



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## **Myasthenia gravis with antibodies to muscle-specific kinase : clinical characteristics, epidemiology, and immunological aspects**

Niks, E.H.

### **Citation**

Niks, E. H. (2013, January 17). *Myasthenia gravis with antibodies to muscle-specific kinase : clinical characteristics, epidemiology, and immunological aspects*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/20412>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/20412>

**Note:** To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/20412> holds various files of this Leiden University dissertation.

**Author:** Niks, E.H.

**Title:** Myasthenia gravis with antibodies to muscle-specific kinase : clinical characteristics, epidemiology, and immunological aspects

**Issue Date:** 2013-01-17

# IX

Summary, discussion and future perspectives



## Summary

Muscle-specific kinase (MuSK) antibodies were first described in 2001 by Hoch *et al.*<sup>54</sup> In this first cohort of selected patients with generalised myasthenia gravis (MG) without antibodies to the acetylcholinereceptor (AChR), 70% tested positive for these new anti-MuSK antibodies. In the Netherlands, we studied the epidemiology of generalised MG subtypes on a regional and national level. We used an area defined by postal codes in the Netherlands and patient registries in all hospitals within this region (Chapter 2). MuSK MG proved to be a rare disease with an incidence of 0.17 per million person-years, between January 1<sup>st</sup> 1990 and January 1<sup>st</sup> 2004. On January 1<sup>st</sup> 2004, the prevalence was 2.8 per million inhabitants.

We then conducted a nationwide study to include all traceable patients with generalised MG without antibodies to the AChR. This study yielded similar results, showing an incidence of MuSK MG of 0.10 per million per year and a prevalence of 1.9 per million inhabitants. Antibodies to the AChR were absent in 14.5% of all patients with generalised MG, of whom 22% were MuSK antibody positive. Thus, in the Netherlands approximately 3% of all generalised MG patients will have antibodies to MuSK. MuSK MG was characterised by a female predominance. The onset of symptoms in MuSK MG varied widely between 2 and 74.6 years.

In the clinical study (Chapter 3), we examined the distribution of weakness in generalised MG subtypes in more detail. We included the first 25 patients diagnosed with MuSK MG during the epidemiological study, and compared them to 50 randomly selected AChR MG controls matched for age at onset and sex. The first occurrence of symptoms in a period of 5 years after onset of the first MG symptom was investigated retrospectively based on a standardised history taking that was applied by a single investigator, and information from patients' charts. The same approach was used for all 41 patients with seronegative MG (SNMG). The first symptoms did not discriminate between the various MG subtypes. During the course of the study, a new cell-based technique became available, using recombinant MuSK or AChR transfected human embryonic kidney cells to test for autoantibodies to clustered or overexpressed antigens. Within the group of 41 SNMG patients defined by standard radioimmunoassay (RIA), this sensitive technique identified a further 10 patients with autoantibodies to AChR and another 10 who tested positive for MuSK autoantibodies. In the remaining 21 patients, now newly defined as seronegative, weakness was characterised by mild proximal limb-girdle distribution with frequent involvement of the extraocular muscles, with ptosis occurring more often than diplopia.

In patients with MuSK MG, weakness predominantly affected bulbar and neck muscles during the course of the disease. Among the symptoms pointing at bulbar muscle weakness, dysarthria and dysphagia were reported most often, followed by symptoms of facial weakness.

By contrast, chewing was relatively spared. Dyspnoea was reported more often by MuSK MG patients, and occasionally even as the first symptom. Respiratory support was needed within five years after the onset of symptoms in 28% of MuSK MG patients, as compared to only 10% of AChR MG patients. MuSK MG patients also showed an increased sensitivity of muscle fibers to acetylcholinesterase inhibitors leading to muscle twitching and cramps. The phenotype of patients with antibodies to overexpressed MuSK in the cell-based assay only was similar to that of patients who already tested positive for anti-MuSK antibodies in the conventional radioimmunoassay (RIA).

