iktusreaktion (n=1). Bei 2 Patienten der Kontrollgruppe zeigten bei Erstvorstellung beide ELISAs ein positives Ergebnis. Bei diesen Patienten wurden klinisch-histologisch eine Prurigoform einer atopischen Dermatitis, sowie eine Aphthe vom Major Typ diagnostiziert.

Die folgende Tabelle 9 stellt die Ergebnisse der Anti-BP-ELISAs der beiden Gruppen dar.

Tabelle 9: Die Ergebnisse der Anti-BP-ELISAs von BP-Gruppe und der Kontrollgruppe.

In der Tabelle sind die Ergebnisse der Anti-BP-ELISAs (positiv ≥ 20 U/ml oder negativ < 20 U/ml) und die entsprechende Anzahl der Patienten n (%) dargestellt.

	Anti-BP180 Antikörper	Anti-BP230 Antikörper	Anti-BP180 und Anti-BP230 Antikörper	Anti-BP180 oder Anti- BP230 Antikörper
BP-Gruppe				
Positiv	167 (86,53%)	111 (57,51%)	96 (49,74%)	182 (94,30%)
Negativ	26 (12,95%)	82 (42,49%)	11 (5,70%)	97 (50,26%)
Gesamt	193	193	193	193
Kontrollgruppe				
Positiv	14 (3,50%)	22 (5,50%)	2 (0,50%)	34 (8,50%)
Negativ	386 (96,50%)	378 (94,50%)	366 (91,50%)	398 (99,50%)
Gesamt	400	400	400	400

Bezüglich der Höhe der Autoantikörpertiter gegen BP180 und BP230 zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Patienten mit BP und der Kontrollgruppe ($P < 0,0001$, Mann Whitney U-Test), (Abb. 9a).

Bei der BP-Gruppe wurden insgesamt höhere Antikörpertiter gefunden. In 121 (62,69%) Seren zeigten sich BP180 Autoantikörpertiter > 100 U/ml und in 91/193 (47,15%) Seren konnten sogar Werte über der Nachweisgrenze von 200 U/ml bestimmt werden. Bei der Kontrollgruppe wurden bei 386/400 (96,50%) Werte < 20 U/ml, also unter dem cut-off, gemessen.

Für die Autoantikörper gegen BP230 zeigten sich niedrigere Titer als gegen BP180. Bei dem Großteil der Patienten (137/193, 70,98%) ließen sich Antikörpertiter ≤ 100 U/ml nachweisen und nur 20 Patienten (10,36%) zeigten Werte > 200 U/ml (Abb. 9b).

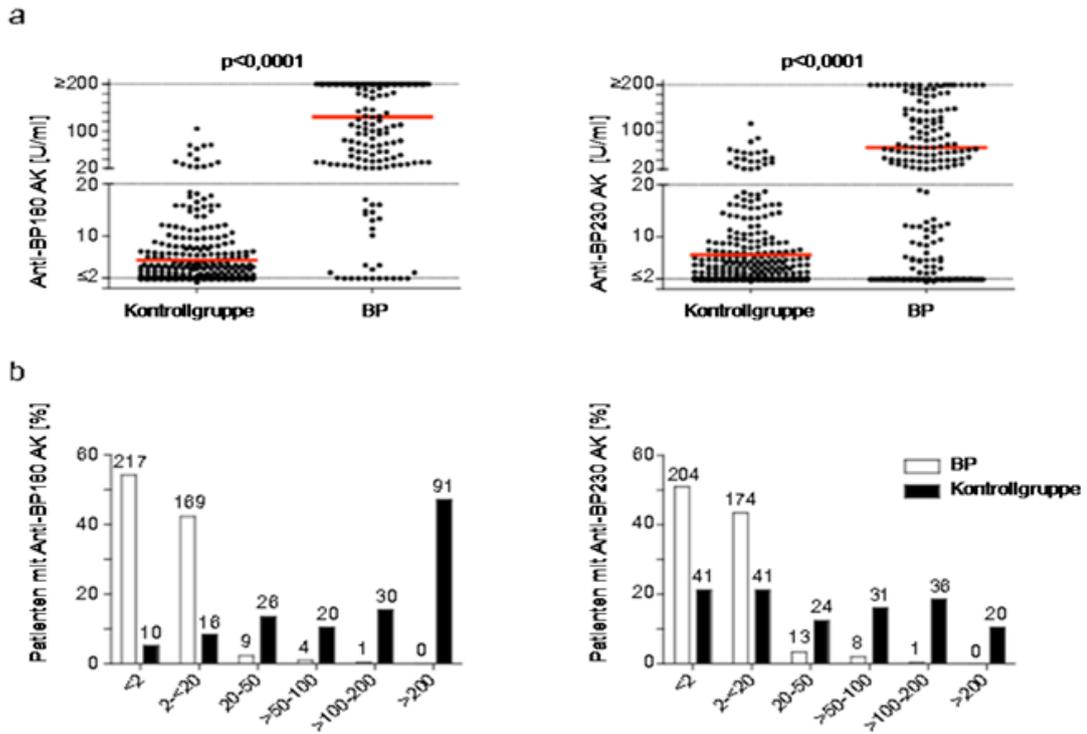


Abb. 9: Die Titerverteilung im BP180- und BP230-ELISA bei den Patienten und dem Kontrollkellektiv aus Eckardt et al., 2018 (106).

Die Titerverteilung im BP180- und BP230-ELISA bei den Patienten und dem Kontrollkolektiv ist in dieser Abbildung dargestellt. Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen ($P < 0,0001$).

3.2.6 Sensitivität und Spezifität

Um die diagnostische Bedeutung der Parameter zu vergleichen, haben wir die Ergebnisse von verschiedenen Untersuchungen ausgewertet. Die Ergebnisse von BP180-ELISA, BP230-ELISA, DIF und IIF sowie die Histologiebefunde und die absolute Zahl der eosinophilen Granulozyten im Blut wurden von der BP-Gruppe und dem Kontrollkollektiv ausgewertet und verglichen. Im Methodenteil wird die Vorgehensweise für die Berechnung der Sensitivität und Spezifität genau beschrieben.

Der BP180-ELISA hatte eine Sensitivität von 84,97%. Für den BP230-ELISA berechneten wir eine Sensitivität von 55,49%. Für die Berechnung der Sensitivität der DIF wurden alle drei Biopsielokalisationen betrachtet und es wurde eine Sensitivität von 77,16% ermittelt. Die IIF und die Histologie hatten Sensitivitäten von 72,73% und 76,25%. Die Spezifitäten der Parameter lagen bis auf Spezifität der Histologie bei >92%. Die Spezifitäten von BP180-ELISA bzw. BP230-ELISA lagen bei 93,94% bzw. 92,94%. Die DIF hatte eine Spezifität von 94,87% und für die IIF berechneten wir eine Spezifität von 93,69%. Die Spezifität der Histologie lag bei 81,29% (Tabelle 10).

Tabelle 10: Sensitivität und Spezifität der Diagnostikparameter aus Eckardt et al., 2018 (106).

	Patienten (n) für die Berechnung der			
	Sensitivität	Spezifität	Sensitivität	Spezifität
BP180	173	165	84,97%	93,94%
BP230	173	170	55,49%	92,94%
DIF	162	156	77,16%	94,87%
IIF	99	111	72,73%	93,69%
Histologie	160	171	76,25%	81,29%

3.3 Therapie

Die empfohlenen und durchgeführten Therapien der Patienten mit BP wurden anhand der dokumentierten Krankenakten ausgewertet. Angaben zur Therapie waren bei 198 der 200 Patienten vorhanden. Fast alle (n=192) wurden topisch mit Steroiden behandelt. 169 Patienten erhielten eine Systemtherapie mit Steroiden. 141 Patienten wurden immunsuppressiv mit Azathioprin behandelt und 7 Patienten mit MTX. Mycophenolatmofetil erhielten 16 Patienten. 10 Patienten wurden antientzündlich mit Doxycyclin behandelt und in 5 Fällen wurde Dapson zur Therapie eingesetzt. Die Gabe von IVIG war lediglich bei einem Patienten notwendig (Abb. 10). 25 Patienten erhielten eine Monotherapie mit topischen Steroiden und 3 Patienten erhielten eine Monotherapie mit systemischen GKS. 170 Patienten erhielten im Verlauf mehrere der ausgewerteten Therapien. Eine Polymedikation oder eine Änderung der Therapie bei unerwünschten Nebenwirkungen oder ungenügendem Therapieansprechen waren hierfür ursächlich.

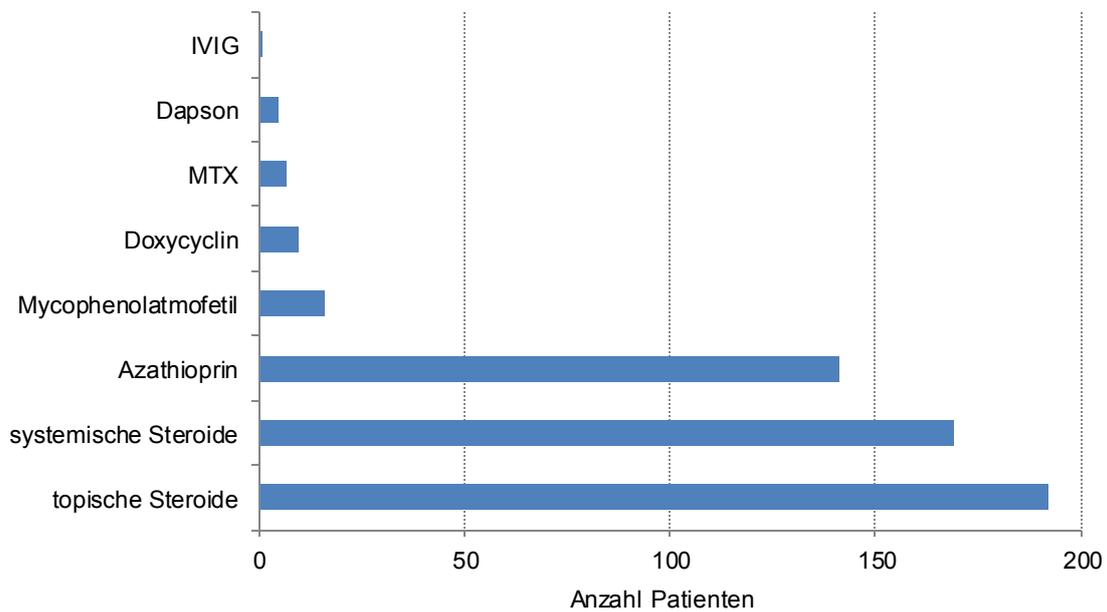


Abb. 10: Die Therapie des BPs aus Eckardt et al., 2018 (106).

