

Syllabus

PAOKC-cursus Klinische Chemie en Laboratoriumgeneeskunde

Orgaanspecifieke auto-immuunziekten

**Nederlandse Vereniging
Voor Klinische Chemie
en Laboratoriumgeneeskunde**

**Nederlandse Vereniging
voor Immunologie**

Dinsdag 10 oktober 2006

Congrescentrum De Reehorst, Ede

Programma

- 09.15 – 09.55 **Registratie, expositie, koffie en thee**
- OCHTENDPROGRAMMA**
Voorzitter: dr. I.A. Haagen, Amsterdam
- 09.55 – 10.00 **Opening**
dr. I.A. Haagen
- 10.00 – 10.30 **Algemene inleiding auto-immuunziekten**
prof. dr. H. Hooijkaas
- 10.30 – 11.15 **Coeliakie: het belang van antistoffbepalingen**
dr. B.M.E. von Blomberg – van der Flier
- 11.15 – 12.00 **Auto-immuunleverziekten**
dr. H.R. van Buuren
- 12.00 – 13.15 **Lunch en expositie**
- MIDDAGPROGRAMMA**
Voorzitter: prof. dr. H. Hooijkaas
- 13.15 – 14.00 **Auto-antigeenpresentatie in de thymus: fact or fiction?**
dr. J.D.A.M. Damoiseaux
- 14.00 – 14.45 **Diabetes en auto-antistoffen**
dr. M.R. Batstra
- 14.45 – 15.15 **Koffie, thee en expositie**
- 15.15 – 16.00 **De immunologie van paraneoplastische neurologische syndromen:
diagnostiek en behandeling**
prof. dr. P.A.E. Sillevs Smitt
- 16.00 – 16.45 **Auto-immuunschildklierziekten en zwangerschap**
prof. dr. H.A. Drexhage
- 16.45 **Sluiting en borrel**

Sprekers

dr. M.R. Batstra

Medisch immunoloog
Diagnostisch Centrum SSDZ, Delft

dr. B.M.E. von Blomberg – van der Flier

Medisch immunoloog
VU Medisch Centrum, Amsterdam

dr. H.R. van Buuren

Maag, darm- en leverarts
Erasmus MC, Rotterdam

dr. J.D.A.M. Damoiseaux

Medisch immunoloog
Academisch Ziekenhuis, Maastricht

prof. dr. H.A. Drexhage

Medisch immunoloog
Erasmus MC, Rotterdam

prof. dr. H. Hooijkaas

Medisch immunoloog
Erasmus MC, Rotterdam

prof. dr. P.A.E. Sillevius Smitt

Neuroloog
Erasmus MC, Rotterdam

Organisatie

De cursus wordt georganiseerd door de Nederlandse Vereniging voor Klinische Chemie en Laboratoriumgeneeskunde (NVKC) en de Nederlandse Vereniging voor Immunologie (NVvI). De organisatie van het symposium is mede mogelijk gemaakt door Sanquin Diagnostiek.

Organisatiecommissie

dr. F. van der Graaf	Maxima Medisch Centrum Veldhoven
dr. I.A. Haagen	Onze Lieve Vrouwe Gasthuis Amsterdam
dr. R.M.J. Hoedemakers	Jeroen Bosch Ziekenhuis 's-Hertogenbosch namens de PAOKC commissie van de NVKC
prof. dr. H. Hooijkaas	Erasmus MC Rotterdam
dr. A.H.L. Mulder	Ziekenhuisgroep Twente Almelo

Inhoud

	Pagina
Coeliakie: het belang van antistofbepalingen <i>Dr. B.M.E. von Blomberg – van der Flier</i>	11
Auto-immuunziekten van de lever <i>Dr. H.R. van Buuren</i>	20
Auto-antigeenpresentatie in de thymus: Fact or Fiction? <i>Dr. J.G.M.C. Damoiseaux</i>	25
Diabetes en auto-antistoffen <i>Dr. M.R. Batstra</i>	30
De Immunologie van paraneoplastische neurologische syndromen: Diagnostiek en behandeling <i>Prof.dr. P.A.E. Sillevis Smitt</i>	33
Thyroid autoimmune diseases and pregnancy <i>Prof.dr. H.A. Drexhage</i>	41

INLEIDING

H. Hooijkaas, medisch immunoloog

Auto-immuunziekten zijn aandoeningen waarbij immunologische reacties die gericht zijn tegen eigen lichaamsbestanddelen, structurele of functionele schade toebrengen aan weefsels of organen (1-3). Ze worden wel onderverdeeld in gegeneraliseerde en orgaanspecifieke auto-immuunziekten. De eerste groep werd in 2001 in een PAOKC-cursus behandeld. Nu in 2006 staan de orgaanspecifieke auto-immuunziekten op het programma.

Auto-immuunziekten komen bij tenminste 5% van de bevolking voor. Vrijwel ieder orgaan kan door een auto-immuunziekte worden aangedaan. Inmiddels is van vele auto-immuunziekten bekend hoe de schade in de weefsels en organen tot stand komt. Hoe echter de schadelijke auto-immuunreactie wordt geactiveerd en in stand gehouden, is meestal onduidelijk. Er bestaan hierover vele theorieën en het is niet aannemelijk dat er één theorie is die het ontstaan van alle auto-immuunziekten zal kunnen verklaren. Waarschijnlijk spelen genetische, immunologische en hormonale factoren en factoren uit de omgeving (waaronder mogelijk ziekteverwekkers als virussen en bacteriën) alle een rol (4-10 en figuur 1). Enkele theorieën en voorwaarden met betrekking tot het ontstaan van auto-immuunziekten staan vermeld in tabel 1.

Er zijn inmiddels vele auto-antistofbepalingen ontwikkeld tegen evenzovele auto-antigenen (11). Soms zijn antistoffen direct betrokken bij een schadelijk auto-immuunproces, soms vormen ze slechts indirect een afspiegeling van weefselschade waarbij auto-antigenen zijn vrijgekomen waartegen vervolgens auto-antistoffen zijn opgewekt (tabel 2). Hoe het ook zij, de bepaling van auto-antistoffen is veelal goed bruikbaar in de diagnostiek van zowel gegeneraliseerde (12) als orgaanspecifieke auto-immuunziekten (13 en tabel 3) en opent zelfs mogelijkheden om in een vroeg stadium ziekten op te sporen nog voordat de ziekte klinisch manifest is (14,15). Vroege behandeling is daardoor soms een reële optie geworden waardoor onnodige weefselschade en complicaties kunnen worden voorkomen.

Tijdens de PAOKC-cursus ‘Orgaanspecifieke auto-immuunziekten’ zullen de auto-immuunziekten in algemene zin worden besproken waarbij nieuwe theorieën over

ontstaan en pathogenese aan de orde zullen komen. Daarnaast zullen door klinici en laboratoriumspecialisten nieuwe ontwikkelingen waarbij de nadruk zal liggen op de kliniek, laboratoriumdiagnostiek en therapie van orgaanspecifieke auto-immuunziekten, zoals die waarbij schildklier, pancreas, lever, darm en zenuwstelsel zijn aangedaan. De betekenis van de dialoog tussen kliniek en laboratorium bij de testaanvragen en bij de interpretatie van de uitslagen moet daarbij niet worden onderschat. Het is belangrijk dat zowel de klinici als de laboratoriumspecialisten zich blijven afvragen wánnere wélke auto-antistofbepalingen moeten worden aangevraagd. Uitgangspunt daarbij is dat de aanvraag zich richt op één of enkele ziekte(n). Het “screenen” van patiënten met vage klachten op auto-antistoffen levert weinig informatie op voor de diagnose. Er moet tenminste een differentiële diagnose zijn met een geschatte kans op de ziekten op basis van anamnese, lichamelijk onderzoek en prevalentie. Het draait daarbij feitelijk om de vraag bij welke ziekten de bevindingen kunnen voorkomen en hoe groot de relevantie en de mogelijkheden zijn om van de betreffende ziekten de diagnose te stellen met behulp van aanvullende laboratoriumdiagnostiek. Daarbij komt dat vroegdiagnostiek steeds belangrijker wordt omdat daarmee eerder de juiste behandelingsmodaliteiten kunnen worden ingezet om ernstige, vaak irreversibele orgaanschade te voorkomen.

Het type test en de daarin gebruikte auto-antigenen heeft grote invloed op de prevalentiegetallen van de auto-antistoffen, zoals die in de tabellen van publicaties, leerboeken, vademecums en in cursusboeken worden gepresenteerd (tabel 3). Ook de samenstelling van de geteste patiëntengroepen en criteria volgens welke de diagnoses zijn vastgesteld spelen een belangrijke rol. Het is daardoor niet verwonderlijk dat er (soms grote) verschillen kunnen optreden tussen gepubliceerde getallen. In de laboratoriumpraktijk is de balans tussen sensitiviteit en specificiteit uiteraard eveneens belangrijk, evenals de overweging om niet altijd op één testsysteem te varen, maar gevonden bevindingen te confirmeren in een ander testsysteem. Standardisatie en validatie van de technieken en het ontwikkelen en gebruiken van referentiematerialen plus daarbij het gebruik van goed gedefinieerde serumpanels zijn van groot belang. Voor de dagelijkse praktijk spelen natuurlijk ook gebruiksgemak, de (arbeids)kosten, laboratoriumautomatisering en de wens tot een complete analyse van bepaalde auto-antistoffengroepen een grote rol.

Het ziet er naar uit dat met de huidige nieuwe ontwikkelingen van multiplex auto-antistofdetectie veel sneller en goedkoper auto-antistofprofielen kunnen worden bepaald en gemakkelijker de fijnspecificiteit, de aviditeit en pathogeniciteit van auto-antistoffen kan worden vastgesteld (16-18). De technologie hiertoe is voorhanden, en op kleine schaal uitgevoerd onderzoek bij vooralsnog vooral gegeneraliseerde auto-immuunziekten wijst reeds op de haalbaarheid en het potentiële nut van dergelijke auto-antistofprofielen (19-22). Hiermee zal een radicale vernieuwing worden bereikt in het toepassen van auto-antistofbepalingen voor de diagnostiek.

Referenties

1. Davidson A, Diamond B. Autoimmune diseases. *N Engl J Med* 2001;345:340-50.
2. Hooijkaas H. Auto-immuniteit en auto-immuunziekten. In: Benner R, Blokland SCA van, Dongen JJM van, Ewijk W van, Hooijkaas H (eds.). *Medische immunologie*, tweede druk. Maarssen: Elsevier gezondheidszorg, 2003: 379-93.
3. Rose NR, Mackay IR (eds.). *The autoimmune diseases* (4th ed.). Amsterdam: Elsevier Academic Press, 2006.
4. Shoenfeld Y, Rose NR (eds). *Infection and Autoimmunity*. Amsterdam: Elsevier, 2004.
5. Christen U, Von Herrath MG. Infections and autoimmunity--good or bad? *J Immunol* 2005;174:7481-6.
6. Hasler P, Zouali M. Immune receptor signaling, aging, and autoimmunity. *Cell Immunol* 2005;233:102-8.
7. Kronenberg M, Rudensky A. Regulation of immunity by self-reactive T cells. *Nature* 2005;435:598-604.
8. Goodnow CC, Sprent J, De St Groth BF et al. Cellular and genetic mechanisms of self tolerance and autoimmunity. *Nature* 2005;435:590-7.
9. Rioux JD, Abbas AK. Paths to understanding the genetic basis of autoimmune disease. *Nature* 2005;435:584-9.
10. Rijkers GT, Prakken BJ. Verstoorde immuunregulatie bij auto-immuniteit. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk* 2006, in press.
11. Peter JB, Shoenfeld Y (eds). *Autoantibodies*. Amsterdam: Elsevier, 1996.
12. Hooijkaas H, Smeenk R, Gmelig Meyling F. Systemische auto-immuunziekten: passende serologische diagnostiek. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk* 2006, in press.
13. Hooijkaas H, Drexhage HA, Ceuppens JL. Hfdst. 9. Immuunziekten en Allergie. In: *Codex Medicus*, Twaalfde druk. Doetinchem: Reed Business Information, 2005:309-62.
14. Arbuckle MR, McClain MT, Rubertone MV et al. Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2003;349: 1526-33.
15. Harel M, Shoenfeld Y. Predicting and preventing autoimmunity, myth or reality? *Ann N Y Acad Sci* 2006;1069:322-45.

16. Robinson WH, DiGennaro C, Hueber W et al. Autoantigen microarrays for multiplex characterization of autoantibody responses. *Nat Med* 2002;8:295-301.
17. Hueber W, Robinson WH. Proteomic biomarkers for autoimmune diseases. *Proteomics* 2006;6:4100-5.
18. Hershko AY, Naparstek Y. Autoimmunity in the era of genomics and proteomics. *Autoimmunity Reviews* 2006;4:230-3.
19. Hueber W, Utz PJ, Steinman L et al. Autoantibody profiling for the study and treatment of autoimmune disease. *Arthritis Res* 2002;4:290-5.
20. Feng Y, Ke X, Ma R, Chen Y, Hu G, Liu F. Parallel detection of autoantibodies with microarrays in rheumatoid diseases. *Clin Chem* 2004;50:416-22.
21. Hueber W, Kidd BA, Tomooka BH et al. Antigen microarray profiling of autoantibodies in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2005;52:2645-55.
22. Hueber W, Tomooka BH, Zaho X, Kidd BA, Drijfhout JW, Fries JF, Van Venrooij WJ, Metzger AL, Genovese MC, Robinson WH. Proteomic analysis of secreted proteins in early rheumatoid arthritis: Anti-citrulline reactivity is associated with upregulation of proinflammatory cytokines. *Ann Rheum Dis* 2006; in press.

Tabel 1. Enkele theorieën en voorwaarden met betrekking tot het ontstaan van auto-immuunziekten.