Among patients with MuSK MG, 22% had a second autoimmune disease and 35% had a first-degree relative with such a disorder, mainly affecting the thyroid gland. One of the best known genetic factors predisposing for autoimmune diseases is the HLA genotype. AChR MG without thymoma and the Lambert-Eaton myasthenic syndrome without small-cell lung cancer are both linked to the HLA-B8-DR3 haplotype. No tumour is associated with MuSK MG, so we hypothesised a similar association with HLA-B8-DR3 in this disease. However, in Chapter 4 we presented evidence that MuSK MG is strongly associated with HLA-DR14-DQ5. The same haplotype has also been linked to pemphigus vulgaris, an autoimmune disorder causing blistering of the skin. Interestingly, autoantibodies in both pemphigus and MuSK MG are mainly of the IgG4 subclass.

We studied the relation between clinical disease severity in MuSK MG patients and the titres of antigen-specific IgG subclasses (Chapter 5). For this purpose, we developed the Disease Severity Score (DSS), a new classification that can be used for retrospective MG studies. The score yielded semi-continuous variables that allowed regression analysis using a linear mixed effect model. In six patients who had been followed during 2.5 to 13.4 years and from whom 7 to 12 serum samples had been stored, we found a significant association between antigen-specific IgG4 titres and DSS on a group level ( $\beta$  coefficient 0.44,  $p = 0.036$ ). No such association was found for IgG1 titres ( $\beta$  coefficient -0.32,  $p = 0.13$ ). Total antigen-specific IgG was weakly associated with DSS. A positive correlation between anti-MuSK specific IgG4 and the DSS was found in 5 of the 6 patients.

In Chapter 6 we studied the presence of autoantibodies to ErbB receptors in patients with SNMG. ErbB receptors are transmembrane proteins in the neuromuscular junction and, as such, antigens potentially exposed at sites not hidden from the immune system. Animal studies had shown a crucial role for ErbB receptors in the development of the neuromuscular junction. However, we were unable to detect anti-ErbB antibodies in sera of 42 SNMG patients defined by RIA from the original cohort using fluorescence-activated cell sorting and dot blotting analysis on transfected human embryonic kidney cells.

Finally, two patients with MuSK MG are described in detail in Chapters 7 and 8. In the first case, maternal anti-MuSK antibodies caused a transient myasthenic syndrome in the neonate through cross-placental transport. Autoantibodies were again mainly of the IgG4

subclass in both mother and child. Symptoms in the neonate occurred with a slight delay of approximately 8 hours and disappeared in 6 days. In the second case report, a combination of pre- and postsynaptic defects was found in a 29-year old woman with MuSK MG. In vitro electrophysiological studies performed on an intercostal muscle 9 months after onset of symptoms revealed low miniature end-plate potentials and low levels of presynaptic acetylcholine release. Histology showed partially denervated postsynaptic areas and some degeneration of postsynaptic folds.

## Discussion

Defining the exact prevalence of MG subtypes remains challenging. In the course of this study, radioimmunoassays became more widely available and the clinical characteristics of the MuSK MG subtype became better known. This facilitated the diagnosis of MuSK MG, increasing the calculated prevalence of the disease. Referral bias also complicates the comparison of epidemiological studies from various countries as is shown by the slightly higher proportion of MuSK antibodies in our nationwide study, as compared to regional figures (36% versus 22% of generalised AChR Ab- MG). Not all MG patients are referred to specialised neuromuscular clinics, especially when weakness is only mild. In Chapter 3 we show that this is more often the case in SNMG than in MuSK MG. During this study, newly developed cell-based assays became available, identifying patients who tested negative in the standard radioimmunoassay, with autoantibodies only to clustered AChR or overexpressed MuSK antigens. This technical progress will lead to a higher prevalence of MuSK MG at the expense of SNMG and complicates the comparison of studies, both over time and geographically.

The concept of a North-South gradient in the prevalence of MuSK MG originated from European and North American studies showing for example a prevalence of 0% in Norway, 22% in The Netherlands and 40 % in Italy.<sup>157</sup> However, it does not apply for Asian populations where 41% in Japan (northern latitude 35°) is higher than 26.7% in Korea (northern latitude 37°) and 2.5-4% in China (northern latitudes 32°–34°).<sup>172</sup> The female predominance in MuSK MG is consistent in all studied populations. Our observation of a relatively high proportion of black MuSK MG patients in the Netherlands has been confirmed in two American studies. In a cohort described in North-Carolina, 44% of MuSK MG patients were of African-American origin, although the percentage of black people in the general population is not mentioned.<sup>110</sup> Among AChR antibody negative MG patients in Alabama, MuSK antibodies were found in 50% of those from Afro-American origin. Among white AChR antibody negative MG patients, the proportion of MuSK antibodies was only 17%.<sup>173</sup>