Medikamentöse Therapie des BPs bei 198 Patienten der BP-Gruppe ist in dieser Abbildung dargestellt. 170 Patienten bekamen mehrere Therapien.

3.4 Klinisches Bild und Follow-up

Von den 200 Patienten mit BP waren bei 8 Patienten zusätzlich zur Haut die Schleimhäute befallen und bei einem Fall wurde ein Pemphigoid nodularis diagnostiziert.

Bei 192 Patienten zeigten sich bei Erstvorstellung die BP-typischen Effloreszenzen auf der Haut (aktiv). Bei 8 Patienten konnten bei Erstvorstellung keine pathologischen Veränderungen auf der Haut festgestellt werden. Diese litten lediglich unter Juckreiz oder entwickelten erst zu einem späteren Zeitpunkt Läsionen auf der Haut. 52 Patienten wurden im Verlauf in Remission gesehen (Remission). 15 Patienten stellten sich nach Remission mit einer erneuten Verschlechterung der Haut vor (Rückfall).

Ferner wurde untersucht, ob die Krankheitsaktivität bzw. das klinische Bild der Haut im Zusammenhang mit der Höhe der Antikörper im BP180- bzw. BP230-ELISA steht (Abb.11). Da es sich um eine verbundene Stichprobe handelt, wurde der Wilcoxon-Vorzeichenrangtest angewandt. Sowohl im BP180-ELISA als auch im BP230-ELISA konnte ein signifikanter Unterschied der Titerhöhe zwischen dem aktiven Krankheitsstadium und der Remission gezeigt werden ($n=52$, $P<0,0001$, Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test). Für die BP180 Antikörper zeigte sich auch ein signifikanter Unterschied zwischen einem Rückfall und der Remission ($n=15$, $P=0,0269$, Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test). Bei der Antikörperhöhe während dem aktiven Stadium und einem Rückfall ließ sich kein signifikanter Unterschied darstellen ($n=15$, Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test).

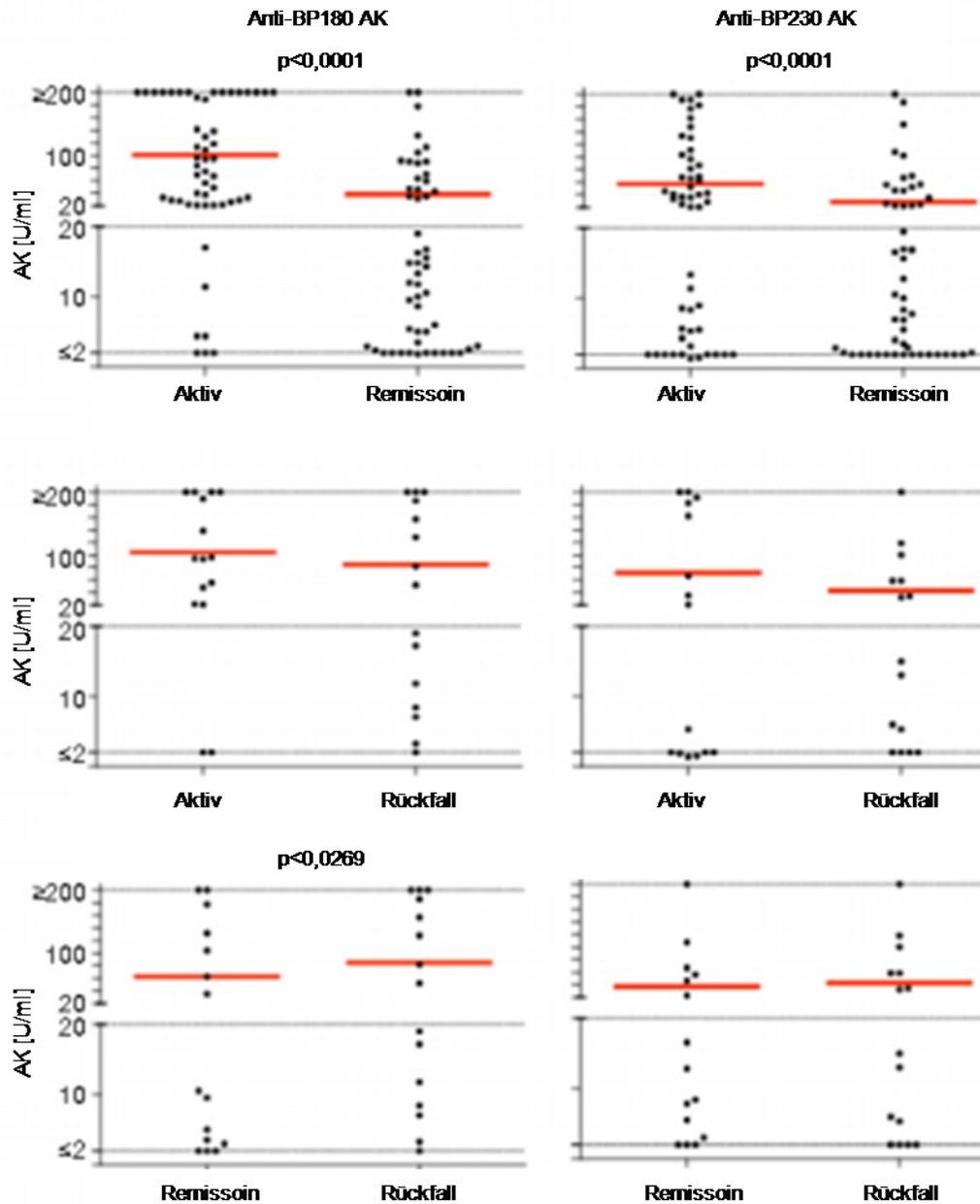


Abb. 11: Antikörpertiter im ELISA in den verschiedenen Krankheitsstadien aus Eckardt et al., 2018 (106).

In dieser Abbildung sind die BP180 sowie die BP230 Antikörpertiter in Abhängigkeit von dem Hautbefund dargestellt. Die roten Linien repräsentieren jeweils die Mittelwerte. Es konnte ein signifikanter Unterschied zwischen dem aktiven Stadium und einer Remission nachgewiesen werden ($n=52$, $P < 0,0001$). Zwischen einer Remission und einem Rückfall zeigte sich nur im BP180-ELISA ein signifikanter Unterschied ($n=15$, $P < 0,0269$).

Bei 15 Patienten, bei denen mindestens 8 Visiten mit Antikörperbestimmungen dokumentiert wurden, wurden die Antikörpertiter im Verlauf genauer untersucht und in Abb. 12 dargestellt. Alle 15 Patienten stellten sich mindestens acht Mal in der Autoimmunsprechstunde der Universitäts-Hautklinik vor und es wurde die Haut sowie die Höhe der Antikörper untersucht. In der folgenden Abb. 12 ist der Antikörpertiter im ELISA für jeden Besuch dargestellt. Zusätzlich zeigen die Grafiken die Krankheitsaktivität bei den Visiten. Da die obere bzw. die untere Nachweisgrenze des ELISAs bei 200 U/ml bzw. bei 2 U/ml liegt, wurden Werte >200 U/ml mit ≥ 200 U/ml und Werte <2 U/ml mit ≤ 2 U/ml in den Grafiken angegeben. Die Krankheitsaktivität wurde im Verlauf farblich hinterlegt (rot=BP Hautveränderungen, grün=keine Hautveränderungen). Die aktuellen Therapien sind zusätzlich farblich unterhalb der Grafiken dargestellt. Aus den Abbildungen wird ersichtlich, dass die Patienten, im aktiven Stadium tendenziell höhere Antikörpertiter ausweisen, als in Remission. Kommt es zu einem Rückfall, steigen diese oft wieder an. Außerdem lässt sich veranschaulichen, dass die Autoantikörper unter der Therapie fallen bzw. niedrig bleiben.

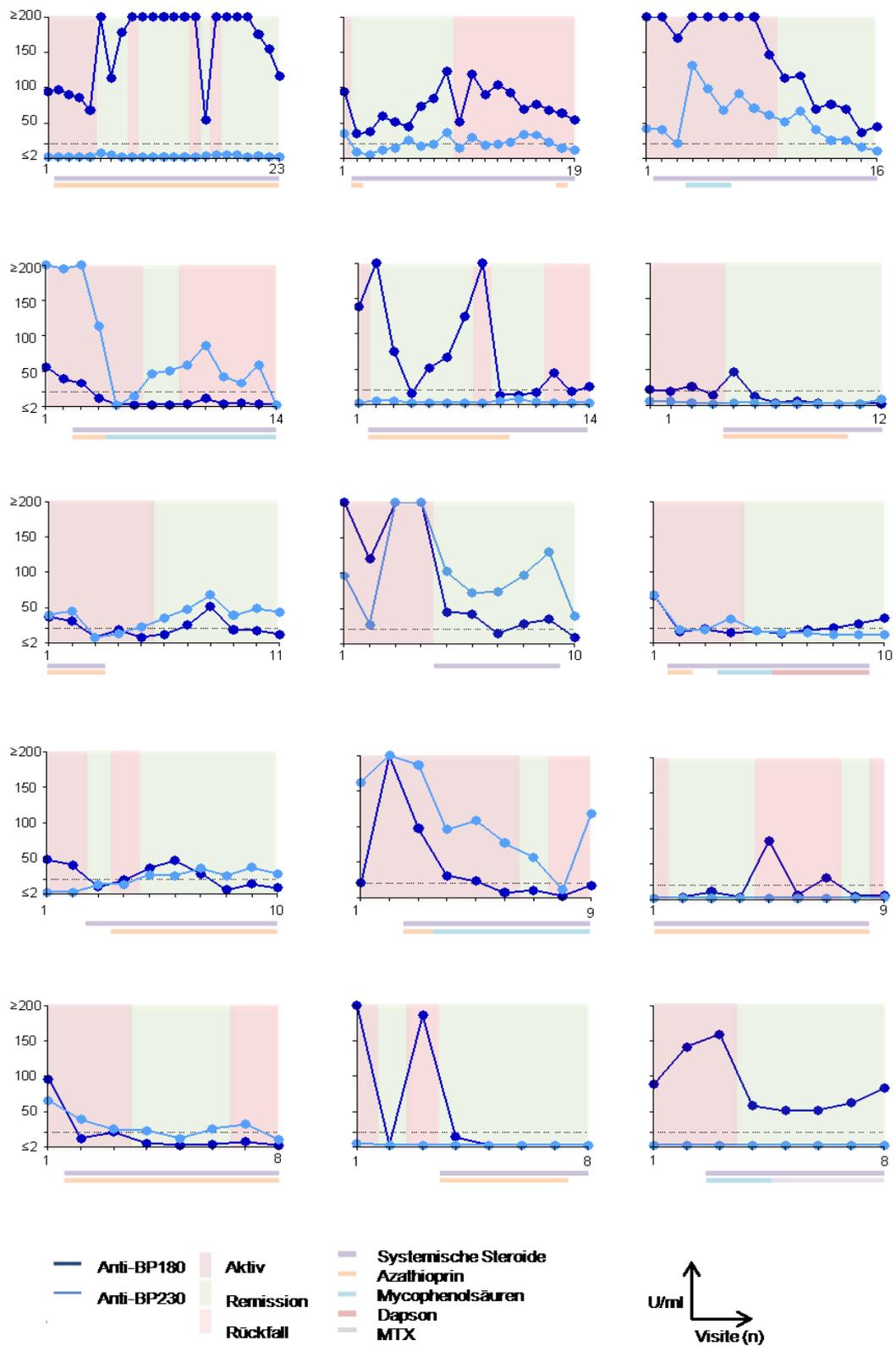


Abb. 12: In dieser Abbildung sind die Antikörpertiter von 15 Patienten im Follow-up dargestellt (aus Eckardt et al., 2018 (106)).

