

Hud-antikroppar (IgG)

Bakgrund

Medicinsk bakgrund: Autoimmuna bullösa dermatoser är ovanliga, men allvarliga och ibland livshotande blåsbildande sjukdomar i hud och slemhinnor. Laboratoriemässigt kännetecknas de av autoantikroppar mot hudens strukturella proteiner - adhesionsmolekyler. Dessa proteiner etablerar cell-till-cellkontakt mellan keratinocyterna i epidermis (via desmosomer som innehåller bland annat desmoglein 1, desmoglein 3 och envoplakin) eller adhesionen av epidermis till dermis (via hemidesmosomer som innehåller bland annat BP180, BP230 och integrin $\alpha 6 \beta 4$). Antikropparna attackerar adhesionsproteinerna, vilket leder till blåsbildning.

Beroende på vilka strukturella proteiner i huden som attackeras indelas de bullösa sjukdomar i:

- **Pemfigoidgruppen** (Bullös Pemfigoid (BP), Mukös Membran Pemfigoid (MMP), Pemfigoid Gestationis (PG), Dermatitis Herpetiformis (DH), Epidermolysis Bullosa Aquisita (EBA) och P200 pemfigoid bl. a).
- **Pemfigusgruppen** (Pemfigus Vulgaris (PV) och Pemfigus Foliacius (PF)).

Pemfigoidgruppen:

Bullös pemfigoid (BP) är den vanligaste förekommande bullösa dermatosen som ses framför allt hos äldre patienter. Hudirritationer med klåda, urticaria och rodnader kan föregå blåsbildningen med veckor till månader. Blåsorna är subepidermala och antikropparna är riktade oftast mot BP180 (sensitivitet ~90%, specificitet >95%) och BP230 (sensitivitet ~50%, specificitet >95%) som ingår i hemidesmosomer, dessa förankrar epidermis mot dermis. Hos alla patienter med Pemfigoid finns även antikroppar mot basalmembran.

Hudantikropparna är patogena och förändringar i antikroppsnivåer korrelerar med sjukdomsaktivitet.

Mukös Membran Pemphigoid (MMP) är den näst vanligaste Pemfigoidformen. Den drabbar främst slemhinnor i ögon, munhåla, lungor, genitalt och analt. Men kan även drabba huden. Utöver förekomst av antikroppar mot basalmembran och BP 180/230, kan dessa patienter ha antikroppar mot laminin 332 och integrin $\alpha 6 / \beta 4$.

Pemfigoid Gestationis (PG) en blåsdermatos som kan utvecklas i graviditetens sista trimester, kännetecknas vanligen av antikroppar mot basalmembran och BP180 (sensitivitet >90%) medan antikroppar mot BP230 är ovanliga.

Epidermolysisi Bullosa Aquisita (EBA) kan likna BP. De har antikroppar mot basalmembran och i ca 60% av fallen förekommer även antikroppar riktade mot kollagen VII, som finns i basalmembranens nedre del. Analysen har mycket hög sensitivitet och specificitet.

Pemfigoid p200 där attacken går mot laminin beta4. Kliniskt en blandning av Bullös Pemfigoid och Epidermolysis Bullosa Aquisita.

Pemfigusgruppen:

Pemfigus är en ovanlig och ibland livshotande autoimmun sjukdom där antikropparna är riktade mot antigen i desmosomer som håller ihop keratinocyterna i epidermis och blåsorna är intraepidermala. Olika typer av pemfigus kan ses där pemfigus vulgaris (PV) och pemfigus foliaceus (PF) är de vanligaste.

Vid **PV** ligger blåsorna djupt och ger smärtsamma sår i huden samt blåsor i slemhinnorna. Vid PV finner man ofta antikroppar mot desmoglein 3 (sensitivitet och specificitet >95%) och hos hälften av patienterna – även antikroppar mot desmoglein 1.

Vid **PF** ses fjälliga krustor och inga förändringar i slemhinnorna. Vid PF ses endast antikroppar mot desmoglein 1 (sensitivitet och specificitet >95%).

Hos alla patienter med Pemfigus finns antikroppar mot intercellulärsubstans.

Antikropps nivåerna i serum korrelerar med sjukdomsaktivitet.

Vid **paraneoplastiskt autoimmunt multiorgansyndrom (PAMS)**, också kallad paraneoplastisk pemfigus (PNP) har antikroppar av flera olika specificiteter påvisats, framför allt antikroppar mot envoplakin (sensitivitet 80% och specificitet >99%) men även mot desmoglein 1 och 3 men även antikroppar mot intercellulärsubstans. Även antikroppar mot basalmembran förekommer samtidigt och antikroppar mot BP180/230.

Svar/Tolkning/Bedömning

Indirekt immunfluorescens (IIF): Negativ titer <10. Positiv titer ≥ 10.

Screen-ELISA: Negativ titer <1. Positiv titer ≥ 1.

