

## Systemische auto-immuunziekten: passende serologische diagnostiek

H. HOOIJKAAS<sup>1</sup>, R. SMEENK<sup>2</sup> en F. GMELIG MEYLING<sup>3</sup>

Auto-immuunziekten worden gekenmerkt door pathogene activiteiten van het immuunsysteem, gericht tegen lichaamseigen substanties. Meestal worden daarbij ook autoantistoffen gevormd, die doorgaans reageren met componenten van de aangedane weefsels en organen. Vaak is nog onbekend waarom autoantistoffen worden geproduceerd en wat hun bijdrage is aan de pathogenese. Wel kunnen autoantistoffen typerend zijn voor individuele auto-immuunziekten. Bij systemische auto-immuunziekten zijn autoantistoffen meestal gericht tegen substanties die vóórkomen op vele, zometert alle plaatsen in het lichaam. (Auto)antistoffen zijn weerbarstige diagnostische indicatoren. Zelfs antistoffen tegen een gegeven (eiwit-) molecuul zijn heterogeen, o.a. qua aviditeit en epitopspecificiteit. Hierdoor zijn de analyseresultaten zeer sterk afhankelijk van de gebruikte testtechniek. De ziektespecificiteit van autoantistoffen kan heel hoog zijn, maar met een lage sensitiviteit. Ook het omgekeerde komt voor. Bovendien kunnen autoantistoffen, zij het met lage titer en/of aviditeit, ook bij klinisch gezonde mensen voorkomen. Screening op (een) auto-immuunziekte aan de hand van autoantistoffenbepalingen heeft dan ook zelden zin. Het vaststellen van goede normaal- c.q. cut-offwaarden in relatie tot geteste patiëntenserumverdundingen is een belangrijk vereiste. Als wij ons van al deze factoren goed bewust zijn, zijn vele autoantistoffen goed te gebruiken als diagnostica. Daarbij zijn nieuwe inzichten en technische ontwikkelingen van groot belang, waaronder: de geleidelijke vervanging van immunofluorescentiebepalingen door immunoassays met (recombinant)peptiden; mogelijkheden om van autoantistoffen de aviditeiten te bepalen, ter verbetering van de specificiteit en van de relatie met ziekteactiviteit; de mogelijkheid om de fijnspecificiteit van autoantistoffen op eiwitpeptooniveau vast te stellen; en het besef dat bepaalde autoantistoffen in feite gericht zijn tegen post-translationeel veranderde structuren (voorbeeld: antistoffen tegen gecitrullineerde peptiden).

Tezamen met hetgeen data-analyse en automatisering ons bieden, liggen multiplex- resp. array-gewijze autoantistoffenbepalingen thans binnen bereik.

*Trefwoorden: systemische auto-immuunziekten; autoantistoffen; anti-nucleaire antistoffen; ANA; ENA; anti-CCP*

Bij de meeste systemische auto-immuunziekten zijn zogenaamde antinucleaire antistoffen (ANA) in de circulatie van de patiënt aanwezig. Hoewel de naam lijkt aan te geven dat deze antistoffen (alleen) zijn gericht tegen bestanddelen van de celkern, worden ook antistoffen tegen bepaalde eiwitten uit het cytoplasma onder deze naam gerubriceerd (1). Daarnaast worden vaak reumafactoren en, bij reumatoïde artritis, antistoffen gericht tegen gecitrullineerde eiwitten aangetroffen (2). Bij verschillende vormen van vasculitis zijn anti-neutrofiele cytoplasmatische antistoffen (ANCA) aantoonbaar. Deze worden elders in dit themanummer nader beschreven (3). Een overzicht van de diverse autoantistoffen, de naamgeving en de anti-genspecificiteit wordt gegeven in tabel 1; een overzicht van de diverse methoden waarmee autoantistoffen bepaald (kunnen) worden, is gegeven in tabel 2. Ten overvloede zij erop gewezen dat autoantistoffen in vele ziekten een 'bijverschijnsel' van de auto-immunreactiviteit zijn: weliswaar vaak bruikbaar bij het stellen van de diagnose, maar niet (altijd) van pathogene betekenis (4).

Op de aanwezigheid van ANA wordt gescreend middels indirecte immunofluorescentiemicroscopie (meestal op glaasjes met Hep2- of Hep2000-cellen, figuur 1), of via ELISA. Na de screening kan de specificiteit van de antistoffen nader bepaald worden met technieken als counterimmuno-elektroforese (CIE), immunodiffusie (ID), immunoblotting (IBT) of ELISA. De antistofspecificiteiten die daarmee kunnen worden geïdentificeerd zijn onder andere: anti-dsDNA, anti-Sm, anti-U1RNP (-ribonucleoproteïne), anti-Ro/SS-A, anti-La/SS-B, anti-Scl70, anti-Jo1, anti-centromeer, anti-histon en anti-rRNP. Commerciële testkits zijn veelal gebaseerd op een versie van de ELISA-techniek, waarmee specifiek autoantistoffen kunnen worden gemeten. De kwaliteit van deze kits is de afgelopen jaren sterk toegenomen, maar blijft afhankelijk van het gebruikte antigeen: zuivere, langs recombinant-technologische weg bereide antigenen voldoen vaak het best, maar er zijn uitzonderingen, zoals het Sm-D-eiwit (5, 6).

Afdeling Immunologie, Erasmus Medisch Centrum, Rotterdam<sup>1</sup>, Sanquin diagnostiek, Amsterdam<sup>2</sup>, Afd. Immunologie, Universitair Medisch Centrum Utrecht<sup>3</sup>

Correspondentie: prof.dr. H. Hooijkaas, Afdeling Immunologie, Erasmus Medisch Centrum, Dr. Molewaterplein 50, 3015 GE Rotterdam  
E-mail: h.hooijkaas@erasmusmc.nl

**Tabel 1.** Autoantistoffen en autoantigenen bij systemische auto-immuunziekten

Autoantistof	Naam	Autoantigeen (-genen)
Anti-nucleosoom		Nucleosoom
Anti-DNA		Dubbelstrengs-DNA
Anti-histon		Histoneiwitten
Anti-centromeer		Centromeerewitten (CENP-A, B, C, D)
Anti-Sm	Patiënt Smith	Diverse eiwitcomponenten van snRNP ('small nuclear ribonucleoprotein')partikels
Anti-U1RNP		Eiwitten van het U1-ribonucleoproteïneartikel
Anti-Ro/SS-A	'Soluble substance' A patiënt Robert	Eiwitten (waaronder een 60-kD- en 52-kD-polypeptide) van scRNP ('small cytoplasmic ribonucleoprotein')artikel
Anti-La/SS-B	'Soluble substance' B patiënt Lane	Helicase
Anti-Jo1	Patiënt Johan	Histidyl-transfer-RNA-synthetase
Anti-PL-12	'Precipitin line' 12	Alanyl-transfer-RNA-synthetase
Anti-PL-7	'Precipitin line' 7	Threonyl-transfer-RNA-synthetase
Anti-rRNP		Ribosomale antigenen (fosfoproteinen)
Anti-Ku	Patiënt Ku (volledige naam onbekend)	DNA-helicase
Anti-Scl70	Scleroderma, 70 kD polypeptide	Topo-isomerase I
Anti-PCNA	'Proliferating cell nuclear antigen'	Cycline A
Anti-cardiolipine		Cardiolipine
ANCA	Neutrofielen-cytoplasmatische antigenen	Cytoplasmatische eiwitten uit de neutrofiële granulocyt waaronder proteinase-3 en myeloperoxidase
Reumafactoren		IgG
Anti-CCP	'Cyclic citrullinated peptides'	Gecitrullineerde eiwitten (zoals filaggrine, fibrine en vimentine)

### Reumatoïde artritis

Reumatoïde artritis (RA) is een chronische, systemische, inflammatoire ziekte waarbij gewrichtsontsteking met irreversibele, erosieve beschadiging op de voorgrond staat. In de westerse wereld is de incidentie 1-2% en daarmee wordt RA in de meeste landen als een 'volksziekte' beschouwd. Algemeen wordt thans aangenomen dat de grondslag van de pathogenese een auto-immunreactie is tegen één of meerdere bindweefselcomponenten, welke reactie mogelijk wordt door een complexe genetische predispositie. De oorzaak van de gewrichtsschade ligt (zeer) waarschijnlijk bij T-lymfocyten, die kraakbeengebonden peptiden herkennen en daarop reageren. Dit leidt uiteindelijk tot een chronische ontsteking, waarbij vele verschillende elementen van het afweersysteem betrokken zijn. Daaronder zijn granulocyten, macrofagen, B-lymfocyten, diverse autoantistoffen, het complementsysteem, en effector-T-lymfocyten die bijdragen aan kraakbeenbeschadiging. Er zijn aanwijzingen dat RA - gegeven een convergente multi-gene aanleg bij een individu - uitgelokt zou kunnen worden door een infectie met bepaalde micro-organismen.

Bij vrijwel alle RA-patiënten komen diverse autoantistoffen voor met een scala van reactiviteiten. Deze omvatten veelal, maar niet uitsluitend, bindweefselcomponenten. Vrijwel geen van deze autoantistoffen is voldoende specifiek voor RA om als diagnosticum in aanmerking te komen. Dat geldt ook voor de anti-nucleaire antistoffen (ANA). Toch zijn er twee (typen) autoantistoffen die wel een onmisbare rol spelen bij de diagnostiek van RA, en vooral van nut zijn bij het maken van onderscheid tussen (vroeg) RA en andersoortige gewrichtsontstekingen.