3.5 Erklärung

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit (inhaltlich sowie grafisch) sind auch Teil der Publikation „Diagnostic value of autoantibody titres in patients with bullous pemphigoid“, welche in der Fachzeitschrift „European Journal of Dermatology“ im Januar 2018 veröffentlicht wurde.

4. Diskussion

4.1 Das Patientenkollektiv

In unserem Kollektiv von Patienten mit BP lag ein relativ ausgewogenes Verhältnis zwischen Männern und Frauen vor (Female:Male Ratio 1,17). Auch in anderen Studien ergab sich ein relativ ähnliches Risiko für Männer und Frauen, an einem BP zu erkranken, jedoch variieren die Studienergebnisse bezüglich der Geschlechterverteilung bei Patienten mit BP (12, 13, 17, 18). Wie in der Literatur vielfach beschrieben, zeigte sich auch bei dem Patientenkollektiv der vorliegenden Arbeit, dass hauptsächlich Patienten über 60 Jahre an einem BP erkranken (12). Das mittlere Erkrankungsalter lag in der vorliegenden Studie bei 78,4 Jahren. Joly et al. berechneten ein mittleres Alter von 82,6 Jahren (15). Bertram et al. beschrieben ein mittleres Erkrankungsalter von 74,6 Jahren (13) und bei Bastuji-Garin et al. lag dieses bei 82,4 Jahren (69).

Es wurde außerdem die Dauer von Erstmanifestation (EM) bis ED in der vorliegenden Arbeit untersucht. Der Median lag bei 2 Monaten. Hier liegen keine publizierten Daten anderer Zentren über die Zeit zwischen EM und ED Patienten mit BP zum Vergleich vor. Das BP verursacht meist einen quälenden Juckreiz sowie offensichtliche Läsionen auf der Haut (6). Pruritus und Hautveränderungen sind beide sehr belastend für Patienten und somit sind eine rasche Diagnostik und Therapieeinleitung sehr wichtig (107).

Der Pemphigus vulgaris wird in der Literatur in Verbindung mit diversen malignen Tumoren und hämatologischen Neoplasien gebracht (108). Auch für das BP wird dieser Zusammenhang intensiv diskutiert. Ogawa et al. konnten 1995 in einer Fall-Kontroll-Studie aus Japan eine erhöhte Inzidenz von Malignomen bei Patienten mit einem BP publizieren. Am häufigsten litten die Patienten mit BP an einem Magenkarzinom, welches in Japan zu den häufigen Malignomen gehört (72). Schulze et al. konnten lediglich eine erhöhte Inzidenz von hämatologischen Malignomen bei Patienten mit BP feststellen. Ein Zusammenhang zwischen einem BP und soliden malignen Tumoren konnte in diesen Studien nicht gezeigt werden (74). Ong et al. fanden in einer landesweiten Fall-Kontroll-Studie aus England bei Patienten mit Nierenzell- und Larynxkarzinom, sowie

lymphatischer Leukämie ein erhöhtes Risiko an einem BP zu erkranken (73). In dem untersuchten Patientenkollektiv der vorliegenden Arbeit wurde das BP bei zwei Patienten als paraneoplastisches Geschehen gewertet (n=200). Bei diesen Patienten wurde ein Mammakarzinom bzw. ein Pleuramesotheliom diagnostiziert. Da ältere Patienten häufiger an malignen Tumoren erkranken (109), kann hier kein Zusammenhang zwischen einem BP und Malignomen hergestellt werden. Hierzu sind weitere Untersuchungen nötig.

Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung nahmen 26,53% der Patienten mit BP ACE-Hemmer ein und 28,57% gaben an, Furosemid oder Torasemid einzunehmen. Auch Lloyd-Lavery et al. beschrieben eine signifikant häufigere Einnahme von Schleifendiuretika bei Patienten mit einem BP. ASS oder andere Antihypertensiva wurden in dieser Studie nicht signifikant häufiger eingenommen (78). In einer älteren Fall-Kontroll-Studie konnten Bastuji-Garin et al. lediglich eine häufigere Einnahme von Aldosteron-Antagonisten bei Patienten mit einem BP nachweisen (79). Die Studienergebnisse bezüglich des medikamentös getriggerten BPs variieren erheblich. Einige Medikamente stehen im Verdacht, das Risiko für die Manifestation eines BPs zu erhöhen. Es stellt sich jedoch weiterhin die Frage, wie bestimmte Medikamente pathophysiologisch zu einer Spaltbildung führen können und ob ein Zusammenhang zwischen der Medikamenteneinnahme und dem Auftreten eines BPs hergestellt werden kann. Hier darf nicht außer Acht gelassen werden, dass ältere Patienten häufig kardiovaskuläre Komorbiditäten aufweisen (110). Es kann somit davon ausgegangen werden, dass die untersuchten Medikamente häufig eingenommen werden. Um hierüber eine Aussage treffen zu können, bedarf es noch weiterer Untersuchungen.

4.2 Diagnostische Parameter

In der vorliegenden Arbeit konnte bestätigt werden, dass die Patienten mit BP häufiger eine Eosinophilie im Blutbild aufweisen. Bei 33,76% der Patienten mit BP zeigte sich eine Eosinophilie bei Erstvorstellung. In einer Studie mit einer kleineren Patientenkohorte von Burshkell et al. wurde bei 14 von 28 untersuchten Blutproben von Patienten mit einem BP eine Eosinophilie festgestellt (46). Auch Rifaioğlu et al. beschrieben eine signifikant höhere Zahl der absoluten eosinophilen Granulozyten im peripheren Blut (111). Nicht nur im peripheren Blut, auch in der läsionalen Haut von Patienten mit BP finden sich häufig vermehrt eosinophile Granulozyten (111). Die Kenntnis über eine absolute Eosinophilie, kann bei initialem Verdacht auf ein BP ergänzende Hinweise liefern. Dies ist jedoch keineswegs diagnostisch für ein BP und unspezifisch, da eine Eosinophilie auch bei vielen anderen Erkrankungen auftreten kann (2). Dennoch kann eine periphere Eosinophilie einfach untersucht werden und als Hinweis für eine blasenbildende Autoimmundermatose dienen.

Chan et al. beschrieben in ihrer Studie bei allen der 22 verfügbaren Hautbiopsien einen mehr oder weniger zu einem BP passenden dermatohistologischen Befund (60). Sowohl Chan et al. als auch Courville et al. bewerteten die histologischen Befunde anhand sieben verschiedener Kriterien: subepidermale Spaltbildung, Migration von eosinophilen Granulozyten in die DEJ, eosinophile Granulozyten intraepidermal, keine Keratinozytennekrose, keine Akantholyse, keine dermale Fibrose, keine Vaskulitis). Unter anderem enthielten diese Kriterien auch „das Fehlen einer Vasculitits“ und somit weichen diese von unseren Kriterien ab (60, 112). Auch zwischen „highly suggestive, suggestive bzw. poorly suggestive“ wurde in der vorliegenden Analyse nicht unterschieden, was zu anderen Ergebnissen führen kann. Zusätzlich waren die Fallzahlen der aktuellen Arbeit mit n=181 in der BP-Gruppe und n=240 in der Kontrollgruppe deutlich höher. Die Histologie ist für die Diagnostik von blasenbildenden Autoimmundermatosen eine wichtige orientierende Untersuchung. Sie dient bei blasenbildenden Dermatosen insbesondere dazu, eine Spaltbildung und deren Niveau nachzuweisen und kann so bei der Abgrenzung zu den Pemphiguserkrankungen und beispielsweise einem Ekzem helfen (7, 59). Für die weitere

Differenzierung sind jedoch weitere diagnostische Maßnahmen notwendig, da die genaue Diagnose einer bladenbildenden Autoimmundermatose mittels Histologie allein nicht zu stellen ist.