Genetisch predispositie (HLA-type; genpolymorfismen)

Defecten in immunologische tolerantiemechanismen

Defecten in immuunregulatie

Vrijkomen van verborgen auto-antigenen

Abnormale presentatie van auto-antigenen

Infecties (en moleculaire mimicry)

Figuur 1. De ontwikkeling van een auto-immuunziekte is een multifactorieel proces: genetische predispositie, omgevingsfactoren en het functioneren van het immuunsysteem.



Tabel 2. Antistoffen spelen een directe rol in het ziekteproces (→) of zijn indirect een afspiegeling van weefselschade (←) of mogelijk beide (↔).

Antistoffen tegen		Ziekte
acetylcholine-receptor	→	myasthenia gravis
TSH-receptor	→	ziekte van Graves
schilddklierperoxidase	←	ziekte van Hashimoto
eilandjes van Langerhans	←	type I diabetes mellitus
pariëtale cellen	↔	pernicieuze anemie
intrinsic factor	→	pernicieuze anemie
erythrocyten	→	hemolytische anemie

Tabel 3. Auto-antistoffen bij verschillende orgaanspecifieke auto-immuunziekten.

	<i>Antistoffen tegen</i>	<i>Bijbehorende ziekte</i>	<i>Prevalentie % bij</i>	
			<i>de ziekte</i>	<i>gezonden</i>
1.	schildklier (TPO, Tg)	Hashimoto thyroiditis	>95	0-20*
		primair myxoedeem	>90	
		ziekte van Graves	70	
2.	TSH-receptoren	ziekte van Graves	>90	<5
		primaire hypothyreoïdie	10	
3.	maag-pariëtale cellen (H ⁺ , K ⁺ -adenosine trifosfatase)	atrofische gastritis	50	0-10*
		pernicieuze anemie	50-100	
4.	intrinsic factor	pernicieuze anemie	50	<1
5.	steroïdproducerende cellen			
	- bijnier (corticale steroïdcellen)	ziekte van Addison	80	<1
	- gonaden (thecacellen, Leydig-cellen)	sommige vormen van infertiliteit	15-50	<1
6.	pancreas (eilandjes van Langerhans)	diabetes mellitus type 1 (insuline-afhankelijke)	80	<5
7.	mitochondriën (pyruvaatdehydrogenase complex)	primaire biliaire cirrose	>95	<1
8.	glad spierweefsel	auto-immuun hepatitis diverse	75 30-60	<5
		leverbeschadigingen		
8.	soluble liver antigen (SLA)	auto-immuun hepatitis	15	<1
9.	tissue transglutaminase (tTG)	coeliakie	>95	<1
		dermatitis herpetiformis	70	
10.	gliadine	coeliakie	>95	<5
		dermatitis herpetiformis	25	
11.	endomysium	coeliakie	>95	<1
		dermatitis herpetiformis	70	
12.	dwarsgestreept spierweefsel	myasthenia gravis	20	<5
		- met thymoom	100	
13.	acetylcholinereceptoren	myasthenia gravis	90	<1
		- met thymoom	90	
14.	huid			
	- intercellulaire substantie	pemphigus vulgaris	90	<1
	- basale membraan	parapemphigus (pemfigoïd)	70	<1
15.	nier	Goodpasture-syndroom	>95	<1
	- glomerulair			
	- basaalmembraan			

* spreiding is afhankelijk van leeftijd en geslacht: vaker positief bij vrouwen en ouderen.

COELIAKIE: HET BELANG VAN ANTISTOFBEPALINGEN

*B.M.E. von Blomberg, M.W.J. Schreurs en I.M.W. van Hoogstraten,
medisch immunologen (i.o.)*

Klinisch beeld

Coeliakie is een ziekte van de dunne darm die wordt veroorzaakt door een irreversibele intolerantie voor gluten. Gluten is een belangrijk bestanddeel van o.a. tarwe en wordt in veel voedingsmiddelen verwerkt. Klinisch manifesteert coeliakie zich in zijn klassieke vorm als een malabsorptie-syndroom met frequente vet-achtige diarree. De laatste jaren worden er echter, mede dankzij de hier te bespreken antistofbepalingen, meer en meer coeliakiepatiënten gediagnosticeerd bij wie gastro-intestinale klachten niet op de voorgrond staan. Het betreft hier patiënten met o.m. groeiachterstand, bloedarmoede, chronische vermoeidheid, hormonale stoornissen of osteoporose. De therapie bestaat uit het instellen van een glutenvrij dieet, dat levenslang gehandhaafd moet blijven. In vrijwel alle coeliakiepatiënten normaliseren de klachten dan en herstelt de darm. Echter, in een zeer gering aantal patiënten, veelal op volwassen leeftijd gediagnosticeerd, kunnen er complicaties optreden met ernstige mucosale afwijkingen, ondanks een strikt glutenvrij dieet. Bij een deel van deze refractaire coeliakiepatiënten ontspoord de immunrespons en kunnen zich z.g. enteropathie geassocieerde T-cellymfomen (EATL) ontwikkelen, meestal met fatale afloop[0].

Immuunpathogenese

Coeliakie wordt veelal tot de auto-immuunziekten gerekend maar is in beginsel een T-cel gemedieerde allergie. De intolerantie voor gluten is n.l. het gevolg van een T-cel afhankelijke respons op gluten-peptiden. De herkenning van deze peptiden door de T-cel vindt plaats in de context van MHC-klasse II moleculen. Alleen bepaalde MHC-klasse II moleculen, te weten HLA-DQ2 en HLA-DQ8 zijn in staat de peptiden te binden en er T-cellen mee te stimuleren [0]. Coeliakie komt dan ook vrijwel uitsluitend voor bij individuen die drager zijn van het HLA-DQ2 of DQ8 complex. De

HLA-DQ2 heterodimeer wordt gevormd door de α -keten DQA1*05 en de β -keten DQB1*02; HLA-DQ8 wordt gevormd door DQA1*03 en DQB1*0302.

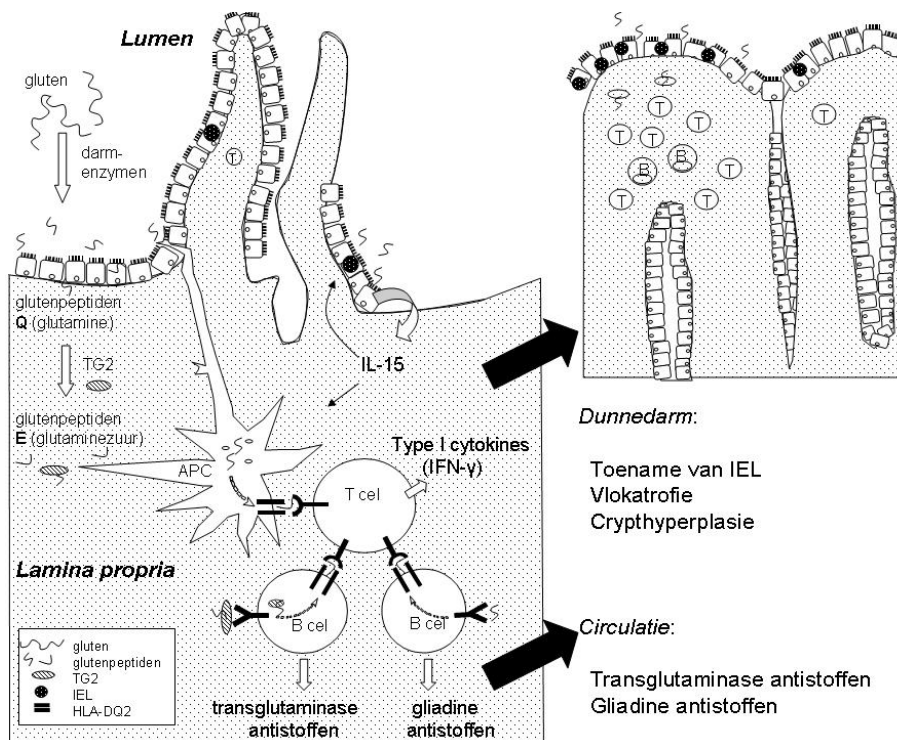
De herkenning van glutenpeptiden vindt niet zonder meer plaats. Het enzym tissue transglutaminase (tTG of TG2) speelt hierin een essentiële rol [0]. Dit enzym is onder meer van belang voor herstel van weefselschade en wordt bij coeliakiepatiënten in de darm verhoogd tot expressie gebracht. TG2 vindt in het glutaminerijke gluten een ideaal substraat; het vormt hiermee complexen en zet vervolgens glutamine om in het negatief geladen glutaminezuur. De hierdoor ontstane peptiden worden bij uitstek gebonden en gepresenteerd door HLA-DQ2 en HLA-DQ8 complexen aan het celoppervlak.

Doordat het TG2 complexen vormt met gluten, kunnen zowel gluten-specifieke als TG2-specifieke B-cellen, na opname van het complex, glutenpeptiden aanbieden aan specifieke T-cellen, en door deze interactie geactiveerd raken. Zo leidt uiteindelijk de stimulatie van gluten-specifieke T-cellen in de lamina propria tot de productie niet alleen van antistoffen tegen gluten, maar ook van auto-antistoffen tegen TG2.

De rol van transglutaminase antistoffen (TGA) in de pathogenese van coeliakie is nog niet geheel opgehelderd, maar lijkt voorsnog niet zo groot. Wel zijn er aanwijzingen dat TGA pathogeen kunnen zijn in aan coeliakie verwante ziektebeelden, zoals dermatitis herpetiformis. In de huidlaesies bij deze aandoening, die meestal gepaard gaat met milde vormen van coeliakie en die bovendien ook normaliseert tijdens een glutenvrij dieet, worden TGA aangetroffen, gecomplexeerd met TG3. Het betreft hier naar alle waarschijnlijkheid kruisreagerende antistoffen, die de ontsteking en blaarvorming triggeren [0]. Ook in het cerebellum kunnen TGA gebonden worden door daar aanwezig TG2, hetgeen wel in verband gebracht wordt met neuronale symptomen. Ook hier is het precieze pathogenetisch mechanisme echter nog niet geheel opgehelderd.

Gluten kan, naast het opwekken van glutenspecifieke T-cel responsen, ook direct het darmepitheel stimuleren, waardoor deze cellen MHC class I

chain-related molecule A (MICA) tot expressie brengen en IL-15 gaan produceren. Dit is een belangrijke route voor activering van de 'innate' immuunrespons en voor expansie van de in de epitheellaag aanwezige CD8+ T-lymfocyten (intraepitheliale lymfocyten of IEL), welke via hun NKG2D-receptor de MICA-positieve epitheelcellen kunnen doden [0]. Het samenspel van de adaptieve en 'innate' immuunrespons op gluten leidt uiteindelijk, naast de inflammatoire Th1-type reactie in de lamina propria met o.a. IFN- γ productie, tot de voor coeliakie karakteristieke histologische afwijkingen met toename van IEL, verdieping van de crypten en vlokatrofie (figuur 1 en tabel 1).



Figuur 1. Immuun pathogenese van coeliakie

Serologie

Hoewel gliadine- en transglutaminase-antistoffen niet of nauwelijks een rol lijken te spelen in de pathogenese van coeliakie is hun diagnostisch belang heel groot. Waren het aanvankelijk de gliadine antistoffen die veel nieuwe

coeliakiediagnoses aan het licht brachten, in de laatste tien jaar hebben de auto-antistofbepalingen, gericht tegen endomysium en het hierin aanwezige tissue transglutaminase (TG2) deze verre overtroffen [0]. Hieronder zullen de verschillende antistoffen en technieken waarmee ze bepaald worden de revue passeren.

Gliadine antistoffen: De antistofrespons op gluten kan het best gemeten worden met gliadine, de alcohol oplosbare fractie uit gluten, als substraat in een ELISA. Gliadine antistoffen spelen geen noemenswaardige rol meer in de serologische diagnose. Uit de review van Rostom [0] blijkt dat de sensitiviteit van IgA-gliadineantistoffen varieert per studie en slechts in de helft van de studies boven de 80% ligt, in éénderde boven de 90%. De specificiteit ligt over de hele linie hoger: in het merendeel van de studies boven de 80%, in de helft boven de 90%, zowel in kinderen als in volwassenen. Ondanks hun matige sensitiviteit en specificiteit, onderbouwen sterk positieve gliadine antistoffen de diagnose coeliakie en vormen, indien aanwezig bij diagnose, een gevoelige parameter voor het vervolgen van een glutenvrij dieet.

Endomysium antistoffen: Endomysium is de intercellulaire matrix, gelegen tussen de gladspiervezels in de muscularis mucosae van het maagdarmpkanaal en is rijk aan TG2. Coupes, m.n. van de oesophagus van de aap, waar het endomysium goed herkenbaar is, lenen zich bij uitstek voor het vaststellen van endomysium antistoffen (EMA) in een indirecte immuunfluorescentietest. Overigens kan humane navelstreng als alternatief substraat dienen. Het is raadzaam sera betrekkelijk geconcentreerd (1:2,5 of 1:5 verdunning) te testen, in eerste instantie op IgA antistoffen, daar deze het meest relevant voor de diagnostiek zijn. In geval van een IgA-deficiëntie kan getest worden op IgG, het beste resultaat wordt hier bereikt met een monoclonaal anti-IgG1 conjugaat [0].

Sensitiviteit en specificiteit van IgA EMA liggen, ongeacht de leeftijd, zeer hoog; de sensitiviteit ligt in de grotere case control studies tussen de 90% en 95%, de specificiteit tussen 98% en 100% (P25-75). Fout negatieve EMA-testen zijn toe te schrijven enerzijds aan IgA-deficiënties, anderzijds aan het

feit dat geringere mucosale afwijkingen (Marsh III a en b; tabel 1) vaak gepaard gaan met lagere titers autoantistoffen [0]. Fout positieve, meestal zwakke, EMA kunnen heel incidenteel (< 0,5%) voorkomen; dikwijls zijn ze transiënt en, in afwezigheid van klinische verdenking, is het raadzaam testen na een aantal maanden te herhalen [0].