Het bijzondere is dat ze geen van tweeën gericht zijn tegen (normaal vóórkommende) bindweefsel-eiwitten. Het betreft hier de reumafactoren (RF), waarop al een halve eeuw wordt getest in het kader van de standaard RA-diagnostiek; en verder de antistoffen gericht tegen cyclische, gecitrullineerde peptiden (CCP), waarvoor pas sedert enkele jaren een rationele bepalingstechniek bestaat.

**Tabel 2.** Autoantistoffen en de bepalingsmethoden ervan

Autoantistof	Bepalingsmethode				
	ELISA	IFT	CIE/ID	IBT	RIA
Anti-nucleosoom	X				
Anti-DNA	X	X			X
Anti-histon	X			X	
Anti-centromeer		X		X	
Anti-Sm	X		X	X	
Anti-U1RNP	X		X	X	
Anti-Ro/SS-A	X		X	X	
Anti-La/SS-B	X		X	X	
Anti-Jo1	X		X	X	
Anti-PL12				X	
Anti-PL7				X	
Anti-rRNP	X		X	X	
Anti-Ku				X	
Anti-PCNA			(X)	X	
Anti-cardiolipine	X				
ANCA	X	X			
Reumafactoren	X				
Anti-CCP	X				

ELISA: enzyme-linked immuno sorbent assay, IFT: immunofluorescentietest, CIE: counterimmuno-elektroforese, ID: immunodiffusie, IBT: immunoblotting, RIA: radioimmunoassay.

### Reumafactoren

Reumafactoren zijn antistoffen die zich binden aan IgG en wel vooral aan structuren op het Fc-deel (de 'staart') van de moleculen (7). RF werden in feite al 70 jaar terug waargenomen, maar pas in de jaren vijftig (h)erkend als autoantistoffen die zijn geassocieerd met RA. Ze zijn aantoonbaar bij 60-70% van de RA-patiënten, met dien verstande dat die aantoonbaarheid in de tijd kan veranderen, dat bij ca. 15% van de patiënten nooit RF worden gezien ('seronegatieve' RA), en dat de frequentie bij juveniele idiopathische artritis veel lager is. RF zijn niet absoluut specifiek voor RA: ze zijn ook aantoonbaar bij patiënten met andere auto-immuunziekten zoals SLE en Sjögren-syndroom, tijdens bacteriële en virale infecties (bijvoorbeeld hepatitis-C-infectie met mixed cryoglobulinemie), en zelfs bij normale gezonde mensen. In de laatste groep stijgt de incidentie van 5% bij jong volwassenen tot 20% bij ouderen boven de 60 (8), een verschijnsel eigen aan vele autoantistoffen. Hoewel RF dus noch sterk sensitief noch zeer specifiek zijn voor RA, behoren ze toch al lange tijd tot één der zeven standaardcriteria voor het stellen van de diagnose RA. De bruikbaarheid van RF-tests wordt daarom mede bepaald door het gevolgde differentiaaldiagnostische traject.

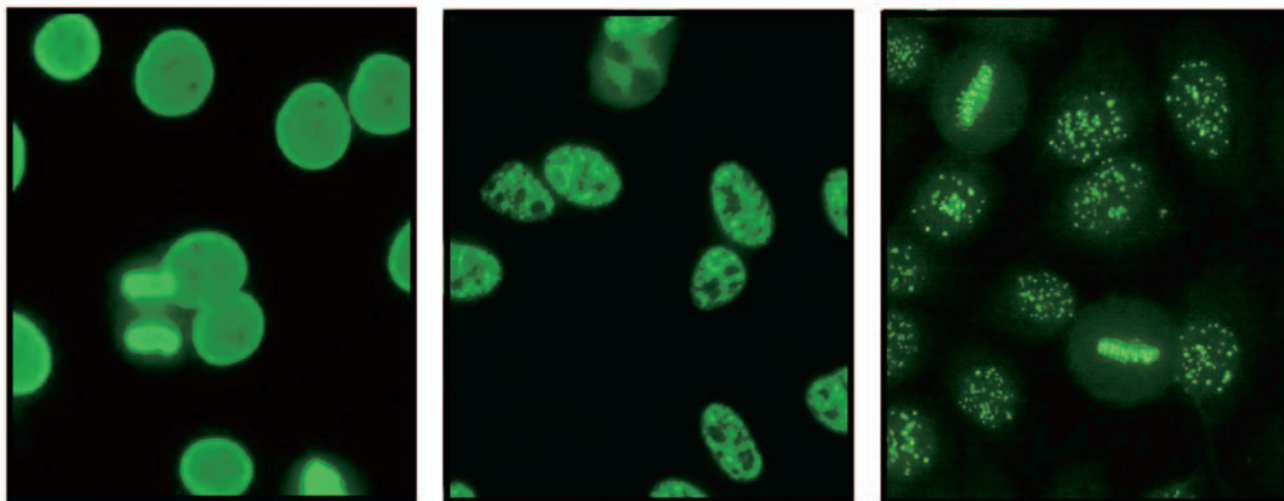
Men neemt aan dat RF op zich geen pathologisch verschijnsel zijn, maar dat ze ook bij gezonde personen worden gevormd als reactie op de regelmatig voorkomende kortdurende vorming van immuuncomplexen; hun biologisch nut zou dan zijn het assisteren bij de ruiming van die complexen. Alleen abnormaal hoge titers en/of chronische, onregelde productie van RF zouden dan aan chronische ontstekingen kunnen bijdragen. In de meeste gevallen zijn RF-autoantistoffen van de IgM-klasse; dit wordt de klassieke RF genoemd. Bij veel patiënten met RA kunnen op enigerlei moment van de ziektehistorie ook IgA-en/of IgG-RF worden aangetoond. Volgens sommige studies is aanwezigheid van IgG-RF en/of IgA-RF weliswaar minder sensitief, maar specifiek voor RA dan een positieve klassieke RF-test (7, 9). Er is een relatie aangetoond tussen ziekteactiviteit, in casu de mate van gewrichtschade, en de titer van RF en/of de

hoogte van de affiniteit van de IgA-RF. Waarschijnlijk weerspiegelen deze waarnemingen de activiteit van T-helperlymfocyten in het ziekteproces, en zijn derhalve indirecte surrogaatmarkers daarvoor. Genoemde eigenschappen van RF zijn echter niet gemakkelijk reproduceerbaar en kosteneffectief te bepalen, en bovendien nog onder discussie; ook zijn de gegevens statistisch niet echt hard. De diagnostische toepassing voor individuele patiënten is dus slechts beperkt.

Er zijn drie groepen technieken ter aantoning van RF. Ten eerste is dat hemagglutinatie, door patiëntenserum, van erythrocyten bedekt met IgG. Dat kan in de vorm zijn van geïsoleerd totaal-IgG, of van IgG-antistoffen tegen die erythrocyten. Hierbij wordt gebruik gemaakt van de mens-dierkruisreactiviteit van veel RF. Tot deze groep technieken behoren de klassieke Waaler-Rose-test en de RAHA-test. Ten tweede kan latexagglutinatie worden gebruikt. Daarbij zijn de latexpartikels bedekt met (humaan) IgG. Klassiek is hierbij de kwalitatieve agglutinatie-test op een microscoopglasje; tegenwoordig wordt veelal automatisering via turbidi- of nefelometrie gebruikt, wat bovendien een standaardiseerbaar kwantitatief resultaat oplevert. Ten derde is daar de ELISA-techniek, waarbij IgG gecoat is, en de isotypen (IgM, IgG, en IgA) van de RF kunnen worden vastgesteld. Hierbij moet men wel bedenken dat een ELISA natuurlijk fundamenteel verschilt van een agglutinatie-assay en dat accurate en artefact-arme aantoning van Ig-isotypen van humane antistoffen, tegen autoloog humaan IgG, bepaald geen immunochemische sinecure is.

### Antistoffen tegen cyclische, gecitrullineerde peptiden

Vooraf gedurende de afgelopen decade zijn een aantal nieuwe autoantistoffen gedefinieerd die voorkomen bij RA. De hoop dat deze zouden kunnen bijdragen aan een betere serologische diagnostiek bij RA is tot nu toe helaas niet bewaarheid, met één uitzondering: de anti-CCP-autoantistoffen. In feite heeft de kennis van deze antistoffen een aanzienlijk langere geschiedenis. Al in 1964 ontdekten Nienhuis en Mandema dat bij de meeste RA-patiënten een autoantistof voor-



**Figuur 1.** Immuunfluorescentiepatronen van antinucleaire antistoffen (ANA). Homogene fluorescentie (links), gespikkeld (midden) en patroon passend bij anti-centromeerantistoffen (rechts). Beschikbaar gesteld door C. Roozendaal en P. Limburg, UMCG, Groningen.

komt die reageert met wat zij toen 'keratohyaline granula' noemden: cytoplasmatische insluitels in huidkeratinocyten (9). Deze antistoffen werden aangetoond via indirecte immunofluorescentie, met als substraat wangslimvliescellen, en aangeduid als AP(N)F, anti-perinucleaire factor. De test is vele jaren gebruikt in een vrij beperkt aantal laboratoria in enkele landen, waaronder Nederland, ondanks de nogal moeizame wijze van beoordelen, en de problemen bij het vinden van een geschikte donor voor wangslimvlies (slechts zo'n één op de tien personen was goed bruikbaar). Als waarschijnlijk soortgelijk alternatief was inmiddels een bepaling ontwikkeld voor antistoffen tegen rattenoesofagusepitheel, die geacht werd autoantistoffen tegen keratine (AKA) aan te tonen. Nader onderzoek wees uit dat de antistoffen eigenlijk reageerden tegen filaggrine. De diverse bepalingen (APF, AKA, AFA) waren positief bij 50-60% van alle RA-patiënten, met een specificiteit van 90-95% t.o.v. diverse controlegroepen. In 2000 ontdekten Schellekens en Van Venrooij en medewerkers (2) dat deze antistoffen in feite reageren met eiwitten die citrullineresiduen bevatten. Die reactiviteit beperkt zich niet tot het filaggrine, maar geldt ook o.a. gecitrullineerd fibrine en vimentine. Waar in het lichaam en waarom zulke antistoffen worden gevormd is niet met zekerheid bekend, en evenmin of zij een pathogene rol spelen bij RA. Wel is duidelijk dat in ontstoken gewrichten bij RA gecitrullineerde eiwitten aantoonbaar zijn (10, 11). Citrullineren is een proces van post-translationele modificatie, waarbij het enzym peptidylargininedeiminase (PAD) arginineresiduen in eiwitten omzet in citrulline. Interessant is dat onlangs gevonden werd dat het enzym PAD een polymorfisme vertoont dat te relateren is aan RA (12), hetgeen toch misschien wijst op een etiopathogene rol van PAD, (de mate van) citrullineren, en deze antistoffen.