Die DIF gilt immer noch als Goldstandard bei der Diagnostik des BPs (9). In der vorliegenden Arbeit wurde für die DIF eine Sensitivität von 77,16% berechnet. Sardy et al. berechneten eine Sensitivität von 90,8% (n=227) (14). Bei Chan et al. lag diese bei 91% (60). Für die DIF konnte bei unserer Patientenkohorte die höchste Spezifität (94,87%) berechnet werden. Auch in den anderen Studien lag diese bei über 90% (14). Die Unterschiede in den Ergebnissen könnten beispielsweise an abweichenden Antikörpern und Substraten im Labor oder bei der Entnahme der Hautprobe liegen. Die DIF ist eine relativ fehleranfällige Methode. Dies hat mehrere Gründe. Die Hautprobe muss von der richtigen Lokalisation entnommen sein, in Aqua und nicht in Formalin oder NaCl gegeben, gekühlt, gelagert und verarbeitet werden. Eine richtige Probenaufbewahrung und eine Lagerung sind für ein korrektes Ergebnis unverzichtbar. Auch die Fallzahl und Selektion der Patienten spielen eine Rolle. In dieser Studie wurden die Befunde von n=177 Proben ausgewertet. In anderen Studien waren die Fallzahlen deutlich geringer (113). Zusätzlich haben die statistischen Methoden einen Einfluss auf die Ergebnisse. Wurde die Diagnose „BP“ beispielsweise anhand der Ergebnisse in der DIF gestellt, wird später die berechnete Sensitivität der DIF entsprechend hoch sein. Dies ist auch der Grund, warum wir in unserer Studie ein etwas komplexeres statistisches Verfahren gewählt haben, um die Sensitivität und die Spezifität der Parameter zu bestimmen. Ferner könnte die Lokalisation der Entnahmestelle der Hautbiopsie das Ergebnis der DIF beeinflussen. Auch Sladden et al. beschreiben eine Abhängigkeit der DIF-Befunde von der Entnahmestelle (114). In der Studie von Sladden et al. wurde die nicht läsionale Entnahme jedoch nicht untersucht. Mehra et al. konnten bei Patienten mit okulärem Schleimhautpemphigoid eine Abhängigkeit der Ergebnisse in der DIF von der Biopsielokalisation zeigen. Für Biopsien aus nicht läsionaler Haut konnte im Vergleich zu Biopsien aus den Konjunktiven (läsional und periläsional) eine höhere Sensitivität berechnet werden (115). Um eine Aussage über die Beeinflussung der Entnahmestelle der DIF auf den Befund zu machen, sollten weitere

Untersuchungen in diese Richtung stattfinden. Falsch negative Befunde der BP-Gruppe könnten mit einer mangelnden Reaktivität von IgG-Subklassen mit den Konjugaten assoziiert sein (116). Arbache et al. werteten die Fluoreszenzmuster in der DIF von 90 Patientenseren aus. Bei 91% bzw. 39% der untersuchten Seren zeigten sich lineare Ablagerungen von C3 bzw. IgG entlang der BMZ (117). In unserer Auswertung zeigte sich bei 80,23% der untersuchten Hautbiopsien (n=177) ein BMZ-Band in der DIF. Als Ursache für die Unterschiede im Fluoreszenzmuster kommt die Verwendung unterschiedlicher Konjugate in Frage. Für die Diagnostik des BPs ist die DIF einer Hautbiopsie eine wichtige Methode, welche auch nicht durch eine Immunhistochemie ersetzt werden kann (118).

In der vorliegenden Studie wurden die Ergebnisse der IIF auf Affenösophagus ausgewertet und es ergab sich eine Sensitivität von 72,73%. Diese ist vergleichbar mit den Sensitivitäten auf Kaninchenösophagus oder humaner Spalthaut (14). Zwar konnte keine so hohe Sensitivität wie bei Damoiseaux et al. berechnet werden (88,3%) (17), dennoch kann die IIF, da sie eine gute Spezifität ausweist, als ein wichtiger Parameter bei der Diagnostik des BPs gewertet werden.

Als Limitation unserer Studie muss erwähnt werden, dass die DIF und die IIF auf Spalthaut nicht untersucht wurden. Diese sind mögliche weitere Diagnostikmethoden bei Patienten mit einem BP und sind bei der Abgrenzung eines BPs zu einer EBA relevant (119, 120).

Für den BP180-ELISA konnte eine Sensitivität von 84,97% und eine Spezifität von 93,94% berechnet werden. Für den BP230-ELISA lagen diese bei 55,49% bzw. bei 92,94%. Die geringste Sensitivität hat sich für den Anti-BP230-ELISA ergeben. Diese Tatsache wurde auch von anderen Autoren beschrieben (14). Tampoia et al. berechneten in einer Metaanalyse eine gepoolte Sensitivität von 87% für den BP180-ELISA (66). Die Ergebnisse von Tampoia et al. sind mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie vereinbar (circa 85%). Damoiseaux et al. verglichen verschiedene ELISA Testsysteme und berechneten Sensitivitäten von 86,7% bzw. 80% und Spezifitäten von 93% bzw. 98,2% für den BP180-

ELISA. Für den BP230-ELISA lagen die Sensitivitäten bei 60% bzw. 58,3% und die Spezifitäten bei 82,5% bzw. 93% (17). Dies zeigt, dass es auch durch die unterschiedlichen Testsysteme zu Abweichungen der Ergebnisse kommen kann. 2012 wurde von der Euroimmun Arbeitsgruppe aus Lübeck eine Studie veröffentlicht, die eine Sensitivität von 56,8% und eine Spezifität von 97,6% für den BP230-C3 ELISA ermittelte (65). Esmaili et al. berechneten eine Sensitivität von 48% für den BP230-C3 ELISA (121).

In einer Studie von Hashimoto et al. konnten im ELISA außerdem IgE-Antikörper gegen BP180 und BP230 bei etwa 50% der Patienten nachgewiesen werden (122). Allerdings konnten van Beek et al. in einer Fall-Kontroll-Studie keine verbesserte Sensitivität durch einen Anti-BP-ELISA zum Nachweis von IgE-Antikörpern zeigen (123). Die Pathogenität von BP180 bzw. BP230 reaktivem IgE ist außerdem ungeklärt (124).

Es konnte die höchste Sensitivität aller Parameter für den BP180-ELISA berechnet werden (84,97%) und der BP230-ELISA hatte eine gute Spezifität (92,94%). Außerdem muss für die ELISAs lediglich eine Serumprobe der Patienten vorhanden sein (66). Dies ist einfacher als die Gewinnung einer Gewebeprobe. Diese weniger invasive Methode ist somit aus Patientensicht von Vorteil. Aus diesen Gründen können die Anti-BP-ELISAs als eine sehr gute Methode zum Nachweis von Antikörpern gegen die BP-Antigene und somit zur Diagnostik des BPs gesehen werden. Da eine Prävalenz von Antikörpern gegen die BP-Antigene in der gesunden Bevölkerung in Studien beschrieben wurde und der ELISA lediglich gegen die Antigene BP180 und BP230 gerichtet ist, sind zusätzlich weitere Diagnostikmethoden zur Diagnosefindung bei dem Verdacht auf ein BP notwendig (125).

4.3 Therapie, klinisches Bild und Follow-up

Von der BP-Gruppe erhielten in dieser Auswertung 25 Patienten eine Monotherapie mit topischen GKS. Sie litten entweder unter einer milden Form des BPs oder die systemische Therapie konnte aus bestimmten Gründen, wie zum Beispiel einer Unverträglichkeit oder unerwünschten Nebenwirkungen nicht durchgeführt werden. Einfacher als bei den Pemphiguserkrankungen kann bei einem BP durch eine topische Therapie eine Remission erreicht werden (16). Ein Großteil der Patienten des untersuchten Kollektivs erhielt dennoch eine Systemtherapie, da diese aufgrund eines ausgeprägten Hautbefundes und der guten Erfahrung mit systemischen Behandlungen des BPs in Deutschland für indiziert gehalten wurde. Joly et al. beschrieben in ihrer Arbeit aus Frankreich hingegen eine sehr gute Wirkung bei weniger unerwünschten Nebenwirkungen bei einer Therapie mit topischen GKS (90). Auch Fichel et al. zeigten in einer prospektiven Studie stark abnehmende Antikörpertiter unter der Monotherapie mit topischen Steroiden und empfehlen die Lokalthherapie als Grundlage in der Behandlung des BPs (126). Hier muss allerdings bedacht werden, dass der chronische und großflächige Gebrauch (hochpotenter) topischer GKS zum einen zu systemischen Effekten und andererseits zu Nebenwirkungen auf der Haut (Atrophie, Striae cutis distensae, Teleangiektasien, Hypertrichose) führen kann und die Anwendung für viele Patienten nicht praktikabel ist (2, 16).

In einer britisch-deutschen randomisierten Studie von Williams et al. konnte mit einer oralen Therapie mit Doxycyclin 200 mg/d eine Besserung des Hautbefunds erreicht werden, wobei die Nebenwirkungen geringer waren als unter der Therapie mit systemischen GKS. Doxycyclin ist deshalb aufgrund seiner anti-entzündlichen Eigenschaften insbesondere für ältere, multimorbide Patienten mit mildem oder moderatem BP eine Alternative zu einer Therapie mit systemischen GKS. (127).

Bei Patienten, bei denen es unter einer Therapie mit konventionellen Systemtherapeutika lediglich zu einem unzureichenden Therapieansprechen kommt, stellt die Hochdosis-Immunglobulintherapie eine Alternative dar (100). Dies ist eine off-label Therapie und der genaue Wirkmechanismus hochdosierter IVIG ist auch heute noch nicht vollständig geklärt (128, 129). Lediglich ein

Patient mit einem BP erhielt in der Hautklinik Tübingen in den letzten 5 Jahren eine Therapie mit IVIG, worunter er einen stabilen Hautbefund entwickelte. Die Gabe von IVIG ist eine gute Therapiemöglichkeit für Patienten mit einem therapierefraktären BP, das nicht auf konventionelle Therapien mit GKS und Steroid-sparenden Immunsuppressiva anspricht (100).

Bei Patienten mit einem schweren Pemphigus vulgaris kann unter der Therapie mit dem CD20-Antikörper Rituximab eine langfristige Remission erzielt werden (130). Da sich das BP mit einer konservativen Therapie meist gut kontrollieren lässt, ist die Anwendung von Rituximab selten notwendig. Einige Studien konnten bei Patienten mit einem BP ein gutes Therapieansprechen bei einer (adjuvanten) Therapie mit Rituximab zeigen (131, 132). Aufgrund der mangelnden Datenlage und den potentiellen Nebenwirkungen war die off-label Therapie mit Rituximab bei einem BP in der Universitäts-Hautklinik Tübingen bisher nicht notwendig (97, 99).

Neuste Studien konnten, wie schon erwähnt, bei Patienten mit BP IgE-Antikörper gegen BP180 nachweisen. Eine Beteiligung von IgE-Antikörpern bei der Pathogenese des BPs könnte in Bezug auf weitere Therapiemöglichkeiten (Anti-IgE, Omalizumab) von Relevanz sein (123, 133).