Transglutaminase antistoffen: TGA worden vrijwel altijd getest in een ELISA en uitgedrukt in arbitraire eenheden. Als antigeen wordt gebruik gemaakt van uit cavialever opgezuiverd TG2 of van humaan opgezuiverd of recombinant TG2 (rhTG2). Vrijwel alle kits geven goede diagnostische resultaten; gebruik van rh TG2 verbetert echter zowel de sensitiviteit als de specificiteit nog enigszins [0]. Recent zijn ook commerciële sneltesten op de markt gebracht, al dan niet op basis van serum of volbloed [0]. Toepassing in een laboratoriumsetting is vooralsnog weinig aantrekkelijk, daar de tijdwinst gepaard gaat met een verminderde graad van kwantificering.

Sensitiviteit en specificiteit van IgA TGA liggen, ongeacht de leeftijd, zeer hoog; bij gebruik van rhTG2 ligt de sensitiviteit in de grotere 'case control' studies tussen de 92% en 96%, de specificiteit tussen 98% en 100% (P25-75) [0]. Fout negatieve IgA TGA kunnen voorkomen bij IgA-deficiënties en bij de geringere mucosale afwijkingen [0, 0]. Fout positieve IgA TGA, ook bij gebruik van rhTG2, zijn beschreven bij PBC (10,4%; 0), lever cirrhosis (1-30%, afhankelijk van testsysteem;0), systemische auto-immuniteit (1%, 0) en IBD (67%, 0), terwijl de EMA negatief is.

EMA en TGA geven niet altijd concordante resultaten. De testen zijn voor verschillende interfererende factoren gevoelig en vullen elkaar derhalve dikwijls aan [0].

IgA-deficiëntie: IgA-deficiënte coeliakiepatiënten lopen het risico gemist te worden in de op IgA antistoffen gebaseerde serologische diagnostiek. Aangezien de prevalentie van coeliakie bij IgA-deficiënte patiënten is verhoogd tot ca 8% [0], is het van belang bij negatieve coeliakieserologie een eventuele IgA-deficiëntie als oorzaak uit te sluiten. Hoewel bij een selectieve IgA-deficiëntie de IgA spiegel < 0,05 g/l bedraagt, is het aannemelijk dat bij patiënten met lage IgA spiegels, de coeliakie

diagnostiek minder gevoelig uitvalt. Het is momenteel gangbaar IgG-diagnostiek in te zetten wanneer het IgA niet detecteerbaar is in de routine nefelometrische bepaling (< 0,07 g/l). Jonge kinderen hebben vaak nog geen detecteerbaar IgA, een test op de aanwezigheid van IgA tegen andere darm-antigenen, zoals tegen *E.coli* is dan vaak wel detecteerbaar en vormt een goed alternatief. In geval van een vermoedelijke IgA-deficiëntie kunnen in het kader van een coeliakievraagstelling het beste IgG TGA en IgG(1) EMA en eventueel IgG gliadine antistoffen ingezet worden.

De plaats van de serologie in de diagnostiek

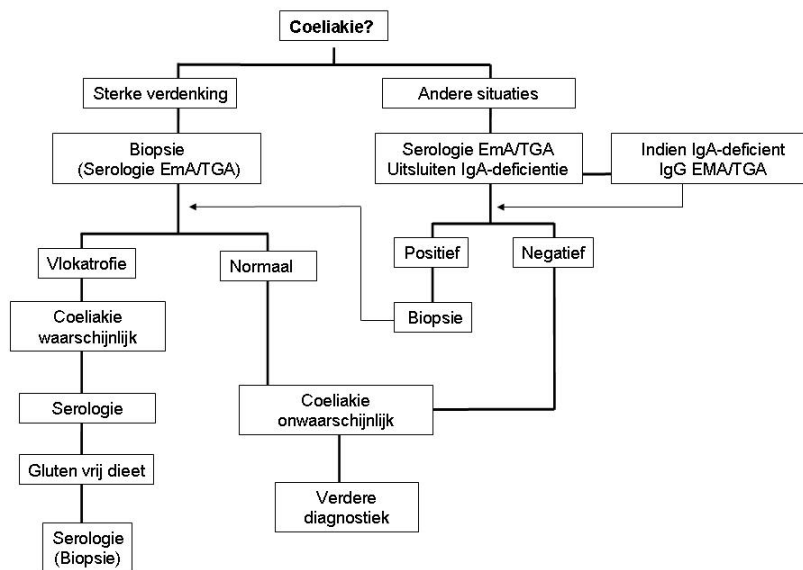
De gouden standaard voor de diagnose coeliakie is het duodenumbipt. De eerder genoemde afwijkingen hierin, te weten toename van IEL, verdieping van de crypten en vlokatrofie, worden meestal geclassificeerd volgens Marsh (tabel 1).

Marsh	IEL per 100 epitheelcellen	Crypten	Vlokatrofie
0	< 40	Normaal	Geen
I	> 40	Normaal	Geen
II	> 40	Hyperplasie	Geen
IIIa	> 40	Hyperplasie	Partieel +
IIIb	> 40	Hyperplasie	Subtotaal ++
IIIc	> 40	Hyperplasie	Totaal +++

Tabel 1. Marsh classificatie van afwijkingen in het duodenumbipt

Een tweede vereiste voor de diagnose coeliakie is het vaststellen van de relatie tussen de symptomen en gluten gebruik. Dit gebeurt in de regel door het klinisch en histologisch herstel op een glutenvrij dieet te evalueren; in moeilijke gevallen wordt vervolgens ook nog een gluten-challenge verricht om zekerheid t.a.v. de diagnose te krijgen.

Naast het duodenumbipt heeft de serologische diagnostiek in de afgelopen jaren enorm terrein gewonnen. Hoewel bij sterke klinische verdenking op coeliakie wordt aangeraden in ieder geval te bioteren, is het in geval van matige verdenking of bij het screenen van risicogroepen raadzaam te starten met



Figuur 2. De plaats van de serologie in de diagnostiek

serologische bepalingen (TGA en EMA) en op geleide daarvan eventueel vervolgens te bioteren (figuur 2). De serologie is ook van belang bij het afronden van het diagnostisch proces, m.n. voor de beslissing óf en wanneer een tweede, herstel-biopt genomen moet worden. Bij alle patiënten met afwijkende bioteren dient het serologisch beeld in kaart gebracht te worden voordat een glutenvrij dieet wordt ingesteld. Bij een klinisch duidelijke coeliakie met vlokatrofie en positieve serologie, waarbij zowel de klachten als de serologie herstellen tijdens gluten onthouding, kan het herstel-biopt achterwege gelaten worden.

De HLA-DQ typering is in het diagnostisch proces eigenlijk alleen van belang vanwege zijn hoge negatief voorspellende waarde. Immers bijna alle (95-98%) coeliakiepatiënten zijn HLA-DQ2 of 8 positief en afwezigheid van HLA-DQ2 en 8 sluit (de ontwikkeling van) coeliakie dus vrijwel uit. Echter ca 40 % van de normale Nederlandse populatie is ook HLA-DQ2 of 8 positief, zodat de specificiteit van de bepaling voor coeliakie heel gering is.

HLA-DQ typering is daarom nuttig bij moeilijke diagnoses, en kunnen zinvol ingezet worden bij individuen met een verhoogd risico op coeliakie, zoals Down

syndroom patiënten en familieleden, teneinde herhaalde verdenking en serologisch screenen te voorkomen.

Literatuur

1. Abrams JA, Diamond B, Rotterdam H, Green PH. Seronegative celiac disease: increased prevalence with lesser degrees of villous atrophy. *Dig Dis Sci*. 2004;49:546-50
2. Bizzaro N, Villalta D, Tonutti E, Doria A, Tampoia M, Bassetti D, Tozzoli R. IgA and IgG tissue transglutaminase antibody prevalence and clinical significance in connective tissue diseases, inflammatory bowel disease, and primary biliary cirrhosis. *Dig Dis Sci*. 2003;48:2360-5.
3. Cataldo F, Lio D, Marino V, Picarelli A, Ventura A, Corazza GR. IgG(1) antiendomysium and IgG antitissue transglutaminase (anti-tTG) antibodies in coeliac patients with selective IgA deficiency. Working Groups on Celiac Disease of SIGEP and Club del Tenue. *Gut* 2000;47:366-9.
4. Dickey W, McMillan SA, Hughes DF. Sensitivity of serum tissue transglutaminase antibodies for endomysial antibody positive and negative coeliac disease. *Scand J Gastroenterol*. 2001;36:511-4.
5. Di Tola M, Sabbatella L, Anania MC, Viscido A, Caprilli R, Pica R, Paoluzi P, Picarelli A. Anti-tissue transglutaminase antibodies in inflammatory bowel disease: new evidence. *Clin Chem Lab Med*. 2004;42:1092-7.
6. Koning F, Schuppan D, Cerf-Bensussan N, Sollid LM. Pathomechanisms in celiac disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2005;19:373-87
7. Lenhardt A, Plebani A, Marchetti F, Gerarduzzi T, Not T, Meini A, Villanacci V, Martellosi S, Ventura A.
8. Mulder CJ, Cellier C. Coeliac disease: changing views. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2005;19:313-21.
9. Nemeč G, Ventura A, Stefano M, Di Leo G, Baldas V, Tommasini A, Ferrara F, Taddio A, Citta A, Sblattero D, Marzari R, Not T. Looking for celiac disease: diagnostic accuracy of two rapid commercial assays. *Am J Gastroenterol*. 2006;101:1597-600.
10. Role of human-tissue transglutaminase IgG and anti-gliadin IgG antibodies in the diagnosis of coeliac disease in patients with selective immunoglobulin A deficiency. *Dig Liver Dis*. 2004;36:730-4.
11. Rostami K, Kerckhaert J, Tiemessen R, von Blomberg BM, Meijer JW, Mulder CJ. Sensitivity of antiendomysium and antigliadin antibodies in untreated celiac disease: disappointing in clinical practice. *Am J Gastroenterol*. 1999; 94:888-94
12. Rostom A, Dube C, Cranney A, Saloojee N, Sy R, Garrity C, Sampson M, Zhang L, Yazdi F, Mamaladze V, Pan I, Macneil J, Mack D, Patel D, Moher D. The diagnostic accuracy of serologic tests for celiac disease: A systematic review. *Gastroenterology*. 2005; 128(4 Pt 2):S38-46.
13. Sárdy M, Kárpáti S, Merkl B, Paulsson M, Smyth N. Epidermal transglutaminase (Tgase 3) is the autoantigen of dermatitis herpetiformis. *J Exp Med* 2002;195:747-57
14. Simell S, Kupila A, Hoppu S, Hekkala A, Simell T, Stahlberg MR, Viander M, Hurme T, Knip M, Ilonen J, Hyoty H, Simell O. Natural history of transglutaminase

- autoantibodies and mucosal changes in children carrying HLA-conferred celiac disease susceptibility. *Scand J Gastroenterol.* 2005;40:1182-91.
15. Tursi A, Brandimarte G, Giorgetti GM. Prevalence of antitissue transglutaminase antibodies in different degrees of intestinal damage in celiac disease. *J Clin Gastroenterol.* 2003;36:219-21.
 16. Van Meensel B, Hiele M, Hoffman I, Vermeire S, Rutgeerts P, Geboes K, Bossuyt X. Diagnostic accuracy of ten second-generation (human) tissue transglutaminase antibody assays in celiac disease. *Clin Chem.* 2004;50:2125-35
 17. Villalta D, Crovatto M, Stella S, Tonutti E, Tozzoli R, Bizzaro N. False positive reactions for IgA and IgG anti-tissue transglutaminase antibodies in liver cirrhosis are common and method-dependent. *Clin Chim Acta.* 2005;356:102-9.

AUTO-IMMUUNZIEKTEN VAN DE LEVER

H.R van Buuren, maag-darm-leverarts

Er zijn vier te onderscheiden auto-immuunleverziekten (tabel 1). Van geen is de precieze pathogenese bekend en alle kunnen leiden tot levercirrose en leverfalen. De diagnose berust steeds op een combinatie van klinische, laboratorium, radiologische en histologische gegevens. Auto-immuun serologische bepalingen zijn daarbij van groot belang(1). Immunosuppressieve therapie is bij twee aandoeningen (AIH en APC) effectief.

Auto-immuun hepatitis (AIH)(2) is een relatief zeldzame, frequenter bij vrouwen voorkomende aandoening welke soms moeilijk te onderscheiden kan zijn van andere leverziekten. Naast een sluipend begin kan de presentatie ook lijken op b.v. acute virushepatitis. De PA bevindingen zijn niet specifiek doch wel vaak suggestief; obligatoir is 'interface-hepatitis' (portaal lymfo-plasmacellulair ontstekingsinfiltraat overgrijpend op lobulus). Op grond van o.a. auto-antistoffen kan AIH worden onderverdeeld in meerdere typen(3) doch vanuit klinisch oogpunt is dit weinig relevant. Er is een associatie met HLA DRB1*0301 en DRB*0401. Als diagnostisch hulpmiddel is een scoresysteem ontwikkeld(4). De serum ASAT en ALAT zijn meestal 3-5x verhoogd. Het serum IgG en de totale gammaglobulinespiegel zijn eveneens vaak fors verhoogd; deze bepalingen zijn essentieel bij diagnose en vervolgen van de ziekte. Tot de bij AIH voorkomende auto-antistoffen behoren: antinucleaire (ANA), smooth muscle (SMA), Soluble Liver antigen (SLA) en anti-LKM-1 antistoffen, en pANCA(3). Anti-SLA en anti-LKM-1 zijn specifiek voor AIH maar ongevoelig (sensitiviteit 2-14%)(3). Naarmate meer antistoffen aangetoond kunnen worden neemt de waarschijnlijkheid op AIH toe(3). Bij ca. 20% van de patiënten worden in het geheel geen auto-antistoffen aangetoond(3). De standaardbehandeling is prednison, meestal in combinatie met azathioprine. Het doel is om zowel een klinische als een biochemische en histologische remissie te bereiken. Lukt dit dan is de prognose vrijwel normaal.