De afgelopen jaren zijn ELISA-technieken ontwikkeld om deze antistoffen aan te tonen, waarbij het substraat bestaat uit (een mengsel van) goed gedefinieerde, artificieel gecycliseerde, gecitrullineerde peptiden (CCP). Al gauw bleek uit verschillende studies (8, 10, 11), dat de specificiteit van de anti-CCP-bepaling voor RA, met minstens 95%, véél hoger is dan die van RF-bepalingen (35-70%). Hierbij zijn RA-patiënten vergeleken met zowel gezonde individuen als met patiëntengroepen met een heel scala van andere auto-immuunziekten, artropathieën, en infecties. De sensitiviteit voor RA was vergelijkbaar met RF (ca. 70%). Verder blijkt van de 30% RF-negatieve RA-patiënten ongeveer de helft anti-CCP-positief te zijn, en is ca. 10% van de anti-CCP-negatieve patiënten toch RF-positief. Dubbelpositiviteit voor RF én anti-CCP heeft een sensitiviteit van ca. 50% maar een specificiteit van vrijwel 100%. Wanneer uitgegaan wordt van een RF-cut-offwaarde van > 50 IU/ml (hetgeen ten koste gaat van de sensitiviteit, maar een betere specificiteit oplevert), levert de anti-CCP-bepaling een uitstekend extra diagnosticum op voor RA, daar waar de RF negatief of laag is (13). Bepaling van beide autoantistoffen tegelijk wordt veel toegepast, evenals een beleid om eerst anti-CCP te bepalen

en bij negativiteit alsnog RF. Welke van deze twee consensusbeleid wordt, is thans nog niet voldoende duidelijk. Wel is belangrijk, dat de combinatie van RF- en anti-CCP-analyses goed bruikbaar lijkt voor diagnostiek bij vroege (reumatoïde) artritis, en dat onlangs is gebleken dat RF en/of anti-CCP-antistoffen aantoonbaar kunnen zijn al jaren voorafgaande aan de klinisch presentatie van RA, bij bijna de helft van de toekomstige patiënten (8, 10, 11). Of dit een mogelijke screeningsstrategie zou kunnen opleveren, zal uit toekomstig onderzoek moeten blijken.

### **Gesystematiseerde lupus erythematosus (SLE)**

Gesystematiseerde lupus erythematosus (SLE) wordt vaak beschouwd als het prototype van een (gegeneraliseerde) auto-immuunziekte. De ziekte omvat een breed scala aan klinische manifestaties, zoals artritis, artralgieën, vasculitis, serositis, synovitis en nefritis. Ook het centraal zenuwstelsel kan aangedaan zijn. Een ander kenmerk van SLE is het beloop, waarbij (vaak langdurige) remissies worden afgewisseld met exacerbaties. Dit alles maakt eenduidige diagnose vaak moeilijk. Hier kan immunologische diagnostiek dikwijls de nodige ondersteuning verlenen.

SLE presenteert zich vooral in de leeftijdsgroep van 16 tot 40 jaar, en wel bij vrouwen ongeveer 9 tot 15 maal zo vaak als bij mannen. De prevalentie wordt geschat op circa 50 patiënten per 100.000 personen. Mensen van Afrikaanse, Aziatische en Amerikaans-Indiase afkomst vertonen een hogere incidentie dan 'blanken'.

Bij SLE zijn thans 60 verschillende autoantistoffen bekend; die zijn vooral gericht tegen nucleïnezuren en eiwitten die daarmee geassocieerd zijn. De antistoffen tegen DNA zijn het meest specifiek en karakteristiek voor SLE. Andere hoogspecifieke (maar laag-sensitieve) autoantistoffen zijn die tegen de RNP-complexen Sm en ribosomaal RNP; de meeste andere autoantistoffen van deze groep worden ook aangetroffen bij andere systemische auto-immuunziekten. De oude 'LE-celtest' was een primitieve manier om antistoffen tegen nucleïnezuren aan te tonen; deze is al jaren obsoleet.

Het is nog steeds niet duidelijk in hoeverre SLE wordt veroorzaakt door autoantistoffen 'strictu sensu'. SLE wordt traditioneel mede beschouwd als een immunocomplexziekte; interactie van autoantistoffen met hun betreffende antigenen leidt tot de vorming van immunocomplexen die neerslaan in haarvaten van organen en aldaar aanleiding geven tot pathogene ontsteking. Van recenter datum is de theorie dat kruisreactie van autoantistoffen met (weefsel)antigenen aan de basis van de ontsteking ligt. Aangevoerd is dat anti-DNA zich via DNA bindt aan heparansulfaat in de basaal membraan van de nier en daardoor nefritis induceert (14). Anti-Ro/SS-A (en in mindere mate anti-La/SS-B) kunnen naast neonatale lupus ook congenitaal hartblok veroorzaken. De andere autoantistoffen lijken eerder gevolg dan oorzaak van de ziekte (15, 16).

De etiologie van SLE is vooralsnog onbekend. Wel weten we dat vele genetische, hormonale en omgevingsfactoren een rol spelen, en dat diverse combina-

ties van factoren tot SLE leiden. Huidige inzichten in de mechanismen die dode cellen opruimen hebben geleid tot de hypothese dat SLE niet primair, laat staan uitsluitend, het gevolg is van een disfunctioneren van het immuunsysteem, maar van defecten in dat opruimmechanisme (17, 18). Als dat namelijk niet goed werkt worden celbestanddelen intensiever en langduriger geëxposeerd aan het immuunsysteem. Bij additionele aanwezigheid van één of meer, grotendeels nog onbekende, genetische predisposities zou dit de normale immuuntolerantie kunnen doorbreken met als gevolg autoantistofvorming. Daarvan is dan weer het gevolg massale, chronische- of herhaaldelijke immuuncomplexvorming. Dit leidt vervolgens tot het starten van ontstekingscascades, waarbij o.a. betrokken kunnen zijn complement, het stollingssysteem, neutrofiële granulocyten, en endotheelactivatie. Het gegeven dat genetische deficiëntie van een van de vroege complementfactoren, zoals C1q, C4 of C2, sterk predisponeert tot ontwikkelen van SLE, is waarschijnlijk ook te verklaren uit een gebrekkige opruimfunctie (19).

#### *Antinucleaire antistoffen (ANA)*

Screening bij verdenking op een gegeneraliseerde auto-immuunziekte vindt veelal plaats door te testen op aanwezigheid van ANA. Bij positiviteit zullen de aanwezige ANA daarna nader moeten worden gekarakteriseerd. In het geval van (verdenking op) SLE kan dikwijls beter meteen een anti-dsDNA-assay worden uitgevoerd, omdat bijna 100% van de patiënten toch een positieve ANA heeft (bij kinderen met SLE ligt dat iets lager, 90%). Met name anti-Sm-antistoffen zijn zeer specifiek voor SLE, maar komen slechts in 20-30% van de patiënten voor. Alleen de antistoffen tegen het D-eiwit van het Sm-complex zijn diagnostisch relevant. Ook anti-rRNP-antistoffen zijn SLE-specifiek, maar zijn slechts bij zo'n 10% van de SLE-patiënten positief.

#### *Antistoffen tegen dsDNA*

Anti-DNA-antistoffen zijn voor het eerst beschreven in 1957. Al gauw bleken deze specifiek voor SLE, vooral sinds men dubbelstrengs-DNA (dsDNA) als antigeen ging toepassen. De meest gebruikte methoden om anti-dsDNA aan te tonen zijn momenteel de immunofluorescentietest op *Crithidia luciliae* (CLIFT), radio-immunoassays (Farr-assay en PEG-assay), en de enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs) in velerlei vormen (20). Multiplex- en arraytechnieken zijn sinds kort beschikbaar. Alle methoden zijn commercieel verkrijgbaar.

De CLIFT is zeer specifiek voor dsDNA, goed specifiek en sensitief voor SLE, en daarom een van de voorkeursmethodes (tabel 3). Ook in de Farr- en PEG-assays moet dsDNA worden gebruikt, met een optimale en homogene ketenlengte. Veelal worden plasmiden gebruikt. In de beste ELISA-systemen is het dsDNA aan de drager gekoppeld via covalente binding of middels biotine-streptavidinecomplexering; gebruik van ladingsafhankelijke 'kleefmiddelen' zoals poly-L-lysine, protamine of gemethyleerd BSA kan leiden tot indrukwekkende fout-positieve reacties.