Ähnlich wie bei Patienten mit Pemphigus vulgaris konnte bei dem untersuchten Patientenkollektiv ein Zusammenhang zwischen der Höhe der Antikörper im BP180- und im BP230-ELISA und der Krankheitsaktivität festgestellt werden (134). Auch Lee et al. und Feng et al. beschrieben dies in ihren Publikationen (29, 68). Sie verwendeten zur Einteilung der Krankheitsaktivität einen „disease activity score“. Da die Daten in der vorliegenden Studie retrospektiv erhoben wurden und zum Zeitpunkt der Diagnosestellung kein solcher Score im klinischen Alltag dokumentiert wurde, war dies bei der Auswertung der Daten nicht möglich. Um die Krankheitsaktivität beziehungsweise den Hautbefund in Zukunft besser verfolgen und objektivieren zu können, wäre die Anwendung eines einheitlichen Scores, wie zum Beispiel des ABSIS (Autoimmune Bullous Skin Disorder Intensity Score) eine mögliche Methode (55). Es muss allerdings erwähnt werden, dass die bisherig veröffentlichten Scoresysteme im klinischen Alltag eher weniger praktikabel sind, da das Erfassen des Hautbefundes und

das anschließende Berechnen sehr zeitintensiv und komplex sind. Um das Ausmaß der Läsionen sowie des Pruritus zu erfassen und den Krankheitsverlauf zu verfolgen, wäre deshalb ein einfaches Scoresystem für das BP wünschenswert.

Die Krankheitsaktivität wurde in dieser Arbeit mit den Kategorien „Aktiv“, „Remission“ und „Rückfall“ beschrieben. Zwischen der „Remission“ und dem „Rückfall“ hat sich beim BP230-ELISA kein signifikanter Unterschied bezüglich der Antikörperhöhe gezeigt. Dies könnte darauf zurückgeführt werden, dass die Antikörper nach einer Therapie bzw. bei zu niedrigen Dosen der Medikamente im Rückfall nicht mehr so hoch sind als vor Therapiebeginn (aktives Stadium). Es konnte dargestellt werden, dass sich der BP180-ELISA noch besser als der BP230-ELISA eignet, um den Krankheitsverlauf einzuschätzen. Da die von dem BP180-ELISA detektierten Serumantikörper die Krankheitsaktivität und das klinische Bild gut widerspiegeln, ist deren Kontrolle eine gute Methode den Krankheitsverlauf zu überwachen. In der vorliegenden Studie erhielten 25 Patienten eine Monotherapie mit topischen Steroiden. 173/198 wurden mit Systemtherapeutika behandelt, davon erhielten 169 Patienten eine Therapie mit systemischen GKS.

Insbesondere bei älteren, oft multimorbiden Patienten ist eine optimale Anpassung der systemischen Medikation notwendig, da sonst unerwünschte Arzneimittelwirkungen auftreten können. Hierfür sind Autoantikörperbestimmungen im Verlauf sinnvoll. Zeigen sich unter Therapie hohe Antikörpertiter im Patientenserum, sollte die Medikation - je nach klinischem Befund - optimiert werden. Sind die Antikörper gefallen oder liegen sie unter der Nachweisgrenze, kann die Dosis eventuell frühzeitig reduziert werden.

4.4 Erklärung

Teile der Diskussion der vorliegenden Arbeit sind auch Teil der Publikation „Diagnostic value of autoantibody titres in patients with bullous pemphigoid“, welche in der Fachzeitschrift „European Journal of Dermatology“ im Januar 2018 veröffentlicht wurde.

5. Zusammenfassung

Das bullöse Pemphigoid (BP) gehört zu der Gruppe der Autoantikörpermedierten Hautkrankheiten. Klinisch ist das BP nicht immer eindeutig zu diagnostizieren. Die labordiagnostischen Parameter zur Diagnosefindung des BPs umfassen die histologische Untersuchung und die direkte Immunfluoreszenz (DIF) von Hautgewebeproben der Patienten sowie eine indirekte Immunfluoreszenz (IIF) mittels Gewebesubstrat und Nachweis von Autoantikörpern gegen BP180 und BP230 mittels ELISA aus Patientenserum.

Die vorliegende Arbeit sollte zum einen die Sensitivität und die Spezifität dieser diagnostischen Parameter ermitteln und zum anderen das Therapiespektrum und den Verlauf der Autoantikörpertiter einzelner Patienten in einem monozentrischen Kollektiv von 200 Patienten retrospektiv analysieren. Als Kontrollgruppe dienten 400 Patienten ohne BP, bei denen Befunde zu BP180/BP230 Autoantikörpern vorlagen.

Folgende Sensitivitäten und Spezifitäten konnten für die diagnostischen Parameter kalkuliert werden: Die höchste Sensitivität wurde für den BP180-ELISA (84,97%) ermittelt, die niedrigste Sensitivität zeigte dagegen der BP230-ELISA (55,49%). Bei DIF, IIF und Histologie lagen die Sensitivitäten bei 77,16%, 72,73% und 76,25%. Die Spezifität der Parameter BP180- und der BP230-ELISA, DIF sowie IIF waren sehr hoch und lagen eng beieinander (93,94%, 92,94%, 94,87% und 93,69% respektive). Lediglich die histologische Untersuchung mittels H&E zeigte eine niedrige Spezifität (81,29%) im Vergleich zu den anderen diagnostischen Laborparametern.

Während die DIF noch immer als Goldstandard zur Diagnostik eines BPs gehört, zeigt die vorliegende Arbeit, dass die serologischen Untersuchungen mittels ELISA nicht nur Ergänzungen sind, sondern mindestens genauso wichtig sind. Die ELISAs für BP180 und BP230 sind in einem immunologischen Labor schnell und auch automatisiert durchführbar, wobei der Nachweis von Autoantikörpern gegen BP180 die höchste Sensitivität bei vergleichbarer Spezifität aufzeigt. IIF und Histologie ergänzen die Diagnostik bei bullösen Autoimmundermatosen wie ein BP.

Die Analyse der Therapien der Patienten in dieser monozentrischen Auswertung zeigte die Anwendung von systemischen Glukokortikosteroiden (GKS) bei 169 Patienten und 141 Patienten erhielten meist zusätzlich zu GKS Azathioprin. Für das ältere Patientenlientel mit BP ist somit eine regelmäßige Kontrolle der potentiellen unerwünschten Arzneimittelwirkungen unbedingt notwendig.

Die longitudinale Betrachtung von 15 Patienten zeigte, dass die Höhe der Autoantikörpertiter im Serum der Patienten mit dem klinischen Befund des BPs korreliert. So konnte ein signifikanter Unterschied der Autoantikörpertiter in den verschiedenen Krankheitsstadien (Aktiv-Remission: BP180 und BP230 Antikörper, Remission-Rückfall: BP180 Antikörper) festgestellt werden. Durch die regelmäßige Bestimmung der Antikörperhöhe im Patientenserum kann die benötigte Dosierung der Systemtherapeutika besser eingeschätzt und angepasst werden. Dies ist für den klinischen Alltag relevant.

Somit sind moderne Methoden zum Nachweis von Autoantikörpern sowohl für die Diagnostik, als auch für den Verlauf und die Therapieanpassung bei Patienten mit BP die entscheidenden Parameter.

6. Literaturverzeichnis

1. Sterry W. Kurzlehrbuch Dermatologie 2011.
2. Röcken M, Schaller M, Sattler E, Burgdorf W. Taschenatlas Dermatologie: Grundlagen, Diagnostik, Klinik 2010.
3. Aumüller G, Aust G, Doll A, Engele J, Kirsch J, Mense S, et al. Duale Reihe Anatomie 2010.
4. Sitaru C, Goebeler M, Zillikens D. [Bullous autoimmune dermatoses (I): Pathogenesis and diagnosis]. Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology : JDDG. 2004;2(2):123-8; quiz 39-40.
5. Kasperkiewicz M, Zillikens D. The pathophysiology of bullous pemphigoid. Clinical reviews in allergy & immunology. 2007;33(1-2):67-77.
6. Hertl M, Schuler G. [Bullous autoimmune dermatoses. 1: Classification]. Der Hautarzt; Zeitschrift für Dermatologie, Venerologie, und verwandte Gebiete. 2002;53(3):207-19; quiz 20-1.
7. Kneisel A, Hertl M. Autoimmune bullous skin diseases. Part 2: diagnosis and therapy. Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology : JDDG. 2011;9(11):927-47.
8. Schmidt E, Zillikens D. The diagnosis and treatment of autoimmune blistering skin diseases. Deutsches Arzteblatt international. 2011;108(23):399-405, i-iii.
9. Schmidt E, Zillikens D. Modern diagnosis of autoimmune blistering skin diseases. Autoimmunity reviews. 2010;10(2):84-9.
10. Lever WF. Pemphigus. Medicine. 1953;32(1):1-123.
11. Ghohestani RF, Novotney J, Chaudhary M, Agah RS. Bullous pemphigoid: from the bedside to the research laboratory. Clinics in dermatology. 2001;19(6):690-6.
12. Jung M, Kippes W, Messer G, Zillikens D, Rzany B. Increased risk of bullous pemphigoid in male and very old patients: A population-based study on incidence. Journal of the American Academy of Dermatology. 1999;41(2 Pt 1):266-8.
13. Bertram F, Brocker EB, Zillikens D, Schmidt E. Prospective analysis of the incidence of autoimmune bullous disorders in Lower Franconia, Germany. Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology : JDDG. 2009;7(5):434-40.
14. Sardy M, Kostaki D, Varga R, Peris K, Ruzicka T. Comparative study of direct and indirect immunofluorescence and of bullous pemphigoid 180 and 230 enzyme-linked immunosorbent assays for diagnosis of bullous pemphigoid. Journal of the American Academy of Dermatology. 2013;69(5):748-53.
15. Joly P, Baricault S, Sparsa A, Bernard P, Bedane C, Duvert-Lehembre S, et al. Incidence and mortality of bullous pemphigoid in France. The Journal of investigative dermatology. 2012;132(8):1998-2004.