Primaire biliare cirrose(5) (PBC) is een vnl. bij vrouwen (90%) van middelbare leeftijd voorkomende ziekte met hoge prevalentie in delen van Engeland en de VS (tot ca. 400/miljoen). Dit suggereert het etiologisch belang van omgevingsfactoren. Frequentie symptomen zijn vermoeidheid, jeuk en gewrichtsklachten, doch deze kunnen ook geheel ontbreken. PBC is geassocieerd met andere auto-immuunziekten zoals hypothyreoïdie en syndroom van Sjögren. De diagnose wordt gesteld wanneer aan tenminste 2 van de volgende criteria wordt voldaan: 1. aanwezigheid antistoffen tegen mitochondriën (AMA); 2. verhoogd serum alkalische fosfatase > 6 maanden; 3. passend histologisch beeld(5). AMA komen bij 90% van de patiënten voor en kunnen worden gedetecteerd met een indirecte immunofluorescentie test met rattenniersubstraat. Specifieker zijn anti-M2 antilichamen (ELISA of immunoblot) die vrijwel bewijzend zijn voor PBC of indicatief dat een patiënt <10 jaar PBC zal ontwikkelen. Bij ca. 70% van de patiënten komen ook ANA voor. Leverbiopsie kan diagnostisch behulpzaam zijn. PBC is een variabel-progressieve ziekte, onbehandeld vaak leidend tot de noodzaak tot levertransplantatie. De ziekte kan hierna terugkeren. Behandeling met ursodeoxycholzuur vermindert de ziekteactiviteit en verbetert de prognose aanzienlijk(6). Prednison kan geïndiceerd zijn bij patiënten die naast PBC ook AIH hebben, hetgeen zeldzaam is.

Primaire scleroserende cholangitis(7) (PSC) is een vooral bij mannen van 30 – 45 jaar voorkomende, langzaam progressieve leverziekte die wordt gekarakteriseerd door het optreden van vernauwingen in de galwegen. Van de patiënten heeft 70-80% tevens colitis ulcerosa of de ziekte van Crohn; ongeveer 5% van de patiënten met deze darmziekten ontwikkelt PSC. PSC kan gecombineerd voorkomen met AIH(8). Er is een sterk verhoogde kans op ontwikkeling van cholangio- en coloncarcinoom. De diagnose berust op het aantonen van de galwegstenosen m.b.v. MRCP of ERCP. Er is geen karakteristiek antistof(profiel); ANA komen frequent voor. Er is geen effectieve medicamenteuze therapie. Uitgesproken galwegstenosen kunnen met wisselend resultaat endoscopisch behandeld worden d.m.v. stents of ballondilatatie. De mediane duur tot dood of levertransplantatie is 14-18 jaar. PSC kan in het transplantaat terugkeren.

Auto-immuun pancreaticholangitis (APC).

De laatste jaren wordt in toenemende mate een vierde auto-immuun leveraandoening onderscheiden die steeds ook gepaard gaat met alvleesklierontsteking(9). Naast APC(10) worden vele andere benamingen gebezigd(11). Betrouwbare prevalentiegegevens ontbreken. Waarschijnlijk komt APC vaker voor dan nu wordt aangenomen maar wordt de ziekte veelal niet herkend en onterecht geclassificeerd als ‘pancreaskopcarcinoom’, ‘PSC met chronische pancreatitis’, ‘secundaire scleroserende cholangitis’, etc. APC komt vooral voor bij oudere (55-75 jaar) mannen. Opvallend is dat in Nederland vooral de combinatie van auto-immuun pancreatitis en cholangitis wordt gevonden terwijl in Azië m.n. gerapporteerd wordt over auto-immuun pancreatitis. De meest voorkomende presentatie is die met gewichtsverlies en geelzucht. Het beloop in de tijd is sterk variabel en spontane exacerbaties en remissies zoals bij AIH kunnen voorkomen. Onbehandeld leidt APC waarschijnlijk in de meeste gevallen tot levercirrose. Geassocieerde aandoeningen zijn o.a. het syndroom van Sjögren en retroperitoneale fibrose. Het merendeel van de patiënten heeft verhoogde IgG en/of IgG4 serumspiegels en dit is van wezenlijk diagnostisch belang(12). Daarnaast kunnen ook auto-antistoffen worden aangetoond zoals ANA, anti-lactoferrine en anti-carbonic anhydrase isoenzyme (CA-)II antistoffen en reumafactoren. Geen van deze antistoffen is specifiek en de diagnostische betekenis is beperkt. In tegenstelling tot PSC reageert APC uitstekend op corticosteroïdbehandeling. Lange termijn studies betreffende APC zijn niet voorhanden en de prognose op lange termijn, al dan niet met behandeling, is nog niet goed gedocumenteerd.

Referenties

1. Vergani D, Alvarez F, Bianchi FB, Cancado EL, Mackay IR, Manns MP, et al. Liver autoimmune serology: a consensus statement from the committee for autoimmune serology of the International Autoimmune Hepatitis Group. *J Hepatol* 2004;41(4):677-83.
2. Manns MP, Vogel A. Autoimmune hepatitis, from mechanisms to therapy. *Hepatology* 2006;43(2 Suppl 1):S132-44.
3. Bakker-Jonges LE, ter Borg PC, van Buuren HR, Hooijkaas H. Een retrospectieve studie naar de rol van antistoffen tegen oplosbaar ("soluble") leverantigeen en van andere autoantistoffen bij de diagnostiek van auto-immuun hepatitis *Ned Tijdschr Geneesk* 2006;150(9):490-4.

4. Alvarez F, Berg PA, Bianchi FB, Bianchi L, Burroughs AK, Cancado EL, et al. International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 1999;31(5):929-38.
5. Kaplan MM, Gershwin ME. Primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med* 2005;353(12):1261-73.
6. Ter Borg PC, Schalm SW, Hansen BE, van Buuren HR. Prognosis of Ursodeoxycholic Acid-Treated Patients with Primary Biliary Cirrhosis. Results of a 10-Yr Cohort Study Involving 297 Patients. *Am J Gastroenterol* 2006, in press.
7. Angulo P, Lindor KD. Primary sclerosing cholangitis. *Hepatology* 1999;30(1):325-32.
8. van Buuren HR, van Hoogstraten HJE, Terkivatan T, Schalm SW, Vleggaar FP. High prevalence of autoimmune hepatitis among patients with primary sclerosing cholangitis. *J Hepatol* 2000;33(4):543-8.
9. Van Buuren HR, Vleggaar FP, Willemien Erkelens G, Zondervan PE, Lesterhuis W, Van Eijck CH, et al. Autoimmune pancreatocholangitis: A series of ten patients. *Scand J Gastroenterol Suppl* 2006(243):70-8.
10. Erkelens GW, Vleggaar FP, Lesterhuis W, van Buuren HR, van der Werf SD. Sclerosing pancreato-cholangitis responsive to steroid therapy. *Lancet* 1999;354(9172):43-4.
11. Kamisawa T, Nakajima H, Egawa N, Funata N, Tsuruta K, Okamoto A. IgG4-related sclerosing disease incorporating sclerosing pancreatitis, cholangitis, sialadenitis and retroperitoneal fibrosis with lymphadenopathy. *Pancreatology* 2006;6(1-2):132-7.
12. Hamano H, Kawa S, Horiuchi A, Unno H, Furuya N, Akamatsu T, et al. High serum IgG4 concentrations in patients with sclerosing pancreatitis. *N Engl J Med* 2001;344(10):732-8.

Tabel 1. Overzicht van auto-immuun leverziekten

Ziekte	Epidemiologie	Symptomatologie	Genetische factoren	Diagnostiek	Behandeling/ prognose
AIH	<ul style="list-style-type: none"> - prevalentie 20-200 / 10⁶ - V > M - 15-25 jaar en 50-65 jaar; ook kinderen 	<ul style="list-style-type: none"> - vermoeidheid, icterus, malaise, artralgie - sluipend of acuut 	<ul style="list-style-type: none"> - geen grote erfelijke component HLA-DR3, -DR4 associatie 	<ul style="list-style-type: none"> - uitsluiten andere leverziekten - IgG↑ - auto-antistoffen: ANA, SMA, pANCA, anti-SLA, anti-LKM-1 - histologie 	<ul style="list-style-type: none"> - prednison, azathioprine - bij bereiken remissie goede prognose
PBC	<ul style="list-style-type: none"> - prevalentie geografisch gebonden - V >> M - 30-65 jaar, niet bij kinderen 	<ul style="list-style-type: none"> - vermoeidheid, jeuk, gewrichtsklachten - associatie andere AIZ 	<ul style="list-style-type: none"> - erfelijke component geen HLA associatie 	<ul style="list-style-type: none"> - alkalische fosfatase↑ (> 6 mnd) - AMA (anti-M2) - histologie 	<ul style="list-style-type: none"> - UDCA - onbehandeld variabel progressief
PSC	<ul style="list-style-type: none"> - prevalentie 0,5-1 per 100.000 - M > V - rond 40 jaar, ook kinderen 	<ul style="list-style-type: none"> - wisselende klachten: vermoeidheid, jeuk, geelzucht, koorts - sterke associatie IBD 	<ul style="list-style-type: none"> - familiair risico - associatie HLA-DRw52, -DR4 en -B8 	<ul style="list-style-type: none"> - beeldvormend onderzoek - geen specifieke auto-antistoffen 	<ul style="list-style-type: none"> - geen effectieve medicamenteuze therapie - langzaam progressief
APC	<ul style="list-style-type: none"> - prevalentie onbekend - M >> V - 55-75 jaar - niet bij kinderen 	<ul style="list-style-type: none"> - gewichtsverlies, geelzucht, diabetes - associatie Sjögren, retroperitoneale fibrose 	<ul style="list-style-type: none"> - nauwelijks gegevens 	<ul style="list-style-type: none"> - IgG↑; IgG4↑↑ - geen specifieke auto-antistoffen - beeldvormend onderzoek - histologie 	<ul style="list-style-type: none"> - prednison - weinig gegevens lange termijn prognose

AIH: auto-immuun hepatitis. PBC: primaire bilitaire cirrhose. PSC: primaire scleroserende cholangitis. APC: auto-immuun pancreaticholangitis. V: vrouw. M: man. IBD: inflammatoire darmziekten. Ig: immunoglobuline. ANA: anti-nucleaire antistoffen. SMA: anti-(smooth muscle) glad spier antistoffen. pANCA: perinucleaire anti-neutrofielen cytoplasmatische antistoffen. SLA: soluble liver antigen antistoffen. LKM-1: liver-kidney microsomes type I antistoffen. AMA: anti-mitochondriële (M2) antistoffen. UDCA: ursodeoxycholzuur.

AUTO-ANTIGEENPRESENTATIE IN DE THYMUS: FACT OR FICTION?

J.G.M.C. Damoiseaux, medisch immunoloog

De thymus, gelegen in de borstholte achter het sternum, is eeuwenlang een onbegrepen orgaan geweest. Terwijl de oude Grieken meenden dat de ziel in de thymus gehuisvest was, werden later met name endocriene functies aan de thymus toegeschreven. Pas sinds de zestiger jaren van de vorige eeuw is bekend geworden dat de thymus een lymfoïd orgaan is met een belangrijke rol in de ontwikkeling van T-cellen en het genereren van tolerantie voor lichaamseigen antigenen.

De thymus bestaat uit 2 lobben die ieder afzonderlijk weer door middel van trabekels (bindweefselschotten) zijn gescheiden in kleinere lobben. Deze bestaan vervolgens uit een cortex (schors) en medulla (merg), met daartussen een cortico-medullair overgangsgebied. Deze gebieden worden gekenmerkt door de aanwezigheid van een netwerk van verschillende epitheel en antigeenpresenterende cellen (APC): in de cortex bevinden zich corticale thymus epitheelcellen (cTEC) en macrofagen, in het cortico-medullaire overgangsgebied zijn voornamelijk interdigiterende dendritische cellen (IDC) en macrofagen aanwezig, en in de medulla zijn medullaire (m)TEC en IDC gelokaliseerd. In de medulla bevinden zich bovendien de Hassall-lichaampjes, welke bestaan uit uitgedifferentieerde mTEC. In dit netwerk van stromale cellen vindt de differentiatie van T-cellen plaats vanuit voorlopercellen afkomstig uit het beenmerg.

Voorlopercellen nestelen zich in de buitenrand van de cortex en worden gekenmerkt door het ontbreken van de oppervlakte receptoren CD3, CD4 en CD8. Tijdens het differentiatieproces vindt een aantal belangrijke stappen plaats. Allereerst wordt er een poging ondernomen om een functionele T-cel receptor (TCR) te genereren. Dit geschiedt door een proces van somatische recombinatie waarbij verschillende genfragmenten aan elkaar gekoppeld worden met verlies van tussengelegen DNA. Dit proces is erg foutgevoelig en daarom is het geassocieerd met proliferatie en selectie. Naast de expressie van de TCR, komen nu ook de hiermee geassocieerde moleculen CD3, CD4 en CD8 gecoördineerd tot expressie. In een nauwe interactie met de cTEC, die zowel MHC klasse I als II receptoren hebben, kunnen nu die thymocyten geselecteerd worden die met behulp van hun TCR in staat zijn om lichaamseigen MHC

te herkennen. Dit proces wordt positieve selectie genoemd. De niet-geselecteerde thymocyten (>95%) gaan in apoptose en worden opgeruimd door de corticale macrofagen. Van de overlevende thymocyten herkent een deel MHC klasse I met behulp van de TCR en CD8, en een ander deel MHC klasse II met behulp van de TCR en CD4. Aangezien het genereren van de TCR een volkomen willekeurig proces is, is er een tweede selectieronde noodzakelijk waarbij thymocyten met een TCR specifiek voor auto-antigenen eveneens geëlimineerd worden. Dit proces heet negatieve selectie en vindt voornamelijk plaats in het cortico-medullaire overgangsgebied en de medulla op basis van een interactie met de aldaar aanwezige mTEC en IDC. Thymocyten die geen auto-antigenen herkennen overleven de negatieve selectie en verlaten vervolgens de thymus om onderdeel uit te maken van het T-cel repertoire in de secundaire lymfoïde organen. Thymocyten die echter een TCR tot expressie brengen met een te hoge affiniteit voor auto-antigenen in de context van lichaamseigen MHC, gaan in apoptose.