#### *Diagnostisch belang van anti-dsDNA*

Bepaling van anti-dsDNA wordt verricht om twee mogelijke redenen: als hulp bij de diagnose van SLE en als middel om het beloop van de ziekte te volgen. Voor het eerste doel dient de gebruikte bepaling een hoge specificiteit voor SLE te hebben. Een initiële screening met een hoogsensitieve bepaling (ELISA, EIA) dient dan bij voorkeur gevolgd te worden door bevestiging middels CLIFT of Farr-assay. Laagavide anti-dsDNA (gemeten b.v. via ELISA) wordt ook gevonden in andere aandoeningen dan SLE, zelfs tot 30% toe van non-SLE, ANA-positieve patiënten (20). Anti-dsDNA blijkt in 55% van een gescreende groep al gemiddeld drie jaren vóór de diagnose SLE aantoonbaar te zijn (21). Met gebruik van de Farr-assay bleek in een soortgelijke studie bij 80% van de patiënten zonder SLE op het moment van onderzoek, de ziekte zich uiteindelijk toch te ontwikkelen (22).

#### *Prognostisch belang van anti-dsDNA*

De kwantitatieve bepaling van anti-dsDNA-antistoffen met de Farr-assay heeft zijn nut vooral bewezen in de prognostiek. Met name klinische exacerbaties gepaard gaande met nefritis gaan veelal samen met een piek in de anti-dsDNA-spiegels. Wanneer SLE-patiënten vroeg worden behandeld, zuiver en alleen op geleide van een beginnende titerstijging, dan leidt dit tot significant minder ziekte-exacerbaties dan bij conventionele behandeling op geleide van de nierfunctie (23). Alleen de anti-dsDNA-antistoffen vertonen dit klinisch-gerelateerde titerverloop. Voor de kwantificering van anti-DNA in internationale eenheden (IU/ml) kan een (afgeleide van de) internationale WHO-standaard gebruikt worden (24). Indien patiënten longitudinaal worden vervolgd verdient een echt kwantitatieve methode de voorkeur. Wel dient dan met een frequentie van minstens 1x per 6 weken het anti-dsDNA bepaald te worden.

#### *Anti-nucleosoomantistoffen*

In de celkern ligt het DNA geordend rond nucleosomen, die zelf een conglomeraat zijn van histonen. Sinds een paar jaar weten we dat bij SLE naast anti-dsDNA en anti-histonantistoffen, antistoffen bestaan, die niet aan vrij DNA of vrije histonen binden, maar alleen aan complete nucleosomen. Dit type antistoffen is wellicht een heel bruikbaar diagnosticum (specificiteit ietsje lager dan anti-dsDNA, sensitiviteit hoger), en worden waarschijnlijk eerder manifest dan anti-DNA, maar de bepaling is vooralsnog te complex voor de dagelijkse praktijk (25, 26).

**Tabel 3.** Specificiteit en sensitiviteit van verschillende anti-dsDNA bepalingmethoden

Bepalingsmethode	Specificiteit (%)	Sensitiviteit (%)
ELISA	71-97	44-79
EliA	84-94	40-73
Farr	95-99	32-85
CLIFT	99-100	13-47

### *Anti-histonantistoffen*

Anti-histonantistoffen komen niet alleen voor bij SLE (en dan vooral bij patiënten met drug-induced lupus), maar ook bij patiënten met (juvenile) reumatoïde artritis. Meestal wordt ELISA of immunoblotting gebruikt. De histonpreparaten moeten natuurlijk geheel vrij zijn van DNA (27).

### *Complement*

Bij patiënten met immuuncomplexziekten (gegeneraliseerde auto-immuunziekten, nierziekten, vasculitiden) en met recidiverende infecties verdient het ook aanbeveling onderzoek te doen naar mogelijke complementdeficiënties. Bij immuuncomplexziekten worden ook vaak verbruiksdeficiënties van complementfactoren gezien. Het profiel van de verschillende complementfactoren kan derhalve een bijdrage leveren aan de differentiële diagnostiek de verschillende geeneraliseerde auto-immuunziekten.

### **Syndroom van Sjögren**

Het syndroom van Sjögren wordt gekarakteriseerd door siccasympptomen zoals droge ogen en een droge mond vanwege respectievelijk een verminderde traanen speekselproductie (28). Dat is waarschijnlijk het gevolg van een destructieve cellulaire immuunreactie tegen exocriene klieren.

De prevalentie is ongeveer 0,5-1% (bij volwassenen) met tien maal zoveel vrouwen als mannen. Het syndroom van Sjögren komt dus bijna net zo vaak voor als reumatoïde artritis. De kenmerkende klinische klachten zijn daarbij een gedurige hinder van branderige, rode of vermoeide ogen of van een zandkorrelgevoel in het oog, gepaard aan een droge mond waardoor de patiënt problemen heeft bij het eten. Meer dan de helft van de patiënten heeft last van gewrichtspijn of -ontsteking (vluchtig, symmetrisch en niet-erosief), spierpijn, moeheid, griepig gevoel en een droge huid, vagina of neus. Bij minder dan de helft van de patiënten is er sprake van polyneuropathie, leukopenie, bronchitis sicca, fenomeen van Raynaud, vasculitis, interstitiële nefritis en cystitis. Bij ongeveer 5% ontstaat een non-Hogkin lymfoom.

Het syndroom van Sjögren omvat dus meer dan alleen een droge mond en droge ogen (29). Vrijwel alle organen kunnen bij het ziekteproces zijn betrokken waardoor er een sterke overlap met andere auto-immuunziekten kan zijn. In de criteria voor het syndroom van Sjögren zijn naast de subjectieve droogteverschijnselen die de patiënt ervaart, objectieve criteria opgenomen volgens welke de hoeveelheid en kwaliteit van speeksel- en traanproductie moet worden gemeten, de aanwezigheid van lymfocytinfiltraten in een speekselklierbiopt moet worden gescoord, en de anti-SS-A/Ro en/of anti-SS-B/La antistoffen in het bloed dienen te worden bepaald.

### *Antistoffen tegen SS-A/Ro en SS-B/La*

SS-A/Ro en SS-B/La antistoffen komen voor bij het syndroom van Sjögren (vandaar de naamgeving van de antistoffen) maar ook bij SLE, subacute cutane LE en neonatale lupus. Met name bij het syndroom van Sjögren worden frequent SS-A/Ro- en SS-B/La-anti-

stoffen samen aangetroffen, hoewel er ook patiënten zijn met alleen SS-A/Ro-antistoffen. Aan de andere kant worden er (vrijwel) nooit patiënten gezien met alleen anti-SS-B/La-antistoffen. SS-A/Ro- en SS-B/La-antistoffen zijn geassocieerd met zonlichtovergevoeligheid en vasculitis van de huid. Het SS-A/Ro-antigeen bestaat uit ribonucleoproteïnen die een complex vormen van RNA en eiwitten, waarvan het eerste een 60-kD-polypeptide is (SS-A/Ro60) waaraan een tweede polypeptide is gebonden (SS-A/Ro52). Tegen beide eiwitten, of soms ook tegen één van beide, kunnen patiënten autoantistoffen maken. Met behulp van ELISA's of immunoblotssystemen kunnen deze antistoffen ieder afzonderlijk worden aangetoond. Vooral nog wordt er in de huidige diagnostische criteria voor Sjögren (nog) geen subclassificatie van anti-SS-A gehanteerd. Vele patiënten hebben zowel antistoffen tegen SS-A/Ro52 als tegen SS-A/Ro60, maar er worden ook Sjögren-patiënten gezien met alleen anti-SS-A/Ro52-antistoffen (30), en dit laatste wordt ook gevonden bij patiënten met myositis (31). Het is dus van belang om te weten of het antigeensubstraat in een bepaald teststelsel beide SS-A-antigenen bevat, en om beide SS-A-antistoffen afzonderlijk te kunnen bepalen, mede omdat antistoffen tegen SS-A/Ro52 alleen ook een congenitaal hartblok kunnen veroorzaken. Tenslotte is gebleken dat bij 7% van een groep van 100 Sjögren-patiënten de ANA met de Hep-2-IIF negatief is, terwijl toch antistoffen tegen SS-A/Ro aanwezig zijn (32). In 4 van de 7 sera werden ook antistoffen tegen SS-B/La gevonden. Zelfs het gebruik van Hep2-cellen die zijn getransfecteerd met het humane 60-kD-SS-A/Ro-gen, waardoor het SSA/Ro-antigeen tot sterke expressie wordt gebracht (de zogenaamde Hep-2000-cellen), bracht dit percentage slechts terug van 7 naar 6%. Bij nadere typering bleek het in die 6% ANA-IIF-negatieve, anti-SSA/Ro-positieve Sjögren-patiënten om anti-SS-A/Ro52-antistoffen te gaan. Vandaar dat bij een sterke verdenking op Sjögren, bij zwangerschap van patiënten met een geeneraliseerde auto-immuunziekte (met name SLE of Sjögren), of bij asymptomatische moeders van kinderen met congenitaal hartblok of neonatale lupus, ook zonder tussenkomst van een ANA-IIF-bepaling direct anti-SS-A/Ro- en de anti-SS-B/La-antistoffen worden aangevraagd en bepaald.