16. Eming R, Sticherling M, Hofmann SC, Hunzelmann N, Kern JS, Kramer H, et al. S2k guidelines for the treatment of pemphigus vulgaris/foiaceus and bullous pemphigoid. *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology : JDDG.* 2015;13(8):833-44.
17. Damoiseaux J, van Rijsingen M, Warnemunde N, Dahnrich C, Fechner K, Tervaert JW. Autoantibody detection in bullous pemphigoid: clinical evaluation of the EUROPLUS Dermatology Mosaic. *Journal of immunological methods.* 2012;382(1-2):76-80.
18. Marazza G, Pham HC, Scharer L, Pedrazzetti PP, Hunziker T, Trueb RM, et al. Incidence of bullous pemphigoid and pemphigus in Switzerland: a 2-year prospective study. *The British journal of dermatology.* 2009;161(4):861-8.
19. Fisler RE, Saeb M, Liang MG, Howard RM, McKee PH. Childhood bullous pemphigoid: a clinicopathologic study and review of the literature. *The American Journal of dermatopathology.* 2003;25(3):183-9.
20. Sousa B, Mota A, Morgado H, Lopes JM, Dias JA. [Bullous pemphigoid in an infant]. *Acta medica portuguesa.* 2005;18(2):159-62.
21. Salman A, Tekin B, Yucelten D. Autoimmune Bullous Disease in Childhood. *Indian journal of dermatology.* 2017;62(4):440.
22. Feliciani C, Caldarola G, Kneisel A, Podstawa E, Pfitze M, Pfitzner W, et al. IgG autoantibody reactivity against bullous pemphigoid (BP) 180 and BP230 in elderly patients with pruritic dermatoses. *The British journal of dermatology.* 2009;161(2):306-12.
23. Mutasim DF, Takahashi Y, Labib RS, Anhalt GJ, Patel HP, Diaz LA. A pool of bullous pemphigoid antigen(s) is intracellular and associated with the basal cell cytoskeleton-hemidesmosome complex. *The Journal of investigative dermatology.* 1985;84(1):47-53.
24. Labib RS, Anhalt GJ, Patel HP, Mutasim DF, Diaz LA. Molecular heterogeneity of the bullous pemphigoid antigens as detected by immunoblotting. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950).* 1986;136(4):1231-5.
25. Stanley JR, Hawley-Nelson P, Yuspa SH, Shevach EM, Katz SI. Characterization of bullous pemphigoid antigen: a unique basement membrane protein of stratified squamous epithelia. *Cell.* 1981;24(3):897-903.
26. Lo Schiavo A, Ruocco E, Brancaccio G, Caccavale S, Ruocco V, Wolf R. Bullous pemphigoid: etiology, pathogenesis, and inducing factors: facts and controversies. *Clinics in dermatology.* 2013;31(4):391-9.
27. Sitaru C, Zillikens D. Mechanisms of blister induction by autoantibodies. *Experimental dermatology.* 2005;14(12):861-75.
28. Mitsushashi Y, Takahashi M, Kiuchi H, Mikami H, Hashimoto I, Katabira Y. Induction of pemphigoid lesions in neonatal mice. *The Journal of dermatology.* 1986;13(4):259-65.
29. Lee EH, Kim YH, Kim S, Kim SE, Kim SC. Usefulness of Enzyme-linked Immunosorbent Assay Using Recombinant BP180 and BP230 for

Serodiagnosis and Monitoring Disease Activity of Bullous Pemphigoid. *Annals of dermatology*. 2012;24(1):45-55.

30. Giudice GJ, Squiquera HL, Elias PM, Diaz LA. Identification of two collagen domains within the bullous pemphigoid autoantigen, BP180. *The Journal of clinical investigation*. 1991;87(2):734-8.
31. Skaria M, Jaunin F, Hunziker T, Riou S, Schumann H, Bruckner-Tuderman L, et al. IgG autoantibodies from bullous pemphigoid patients recognize multiple antigenic reactive sites located predominantly within the B and C subdomains of the COOH-terminus of BP230. *The Journal of investigative dermatology*. 2000;114(5):998-1004.
32. Liu Z, Giudice GJ, Swartz SJ, Fairley JA, Till GO, Troy JL, et al. The role of complement in experimental bullous pemphigoid. *The Journal of clinical investigation*. 1995;95(4):1539-44.
33. Schmidt E, Bastian B, Dummer R, Tony HP, Brocker EB, Zillikens D. Detection of elevated levels of IL-4, IL-6, and IL-10 in blister fluid of bullous pemphigoid. *Archives of dermatological research*. 1996;288(7):353-7.
34. Grando SA, Glukhenky BT, Drannik GN, Epshtein EV, Kostromin AP, Korostash TA. Mediators of inflammation in blister fluids from patients with pemphigus vulgaris and bullous pemphigoid. *Archives of dermatology*. 1989;125(7):925-30.
35. Endo H, Iwamoto I, Fujita M, Okamoto S, Yoshida S. Increased immunoreactive interleukin-5 levels in blister fluids of bullous pemphigoid. *Archives of dermatological research*. 1992;284(5):312-4.
36. Schmidt E, Ambach A, Bastian B, Brocker EB, Zillikens D. Elevated levels of interleukin-8 in blister fluid of bullous pemphigoid compared with suction blisters of healthy control subjects. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 1996;34(2 Pt 1):310-2.
37. Katayama I, Doi T, Nishioka K. High histamine level in the blister fluid of bullous pemphigoid. *Archives of dermatological research*. 1984;276(2):126-7.
38. Kawana S, Ueno A, Nishiyama S. Increased levels of immunoreactive leukotriene B4 in blister fluids of bullous pemphigoid patients and effects of a selective 5-lipoxygenase inhibitor on experimental skin lesions. *Acta dermatovenereologica*. 1990;70(4):281-5.
39. D'Auria L, Cordiali Fei P, Ameglio F. Cytokines and bullous pemphigoid. *European cytokine network*. 1999;10(2):123-34.
40. Bagci IS, Horvath ON, Ruzicka T, Sardy M. Bullous pemphigoid. *Autoimmunity reviews*. 2017;16(5):445-55.
41. Rico MJ, Benning C, Weingart ES, Streilein RD, Hall RP, 3rd. Characterization of skin cytokines in bullous pemphigoid and pemphigus vulgaris. *The British journal of dermatology*. 1999;140(6):1079-86.
42. Bhol KC, Rojas AI, Khan IU, Ahmed AR. Presence of interleukin 10 in the serum and blister fluid of patients with pemphigus vulgaris and pemphigoid. *Cytokine*. 2000;12(7):1076-83.

43. Antiga E, Quaglino P, Volpi W, Pierini I, Del Bianco E, Bianchi B, et al. Regulatory T cells in skin lesions and blood of patients with bullous pemphigoid. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*. 2014;28(2):222-30.
44. Chen R, Ning G, Zhao ML, Fleming MG, Diaz LA, Werb Z, et al. Mast cells play a key role in neutrophil recruitment in experimental bullous pemphigoid. *The Journal of clinical investigation*. 2001;108(8):1151-8.
45. Verraes S, Hornebeck W, Polette M, Borradori L, Bernard P. Respective contribution of neutrophil elastase and matrix metalloproteinase 9 in the degradation of BP180 (type XVII collagen) in human bullous pemphigoid. *The Journal of investigative dermatology*. 2001;117(5):1091-6.
46. Bushkell LL, Jordon RE. Bullous pemphigoid: a cause of peripheral blood eosinophilia. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 1983;8(5):648-51.
47. Wakugawa M, Nakamura K, Hino H, Toyama K, Hattori N, Okochi H, et al. Elevated levels of eotaxin and interleukin-5 in blister fluid of bullous pemphigoid: correlation with tissue eosinophilia. *The British journal of dermatology*. 2000;143(1):112-6.
48. Budinger L, Borradori L, Yee C, Eming R, Ferencik S, Grosse-Wilde H, et al. Identification and characterization of autoreactive T cell responses to bullous pemphigoid antigen 2 in patients and healthy controls. *The Journal of clinical investigation*. 1998;102(12):2082-9.
49. Zakka LR, Reche P, Ahmed AR. Role of MHC Class II genes in the pathogenesis of pemphigoid. *Autoimmunity reviews*. 2011;11(1):40-7.
50. Beissert S, Hertl M. *Der Hautarzt; Zeitschrift für Dermatologie, Venerologie, und verwandte Gebiete*. 2015.
51. Feliciani C, Joly P, Jonkman MF, Zambruno G, Zillikens D, Ioannides D, et al. Management of bullous pemphigoid: the European Dermatology Forum consensus in collaboration with the European Academy of Dermatology and Venereology. *The British journal of dermatology*. 2015;172(4):867-77.
52. Schulze F, Kasperkiewicz M, Zillikens D, Schmidt E. [Bullous pemphigoid]. *Der Hautarzt; Zeitschrift für Dermatologie, Venerologie, und verwandte Gebiete*. 2013;64(12):931-43; quiz 44-5.
53. Hatano Y, Ishikawa K, Koga H, Ishii N, Hashimoto T, Takeo N, et al. A case of concurrent pemphigoid vegetans and pemphigus vegetans resolving without oral corticosteroid. *The British journal of dermatology*. 2014;170(5):1192-4.
54. Mohr C, Duschet P, Bonsmann G, Luger TA, Gschnait F, Schwarz T. [Dyshidrosiform bullous pemphigoid]. *Der Hautarzt; Zeitschrift für Dermatologie, Venerologie, und verwandte Gebiete*. 1993;44(12):785-8.
55. Daniel BS, Hertl M, Werth VP, Eming R, Murrell DF. Severity score indexes for blistering diseases. *Clinics in dermatology*. 2012;30(1):108-13.
56. van Beek N, Knuth-Rehr D, Altmeyer P, Assaf C, Babilas P, Bayerl C, et al. Diagnostics of autoimmune bullous diseases in German dermatology

departments. *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology* : JDDG. 2012;10(7):492-9.

57. Rose C, Schmidt E, Kerstan A, Thoma-Uszynski S, Wesselmann U, Kasbohrer U, et al. Histopathology of anti-laminin 5 mucous membrane pemphigoid. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2009;61(3):433-40.
58. Rose C, Weyers W, Denisjuk N, Hillen U, Zillikens D, Shimanovich I. Histopathology of anti-p200 pemphigoid. *The American Journal of dermatopathology*. 2007;29(2):119-24.
59. Rose C, Brocker EB, Zillikens D. [Relevance of histological examination in the diagnosis of autoimmune bullous dermatoses]. *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology* : JDDG. 2004;2(2):96-104.
60. Chan YC, Sun YJ, Ng PP, Tan SH. Comparison of immunofluorescence microscopy, immunoblotting and enzyme-linked immunosorbent assay methods in the laboratory diagnosis of bullous pemphigoid. *Clinical and experimental dermatology*. 2003;28(6):651-6.
61. Kelly SE, Wojnarowska F. The use of chemically split tissue in the detection of circulating anti-basement membrane zone antibodies in bullous pemphigoid and cicatricial pemphigoid. *The British journal of dermatology*. 1988;118(1):31-40.
62. Hertl M, Jedlickova H, Karpati S, Marinovic B, Uzun S, Yayli S, et al. Pemphigus. S2 Guideline for diagnosis and treatment--guided by the European Dermatology Forum (EDF) in cooperation with the European Academy of Dermatology and Venereology (EADV). *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* : JEADV. 2015;29(3):405-14.
63. Barnadas MA, Rubiales MV, Gonzalez MJ, Puig L, Garcia P, Baselga E, et al. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and indirect immunofluorescence testing in a bullous pemphigoid and pemphigoid gestationis. *International journal of dermatology*. 2008;47(12):1245-9.
64. Charneux J, Lorin J, Vitry F, Antonicelli F, Reguiat Z, Barbe C, et al. Usefulness of BP230 and BP180-NC16a enzyme-linked immunosorbent assays in the initial diagnosis of bullous pemphigoid: a retrospective study of 138 patients. *Archives of dermatology*. 2011;147(3):286-91.
65. Blocker IM, Dahnrich C, Probst C, Komorowski L, Saschenbrecker S, Schlumberger W, et al. Epitope mapping of BP230 leading to a novel enzyme-linked immunosorbent assay for autoantibodies in bullous pemphigoid. *The British journal of dermatology*. 2012;166(5):964-70.
66. Tampoia M, Giavarina D, Di Giorgio C, Bizzaro N. Diagnostic accuracy of enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) to detect anti-skin autoantibodies in autoimmune blistering skin diseases: a systematic review and meta-analysis. *Autoimmunity reviews*. 2012;12(2):121-6.
67. Feng S, Lin L, Jin P, Wu Q, Zhou W, Sang H, et al. Role of BP180NC16a-enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in the diagnosis of bullous pemphigoid in China. *International journal of dermatology*. 2008;47(1):24-8.