Belangrijk uitgangspunt bij het hierboven beschreven mechanisme van centrale tolerantie-inductie is echter dat alle auto-antigenen daadwerkelijk gepresenteerd worden in de thymus. Voor thymusspecifieke antigenen is dit vanzelfsprekend en voor circulerende serum eiwitten op zijn minst aannemelijk. Echter, het lijkt vrijwel onverklaarbaar dat het gehele scala aan weefsel-specifieke antigenen in de thymus tot expressie komt. In dierexperimenteel onderzoek heeft men inderdaad kunnen aantonen dat tolerantie-inductie in de thymus niet compleet is en dat er perifere tolerantie mechanismen, zoals klonale deletie en actieve suppressie, bestaan. Indien bepaalde T-cel subpopulaties van gezonde dieren overgebracht worden naar lymfopene ontvangers, ontwikkelen zich namelijk auto-immuunziekten in deze ontvangers. Dit betekent niet alleen dat er sprake is van auto-reactieve cellen in het perifere T-cel compartiment, maar ook dat er tevens cellen zijn die deze auto-reactieve cellen onder controle houden. Met name het werk van Sakaguchi *et al* is baanbrekend geweest in de karakterisering van deze cellen die nu bekend staan als regulatoire T-cellen (T_{reg}) [1]. Aanvankelijk werden deze cellen fenotypisch gekenmerkt als zijnde CD25 sterk-positieve CD4 T-cellen, meer recentelijk is gebleken dat de transcriptiefactor FoxP3 een specifiekere marker is voor T_{reg} , en met name voor de natuurlijk voorkomende (n) T_{reg} . FoxP3 is echter niet alleen een marker, maar blijkt ook essentieel voor de ontwikkeling en functie van n T_{reg} . Mutaties in het gen coderend voor FoxP3 resulteren namelijk in het reeds in 1982

beschreven IPEX syndroom (Immuun dysfunctie, Polyendocrinopathie, Enteropathie, X-linked) [2]. Opmerkelijk is echter dat nT_{reg} als aparte populatie in de thymus gevormd worden. Voor ontwikkeling van deze cellen is er een relatief hoog-afide interactie nodig tussen de TCR van de nT_{reg} en het MHC op het thymus stroma, met name de TEC. Daarnaast blijken ook IL-2 en de B7-CD28 en CD40-CD40L interacties van belang voor de ontwikkeling van nT_{reg} . De nT_{reg} verkrijgen reeds in de thymus suppressor activiteit want ook geselecteerde thymocyt populaties zijn in staat de pathogeniciteit van auto-reactieve T-cellen te onderdrukken. De thymale origine van nT_{reg} brengt ons echter weer terug bij het dilemma van de genoombrede genexpressie in de thymus. Immers, ook nT_{reg} zijn afhankelijk van de expressie van auto-antigenen om geselecteerd te kunnen worden in de thymus.

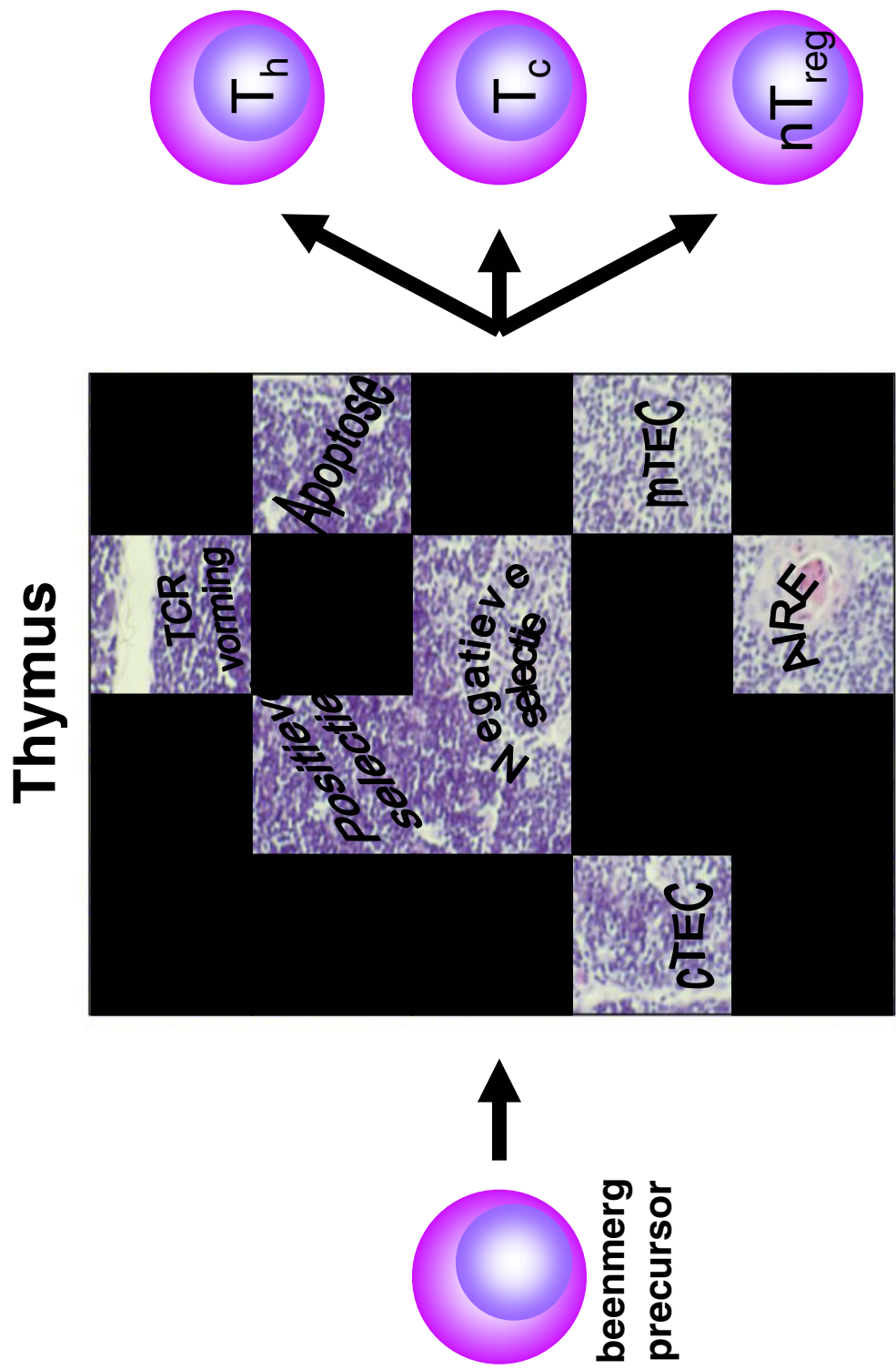
Synchroon aan de ontwikkelingen op het gebied van de T_{reg} , is gebleken dat er wel degelijk intrathymale genexpressie is van perifere weefselantigenen. Aanvankelijk werd er slechts sporadisch gerapporteerd over de expressie van weefselantigenen die betrokken zijn bij orgaanspecifieke auto-immuunziekten. Intussen is door het werk van Kyewski *et al* gebleken dat een breed scala aan weefsel-specifieke auto-antigenen in de thymus, en met name in de mTEC, tot expressie komt [3]. De bevinding dat het type 1 auto-immuun polyglandulaire syndroom (APS-1), een autosomaal, recessief auto-immuun syndroom waarbij vooral de endocriene organen zijn aangedaan, is geassocieerd met mutaties in het auto-immuun regulator (*AIRE*)-gen, heeft de acceptatie van gegeneraliseerde genexpressie in de thymus sterk verhoogd [4]. *AIRE* is een DNAbindend eiwit dat de expressie reguleert, mogelijk via promoterspecifieke sequenties, van een breed scala, maar zeker niet alle, weefsel-specifieke antigenen. Expressie van *AIRE* is veruit het hoogst in de mTEC van de thymus. Het expressie niveau van *AIRE* in mTEC representeert bovendien de mate van differentiatie van deze cellen. Rijpe mTEC hebben de hoogste *AIRE* expressie en dit gaat gepaard met de meest complexe expressie van weefsel-specifieke antigenen. Afzonderlijke weefsel-specifieke auto-antigenen komen echter slechts sporadisch (0,5 – 2%) in de mTEC detecteerbaar tot expressie. Door een verblijf van 5 – 7 dagen in de medulla, hebben thymocyten waarschijnlijk voldoende gelegenheid om het mTEC repertoire te scannen op aanwezigheid van auto-antigenen. Hoe de hoog affine autoreactieve nT_{reg} vervolgens ontsnappen aan negatieve selectie is vooralsnog onopgelost. Recent is gesuggereerd dat

een bepaalde subpopulatie IDC, gedifferentieerd onder invloed van een groeifactor afkomstig van de Hassall-lichaampjes, verantwoordelijk is voor de overleving van deze nT_{reg}. Alhoewel dit nog geen algemeen onderkend mechanisme is, wordt het vooralsnog secundaire positieve selectie genoemd [5].

Samenvattend kan gesteld worden dat ontwikkelingen op het gebied van de intrathymale origine van nTreg en de expressie van weefsel-specifieke auto-antigenen door mTEC heeft geleid tot meer helderheid over het functioneren van de thymus, maar dat er nog veel vragen onbeantwoord zijn (figuur 1). De conclusie is dat de thymus nog steeds een zeer centrale rol speelt in de tolerantie ontwikkeling voor auto-antigenen. Welke invloed de zeer recente ontdekking van een tweede thymus heeft op het denken over tolerantie, zal in de toekomst moeten blijken [6].

Literatuurlijst

1. Sakaguchi S, Ono M, Setoguchi R, Yagi H, Hori S, Fehervari Z, Shimizu J, Takahashi T and Nomura T. Foxp3+CD25+CD4+ natural regulatory T cells in dominant self-tolerance and autoimmune disease. *Immunol Rev* 2006;212:8-27.
2. Powell BR, Buist N, and Stenzel P. An X-linked syndrome of diarrhea, polyendocrinopathy, and fatal infection in infancy. *J Pediatr* 1982;100:731-737.
3. Kyewski B and Klein L. A central role for central tolerance. *Annu Rev Immunol* 2006;24:571-606.
4. Anderson MS, Venanzi ES, Klein L, Chen Z, Berzins SP, Turley SJ, von Boehmer H, Bronson R, Dierich A, Benoist C, and Mathis D. Projection of an immunological self shadow within the thymus by the Aire protein. *Science* 2002;298:1395-1401.
5. Liu Y-J. A unified theory of central tolerance in the thymus. *Trends Immunol* 2006;27:215-221.
6. Terszowski G, Müller SM, Bleul CC, Blum C, Schirmbeck R, Reimann J, Du Pasquier L, Amagai T, Boehm T, and Rodewald H-R. Evidence for a functional second thymus in mice. *Science* 2006;312:284-287.



DIABETES EN AUTO-ANTISTOFFEN

M.R. Batstra, medisch immunoloog

Diabetes mellitus is een syndroom van verstoorde glucoseregulatie dat wordt gekenmerkt door hyperglycemie. Er liggen verschillende pathogenetische processen ten grondslag aan het ontstaan van diabetes. De American Diabetes Association hanteert sinds jaar en dag een etiologische classificering van diabetes, waarin type 1 en type 2 veruit de belangrijkste vormen zijn (1). Deze vormen van diabetes hebben een verschillende pathogenese, maar kunnen zich, met name bij volwassenen, klinisch vrijwel op gelijke wijze manifesteren. In deze presentatie wordt beschreven hoe het bepalen van auto-antistoffen het onderscheid tussen beide kan ondersteunen.

Veruit de meest prevalentie vorm van diabetes is type 2 diabetes. Dit wordt gekenmerkt door een insulineresistentie in de perifere weefsels, vaak gecombineerd met een insuline secretiedefect van de β -cellen. De toename van de ernst van het secretiedefect met langere ziekte duur, maakt dat op de lange duur patiënten insulineafhankelijk worden. Hierbij speelt het immuunsysteem geen rol. Type 2 diabetes werd voorheen bestempeld als ouderdomsdiabetes, maar kan zich, zeker met de toenemende obesitas, ook bij (jonge) kinderen manifesteren.

Biochemisch wordt type 1 diabetes gekarakteriseerd door lage of ondetecteerbare insuline spiegels (of nuchtere of gestimuleerde C-peptide spiegels). Type 1 werd historisch gezien als een kinderziekte. Niets is echter minder waar: meer dan de helft van de gevallen van type 1 diabetes manifesteert zich op volwassen leeftijd (2). Type 1 diabetes is een klassieke endocriene auto-immuunziekte. Algemeen wordt aangenomen dat de klinische manifestatie van type-1 diabetes het resultaat is van een langzaam verlopend immuungemedieerd proces van β -cel destructie. De periode van β -cel destructie kan variëren in duur van maanden tot meer dan 15 jaar. Het afbraakproces is T-cel gemedieerd. Als bijverschijnsel van de immuunactivatie zijn gedurende het proces van β -cel afbraak en bij klinische manifestatie bij het merendeel van de patiënten (>80%) auto-antistoffen tegen de β -cellen aanwezig. De bekendste zijn auto-antistoffen tegen eilandjes van Langerhans (islet cel antistoffen: ICA), insuline (IAA), glutamaat decarboxylase (GADA) en insulinoma antigeen 2 (IA2A) (tabel 1). Deze auto-antistoffen vormen een handig hulpmiddel bij de differentiaaldiagnostiek van diabetes.