### **'Mixed connective tissue disease'**

'Mixed connective tissue disease' (MCTD) is een geeneraliseerde auto-immuunziekte waarbij hoge antistoftiters tegen U1-RNP worden gevonden in combinatie met klinische verschijnselen die ook kunnen worden aangetroffen in patiënten met SLE, sclerodermie en polymyositis. MCTD wordt daarom als een overlapsyndroom beschouwd (33). Vroege symptomen zijn vaak niet-specifiek en bestaan uit algehele malaise, artralgie, myalgie en lichte verhoging. Meestal is er dan een positieve ANA. Bijna elk orgaan kan zijn aangedaan, zoals o.a. huid, gewrichten, spieren, hart, longen, maag-darmkanaal en bloed (anemie, leukopenie). Een aantal klinische verschijnselen zijn suggestief voor MCTD en onderscheiden MCTD van zowel SLE als sclerodermie. Dit betreft het fenomeen van Raynaud (gezwollen handen en

vingers), acrocyanose, en myositis. Ernstige afwijkingen aan nieren of het centraal zenuwstelsel komen eigenlijk niet voor bij MCTD. Wel kunnen ernstige artritis en een sluipende pulmonale hypertensie (zonder relatie met longfibrose) voorkomen.

De aanwezigheid van anti-U1-RNP-antistoffen met name tegen het 68-kD-eiwit (ook wel 70-kD-eiwit) zijn obliagaat bij MCTD. RNP-antistoffen en met name de typering van anti-68-kD-(70-kD-)antistoffen kunnen met behulp van ELISA- of blotsystemen worden uitgevoerd.

MCTD komt vaker bij vrouwen dan bij mannen voor. Er is geen sprake van zonlichtovergevoeligheid zoals bij SLE. Toch gaan er steeds meer stemmen op om de term 'mixed connective tissue disease' te laten vervallen, omdat de meeste patiënten die zo worden geclassificeerd een overlapsyndroom ontwikkelen met prominente verschijnselen van hetzij sclerodermie, SLE of myositis (34).

### **Sclerodermie en CREST-syndroom**

Sclerodermie omvat een spectrum van aan elkaar gerelateerde afwijkingen, waarvan bij de meeste een verdikking van de huid voorkomt vanwege een verhoogde aanwezigheid van collageenvezels (35). Er bestaan verschillende vormen van gelokaliseerde sclerodermie (36) en ook de systemische vormen kennen een wisselende orgaanbetrokkenheid: diffuse cutane systemische sclerose, gelimiteerde cutane systemische sclerose, systemische sclerose 'sine scleroderma' (patiënten met alleen aangedane interne organen), chemisch geïnduceerde sclerodermie, overlapsyndromen (met elementen van andere reumatische aandoeningen zoals SLE, dermatomyositis, RA of syndroom van Sjögren) en pre-sclerodermie (patiënten met het Raynaud-fenomeen plus ANA). Daarnaast zijn bepaalde autoantistoffen soms voorspellend voor het risico op toekomstige orgaanbetrokkenheid (37). De etiologie en pathogenese van de diverse sclerodermische aandoeningen zijn niet goed bekend (38), hoewel er recente aanwijzingen zijn gevonden dat antistoffen tegen de PDGF-receptor een belangrijke rol spelen (39). De behandeling is veelal moeilijk. Om patiënten toch zo goed mogelijk te behandelen en een prognose te kunnen geven, is differentiatie tussen de gelokaliseerde en systemische ziekte, en van laatstgenoemde de onderverdeling in subgroepen, van belang. Ongeveer één derde van de patiënten met de systemische vorm van sclerodermie heeft de meer ernstige diffuse vorm.

Patiënten met de gelimiteerde cutane systemische sclerose hebben vaak het CREST-syndroom (calcinose, Raynaud-fenomeen, oesofagusdysmotiliteit, sclerodactylie en teleangiëctasiën), dat ook gekenmerkt wordt door de aanwezigheid van antistoffen tegen centromeren (40). Deze antistoffen zijn goed met de indirecte IF te detecteren en eventueel met immunoblot te confirmeren (bijvoorbeeld aan de hand van antistoffen tegen het centromeerproteïne B).

Het is waarschijnlijk beter om het CREST-syndroom niet apart te blijven benoemen (36). Immers, lang niet altijd zijn alle verschijnselen tegelijk aanwezig (bijv. in de CRST-variant), terwijl levensbedreigende com-

plicaties zoals pulmonale arteriële hypertensie, darmafwijkingen en interstitiële pulmonale fibrose in deze vormen van beperkte systemische sclerose wel degelijk kunnen optreden.

### *Autoantistoffen bij sclerodermie*

De bij sclerodermie patiënten gevonden autoantistoffen geven soms een aanwijzing voor orgaanbetrokkenheid en zijn daardoor bijdragen aan het stellen van de prognose (35, 41, 42).

Antistoffen tegen centromeren zijn bijna altijd indicatief voor de gelimiteerde cutane systemische sclerose (70-80% positief) en worden dan vooral gezien bij de klassieke CREST-varianten van deze aandoening (90% positief).

Antistoffen tegen de RNA-polymerases geven een verhoogd risico op betrokkenheid van de nieren.

Antistoffen tegen topoisomerase I (Scl-70) zijn geassocieerd met een verhoogd risico op pulmonale fibrose in zowel de diffuse als de gelimiteerde sclerodermiasubgroepen. Antistoffen tegen Scl-70 komen in 30% van de patiënten met diffuse cutane sclerodermie voor, antistoffen tegen RNA-polymerase-I, -II of -III in 12-15%. Deze antistoffen komen soms ook voor bij de subgroep van scleroderma 'sine scleroderma' en bij pre-scleroderma.

Antistoffen tegen U3-nucleolair-ribonucleoproteïne (fibrillarine) zijn geassocieerd met een ernstige vorm van diffuse systemische sclerose, met daarbij vooral een verhoogd risico op pulmonale hypertensie.

De specificiteit van deze antistoffen voor een aantal vormen van systemische sclerose en de relatie met orgaanbetrokkenheid wordt gegeven in tabel 4.

### **Polymyositis en dermatomyositis**

Dermatomyositis (DM) en polymyositis (PM) worden geclassificeerd als idiopathische inflammatoire myopathieën, waarbij symmetrische en proximale spierzwakte het vaakst de aanleiding voor de diagnose is (43-45). Spierpijnen komen in ongeveer de helft van de gevallen voor. Het zijn zeldzame aandoeningen met een prevalentie van ongeveer 1 per 100.000. Ongeveer tweemaal zoveel vrouwen als mannen lijden aan deze ziekten. DM is klinisch geassocieerd met bepaalde huidmanifestaties en met een grotere kans op een maligniteit. Immunologisch is DM geassocieerd met immuuncomplexdepositie in de bloedvaten, terwijl PM lijkt te worden veroorzaakt door T-celgeïnduceerde spierschade. Sommige vormen van PM kunnen ontstaan tijdens graft-versus-hostziekte na beenmergtransplantatie. De inflammatoire myopathieën kunnen worden ingedeeld in zuivere polymyositis, zuivere dermatomyositis, overlapmyositis (myositis met aanvullende klinische verschijnselen, en/of de aanwezigheid van met myositis geassocieerde autoantistoffen, zoals de anti-synthetases, antistoffen tegen het 'signal recognition protein' (SRP) en de autoantistoffen, geassocieerd met sclerodermie) en de met kanker geassocieerde myositis.

PM en DM kunnen een overlapping vertonen met kenmerken van andere systemische auto-immuunziekten zoals vooral sclerodermie en SLE, en minder vaak RA en het syndroom van Sjögren.

In de differentiaaldiagnose van spierzwakte, met of zonder verhoogde spierenzymen, zijn behalve PM of DM, o.a. ook amyotrofische lateraalsclerose (ALS), myasthenia gravis, spierdystrofieziekten en een aantal erfelijke, metabole, geneesmiddel-geïnduceerde, endocriene en infectieuze myopathieën opgenomen.

#### Autoantistoffen bij myositis

In ongeveer 80% van de patiënten met DM of PM worden ANA gevonden met behulp van de standaard IIF-testen (46). Op zich zijn ANA niet specifiek voor DM/PM, maar bij hoge titers kunnen ze wijzen op een associatie of overlapping met een andere systemische auto-immuunziekte. Antistoffen tegen RNP kunnen bijvoorbeeld wijzen op MCTD (kenmerken van myositis, SLE en sclerodermie). Bij follow-up lijkt na enkele jaren één van de drie het klinisch beeld te gaan domineren.

Naast de ANA in de IIF-test kunnen een aantal myositis-specifieke autoantistoffen worden gevonden (31, 47, 48), waarvan antistoffen tegen histidyl-transfer-RNA-synthetase (anti-Jo-1) het meest voorkomen, maar toch slechts in ongeveer 25% van de gevallen (49). Deze antistof is sterk geassocieerd met een organiserende pneumonie (50) en met het fenomeen van Raynaud en artritis. Mogelijk is er een causale relatie met een vorm van immuuncomplex-microangiopathie die typisch is voor DM. Men spreekt dan wel van het anti-synthetasesyndroom. In minder dan 4% van de myositispatiënten komen antistoffen tegen andere tRNA-synthetases voor zoals die voor threonine (PL-7), alanine (PL-12), isoleucine (OJ), glycine (EJ), asparagine (KS), lysine (SC), glutamine, leucine of tryptofaan. De precieze betekenis van al deze antistoffen is voor de diagnostiek vooralsnog onbekend.