68. Feng S, Wu Q, Jin P, Lin L, Zhou W, Sang H, et al. Serum levels of autoantibodies to BP180 correlate with disease activity in patients with bullous pemphigoid. *International journal of dermatology*. 2008;47(3):225-8.
69. Bastuji-Garin S, Joly P, Lemordant P, Sparsa A, Bedane C, Delaporte E, et al. Risk factors for bullous pemphigoid in the elderly: a prospective case-control study. *The Journal of investigative dermatology*. 2011;131(3):637-43.
70. Lindelof B, Islam N, Eklund G, Arfors L. Pemphigoid and cancer. *Archives of dermatology*. 1990;126(1):66-8.
71. Cai SC, Allen JC, Lim YL, Tan SH, Tang MB. Association of Bullous Pemphigoid and Malignant Neoplasms. *JAMA dermatology*. 2015;151(6):665-7.
72. Ogawa H, Sakuma M, Morioka S, Kitamura K, Sasai Y, Imamura S, et al. The incidence of internal malignancies in pemphigus and bullous pemphigoid in Japan. *Journal of dermatological science*. 1995;9(2):136-41.
73. Ong E, Goldacre R, Hoang U, Sinclair R, Goldacre M. Associations between bullous pemphigoid and primary malignant cancers: an English national record linkage study, 1999-2011. *Archives of dermatological research*. 2014;306(1):75-80.
74. Schulze F, Neumann K, Recke A, Zillikens D, Linder R, Schmidt E. Malignancies in pemphigus and pemphigoid diseases. *The Journal of investigative dermatology*. 2015;135(5):1445-7.
75. Langan SM, Groves RW, West J. The relationship between neurological disease and bullous pemphigoid: a population-based case-control study. *The Journal of investigative dermatology*. 2011;131(3):631-6.
76. Cordel N, Chosidow O, Hellot MF, Delaporte E, Lok C, Vaillant L, et al. Neurological disorders in patients with bullous pemphigoid. *Dermatology (Basel, Switzerland)*. 2007;215(3):187-91.
77. Jedlickova H, Hlubinka M, Pavlik T, Semradova V, Budinska E, Vlasin Z. Bullous pemphigoid and internal diseases - A case-control study. *European journal of dermatology : EJD*. 2010;20(1):96-101.
78. Lloyd-Lavery A, Chi CC, Wojnarowska F, Taghipour K. The associations between bullous pemphigoid and drug use: a UK case-control study. *JAMA dermatology*. 2013;149(1):58-62.
79. Bastuji-Garin S, Joly P, Picard-Dahan C, Bernard P, Vaillant L, Pauwels C, et al. Drugs associated with bullous pemphigoid. A case-control study. *Archives of dermatology*. 1996;132(3):272-6.
80. Schmidt E, Meyer-Ter-Vehn T, Zillikens D, Geerling G. [Mucous membrane pemphigoid with ocular involvement. Part I: Clinical manifestations, pathogenesis and diagnosis]. *Der Ophthalmologe : Zeitschrift der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft*. 2008;105(3):285-97; quiz 98.
81. Sobolewska B, Deuter C, Zierhut M. Current medical treatment of ocular mucous membrane pemphigoid. *The ocular surface*. 2013;11(4):259-66.

82. Al-Fouzan AW, Galadari I, Oumeish I, Oumeish OY. Herpes gestationis (Pemphigoid gestationis). *Clinics in dermatology*. 2006;24(2):109-12.
83. Soutou B, Aractingi S. Skin disease in pregnancy. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*. 2015;29(5):732-40.
84. Castro LA, Lundell RB, Krause PK, Gibson LE. Clinical experience in pemphigoid gestationis: report of 10 cases. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2006;55(5):823-8.
85. Sticherling M, Erfurt-Berge C. Autoimmune blistering diseases of the skin. *Autoimmunity reviews*. 2012;11(3):226-30.
86. Ambros-Rudolph CM, Sticherling M. [Specific dermatoses of pregnancy]. *Der Hautarzt; Zeitschrift für Dermatologie, Venerologie, und verwandte Gebiete*. 2017;68(2):87-94.
87. Lipozenčić J, MD, PhD Ljubojevic, Suzana, MD, PhD Bukvić-Mokos, Zrinka MD, PhD. Pemphigoid gestationis. *Clinics in dermatology*. 2012.
88. Dilling A, Rose C, Hashimoto T, Zillikens D, Shimanovich I. Anti-p200 pemphigoid: a novel autoimmune subepidermal blistering disease. *The Journal of dermatology*. 2007;34(1):1-8.
89. Jakes AD, Bradley S, Donlevy L. [Dermatitis herpetiformis Duhring]. *Praxis*. 2014;103(18):1085-8.
90. Joly P, Roujeau JC, Benichou J, Picard C, Dreno B, Delaporte E, et al. A comparison of oral and topical corticosteroids in patients with bullous pemphigoid. *The New England journal of medicine*. 2002;346(5):321-7.
91. Burton JL, Harman RR, Peachey RD, Warin RP. Azathioprine plus prednisone in treatment of pemphigoid. *British medical journal*. 1978;2(6146):1190-1.
92. Beissert S, Werfel T, Frieling U, Bohm M, Sticherling M, Stadler R, et al. A comparison of oral methylprednisolone plus azathioprine or mycophenolate mofetil for the treatment of bullous pemphigoid. *Archives of dermatology*. 2007;143(12):1536-42.
93. Meyer V, Beissert S. Azathioprine in the treatment of autoimmune blistering diseases. *Dermatologic clinics*. 2011;29(4):545-54.
94. Kasperkiewicz M, Schmidt E. Current treatment of autoimmune blistering diseases. *Current drug discovery technologies*. 2009;6(4):270-80.
95. Kjellman P, Eriksson H, Berg P. A retrospective analysis of patients with bullous pemphigoid treated with methotrexate. *Archives of dermatology*. 2008;144(5):612-6.
96. Friedman J, Marcovich AL, Kleinmann G, Schattner A. Low-dose pulsed intravenous cyclophosphamide for severe ocular cicatricial pemphigoid in elderly patients. *Cornea*. 2014;33(10):1066-70.
97. Hertl M, Zillikens D, Borradori L, Bruckner-Tuderman L, Burckhard H, Eming R, et al. Recommendations for the use of rituximab (anti-CD20 antibody) in the treatment of autoimmune bullous skin diseases. *Journal der Deutschen*

Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology : JDDG. 2008;6(5):366-73.

98. Lourari S, Herve C, Doffoel-Hantz V, Meyer N, Bulai-Livideanu C, Viraben R, et al. Bullous and mucous membrane pemphigoid show a mixed response to rituximab: experience in seven patients. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*. 2011;25(10):1238-40.
99. Schmidt E, Seitz CS, Benoit S, Brocker EB, Goebeler M. Rituximab in autoimmune bullous diseases: mixed responses and adverse effects. *The British journal of dermatology*. 2007;156(2):352-6.
100. Engineer L, Ahmed AR. Role of intravenous immunoglobulin in the treatment of bullous pemphigoid: analysis of current data. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2001;44(1):83-8.
101. Yu Z, Lennon VA. Mechanism of intravenous immune globulin therapy in antibody-mediated autoimmune diseases. *The New England journal of medicine*. 1999;340(3):227-8.
102. Egan CA, Meadows KP, Zone JJ. Plasmapheresis as a steroid saving procedure in bullous pemphigoid. *International journal of dermatology*. 2000;39(3):230-5.
103. van Beek N, Rentzsch K, Probst C, Komorowski L, Kasperkiewicz M, Fechner K, et al. Serological diagnosis of autoimmune bullous skin diseases: prospective comparison of the BIOCHIP mosaic-based indirect immunofluorescence technique with the conventional multi-step single test strategy. *Orphanet journal of rare diseases*. 2012;7:49.
104. Yoshida M, Hamada T, Amagai M, Hashimoto K, Uehara R, Yamaguchi K, et al. Enzyme-linked immunosorbent assay using bacterial recombinant proteins of human BP230 as a diagnostic tool for bullous pemphigoid. *Journal of dermatological science*. 2006;41(1):21-30.
105. Sitaru C, Dahnrich C, Probst C, Komorowski L, Blocker I, Schmidt E, et al. Enzyme-linked immunosorbent assay using multimers of the 16th non-collagenous domain of the BP180 antigen for sensitive and specific detection of pemphigoid autoantibodies. *Experimental dermatology*. 2007;16(9):770-7.
106. Eckardt J, Eberle FC, Ghoreschi K. Diagnostic value of autoantibody titres in patients with bullous pemphigoid. *European journal of dermatology : EJD*. 2018;28(1):3-12.
107. Gupta MA, Pur DR, Vujcic B, Gupta AK. Suicidal behaviors in the dermatology patient. *Clinics in dermatology*. 2017;35(3):302-11.
108. Kaplan I, Hodak E, Ackerman L, Mimouni D, Anhalt GJ, Calderon S. Neoplasms associated with paraneoplastic pemphigus: a review with emphasis on non-hematologic malignancy and oral mucosal manifestations. *Oral oncology*. 2004;40(6):553-62.
109. Podolskiy DI, Lobanov AV, Kryukov GV, Gladyshev VN. Analysis of cancer genomes reveals basic features of human aging and its role in cancer development. *Nature Communications*. 2016;7.