Tabel 1: Prevalentie van diabetes gerelateerde antistoffen bij kinderen met diabetes, volwassenen met diabetes en in de gezonde (Nederlandse) bevolking (3,4,5,6,7)

Antistof	Patiënten		Gezonden
	Kinderen	Volwassenen	
ICA	80 -90%	60%	<1%
IAA	40-69%	20-40%	<2%
GADA	60-80%	80-85%	<1%
IA2A	40-70%	35-60%	<1%

Bij de presentatie van een klassieke type 1 diabetes is de aanwezigheid van antistoffen geen voorwaarde, wel een bevestiging van de diagnose. Lastiger wordt het bij de obese tiener of een slanke oudere. Omdat antistoffen bij type 2 diabetes niet tot nauwelijks voorkomen vormen ze een handig differentiaal diagnostisch hulpmiddel.

Tussen de 4 - 30% van de volwassenen waarbij in eerste instantie aan de diagnose type 2 diabetes wordt gedacht heeft een langzaam progressieve vorm van type 1 diabetes (latent autoimmune diabetes of adults: LADA). LADA patiënten ontwikkelen binnen 2 jaar na diagnose een absolute insuline deficiënte en worden derhalve sneller insuline afhankelijk dan een klassieke patiënt met type 2 diabetes. LADA en type 2 diabetes zijn niet of nauwelijks te onderscheiden op basis van klinische parameters (BMI, leeftijd, familieanamnese) of biochemische kenmerken (HbA1c, C-peptide, insuline spiegels) bij diagnose. Wel heeft het merendeel van deze patiënten antistoffen tegen GAD of een van de andere diabetes gerelateerde antistoffen (tabel 3) (8). Deze antistoffen kunnen derhalve van nut zijn bij het maken van een vroeg onderscheid tussen type 1 en type 2 diabetes.

Tabel 3: Prevalentie van verschillende van patiënten met LADA en type 2 diabetes kenmerken bij diagnose – Antistoffen als differentiaal diagnostisch hulpmiddel (9).

Kenmerk bij diagnose	LADA	T2DM
n	70	27
M/V	50	48
Leeftijd	28.4	28.6
BMI	25.8	27.8
ICA	59%	4%
GADA	60%	7%
ICA of GADA	74%	12%
ICA en GADA	46%	0%

Verskillende studies suggereren dat vroeg starten met insulinetherapie bij patiënten met een type 1 diabetes of LADA kan helpen om het afbraakproces van de β -cellen af te remmen. Hierdoor zou gedurende een langere periode een beter glucose-metabolisme kunnen worden gehandhaafd (lager HbA1c) - het ultieme doel van (insuline)therapie bij diabetes. Daarnaast vormt de groep van LADA patiënten een interessante doelgroep voor diabetes preventietrials.

Literatuurlijst

1. American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2006; 29: S43-S48.
2. Vandewalle CL, Falorni A, Svanholm S, Lernmark A, Pipeleers DG, Gorus FK. High diagnostic sensitivity of glutamate decarboxylase autoantibodies in insulin-dependent diabetes mellitus with clinical onset between age 20 and 40 years. *The Belgian Diabetes Registry. J Clin Endocrinol Metab.* 1995; 80: 846-851.
3. Kulmala P, Savola K, Petersen JS, Vahasalo P, Karjalainen J, Loppinen T, Dyrberg T, Akerblom HK, Knip M. Prediction of insulin-dependent diabetes mellitus in siblings of children with diabetes. A population-based study. *The Childhood Diabetes in Finland Study Group. J Clin Invest.* 1998;101: 327-336.
4. Verge CF, Gianani R, Kawasaki E, Yu L, Pietropaolo M, Jackson RA, Chase HP, Eisenbarth GS. Prediction of type I diabetes in first-degree relatives using a combination of insulin, GAD, and ICA512bdc/IA-2 autoantibodies. *Diabetes.* 1996; 45: 926-933.
5. Aanstoot HJ, Sigurdsson E, Jaffe M, Shi Y, Christgau S, Grobbee D, Bruining GJ, Molenaar JL, Hofman A, Baekkeskov S Value of antibodies to GAD65 combined with islet cell cytoplasmic antibodies for predicting IDDM in a childhood population. *Diabetologia* 1994; 37: 917-24.
6. Batstra MR, van Driel A, Petersen JS, van Donselaar CA, van Tol MJ, Bruining GJ, Grobbee DE, Dyrberg T, Aanstoot HJ. Glutamic acid decarboxylase antibodies in screening for autoimmune diabetes: influence of comorbidity, age, and sex on specificity and threshold values. *Clin Chem.* 1999; 45: 2269-2272.
7. Batstra MR, Petersen JS, Bruining GJ, Grobbee DE, de Man SA, Molenaar JL, Dyrberg T, Aanstoot HJ. Low prevalence of GAD and IA2 antibodies in schoolchildren from a village in the southwestern section of the Netherlands. *Hum Immunol.* 2001; 62: 1106-1110.
8. Gale EA. Latent autoimmune diabetes in adults: a guide for the perplexed. *Diabetologia.* 2005; 48: 2195-2199.
9. Littorin B, Sundkvist G, Hagopian W, Landin-Olsson M, Lernmark A, Ostman J, Arnqvist HJ, Blohme G, Bolinder J, Eriksson JW, Lithner F, Schersten B, Wibell L. Islet cell and glutamic acid decarboxylase antibodies present at diagnosis of diabetes predict the need for insulin treatment. A cohort study in young adults whose disease was initially labeled as type 2 or unclassifiable diabetes. *Diabetes Care.* 1999; 22: 409-12.

DE IMMUNOLOGIE VAN PARANEOPLASTISCHE NEUROLOGISCHE SYNDROMEN: DIAGNOSTIEK EN BEHANDELING

P.A.E. Sillevius Smitt, neuroloog

INLEIDING

Paraneoplastische neurologische syndromen (PNS) zijn ernstige neurologische syndromen die samenhangen met kanker maar die per definitie niet direct worden veroorzaakt door de tumor zelf of door metastasen noch door vasculaire, metabole, infectieuze of met de behandeling samenhangende oorzaken¹. De diagnose van PNS is vaak lastig omdat ongeveer 70% van de patiënten nog niet bekend is met een maligniteit op het moment dat de neurologische klachten en uitvalsverschijnselen ontstaan. In ongeveer de helft van de patiënten met een PNS zijn antistoffen aantoonbaar die gericht zijn tegen ‘onconeurale’ antigenen². Expressie van deze ‘onconeurale’ antigenen in de tumor leidt tot een immuunreactie die niet alleen de tumorcellen aanvalt maar ook reageert met dezelfde of soortgelijke antigenen in het zenuwstelsel³. Detectie van deze paraneoplastische, antineuronale, antistoffen is van waarde bij het diagnosticeren van een vaak ernstig neurologisch syndroom als PNS en geeft richting aan de zoektocht naar de onderliggende maligniteit (Tabel). Ondanks de waarschijnlijke auto-immuun etiologie van PNS zijn de resultaten van immuunsuppressieve en immuunmodulerende therapie doorgaans teleurstellend⁴⁻⁷. Snelle detectie en behandeling van de onderliggende tumor biedt de beste kans op stabilisatie en soms verbetering van de neurologische symptomen en uitvalsverschijnselen⁴⁻⁷.

PATHOGENESE

Histologisch onderzoek toont verlies van neuronen in aangedane delen van het zenuwstelsel met infiltratie van de perivasculaire ruimte door CD4+ T-helper cellen en B-cellen en infiltratie van de interstitiële ruimte door voornamelijk cytotoxische CD8+ T-cellen⁸ (Figuur). Liquoronderzoek toont doorgaans een pleiocytose, intrathecale IgG synthese en oligoklonale bandjes, passend bij een ontstekingsproces.

De ontdekking van paraneoplastische antineuronale antistoffen leidde tot de hypothese dat PNS immuungemedieerde aandoeningen zijn die worden veroorzaakt door aberrante expressie van ‘onconeurale’ (of paraneoplastische) antigenen in de tumor. Deze hypothese wordt ondersteund door het feit dat de paraneoplastische antigenen tot expressie komen in zowel de tumor als in aangedane delen van het zenuwstelsel. Bovendien zijn de tumoren meestal klein, sterk geïnfilteerd met ontstekingscellen en zijn spontane remissies van de tumor ten tijde van

het ontstaan van neurologische symptomen beschreven^{9, 10}. Deze bevindingen wijzen er op dat sommige PNS waarbij geen tumor kan worden aangetoond veroorzaakt zijn door immuungemedieerde opruiming van de tumor^{9, 10}. In overeenstemming met deze hypothese, vonden Graus et al.¹¹ dat patiënten met kleincellig longcarcinoom (KCLC) en paraneoplastische antistoffen een betere oncologische prognose hadden dan patiënten zonder paraneoplastische antistoffen.

Een pathogenetische rol voor paraneoplastische antistoffen kon alleen worden aangetoond voor antistoffen gericht tegen goed toegankelijke antigenen aan het oppervlak van neuronen.

Voorbeelden van zulke antigenen zijn de acetylcholine receptor (anti-AChR bij myasthenia gravis), P/Q type voltage-gated calcium channels (anti-VGCC bij Lambert-Eaton myasthenic syndroom (LEMS)), voltage-gated potassium channels (anti-VGPC bij neuromyotonie en limbische encefalitis) en de metabotrope glutamaat receptor mGluR1 (anti-mGluR1 bij paraneoplastische cerebellaire degeneratie). De meeste paraneoplastische antigenen zijn echter gelokaliseerd in het cytoplasma (b.v. het Yo antigen) of de kern (b.v. de Hu en Ri antigenen) van neuronen en een pathogenetische rol van de bijbehorende auto-antistoffen kon niet worden aangetoond¹². Er zijn aanwijzingen dat bij sommige PNS met een intracellulair gelegen paraneoplastisch antigen, de cellulaire immuniteit gericht tegen deze antigenen een rol speelt bij de destructie van neuronen¹³⁻¹⁵. De precieze rol van de cellulaire en humorale immuniteit bij het ontstaan van neurologische symptomen en pathologische afwijkingen is nog onduidelijk¹³⁻¹⁵. Het is mogelijk dat de paraneoplastische antistoffen bij sommige PNS surrogaat markers zijn voor T-cel activatie¹⁶.

INCIDENTIE

De incidentie van PNS is afhankelijk van het neurologische syndroom en de tumor. Ongeveer 10% van de patiënten met een plasmacel aandoening en een maligne monoklonale gammopathie heeft een paraneoplastische perifere neuropathie. Meer dan de helft van de patiënten met de zeldzame osteosclerotische vorm van multipel myeloom ontwikkelt een ernstige, vooral motorische perifere neuropathie. Bij andere hematologische maligniteiten is de incidentie van PNS zeer laag (<1%) met uitzondering van de ziekte van Hodgkin. Bij solide tumoren zijn de meest frequente neurologische syndromen myasthenia gravis (bij 15% van patiënten met een thymoom) en LEMS (bij 3% van de patiënten met een KCLC). De overall incidentie van PNS bij andere solide tumoren is <1%.

DIAGNOSE

Klinische syndromen zijn nooit pathognomonisch voor een paraneoplastische etiologie. PNS hoort vaak in de differentiaal diagnose bij onverklaarde en ernstige neurologische ziektebeelden. Sommige neurologische syndromen zoals limbische encefalitis en subacute cerebellaire degeneratie zijn relatief vaak paraneoplastisch en worden ‘klassieke’ paraneoplastische syndromen genoemd ². Andere syndromen zoals sensorimotore polyneuropathie zijn meer prevalent en de associatie met een tumor zal vaak op toeval berusten. Het aantonen van paraneoplastische antistoffen in serum of plasma van een patiënt met vooralsnog onbegrepen neurologisch ziektebeeld is klinisch zeer belangrijk omdat daarmee de paraneoplastische etiologie bewezen is (zie verder). Zodra de diagnose PNS is gesteld dient snelle identificatie van de tumor te volgen. Dit blijkt vaak lastig omdat de meeste paraneoplastische syndromen ontstaan in een vroeg stadium van kanker. Als anamnese en lichamelijk en radiologisch onderzoek geen tumor hebben aangetoond wordt total body fluorodeoxyglucose positron emissie tomografie (FDG-PET) of PET/CT aanbevolen om een occulte tumor of metastasen aan te tonen ^{17, 18}. Wanneer alle testen negatief blijken wordt een herhaling van de evaluatie elke 3-6 maanden voor een duur van 2-3 jaar aanbevolen ¹.

PARANEOPLASTISCHE ANTISTOFFEN

De paraneoplastische antistoffen kunnen verdeeld worden in drie categorieën (Tabel) ². Van de zeven ‘goed gekarakteriseerde’ paraneoplastische antistoffen is het corresponderende ‘onconeurale’ antigen moleculair gedefinieerd. Deze antistoffen zijn sterk geassocieerd met een onderliggende tumor en in meerdere laboratoria consistent aangetoond bij een redelijk aantal patiënten met goed omschreven neurologische syndromen ². Daarnaast zijn er gedeeltelijk gekarakteriseerde antistoffen waarvan het antigen nog niet geïdentificeerd is of die slechts door een enkele onderzoeksgroep beschreven zijn. Een derde groep wordt gevormd door antistoffen die geassocieerd zijn met specifieke syndromen maar niet differentiëren tussen paraneoplastische patiënten en patiënten zonder onderliggende tumor. Omdat verschillende antistoffen geassocieerd kunnen zijn met hetzelfde klinische syndroom ⁶ en omdat dezelfde antistof geassocieerd kan zijn met verschillende syndromen ^{4, 5} is het raadzaam bij verdenking op PNS te screenen voor een panel van paraneoplastische antistoffen en niet te focussen op een enkele specifieke antistof. Onlangs hebben Pittock et al. ¹⁹ in een groot prospectief onderzoek aangetoond dat ongeveer 30% van de patiënten meerdere paraneoplastische antistoffen heeft.