In the ten years after the first publication of anti-MuSK antibodies, MuSK MG has emerged as a rare but distinct disease entity. The differences in clinical course, genetic susceptibility and pathogenesis between MuSK MG and AChR MG have been highlighted in this thesis. In 2004, the role of MuSK antibodies was still subject of debate because of the absence of AChR and MuSK deficiency in a thoroughly studied muscle biopsy of a MuSK MG patient.<sup>126</sup> However, the case of a mother and child described in Chapter 6 fits Koch's postulate originating from the field of microbiology, and adapted for the use in autoimmunity to determine the causality between antibody and disease. Here, the passive transfer of an autoimmune factor to a susceptible "host" results in induction of the disease. This has been confirmed in other cases of neonatal myasthenic syndromes in MuSK MG.<sup>174-176</sup> Final proof was published in 2008 by Cole *et al.* who showed that IgG derived from MuSK MG patients caused a neuromuscular transmission defect in mice with reduced postsynaptic AChR staining and a reduced apposition of the nerve terminal and the postsynaptic AChR.<sup>171</sup> The combination of pre- and postsynaptic abnormalities in MuSK MG was further substantiated by Mori *et al.*, who showed that active immunisation in mice with the rat-MuSK ectodomain caused axonal sprouting, with or without nerve terminals and reduced density of AChR clusters.<sup>177</sup> Again, in vitro electrophysiology showed reduced MEPP amplitudes and a reduced quantal content. MuSK antibodies also impaired acetylcholinesterase function, which is consistent with clinical observations in patients of an increased sensitivity to acetylcholinesterase inhibitor treatment resulting in muscle cramps and fasciculations. The crucial role of IgG4 MuSK antibodies described in Chapter 5 was proven recently by Klooster *et al.* in a passive transfer study using purified IgG4 and IgG1-3 fractions from MuSK MG patients.<sup>178</sup> In this study, purified IgG4, but not IgG1-3, caused myasthenic weakness in mice. In vitro electrophysiology revealed a reduction of postsynaptic acetylcholine sensitivity and exaggerated depression of presynaptic acetylcholine release which is similar to the human in vitro studies described in Chapter 9. The IgG4 antibody in general has interesting properties, *i.e.* the inability to activate complement and the possibility of Fab arm exchange which makes many IgG4 antibodies functionally monovalent. Mori *et al.* showed that these monovalent MuSK Fab arms are sufficient to inhibit agrin-induced AChR clustering and MuSK phosphorylation in C2C12 myotubes.<sup>177</sup>

## Future perspectives

An IgG4 immune response is thought to be triggered by chronic antigen exposure.<sup>129</sup> This suggests that a constantly present environmental factor might be responsible for the initiation of the immune response. It would be interesting to study similarities between MuSK epitopes and various environmental bacterial or viral antigens as they might be



involved in the onset of MuSK MG. It is also possible that the humoral immune response to antigen exposure in general is different in MuSK MG patients. This can be investigated by studying IgG subclass response to other antigens such as tetanus toxin in MuSK MG patients, and compare them to AChR MG and healthy controls.

The apparent fluctuation in disease severity that has been associated to IgG4 titres should be studied in more detail. It is clear in MG that the autoantibody titre is not the most important factor to determine the severity of symptoms. Patients can be severely affected with very low autoantibody titres or vice versa.<sup>37</sup> Increasing evidence exists that the inflammatory properties of IgG depend on the type of glycosylation of the Fc moiety affecting the interaction with Fc $\gamma$  receptors.<sup>179</sup> Fc-glycosylation can change over time and has been associated to fluctuation in disease severity in several autoimmune disorders like rheumatoid arthritis.<sup>180</sup> Recently, we were able to detect changes in total IgG Fc N-glycosylation in a cohort of LEMS and AChR MG patients.<sup>181</sup> It seems worthwhile and feasible to explore changes in total IgG glycosylation over time in longitudinal studies such as described in Chapter 5. It may be even more interesting to study the glycosylation of antigen-specific IgG although this is technically challenging.