110. North BJ, Sinclair DA. The intersection between aging and cardiovascular disease. *Circulation research*. 2012;110(8):1097-108.
111. Rifaioğlu EN, Sen BB, Ekiz O, Dogramaci AC. Mean platelet volume and eosinophilia relationship in patients with bullous pemphigoid. *Platelets*. 2014;25(4):264-7.
112. Courville P, Kupfer I, Gilbert D, Thomine E, Metayer J, Joly P. [Evaluation of histological criteria for bullous pemphigoid. Correlation with antigens recognized by immunoblotting of anti-epidermal autoantibodies]. *Annales de pathologie*. 2000;20(6):564-9.
113. Mysorekar VV, Sumathy TK, Shyam Prasad AL. Role of direct immunofluorescence in dermatological disorders. *Indian dermatology online journal*. 2015;6(3):172-80.
114. Sladden C, Kirchhof MG, Crawford RI. Biopsy location for direct immunofluorescence in patients with suspected bullous pemphigoid impacts probability of a positive test result. *Journal of cutaneous medicine and surgery*. 2014;18(6):392-6.
115. Mehra T, Guenova E, Dechent F, Wurth F, Zierhut M, Rocken M, et al. Diagnostic relevance of direct immunofluorescence in ocular mucous membrane pemphigoid. *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology : JDDG*. 2015;13(12):1268-74.
116. Buschman KE, Seraly M, Thong HY, Deng JS, Draviam RP, Abernethy JL. A predominant IgG4 subclass may be responsible for false-negative direct immunofluorescence in bullous pemphigoid. *Journal of cutaneous pathology*. 2002;29(5):282-6.
117. Arbache ST, Nogueira TG, Delgado L, Miyamoto D, Aoki V. Immunofluorescence testing in the diagnosis of autoimmune blistering diseases: overview of 10-year experience. *Anais brasileiros de dermatologia*. 2014;89(6):885-9.
118. Glauser S, Rutz M, Cazzaniga S, Hegyi I, Borradori L, Beltraminelli H. Diagnostic value of immunohistochemistry on formalin-fixed, paraffin-embedded skin biopsy specimens for bullous pemphigoid. *The British journal of dermatology*. 2016;175(5):988-93.
119. Gammon WR, Briggaman RA, Inman AO, 3rd, Queen LL, Wheeler CE. Differentiating anti-lamina lucida and anti-sublamina densa anti-BMZ antibodies by indirect immunofluorescence on 1.0 M sodium chloride-separated skin. *The Journal of investigative dermatology*. 1984;82(2):139-44.
120. Gammon WR, Kowalewski C, Chorzelski TP, Kumar V, Briggaman RA, Beutner EH. Direct immunofluorescence studies of sodium chloride-separated skin in the differential diagnosis of bullous pemphigoid and epidermolysis bullosa acquisita. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 1990;22(4):664-70.
121. Esmaili N, Mortazavi H, Kamyab-Hesari K, Aghazadeh N, Daneshpazhooh M, Khani S, et al. Diagnostic accuracy of BP180 NC16a and BP230-C3 ELISA in

serum and saliva of patients with bullous pemphigoid. *Clinical and experimental dermatology*. 2015;40(3):324-30.

122. Hashimoto T, Ohzono A, Teye K, Numata S, Hiroyasu S, Tsuruta D, et al. Detection of IgE autoantibodies to BP180 and BP230 and their relationship to clinical features in bullous pemphigoid. *The British journal of dermatology*. 2016.
123. van Beek N, Luttmann N, Huebner F, Recke A, Karl I, Schulze FS, et al. Correlation of Serum Levels of IgE Autoantibodies Against BP180 With Bullous Pemphigoid Disease Activity. *JAMA dermatology*. 2017;153(1):30-8.
124. Saniklidou AH, Tighe PJ, Fairclough LC, Todd I. IgE autoantibodies and their association with the disease activity and phenotype in bullous pemphigoid: a systematic review. *Archives of dermatological research*. 2018;310(1):11-28.
125. Fine JD. Prevalence of autoantibodies to bullous pemphigoid antigens within the normal population. *Archives of dermatology*. 2010;146(1):74-5.
126. Fichel F, Barbe C, Joly P, Bedane C, Vabres P, Truchetet F, et al. Clinical and immunologic factors associated with bullous pemphigoid relapse during the first year of treatment: a multicenter, prospective study. *JAMA dermatology*. 2014;150(1):25-33.
127. Williams HC, Wojnarowska F, Kirtschig G, Mason J, Godec TR, Schmidt E, et al. Doxycycline versus prednisolone as an initial treatment strategy for bullous pemphigoid: a pragmatic, non-inferiority, randomised controlled trial. *Lancet (London, England)*. 2017;389(10079):1630-8.
128. Danieli MG, Shoenfeld Y. 7th International Immunoglobulin Conference: Immunomodulation. *Clinical and experimental immunology*. 2014;178 Suppl 1:112-4.
129. Katz U, Shoenfeld Y, Zandman-Goddard G. Update on intravenous immunoglobulins (IVIg) mechanisms of action and off- label use in autoimmune diseases. *Current pharmaceutical design*. 2011;17(29):3166-75.
130. Kasperkiewicz M, Ellebrecht CT, Takahashi H, Yamagami J, Zillikens D, Payne AS, et al. Pemphigus. *Nature reviews Disease primers*. 2017;3:17026.
131. Kasperkiewicz M, Shimanovich I, Ludwig RJ, Rose C, Zillikens D, Schmidt E. Rituximab for treatment-refractory pemphigus and pemphigoid: a case series of 17 patients. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2011;65(3):552-8.
132. Cho YT, Chu CY, Wang LF. First-line combination therapy with rituximab and corticosteroids provides a high complete remission rate in moderate-to-severe bullous pemphigoid. *The British journal of dermatology*. 2015;173(1):302-4.
133. Balakirski G, Alkhateeb A, Merk HF, Leverkus M, Megahed M. Successful treatment of bullous pemphigoid with omalizumab as corticosteroid-sparing agent: report of two cases and review of literature. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*. 2016;30(10):1778-82.
134. Anand V, Khandpur S, Sharma VK, Sharma A. Utility of desmoglein ELISA in the clinical correlation and disease monitoring of pemphigus vulgaris. *Journal of*

the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV.
2012;26(11):1377-83.

7. Erklärung zum Eigenanteil

Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift

Die Arbeit wurde in der Universitäts-Hautklinik Tübingen unter Betreuung von Herrn Prof. Dr. med. Kamran Ghoreschi durchgeführt.

Die Konzeption der Studie wurde von mir gemeinsam mit Herrn Prof. Dr. med. Kamran Ghoreschi erstellt.

Die Erhebung der Daten wurde von mir, Julia Eckardt, eigenhändig durchgeführt. Die statistische Auswertung wurde von mir vorgenommen, unterstützt durch das Institut für Klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie der Universität Tübingen und Herrn Prof. Dr. med. Kamran Ghoreschi.

Ich versichere, das Manuskript selbstständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Die in Zusammenhang mit dieser Dissertation entstandene Veröffentlichung wurde weitestgehend von mir erstellt und basiert auf den erhobenen Daten und Auswertungen der vorliegenden Arbeit. Unterstützung bei der Verfassung des Textes und der Erstellung der Grafiken erhielt ich von Herrn Prof. Dr. med. Kamran Ghoreschi und Frau PD Dr. med. Franziska C. Ghoreschi.

Tübingen, den 14.03.2018

8. Abbildungen und Tabellen

Abbildungen

Abb. 1: Schematische Darstellung des Desmosoms und der DEJ modifiziert nach Kneisel et al., 2011 (7).	7
Abb. 2: Das klinische Bild eines BPs.	16
Abb. 3: Das klinische Bild eines BPs.	16
Abb. 4: Ein dermatohistologischer Befund aus einer läsionalen Probebiopsie von einem Patienten mit einem BP.	18
Abb. 5: Immunfluoreszenzbefund bei einem Patienten mit BP.	20
Abb. 6: Konjunktivale Läsionen als typischer Befund bei einem okulären Pemphigoid.	24
Abb. 7: Mundschleimhautläsionen bei einem Patienten mit einem Schleimhautpemphigoid.	24
Abb. 8: Die absolute Zahl der eosinophilen Granulozyten bei BP-Patienten und der Kontrollgruppe aus Eckardt et al., 2018 (106).	39
Abb. 9: Die Titerverteilung im BP180- und BP230-ELISA bei den Patienten und dem Kontrollkollektiv aus Eckardt et al., 2018 (106).	48
Abb. 10: Die Therapie des BPs aus Eckardt et al., 2018 (106).	50
Abb. 11: Antikörpertiter im ELISA in den verschiedenen Krankheitsstadien aus Eckardt et al., 2018 (106).	52
Abb. 12: In dieser Abbildung sind die Antikörpertiter von 15 Patienten im Follow-up dargestellt (aus Eckardt et al., 2018 (106)).	54

Tabellen

Tabelle 1: Bullöse Autoimmundermatosen und ihre Antigenstrukturen modifiziert nach Schmidt et al., 2010 (9).	9
Tabelle 2: Demographische Daten der Patienten mit BP modifiziert nach Eckardt et al., 2018 (106).	36
Tabelle 3: Einnahme von Arzneimittel, die unter Verdacht stehen, ein BP zu triggern.....	37
Tabelle 4: Zurückliegende und aktuelle Malignome bei Patienten mit BP.	38
Tabelle 5: Die Auswertung der Histologie Befunde von der BP-Gruppe und dem Kontrollkollektiv.	40
Tabelle 6: Die Ergebnisse der DIF bei den Patienten mit BP und der Kontrollgruppe modifiziert nach Eckardt et al., 2018 (106).	41
Tabelle 7: Die Fluoreszenzmuster in der DIF bei Patienten und Kontrollkollektiv.	43
Tabelle 8: Titerverteilung in der IIF bei Patienten mit BP und Kontrollen aus Eckardt et al., 2018 (106).	45
Tabelle 9: Die Ergebnisse der Anti-BP-ELISAs von BP-Gruppe und der Kontrollgruppe.	47
Tabelle 10: Sensitivität und Spezifität der Diagnostikparameter aus Eckardt et al., 2018 (106).	49

9. Veröffentlichung

Im Zusammenhang mit dieser Arbeit entstand folgende Veröffentlichung:

Eckardt J, Eberle FC, Ghoreschi K.

Diagnostic value of autoantibody titres in patients with bullous pemphigoid.

European Journal of Dermatology. 2018;28(1):3-12.