BEHANDELING EN PROGNOSE

Ondanks de immunologische etiologie van de meeste paraneoplastische neurologische syndromen zijn de resultaten van immunotherapie doorgaans teleurstellend ²⁰. Uitzonderingen zijn PNS die geassocieerd zijn met antistoffen gericht tegen antigenen op het celoppervlak van neuronen (i.e. antigenen toegankelijk voor circulerende antistoffen). Deze PNS zijn vaak gelokaliseerd in het perifere zenuwstelsel (LEMS, myasthenia gravis en neuromyotonie) maar kunnen ook in het centrale zenuwstelsel zijn gelegen. Centrale voorbeelden zijn anti-mGluR1 geassocieerde cerebellaire degeneratie, anti-amfifysine geassocieerd ‘stiff-person syndroom’ en anti-VGKC geassocieerde limbische encefalitis ²¹⁻²³. Voor de behandeling van deze aandoeningen worden aanbevolen plasmaferese, immunoabsorptie (extractie van patiënten IgG over een proteïne A kolom), steroïden en intraveneuze immunoglobulinen (IVIg).

Voor de meeste PNS waarbij het antigen cytoplasmatisch of nucleair gelokaliseerd is, is de zenuwschade waarschijnlijk niet het gevolg van functionele interactie van de paraneoplastische antistoffen met het onconeurale antigen. Bij aandoeningen met intracellulaire ‘target’ antigenen en een krachtige cellulaire immuunreactie valt weinig te verwachten van plasmaferese en immunoabsorptie. In deze gevallen valt een proefbehandeling te overwegen die activatie van effector T cellen moduleert. Echter, bewijs voor effectiviteit van steroïden, cyclofosfamide, IVIg en andere immuunsuppressieve behandelingen is zeer beperkt ²⁴.

Het eerste doel in de behandeling van patiënten met PNS is controle van de tumor. Antitumor behandeling stopt de paraneoplastische neurologische achteruitgang van de patiënt ²⁵. Bij ernstig geïnvaleerde patiënten, bijvoorbeeld bedlegerig, wordt vaak van behandeling van de tumor afgezien omdat de kans op klinisch relevante verbetering klein is.

TABEL Antistoffen, paraneoplastische neurologische syndromen en geassocieerde tumoren

Antistof	Neurologische syndromen	Geassocieerde Tumoren
<i>Goed gekarakteriseerde paraneoplastische antistoffen</i>		
Anti-Hu (ANNA-1) ¹	Encefalomyelitis, limbische encefalitis, sensore neuronopathie, subacute cerebellaire degeneratie, autonome neuropathie	KCLC, neuroblastoom, prostaatca.
Anti-Yo (PCA-1) ¹	Subacute cerebellaire degeneratie	Ovariumca., mamma.
Anti-CV2 (CRMP5) ¹	Encefalomyelitis, chorea, limbische encefalitis, sensore neuronopathie, sensorimotore neuropathie, neuritis optica, subacute cerebellaire degeneratie, autonome neuropathie	KCLC Thymoom
Anti-Ri (ANNA-2) ¹	Opsoclonus-myoclonus, hersenstamencefalitis	Mamma., KCLC
Anti-Ma2 (Ta) ^{1,4}	Limbische/diencefalon/hersenstamencefalitis, subacute cerebellaire degeneratie	Testis, longca.
Anti-amfifysine ¹	Stiff-person syndroom, encefalomyelitis, subacute sensore neuronopathie, sensorimotore neuropathie	Mamma., KCLC
Anti-recoverine ³	Kanker geassocieerde retinopathie	KCLC
<i>Gedeeltelijk gekarakteriseerde antistoffen</i>		
Anti-Tr (PCA-Tr) ¹	Subacute cerebellaire degeneratie	Ziekte van Hodgkin
ANNA-3	Encefalomyelitis, subacute sensore neuronopathie	KCLC
PCA-2	Encefalomyelitis, subacute cerebellaire degeneratie	KCLC
Anti-Zic4 ²	Subacute cerebellaire degeneratie	KCLC
Anti-mGluR1 ¹	Subacute cerebellaire degeneratie	Ziekte van Hodgkin
<i>Antistoffen die zowel met als zonder tumor voorkomen</i>		
Anti-VGCC ²	Lambert-Eaton myastheen syndroom, subacute cerebellaire degeneratie	KCLC
Anti-AchR ²	Myasthenia gravis	Thymoom
Anti-nAChR ³	Subacute autonome neuropathie	KCLC
Anti-VGKC ³	Limbische encefalitis, neuromyotonie	Thymoom, KCLC

¹ De aangegeven antistoffen behoren tot een panel dat automatisch wordt bepaald in het Immunodiagnostisch Laboratorium van de afdeling Immunologie, Erasmus MC, Rotterdam, bij aanvraag naar 'paraneoplastische antistoffen'.

² Deze antistoffen worden in het onder ¹ genoemde laboratorium bepaald.

³ De aangegeven antistoffen kunnen na overleg in buitenlandse laboratoria worden bepaald.

⁴ Patiënten met hersenstamencefalitis of subacute cerebellaire degeneratie en anti-Ma2 antistoffen hebben meestal andere tumoren dan van de testis en hebben tevens antistoffen tegen het Ma1 eiwit.

ANNA = antineuronale nucleaire antistof; KCLC = kleincellig longcarcinoom; VGCC = voltage gated calcium kanalen; PCA = Purkinje cytoplasma antistof; mGluR1 = metabotrope glutamaat receptor type 1; nAChR = nicotinerge acetylcholine receptor; VGKC = voltage gated kalium kanalen.

FIGUUR Een 64-jaar oude vrouw met een ernstige, progressieve encefalomyelitis en een drietal mediastinale laesies, verdacht voor tumor. Ondanks driemaal bipteren kan de klinische diagnose longcarcinoom niet worden bevestigd. Serum van patiënte bevat antistoffen reagerend met kernen van neuronen (a) en met recombinant HuD eiwit (b). De diagnose anti-Hu geassocieerde encefalomyelitis bij KCLC wordt gesteld. Patiënte overlijdt aan een non-convulsieve status epilepticus. Obductie wordt toegestaan en de klinische diagnose KCLC wordt bevestigd. Microscopie van de hersenen toont uitgebreide perivasculaire en parenchymateuze ontstekingsinfiltraten. Seriële coupes werden door middel van immunohistochemie gekleurd om CD20⁺-B-lymocyten (c) en CD4⁺- (d) en CD8⁺-T-lymfocyten (e) aan te tonen. Tevens is er opvallend verlies van neuronen met 'neuronofagie' door geactiveerde CD68⁺-microglia cellen (f).

Referenties

1. de Beukelaar JW, Sillevs Smitt PA. Managing paraneoplastic neurological disorders. *Oncologist* 2006; 11:292-305.
2. Graus F, Delattre JY, Antoine JC, et al. Recommended diagnostic criteria for paraneoplastic neurological syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004; 75:1135-40.
3. Darnell JC, Posner JB. Paraneoplastic syndromes involving the nervous system. *N Engl J Med* 2003; 349:1543-54.
4. Graus F, Keime-Guibert F, Rene R, et al. Anti-Hu-associated paraneoplastic encephalomyelitis: analysis of 200 patients. *Brain* 2001; 124:1138-48.
5. Sillevs Smitt P, Grefkens J, De Leeuw B, et al. Survival and outcome in 73 anti-Hu positive patients with paraneoplastic encephalomyelitis/sensory neuronopathy. *J Neurol* 2002; 249:745-53.
6. Shams'ili S, Grefkens J, de Leeuw B, et al. Paraneoplastic cerebellar degeneration associated with antineuronal antibodies: analysis of 50 patients. *Brain* 2003; 126:1409-18.
7. Rojas I, Graus F, Keime-Guibert F, et al. Long-term clinical outcome of paraneoplastic cerebellar degeneration and anti-Yo antibodies. *Neurology* 2000; 55:713-5.
8. Bernal F, Graus F, Pifarre A, Saiz A, Benyahia B, Ribalta T. Immunohistochemical analysis of anti-Hu-associated paraneoplastic encephalomyelitis. *Acta Neuropathol (Berl)* 2002; 103:509-15.
9. Darnell RB, DeAngelis LM. Regression of small-cell lung carcinoma in patients with paraneoplastic neuronal antibodies. *Lancet* 1993; 341:21-2.
10. Byrne T, Mason WP, Posner JB, Dalmau J. Spontaneous neurological improvement in anti-Hu associated encephalomyelitis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1997; 62:276-278.
11. Graus F, Dalmau J, Rene R, et al. Anti-Hu antibodies in patients with small-cell lung cancer: association with complete response to therapy and improved survival. *J Clin Oncol* 1997; 15:2866-2872.
12. Sillevs Smitt PAE, Manley GT, Posner JP. Immunization with the paraneoplastic encephalomyelitis antigen HuD does not cause neurologic disease in mice. *Neurology* 1995; 45:1873-1878.
13. Benyahia B, Liblau R, Merle-Beral H, Tourani JM, Dalmau J, Delattre JY. Cell-mediated autoimmunity in paraneoplastic neurological syndromes with anti-Hu antibodies. *Ann Neurol* 1999; 45:162-7.
14. Albert ML, Austin LM, Darnell RB. Detection and treatment of activated T cells in the cerebrospinal fluid of patients with paraneoplastic cerebellar degeneration. *Ann Neurol* 2000; 47:9-17.
15. Tanaka M, Tanaka K, Tokiguchi S, Shinozawa K, Tsuji S. Cytotoxic T cells against a peptide of Yo protein in patients with paraneoplastic cerebellar degeneration and anti-Yo antibody. *J Neurol Sci* 1999; 168:28-31.
16. Yu Z, Kryzer TJ, Griesmann GE, Kim K, Benarroch EE, Lennon VA. CRMP-5 neuronal autoantibody: marker of lung cancer and thymoma-related autoimmunity. *Ann Neurol* 2001; 49:146-54.
17. Rees JH, Hain SF, Johnson MR, et al. The role of [18F]fluoro-2-deoxyglucose-PET scanning in the diagnosis of paraneoplastic neurological disorders. *Brain* 2001; 124:2223-31.
18. Younes-Mhenni S, Janier MF, Cinotti L, et al. FDG-PET improves tumour detection in patients with paraneoplastic neurological syndromes. *Brain* 2004; 127:2331-8.

19. Pittock SJ, Kryzer TJ, Lennon VA. Paraneoplastic antibodies coexist and predict cancer, not neurological syndrome. *Ann Neurol* 2004; 56:715-9.
20. Keime-Guibert F, Graus F, Fleury A, et al. Treatment of paraneoplastic neurological syndromes with antineuronal antibodies (Anti-Hu, anti-Yo) with a combination of immunoglobulins, cyclophosphamide, and methylprednisolone. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2000; 68:479-82.
21. Sommer C, Weishaupt A, Brinkhoff J, et al. Paraneoplastic stiff-person syndrome: passive transfer to rats by means of IgG antibodies to amphiphysin. *Lancet* 2005; 365:1406-11.
22. Sillevs Smitt P, Kinoshita A, DeLeeuw B, et al. Paraneoplastic cerebellar ataxia due to autoantibodies against a glutamate receptor. *New Engl J Med* 2000; 342:21-27.
23. Vincent A, Buckley C, Schott JM, et al. Potassium channel antibody-associated encephalopathy: a potentially immunotherapy-responsive form of limbic encephalitis. *Brain* 2004; 127:701-12.
24. Vernino S, O'Neill BP, Marks RS, O'Fallon JR, Kimmel DW. Immunomodulatory treatment trial for paraneoplastic neurological disorders. *Neuro-oncol* 2004; 6:55-62.
25. Keime-Guibert F, Graus F, Broet P, et al. Clinical outcome of patients with anti-Hu-associated encephalomyelitis after treatment of the tumor. *Neurology* 1999; 53:1719-23.

THYROID AUTOIMMUNE DISEASES AND PREGNANCY

H.A. Drexhage, medisch immunoloog

Introduction

Thyroid autoimmune conditions generally ameliorate during pregnancy and show a rebound and aggravation in the postpartum phase.

When a woman suffers from sub-clinical autoimmune thyroiditis before and/or in pregnancy, i.e. when she is positive for antibodies to thyroid peroxidase (TPO-Abs) in serum but still does not have a thyroid failure, the rebound in the postpartum period may lead to a first outbreak of thyroid failure. This condition is known as postpartum thyroiditis.

When a woman suffers from Graves' disease before and/or during pregnancy a similar rebound postpartum may occur, but this is less frequent and still insufficiently studied. In this situation another pregnancy related phenomenon is more prominent, i.e. the transfer of TSH receptor antibodies – the cause of Graves' disease – from the mother to the fetus. This may result in neonatal Graves' disease, which is – although transient – often a life threatening and serious condition for the newborn.

Both postpartum thyroiditis and Graves' disease in pregnancy will be discussed briefly underneath.

Post partum thyroiditis

The most frequent and best-characterized autoimmune thyroid disease postnatally is postpartum thyroiditis. Postpartum thyroiditis is a syndrome of transient or permanent thyroid dysfunction occurring in the first year after delivery and based on an autoimmune inflammation of the thyroid. Classically, a thyrotoxic phase is followed by a hypothyroid phase. Several intrinsic and environmental factors have been reported to play a pathophysiological role in its development.