Antistoffen tegen Mi-2 zijn gericht tegen een helicase, dat betrokken is bij de activering van het transcriptieproces (51). Ze worden in een lage frequentie

gevonden bij DM (3-33%) en PM (0-10%), afhankelijk van detectiemethode, maar hebben wel een hoge specificiteit van 97%. Patiënten met anti-Mi-2-antistoffen hebben een milder ziektebeloop, reageren goed op steroiden en hebben een goede prognose. Een andere myositis-specifieke autoantistof is gericht tegen het anti-SRP, dat een cytoplasmatisch ribonucleoproteïne-complex is en bestaat uit 6 polypeptiden (van 9, 14, 19, 54, 68 en 72 kD) en 7-SL-RNA van 300 nucleotiden en dat lijkt op een tRNA-molecuul (31). Het bindt aan nieuw-gesynthetiseerde eiwitten en sluit deze van de ribosomen door naar het endoplasmatisch reticulum. Anti-SRP-antistoffen komen in ongeveer 4% van de myositispatiënten voor en zijn vooral gericht tegen het 54-kD-deel en in mindere mate tegen de 68- of 72-kD-onderdelen. Er lijkt een sterke associatie bij ernstige, therapieresistente (sub-)acute myositispatiënten te bestaan.

Naast genoemde myositis-specifieke antistoffen zijn er ook antistoffen die met myositis zijn geassocieerd maar er niet specifiek voor zijn. Hiertoe behoren autoantistoffen tegen PM-Scl, Ku (een DNA-helicase) en ook die tegen anti-SSA/Ro52 en U1-snRNP (52). PM-Scl-antistoffen zijn gericht tegen twee onderdelen (PM-Scl-75 en PM-Scl-100) van intranucleaire eiwitcomplexen met exoribonucleaseactiviteit. Ze zijn gericht tegen één van beide antigenen of tegen allebei tegelijk. Ze zijn evenals anti-Ku-antistoffen karakteristiek voor het myositis/sclerodermie-overlapsyndroom (prevalentie 24%); ze worden zelden bij alleen sclerodermie (2%) of bij alleen myositis (6%) gevonden. De prognose is beter dan bij patiënten met anti-topoisomerase-I (Scl-70)-antistoffen. Anti-PM-Scl is de meest frequente autoantistof bij kinderen met idiopathische myopathieën. Het lijkt er verder op dat de anti-SS-A/Ro52-antistoffen bij myositispatiënten nog iets frequenter voorkomen dan de anti-Jo-1-antistoffen (31). Voor een overzicht zie tabel 5.

**Tabel 4.** Auto-antistoffen bij sclerodermie

Antigeen	ANA-patroon	HLA-associaties	Frequentie (%)	Klinische associaties	Orgaanbetrokkenheid
Topoisomerase I (Scl-70)	Gespikkeld	DR5 (DR11) DR3/DR52a DQ7 DQb1	25	dcSSC	Interstitiële longfibrose, 'bescherming' tegen geïsoleerde pulmonale hypertensie
RNA-polymerase I, II en III	Gespikkeld nucleolair	?	20	dcSSC	Nieren, huid
U3-RNP (fibrillarine)	Nucleolair	?	<5	dcSSC	Pulmonale hypertensie, spieren
PM-Scl	Nucleolair	DR3 DR52	3-5	Overlapsyndromen	Spieren
U1-RNP	Gespikkeld	?	10	lcSSC, poly-myositisoverlap	Spieren
Centromeer	Centromeer	DR1 (DQ5) (kinetochoor)	30* DQB1/DR4 D13 subtypes	lcSSC	Pulmonale hypertensie, oesofagusdysmotiliteit, 'bescherming' tegen longfibrose en nierbetrokkenheid
Th (To) (=RNase P)	Nucleolair	?	5	lcSSC	Pulmonale hypertensie, dunne darm

\* in CREST-syndroom: 90%



## Anti-fosfolipidensyndroom

Wanneer bij patiënten met veneuze en/of arteriële trombose, trombocytopenie en/of herhaalde miskramen antistoffen tegen fosfolipiden (lupus anticoagulans of LAC en antistoffen tegen specifieke fosfolipiden zoals anti-cardiolipine) voorkomen spreekt men van het anti-fosfolipidensyndroom (APS). Hoewel dit syndroom aanvankelijk geassocieerd was met SLE zijn er nogal wat patiënten bij wie de diagnose SLE niet gesteld kan worden. We spreken thans van primair APS wanneer er geen andere klinische of laboratoriumafwijkingen zijn die wijzen op een systemische aandoening en van secundair APS wanneer dat wel het geval is. Meestal gaat het daarbij dan inderdaad om SLE. De incidentie van APS wordt geschat op 1 op de 15.000 personen, waarbij primair en secundair APS ongeveer even vaak voorkomen. De ziekte komt 3 tot 5 maal vaker voor bij vrouwen dan bij mannen. De voornaamste symptomen van APS zijn trombose (longembolie, hersen- of hartinfarct, TIA's, etc.) en herhaalde miskramen: voor vrouwen met APS ligt de kans op een succesvolle zwangerschap rond de 20%. Ook cognitieve stoornissen, huidproblemen en andere symptomen kunnen voorkomen (53).

Antistoffen tegen fosfolipiden vormen een hulpmiddel bij de diagnose van APS. Daarbij moet wel rekening gehouden worden met het feit dat deze antistoffen ook bij 1% van de gezonde bevolking voorkomen, terwijl de incidentie van de ziekte veel lager ligt. De diagnose APS kan dus pas gesteld worden als naast de antistoffen ook klinische verschijnselen (trombose of herhaalde miskramen) aanwezig zijn.

**Tabel 5.** Panels autoantistoffen die van nut zijn voor de diagnose van generaliseerde auto-immuunziekten

Antigeen	SLE	Syndroom van Sjögren	Sclerodermie	PM/DM	RA
dsDNA	x				
Sm	x				
nRNP	x				
rRNP	x				
PCNA	x				
SS-A/Ro52		x		x	
SS-A/Ro60		x			
SS-B/La		x			
Topoisomerase I (Scl-70)			x		
RNA polymerase I/III			x		
U3 RNP (fibrillarine)			x		
Th (To) RNAase P			x		
RNP			x		
Centromeren			x		
Jo-1				x	
PL-7				x	
PL-12				x	
EJ				x	
OJ				x	
SRP				x	
Mi2				x	
CCP					x

## Lupus-anticoagulans (LAC)

Antistoffen tegen fosfolipiden maken deel uit van een heterogene populatie van antistoffen die verschillende fosfolipidenbindende eiwitten herkennen. Voorbeelden van dat soort eiwitten zijn beta-2-glycoproteïne I, protrombine, annexine A5, proteïne C en proteïne S.

Onder lupus-anticoagulans verstaan we die antifosfolipide antistoffen die de APTT ('activated partial thromboplastin time', een fosfolipidenafhankelijke stollingstest) verlengen. Voor de binding van antifosfolipide antistoffen aan de negatief geladen fosfolipiden spelen plasma-eiwitten die binden aan deze fosfolipiden een essentiële rol. Voor het ontstaan van LAC-activiteit blijken met name antistoffen met reactiviteit tegen beta-2-glycoproteïne 1 of protrombine verantwoordelijk. Paradoxaal genoeg leiden de antistoffen in vitro dus tot een vertraagde stolling, maar in vivo juist tot een verhoogde neiging tot bloedstolling. De LAC-test en de anti-cardiolipine-ELISA (hieronder) meten verschillende populaties antifosfolipide antistoffen.

## Anti-cardiolipine en anti- $\beta_2$ GPI-antistoffen

Antistoffen tegen cardiolipine worden bepaald met een ELISA waarin cardiolipine als antigeen gecoat is. Anti-cardiolipine antistoffen zijn ook verantwoordelijk voor de fout-positieve VDRL-test ('venereal disease research laboratories'; een test op syfilis) bij patiënten met systeemziekten zoals bijvoorbeeld SLE. Dat komt omdat het antigeenmengsel van de VDRL-test bestaat uit cardiolipine, fosfatidylcholine, en cholesterol. Het gaat ook hier echter om verschillende populaties antifosfolipide antistoffen: de antistoffen die leiden tot de fout-positieve VDRL zijn gericht tegen cardiolipine, terwijl de voor APS relevante antifosfolipide antistoffen gericht blijken te zijn tegen eiwitten die aan fosfolipiden kunnen binden, met name beta-2-glycoproteïne I ( $\beta_2$ GPI) en protrombine. Vandaag de dag wordt dan ook vaak een ELISA specifiek voor  $\beta_2$ GPI gebruikt in de diagnostiek van APS. Juist omdat in deze test geen 'echte' anticardiolipine antistoffen gemeten worden is de test specifiek voor APS dan de klassieke anti-cardiolipine-ELISA. Recent is aangetoond dat er verschillende populaties anti- $\beta_2$ GPI-antistoffen zijn. Met name de antistoffen die epitoom G40-R43 in domein I van  $\beta_2$ GPI herkennen (type-A-anti- $\beta_2$ GPI) blijken geassocieerd te zijn met trombose, de andere anti- $\beta_2$ GPI-antistoffen niet. Genoemde type-A-anti- $\beta_2$ GPI-antistoffen herkennen  $\beta_2$ GPI alleen indien het aan een negatief oppervlak gecoat is (54, 55).