Kvantitativ ELISA: Negativ titer <20 E/ml. Positiv titer ≥20E/ml.

Metodik/mätprincip

Diagnostiskt flöde:

Vid misstanke om autoimmun bullös dermatos väljer man analyskombination "Blåsdermatosutredning" som inkluderar två analysmetoder (Hud-antikroppar (screen-IIF) som ingår: a-Des1, a-Des3, a-BP180, a-BP230, SSS epidermalt basalmembran, SSS dermalt basalmembran, a-basalmembran, a-intercellularsubstans. Hud-antikroppar (screen-ELISA) som ingår: a-Des1, a-Des3, a-BP180, a-BP230, a-Envoplakin, a-kollagen typ VII):

- Indirekt immunfluorescens (IIF) med 6 olika substrat (vävnadssnitt från esofagus och "salt-split-skin" och transfekterade celler med desmoglein 1, desmoglein 3, BP230 samt BP180 antigen). Metoden är semi-kvantitativ, serum sätts i två spädningar – 1:10 och 1:100, positiva reaktioner svaras ut med titer.
- Screen-ELISA där antikroppar mot BP180, BP230, desmoglein 1 och 3, envoplakin och kollagen VII kan detekteras.

Ifall förekomst av antikroppar mot BP180, BP230, desmoglein 1 och 3 eller kollagen VII med dessa två analysmetoder, kompletteras med bekräftande kvantitativ ELISA av respektive positiv antikropp.

Vid uppföljning av redan diagnostiserad blåssjukdom kan man beställa kvantitativ analys (ELISA) av specifika antikroppar BP180/230, Desmoglein1/3, kollagen VII, integriner, lamininer eller Envoplakin samt IIF analys (antikroppar mot basalmembran respektive intercellulärsubstans). Detta för att kunna serologiskt skatta graden av sjukdomsaktivitet och behandlingseffekt.

Kvantitativa analyser av antikroppar mot lamininer, integrin och kollagen VII (ELISA) utförs av extern leverantör (Clinical Immunological Laboratory, Lubeck, Tyskland).

Kompletterande analys av Pemfigoidgruppens sjukdomar utförs för att kunna skilja de olika pemfigoidsjukdomarna åt.

"Salt-split-skin" är en preparation där hudpreparat inkuberas med 1M NaCl, vilket löser upp förankringarna mellan dermis och epidermis. Då olika autoantigen i basalmembranet blottläggs i en blåsa som bildas.

I den dermala sidan (blåsbotten) exponeras antigen som kollagen typ VII, laminin 332 och laminin beta4 (p200).

I den epidermala sidan (blåstaket) exponeras bland annat BP180, BP230 och integrin $\alpha 6\beta 4$.

Referenslitteratur

1. L Truedsson et al; Klinisk immunologi 2012, s 212-217
2. Hertl, Michael et al; Humoral and Cellular Autoimmunity in Autoimmune Bullous Skin Disorders, *Int. Arch. Allergy Immunol* 2000; 122: 91–100
3. Egami et al; Autoimmune bullous skin diseases, pemphigus and pemphigoid, *J Allergy Clin Immunol*, April 2020, Vol 145, No 4, 1031-1047
4. Takahashi et al; Autoimmunity and immunological tolerance in autoimmune bullous diseases, *International Immunology*, July 2019, Vol 31, No.7, pp. 431-437
5. Simpson et al; Comparison of the EUROIMMUN Dermatology Profile ELISA to the novel BIOCHIP Mosaic 7 for the diagnosis of immunobullous skin disease, *Australas J Dermatol.*, 2021 Aug; 62(3): 314-322
6. Sitaru et al; Enzyme-linked immunosorbent assay using multimers of the 16-th non-collagenous domain of the BP180 antigen for sensitive and specific detection of pemphigoid autoantibodies, *Exp Dermatol.*, 2007 Sep; 16(9): 770-777.
7. Komorowski et al; Sensitive and specific assays for routine serological diagnosis of epidermolysis bullosa acquisita, *J Am Acad Dermatol*, March 2013, Vol 68, No 3, e89-e95
8. Probst et al; Development of ELISA for the specific determination of autoantibodies against envoplakin and periplakin in paraneoplastic pemphigus, *Clin Chim Acta.*, 2009 Dec; 410(1-2), 13-18
9. Blöcker et al; Epitope mapping of BP 230 leading to a novel enzyme-linked immunosorbent assay for autoantibodies in bullous pemphigoid, *Br J Dermatol.*, 2012 May, 166(5): 964-970
10. Schmidt et al; Novel ELISA systems for antibodies to Desmoglein 1 and 3: correlation of disease activity with serum autoantibody levels in individual pemphigus patients, *Exp. Dermatol.*, 2010 May; 19(5): 458-463
11. Amber et al; Paraneoplastic autoimmune multiorgan syndrome (PAMS): Beyond the single phenotype of paraneoplastic pemphigus, *Autoimmunity Reviews* 17 (2018), 10002-1020