The reported prevalence of postpartum thyroiditis varies widely, from 1.1–21.1%. This wide variation is largely due to differences in the definition of postpartum thyroiditis; on the other hand, variable and sometimes inadequate ascertainment and follow-up play a role. Furthermore, in some studies thyroid scintigraphy has been omitted in some of the thyrotoxic patients, thus leading to a possible underestimation of postpartum Graves' disease. Apart from these methodological considerations, environmental and genetic factors in the population are thought to play a role in the variability of

prevalence data. Only two studies, both from Europe, obtained end-point data from more than 70% of the described source population. These studies reported similar prevalence's of 6.5% and 7.2%, respectively. Recent work from The Netherlands, with a follow-up of 65% of the original cohort, reported a prevalence of 5.2%. Nicolai et al. reported a prevalence of 6.7% in a North American population with a follow-up of 65%. Hence, the prevalence of postpartum thyroiditis in iodine-sufficient areas ranges between 5–7%.

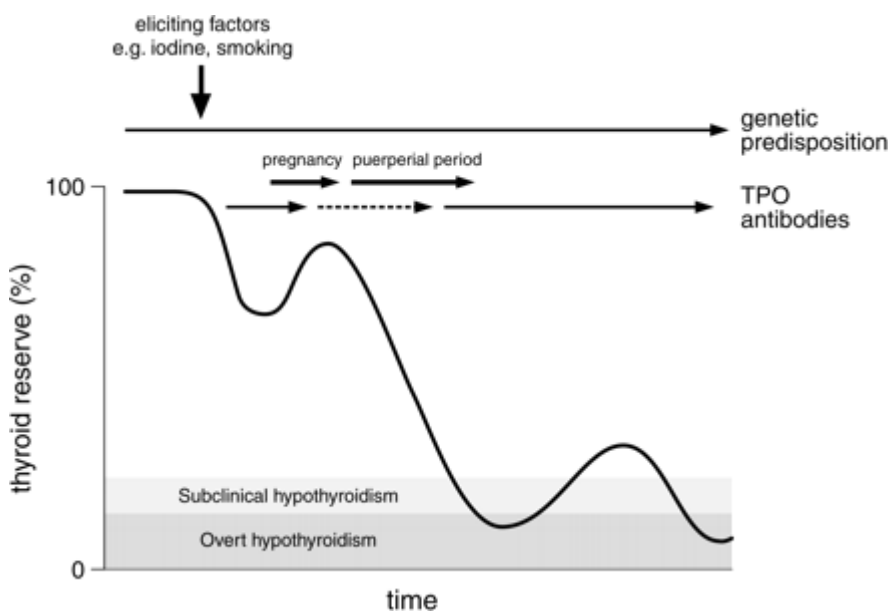


Figure. A scheme depicting the gradual loss of thyroid reserve over time (often years) due to thyroid autoimmune mechanisms. On the basis of a genetic predisposition for endocrine and thyroid autoreactivity, an insult on the level of the thyroid [leading to the attraction of antigen-presenting cells (APC)], and various other eliciting factors (e.g., smoking) a thyroid autoimmune reaction is initiated. TPO antibodies are markers of the ongoing thyroid autoimmunization process. Pregnancy ameliorates the process, while the puerperal period aggravates thyroid autoimmunity. If thyroid reserve was already considerably compromised before pregnancy, or if the transient autoimmune attack in the puerperal period is severe enough, subclinical hypothyroidism and even overt hypothyroidism will develop (Post partum thyroiditis).

Postpartum thyroiditis is closely associated with the presence of TPO-Abs (Fig). Indeed, if a pregnant woman is positive for TPO-Abs early in pregnancy, her chances of developing postpartum thyroiditis are 30–52%. Although the association of TPO-Abs with postpartum thyroiditis is strong, a causative role of these antibodies in the pathogenesis of this syndrome remains unclear.

Postpartum thyroiditis classically runs a biphasic course: a thyrotoxic phase is followed by a hypothyroid phase. The disease can also present as either transient thyrotoxicosis or hypothyroidism. Hypothyroidism tends to occur earlier when preceded by thyrotoxicosis than when occurring alone. The onset of thyrotoxicosis is variable, ranging from the first to the sixth month postpartum and lasting 1 to 2 months. Five authors have systematically investigated the symptoms of postpartum thyroiditis compared with euthyroid postpartum women (Table I).

During the thyrotoxic phase the physical symptoms are usually mild compared with Graves' thyrotoxicosis, and fatigue, palpitations, weight loss, heat intolerance, and irritability were more prevalent in women with postpartum thyroiditis than in euthyroid postpartum women. Other reported symptoms are psychological disturbances, tremor, and nervousness. The thyrotoxic phase of postpartum thyroiditis is due to leakage of thyroid hormones from destroyed thyrocytes and is therefore self-limiting.

The hypothyroid phase, developing approximately 4–8 months postpartum and usually lasting 4–6 months, is clinically more important. The hypothyroid phase of postpartum thyroiditis is due to loss of thyrocytes by immune destructive mechanisms. Prevalent symptoms are muscle and joint aches and stiffness. In systematic studies, these symptoms were not discriminatory in contrast to fatigue, loss of concentration, and constipation. It is generally believed that mental depression is the most prominent discriminatory symptom of the hypothyroid phase of postpartum thyroiditis, while often ascribed to the changes consequent upon delivery and the lack of night rest.

Several studies have specifically, and solely, investigated the association between postpartum thyroiditis and postpartum depression (Table II). A critical appraisal of the literature revealed that postpartum depression is significantly associated with postpartum thyroid dysfunction regardless of the thyrotoxic or hypothyroid phase. Consequently, in terms of clinical management and appropriate treatment, it is pivotal to recognize the origin of the depressive symptoms. Harris et al. examined the rates at which depression occurred at 6–8 wk postpartum in 65 thyroid antibody (Tg and TPO)-positive and 82 antibody-negative women. Women with postpartum thyroiditis had a small but significant excess of DSM III defined major depression. Pop et al. studied 293 women from 32 wk of gestation until 34 wk postpartum and also found an association of major and minor depression (according to Research Diagnostic Criteria) with postpartum thyroiditis. Kent et al. also found that postpartum thyroiditis carries a slightly increased risk for the occurrence of depression. However, in a recent study from Spain in which 605 women were followed Lucas et al. found no association of depression with postpartum thyroiditis. A different sociological background in Spain compared with the countries in which the other studies were performed might explain this negative result.

After critically reviewing the present data, we conclude that there is an association between postpartum thyroid dysfunction and depression. Considering the mechanism behind this association, it is noteworthy that hypothyroidism influences neurotransmitters important in affective disorders; hypothyroidism, for

instance, reduces central 5-hydroxytryptamine neurotransmission. This reduction reverses with T4 replacement. Alternatively, it has been speculated that cytokines released during a thyroid autoimmune reaction, e.g., IL-1 and IL-6, interact with central neurotransmission, initiating depression.

Graves disease, pregnancy and neonatal hyperthyroidism

Hyperthyroidism and goiter due to Graves' disease are induced by autoantibodies stimulating the thyroid-stimulating hormone (TSH) receptor. In most patients these autoantibodies can be measured in serum. Graves' disease is common in women of reproductive age, with a prevalence rate of past or present disease of 0.5-1%. Classically, three therapeutic approaches are used: (i) Antithyroid drugs given for a long period, which is commonly 1-2 years. During therapy most patients enter remission, but relapses are frequent (around 50%) after withdrawal of medication; (ii) Radioiodine therapy. This may initially aggravate the autoimmune reaction, but most patients become euthyroid or hypothyroid, due to the reduction in thyroid follicular cell mass; (iii) Subtotal or near total thyroidectomy.

Pregnancy is commonly accompanied by a fall in thyroid autoimmune activity, and women with Graves' disease may spontaneously enter remission during pregnancy. However, disease activity persists in some pregnant patients, and occasionally onset of Graves' disease is seen. The recommended therapy for Graves' disease during pregnancy is monotherapy with antithyroid drugs (propylthiouracil, methimazol or carbimazol).

While thyroid hormones produced by or given to the mother cross the placenta in only limited amounts, both TSH receptor stimulating antibodies and antithyroid drugs readily cross the placenta and affect fetal thyroid function. Ideally, a balance between stimulating antibodies and drugs, which keeps the mother euthyroid, will also maintain euthyroidism in the fetus. Fortunately this is close to reality; during therapy with antithyroid drugs the thyroid state of the fetus parallels that of the mother, but with a tendency to be slightly lower. Hence, a pregnant woman with Graves' disease and an intact thyroid should receive the minimal dose of antithyroid drugs, which keeps her thyroid function near the upper end of normality.

After delivery, antithyroid drugs are cleared from the neonatal circulation within the first days, whereas TSH receptor antibodies disappear much more slowly and may stimulate the thyroid during the first weeks or even months of life. Delayed neonatal hyperthyroidism may therefore develop, constituting a potentially life-threatening medical condition for the baby.

The situation is different when a pregnant woman has previously been treated for Graves' hyperthyroidism with radioiodine or surgery, and especially when she is receiving thyroxine substitution therapy. In this situation, the thyroid function of the mother does not reflect thyroid function in the fetus.

Table I. Systematic studies on the symptomatology of postpartum thyroiditis.

First author (reference)	Yr	Country	No. included/ no. analysis of symptoms	Time of inclusion/ time of last assessment	Hypothyroidism			Thyrotoxicosis				
					Depression	Fatigue/ concentration loss	Constipation	Fatigue	Palpitations	Weight loss	Heat intolerance	Irritability
Amino	1982	Japan	63/63 ^a	3 mo pp/6 mo pp				-	-			
Hayslip	1988	USA	63/63	2nd day pp/6 mo pp	- ^c							
Walfish	1992	Canada	1,376/208	Delivery/12 mo pp								
Lazarus	1996	UK	152 ^b /152	1 mo pp/9 mo pp								
Kent	1999	Australia	748/130	6 mo pp/6 mo pp								

^a Only thyrotoxic patients.

^b Source population consisted of 1,996 women attending an antenatal clinic; inclusion thyroid antibody+; 235 were thyroid antibody+ of these 152 were included.

^c A *dash* denotes that the symptom is significantly more prevalent in women with postpartum thyroiditis than in normal euthyroid postpartum women.

Table II. Association of thyroid antibodies and postpartum thyroiditis with depression.

First author (reference)	Yr	Country	Inclusion criteria	No. included/no. with psychiatric assessment	Time of inclusion and last psychiatric assessment	Incidence of depression	RR of depression ^a	P value
Harris	1982	Japan	Tab+ (Tab- co's)	147 (147)/147 (147)	6-8 wk pp/6-8 wk pp	5% (8/147) ^b	5.2	<0.01
Pop	1988	USA	Informed consent	303/293	3rd trimester/8 mo pp	21% (61/293) ^c	1.6	<0.02
Ken	1992	Canada	Informed consent	748/69	6 mo pp/6 mo pp	11% (8/69) ^b	1.4	N.S.
Lucas	1996	UK	Informed consent	605/605-444 (1-12 mo pp)	Delivery/12 mo pp	9% (4/45)	0.7	N.S.
Association with thyroid antibodies (normal thyroid function)								
Pop	1993	Netherlands	Informed consent	303/293	3rd trimester/8 mo pp	21% (61/293) ^c	1.73	N.S.
Harris	1992	UK	Tab+ (Tab- co's)	145 (229)/110 (132)	2nd trimester/7 mo pp	39% (94/242) ^c	1.47	N.S.
Kent	1999	Australia	Informed consent	748/45	6 mo pp/6 mo pp	11% (5/45) ^b	1.19	N.S.

Tab, Thyroid antibodies; N.S., not significant. ^a Thyroid dysfunction vs. Euthyroid, or Tab+ vs. Tab-. ^b According to DSM III/DSM III R. ^c According to research Diagnostic Criteria.

If the mother still produces large amounts of TSH receptor stimulating antibodies, fetal hyperthyroidism may develop. Also, neonatal hyperthyroidism may be present at birth and last for months if left untreated.

The clinical value of measuring TSH receptor antibodies in pregnant women to predict neonatal hyperthyroidism has been examined in several studies. From a meta-analysis of these studies it was concluded that:

- a) 2-10% of pregnant women with active Graves' disease will have newborns with hyperthyroidism. These women are usually the 2-10% of pregnant women with the highest levels of TSH receptor antibodies, which can be measured best late in pregnancy.
- b) If a pregnant woman is euthyroid after a previous medical therapy for Graves' disease, the risk for neonatal Graves' disease is negligible (TSH receptor antibodies are then negative to very low).
- c) If a woman is euthyroid, but after radioiodine treatment or surgery, the risk for neonatal hyperthyroidism is not negligible but dependent on the still existing level of TSH receptor antibodies.

Though studies in the meta-analysis varied widely with regards to antibody assays used and the numbers and characterization of patients, guidelines have been proposed despite the fact that there is no agreement on what a high level of TSH receptor antibodies is. In the guidelines mention is made of a threshold of 40 U/l (assay of Brahms, Berlin, Germany), which would be high enough to indicate risk of neonatal hyperthyroidism, but this is hardly evidence-based. The threshold of 40 U/l might be equivalent to 4 IU/L (WHO standard 90/672). There are in Europe at present various protocols in action using different thresholds for "neonatal risky" TSH receptor antibody levels.

Our group is involved in a large follow-up study investigating which levels of TSH receptor antibodies really constitute a risk factor for the neonate. Preliminary data will be presented.

References

1. Muller AF, Drexhage HA, Berghout A. Postpartum thyroiditis and autoimmune thyroiditis in women of childbearing age: recent insights and consequences for antenatal and postnatal care. *Endocr Rev* 2001;22:605-30.
2. Laurberg P, Nygaard B, Glinoe D, Grussendorf M, Orgiazzi J. Guidelines for TSH-receptor antibody measurements in pregnancy: results of an evidence-based symposium organized by the European Thyroid Association. *Eur J Endocrinol* 1998;139:584-6.