## Conclusie

Zoals hierboven geschetst zijn de aantallen autoantistoffen en de mogelijkheden om deze aan te tonen de laatste jaren toegenomen en in de klinische praktijk goed bruikbaar, zoals de anti-CCP-antistoffen. De betekenis van de dialoog tussen kliniek en laboratorium in de interpretatie van de uitslagen moet daarbij niet worden onderschat. Het is belangrijk dat zowel de klinici als de laboratoriumspecialisten zich blijven afvragen wanneer welke 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 autoantistoffen 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 in wezen 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 meer agressieve behandelingsmodaliteiten kunnen worden ingezet om ernstige, vaak irreversibele orgaanschade te voorkomen.

Het type test en de daarin gebruikte autoantigenen heeft grote invloed op de prevalentiegetallen van de autoantistoffen, zoals die in de tabellen van publicaties, leerboeken, vademecums en in dit artikel voorkomen (tabellen 6 en 7). 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

**Tabel 6.** Percentage positieve uitkomsten van ANA, RF en anti-CCP-antistoffen bij een aantal gegeneraliseerde auto-immuunziekten en bij gezonden

	RA	LED	pSS	Sclerodermie	MCTD	PM/DM	Gezond
ANA	25	>99	65	30	100	20	-
ds-DNA	-	65	-	-	0	-	-
SS-A/Ro	-	35	70	-	0	-	-
SS-B/La	-	15	50	-	0	-	-
nRNP	-	35	15	20	100	-	-
Sm	-	20	-	-	0	-	-
Topoisomerase I	-	-	-	25	0	-	-
ACA	-	-	-	30*	0	-	-
Jo-1	-	-	-	-	0	25	-
RF	80	25	40	-	-	-	-
CCP	80	-	-	-	-	-	-

Met '-' wordt bedoeld <5%. \* 90% positief bij het CREST-syndroom (een variant van sclerodermie gekenmerkt door calcinosis, Raynaud-fenomeen, oesophagus motiliteitsstoornis, scleroderma en teleangiectasia). RA: reumatoïde artritis, LED: lupus erythematosus disseminatus (SLE), pSS: primair syndroom van Sjögren, PM/DM: polymyositis/dermatomyositis, ANA: anti-nucleaire antistoffen, ACA: anti-centromeerantistoffen, RF: reumafactoren.

**Tabel 7.** Anti-nucleaire antistoffen en hun klinische associaties (naar 52)

Ziekte	Autoantistof tegen	Frequentie	Klinische associatie
SLE	Ds-DNA	70	Lupus nefritis
	Sm	10-25	Vasculitis, CZS-lupus
	U1RNP	30	Fenomeen van Raynaud, gezwollen vingers, artritis, myositis, MCTD
	SS-A/Ro	40	Zonlichtovergevoeligheid, subacute cutane LE, neonatale lupus, congenitaal hartblok, syndroom van Sjögren
	SS-B/La rRNP	15 15	Als bij anti-SS-A/Ro CZS lupus (psychose, depressie)
Syndroom van Sjögren	SS-A/Ro	60-90	Extraglandulaire ziekteverschijnselen, vasculitis, NHL
	SS-B/La	35-85	Als bij anti-SS-A/Ro
Sclerodermie (systemische vorm)	Centromeer	30	Gelimiteerde huidaandoening, microvasculair of macrovasculair, telangiectasieën
	ThRNP	4	Gelimiteerde huidaandoening
	Topoisomerase I (Scl-70)	25	Diffuse huidbetrokkenheid, interstitiële longziekte
	RNA-polymerases	20	Diffuse huidbetrokkenheid, nierbetrokkenheid
	U3RNP	5	Diffuse huidbetrokkenheid, pulmonale hypertensie
	PM-Scl	5	Sclerodermie/polymyositis overlap
Dermatomyositis, polymyositis	Ku	2	Sclerodermie/polymyositis overlap
	Jo-1 (histidyltransfersynthetase)	25	Anti-synthetase syndroom en interstitiële longziekten
	(andere t-RNA-synthetases)	(3)	Organiserende pneumonie, Raynaud, artritis
	SS-A 52	30	Niet duidelijk
	SRP	4	Ernstige myositis
Mi-2	10	Milde dermatomyositis	

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 autoantistoffengroepen een grote rol.

Het ziet er naar uit dat met de huidige nieuwe ontwikkelingen van multiplex-autoantistofdetectie veel sneller en goedkoper autoantistofprofielen kunnen worden bepaald en gemakkelijker de fijspecificiteit, de aviditeit en pathogeniciteit van autoantistoffen kan worden vastgesteld. Een voorbeeld daarvan is de mogelijkheid om een uitgebreid autoantistofprofiel te kunnen bepalen met behulp van antigene peptiden uit het SS-A/Ro-antigeencomplex om daarmee vast te kunnen stellen welk immunoreactiviteitspatroon bij patiënten aanwezig is. Hierdoor kan nauwkeurig worden bepaald of er autoantistoffen zijn die pathogeen zijn en daardoor bijvoorbeeld een neonatale lupus of congenitaal hartblok veroorzaken. Een ander voorbeeld is de mogelijkheid om een autoantistofprofiel te bepalen tegen een grote reeks verschillende gecitrullineerde peptiden, en dat profiel vervolgens te correleren aan diagnose, prognose, en uiteindelijk therapie. De technologie hiertoe is voorhanden, en op kleine schaal uitgevoerd onderzoek wijst reeds op de haalbaarheid en het potentieel nut van dergelijke auto-antistofprofielen. Hiermee zou een radicale vernieuwing worden bereikt in het toepassen van autoantistofbepalingen voor de diagnostiek.

#### Literatuur

1. Tan EM. Antinuclear antibodies: Diagnostic markers for autoimmune diseases and probes for cell biology. *Adv Immunol* 1989; 44: 93-152.
2. Schellekens GA, Visser H, Jong BAWd, Hoogen FHJ van den, Hazes JMW, Breedveld FC, Venrooij WJ van. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 155-163.
3. Limburg PJ en Kallenberg CGM. ANCA en vasculitis, en complexe relatie. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk* 2006; 31: 289-295.
4. Smeenk RJT. Antinuclear antibodies: cause of disease or caused by disease? *Rheumatology* 2000; 39: 581-584.
5. Kavanaugh A, Tomar R, Reveille J, Solomon DH, Hamburger HA. Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens. *American College of Pathologists. Arch Pathol Lab Med* 2000; 124: 71-78.
6. Egnér W. The use of laboratory tests in the diagnosis of SLE. *J Clin Pathol* 2000; 53: 424-432.
7. Dorner TA, Egerer KB, Feist, EB, Burmester GR. Rheumatoid factor revisited. *Curr Opin Rheumatol* 2004; 16: 246-253.
8. Rantapää-Dahlqvist, S. Diagnostic and prognostic significance of autoantibodies in early rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 2005; 34: 83-96.
9. Nienhuis RL, Mandema E. A new serum factor in patients with rheumatoid arthritis: the antiperinuclear factor. *Ann Rheum Dis*. 1964; 23: 302-305.
10. Vallbracht I, Helmke K. Additional diagnostic and clinical value of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies compared with rheumatoid factor isotypes in rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev* 2005; 4: 389-394.
11. Mimori, T. Clinical significance of the anti-CCP antibodies in rheumatoid arthritis. *Internal Med* 2005; 44: 1122-1126.
12. Iwamoto T, Ikari K, Nakamura T, Kuwahara M, Toyama Y, Tomatsu T, Momohara S, Kamatani N. Association between PADI4 and rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Rheumatology* 2006; 45: 804-807.
13. Hooijkaas, H. Hoe is de correlatie tussen RF-test en anti-CCP test? Wat betekent het als de RF positief is en de anti-CCP negatief? *Reumatologen Vademecum* 2006; 9.
14. Bruggen MC van, Walgreen B, Rijke TP, Tamboer W, Kramers K, Smeenk RJ, Monestier M, Fournie GJ, Berden JH. Antigen specificity of antinuclear antibodies complexed to nucleosomes determines glomerular basement membrane binding in vivo. *Eur J Immunol* 1997; 27: 1564-1569.
15. Buyon JP, Kim MY, Copel JA, Friedman DM. Anti-Ro/SSA antibodies and congenital heart block: necessary but not sufficient. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 1723-1727.
16. Salomonsson S, Sonesson SE, Ottosson L, Muhallab S, Olsson T, Sunnerhagen M, Kuchroo VK, Thoren P, Herlenius E, Wahren-Herlenius M. Ro/SSA autoantibodies directly bind cardiomyocytes, disturb calcium homeostasis, and mediate congenital heart block. *J Exp Med* 2005; 201: 11-17.
17. Waldman M, Madaio MP. Pathogenic autoantibodies in lupus nephritis. *Lupus* 2005; 14: 19-24.
18. Rijkers GT, Prakken BJ. Verstoorde immunoregulatie bij auto-immuniteit. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk* 2006; 31: 248-256.
19. Walport MJ, Davies KA, Botto M. C1q and systemic lupus erythematosus. *Immunobiology* 1998; 199: 265-285.
20. Haugbro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. *Ann Rheum Dis* 2004; 63: 386-394.
21. Arbuckle MR, James JA, Kohlhase KF, Rubertone MV, Dennis GJ, Harley JB. Development of anti-dsDNA autoantibodies prior to clinical diagnosis of systemic lupus erythematosus. *Scand J Immunol* 2001; 54: 211-219.
22. Swaak AJG, Smeenk R. Detection of anti-dsDNA as a diagnostic tool: a prospective study in 441 non Systemic Lupus Erythematosus (SLE) patients with anti-dsDNA antibody (anti-dsDNA). *Ann Rheum Dis* 1985; 44: 245-251.
23. Bootsma H, Spronk P, Derksen R, de Boer G, Wolters-Dicke H, Hermans J, Limburg P, Gmelig-Meyling F, Kater L, Kallenberg C. Prevention of relapses in systemic lupus erythematosus. *Lancet* 1995; 345: 1595-1599.
24. Feltkamp TEW, Kirkwood TBL, Maini RN, Aarden LA. The first international standard for antibodies to dsDNA. *Ann Rheum Dis* 1988; 47: 740-746.
25. Monestier M. Autoantibodies to nucleosomes and histone-DNA complexes. *Methods* 1997; 11: 36-43.
26. Burlingame RW, Cervera R. Anti-chromatin (anti-nucleosome) autoantibodies. *Autoimmun Rev* 2002; 1: 321-328.
27. Burlingame RW, Rubin RL. Drug-induced anti-histone autoantibodies display two patterns of reactivity with substructures of chromatin. *J Clin Invest* 1991; 88: 680-690.
28. Fox RI. Sjögren's syndrome. *Lancet* 2005; 366: 321-331.
29. Merwe JP van de (red.). Het syndroom van Sjögren: meer dan een droge mond en droge ogen. Wychen: Landelijke Werkgroep Sjögren patiënten, 1999.
30. Bakker-Jonges LE, Hooijkaas H. Recente ontwikkelingen in auto-antistofbepalingen bij de diagnostiek van auto-immuunziekten. In: Hooijkaas H, Dongen JJM van (red.). *Nieuwe ontwikkelingen in de medische immunologie*. Rotterdam, Afdeling Immunologie. 2006; 43-54.
31. Brouwer R, Hengstman GJ, Vree Egberts W, Ehrfeld H, Bozic B, Ghirardello A, Grondal G, Hietarinta M, Isenberg D, Kalden JR, Lundberg I, Moutsopoulos H, Roux-Lombard P, Vencovsky J, Wikman A, Seelig HP, van Engelen BG, van Venrooij WJ. Autoantibody profiles in the sera of European patients with myositis. *Ann Rheum Dis* 2001; 60: 116-123.

32. Hooijkaas H. In: Merwe JP van de (red.). Het syndroom van Sjögren: meer dan een droge mond en droge ogen. Wychen. Landelijke Werkgroep Sjögren patiënten. 1999; 43-49.
33. Sharp GC, Irvin WS, Tan EM, Gould RG, Holman HR. Mixed connective tissue disease--an apparently distinct rheumatic disease syndrome associated with a specific antibody to an extractable nuclear antigen (ENA). *Am J Med* 1972; 52: 148-159.
34. Venables PJ. Mixed connective tissue disease. *Lupus* 2006; 15: 132-137.
35. Black CM. The aetiopathogenesis of systemic sclerosis: thick skin-thin hypotheses. The Parkes Weber Lecture 1994. *J R Coll Physicians Lond* 1995; 29: 119-130.
36. Wollheim FA. Classification of systemic sclerosis. *Visions and reality. Rheumatology* 2005; 44: 1212-1216.
37. Reveille JD, Solomon DH. Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: anticentromere, Scl-70, and nucleolar antibodies. *Arthritis Rheum* 2003; 49: 399-412.
38. Charles C, Clements P, Furst DE. Systemic sclerosis: hypothesis-driven treatment strategies. *Lancet* 2006; 367: 1683-1691.
39. Baroni SS, Santillo M, Bevilacqua F, Luchetti M, Spadoni T, Mancini M, Fraticelli P, Sambo P, Funaro A, Kazlauskas A, Avvedimento EV, Gabrielli A. Stimulatory autoantibodies to the PDGF receptor in systemic sclerosis. *N Engl J Med* 2006; 354: 2667-2676.
40. Miyawaki S, Asanuma H, Nishiyama S, Yoshinaga Y. Clinical and serological heterogeneity in patients with anti-centromere antibodies. *J Rheumatol* 2005; 32: 1488-1494.
41. Steen VD. Autoantibodies in systemic sclerosis. *Semin Arthritis Rheum* 2005; 35: 35-42.
42. Lyons R, Narain S, Nichols C, Satoh M, Reeves WH. Effective use of autoantibody tests in the diagnosis of systemic autoimmune disease. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1050: 217-228.
43. Plotz PH, Rider LG, Targoff IN, Raben N, O'Hanlon TP, Miller FW. Myositis: immunologic contributions to understanding cause, pathogenesis, and therapy. *Ann Intern Med* 1995; 122: 715-724.
44. Dalakas MC, Hohlfield R. Polymyositis and dermatomyositis. *Lancet* 2003; 362: 971-982.
45. Troyanov Y, Targoff IN, Tremblay JL, Goulet JR, Raymond Y, Senecal JL. Novel classification of idiopathic inflammatory myopathies based on overlap syndrome features and autoantibodies: analysis of 100 French Canadian patients. *Medicine (Baltimore)* 2005; 84: 231-249.
46. Sarkar K, Miller FW. Autoantibodies as predictive and diagnostic markers of idiopathic inflammatory myopathies. *Autoimmunity* 2004; 37: 291-294.
47. Hengstman GJ, Brouwer R, Egberts WT, Seelig HP, Jongen PJ, Venrooij WJ van, Engelen BG van. Clinical and serological characteristics of 125 Dutch myositis patients. Myositis specific autoantibodies aid in the differential diagnosis of the idiopathic inflammatory myopathies. *J Neurol* 2002; 249: 69-75.
48. Ghirardello A, Zampieri S, Tarricone E, Iaccarino L, Bendo R, Briani C, Rondinone R, Sarzi-Puttini P, Todesco S, Doria A. Clinical implications of autoantibody screening in patients with autoimmune myositis. *Autoimmunity* 2006; 39: 217-221.
49. Zampieri S, Ghirardello A, Iaccarino L, Tarricone E, Gambari PF, Doria A. Anti-Jo-1 antibodies. *Autoimmunity* 2005; 38: 73-78.
50. Selva-O'Callaghan A, Labrador-Horrillo M, Munoz-Gall X, Martinez-Gomez X, Majo-Masferrer J, Solans-Laqué R, Simeon-Aznar CP, Morell-Brotard F, Vilardell-Tarres M. Polymyositis/dermatomyositis-associated lung disease: analysis of a series of 81 patients. *Lupus* 2005; 14: 534-542.
51. Ghirardello A, Zampieri S, Iaccarino L, Tarricone E, Bendo R, Gambari PF, Doria A. Anti-Mi-2 antibodies. *Autoimmunity* 2005; 38: 79-83.
52. Vanderghenst F, Ocmant A, Sordet C, Humbel RL, Goetz J, Roufosse F, Cogan E, Sibilia J. Anti-pm/scl antibodies in connective tissue disease: Clinical and biological assessment of 14 patients. *Clin Exp Rheumatol* 2006; 24: 129-133.
53. Erkan D, Lockshin MD. Antiphospholipid syndrome. *Curr Opin Rheumatol* 2006; 18: 242-248.
54. Koike T, Matsuura E. What is the 'true' antigen for anti-cardiolipin antibodies. *Lancet* 1991; 337: 671-672.
55. Pierangeli SS, Harris EN. Clinical laboratory testing for the antiphospholipid syndrome. *Clin Chim Acta* 2005; 357: 17-33.
56. Maddison PJ. Is it a connective disease? In: Smith ML (ed.). *ABC of Rheumatology*, 3<sup>rd</sup> edition. BMJ Publishing Group Ltd., London 2004, 92-95.

## Summary

*Systemic autoimmune diseases: appropriate serological diagnostics. Hooijkaas H, Smeenk R, Gmelig Meyling F. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2006; 31: 257-268.*

Autoimmune diseases are characterized by pathogenic activities of the immune system, directed against self-bound substances. In general, autoantibodies are being formed in this process, which usually react with components of the afflicted tissues and organs. Often, it is still unknown why autoantibodies are being formed, and whether they contribute to pathogenesis. However, autoantibodies may be typical for individual autoimmune diseases. In systemic autoimmune diseases, the autoantibodies are usually directed at substances which occur at multiple, if not all, sites in the body. (Auto)antibodies are obstinate diagnostic indicators. Even a.b. against a given (protein) molecule are heterogeneous, e.g. in their avidity and their epitope specificity. This renders analytical results strongly dependent upon the testing technique used. The disease specificity may be very high, but with a low sensitivity. The reverse may also be the case. In addition, autoantibodies may also occur in clinically healthy persons, albeit of low titres and/or low avidities. Therefore, screening for (an) autoimmune disease, based on autoantibody determinations, rarely makes sense. Establishing valid normal or cut-off values related to patients' serum dilutions is an absolute requirement. As long as we are aware of all of these factors, many autoantibodies may be applied as able diagnostic tools. In this respect, new insights and technical developments are very important, e.g.: the gradual replacement of immunofluorescent tests by immunoassays using (recombinant) peptides; the possibility of determining avidities of autoantibodies, so as to improve specificity and correlation with disease activity; the possibility of establishing the fine-specificity of autoantibodies at the epitope level; and the notion that certain autoantibodies are actually directed at post-translationally modified structures (e.g. autoantibodies against citrullinated peptides). In combination with amenities offered by data-analysis systems and automation, these issues bring multiplex and array-type assays well within reach.

*Keywords: systemic autoimmune diseases; autoantibodies; anti-nuclear antibodies; ANA; ENA; anti-CCP*