The effect of MuSK antibodies on the neuromuscular transmission also needs to be clarified in more detail. MuSK is thought to act mainly in synapse development and maintenance, processes with a relatively low turnover. On the other hand, patients can respond to plasma exchange within one or more days suggesting a quickly reversible dysfunction.<sup>110</sup> This suggests that MuSK may also have a role in synaptic signal transmission itself, or that MuSK antibodies can block the function of the neuromuscular synapse without causing structural damage.

Recently, treatment with rituximab seemed to be effective in MuSK MG.<sup>182</sup> This monoclonal antibody binds to the CD20 antigen. This antigen is expressed on B-cells, but not on plasma cells. Currently it is believed that antibody-dependent cell mediated cytotoxicity is the major mechanism of action of rituximab induced B-cell depletion. It also leads to complement mediated cell lysis and apoptosis of B-cells, and may have a regulatory effect on the cell cycle.<sup>183</sup> Further studies should aim to determine whether this expensive but well tolerated therapy may even be the first choice in MuSK MG, and has a sustained effect. Early and effective treatment may prevent irreversible muscle atrophy later on in the course of the disease. Developing a good symptomatic treatment in MuSK MG is also important as AChE inhibitors are clearly not useful in MuSK MG. Ephedrine and salbutamol improve muscle weakness in the Dok7 congenital myasthenic syndrome.<sup>184,185</sup> Both substances act on  $\beta$ 2-adrenergic receptors that have two major effects on muscle. The first is anabolic through activation of adenylate cyclase, induction of intracellular cyclic AMP, subsequent activation of protein kinase A, and the inhibition of proteolytic pathways. The second is through the phosphatidylinositol 3-kinase pathway leading to the activation of the serine-threonine

kinase Akt which then phosphorylates numerous intracellular targets.<sup>186</sup> Considering the close interaction between MuSK and Dok7, and the crucial role of phosphorylation in the neuromuscular synapse as described in the introduction of this thesis, the salbutamol-induced increase in kinase activity may partially compensate for reduced MuSK signalling caused by the autoantibodies. Defining a clinical parameter to study the effect of symptomatic medication is, however, challenging in a fluctuating and predominantly bulbar disease like MuSK MG.

New antigens involved in SNMG might be discovered in the near future. LRP4 may be a target although the pathogenicity of the antibodies described in MG patients until now remains to be proven. The same applies for other proteins that play a role in the neuromuscular junction and that are (partially) located extracellularly and therefore accessible to antibodies. Some are mutated in congenital myasthenic syndromes such as laminin  $\beta$ 2 or agrin.<sup>91,187</sup> Autoantibodies to potassium channels or AChE have been detected in AChR MG, and may theoretically also be present in SNMG although their role remains to be clarified.<sup>188,189</sup>

One of the enigmas in the field of neuromuscular diseases in general, and no less in that of myasthenia gravis, is the distribution of clinical weakness *i.e.* the different response of various muscles to omnipresent autoantibodies or genetic mutations. This also applies for MuSK MG with its distinct oculobulbar and axial weakness. It is clear that some striated muscles are different from others. Many physiological and immunological aspects have been described. Extraocular muscles, often involved in MG, have more tonic contractile characteristics and a lower expression of complement inhibitory genes. The ocular motorneurons also have high firing frequencies. Such factors probably make their neuromuscular transmission particularly vulnerable to autoimmune pathology.<sup>190</sup> Differences of intrinsic MuSK expression in various rat muscles have also been reported.<sup>191</sup> Further research identifying the underlying cause of the vulnerability of some muscle and the resistance of others will probably benefit from technological progress in the field of genetics, like the availability of cDNA or protein arrays. Nonetheless, careful study of the signs and symptoms of patients will be indispensable for the determination of the clinical relevance of these findings.

## Nederlandstalige samenvatting

### Inleiding

Myasthenia gravis (MG) is een ziekte die wordt gekenmerkt door in de tijd wisselende spierzwakte die op enig moment in het leven begint. In een gedetailleerde publicatie van Erb en Goldflam aan het eind van de 19e eeuw beschreven zij dat bij MG het hangen van de oogleden (ptosis) en oogbewegingsstoornissen die leiden tot dubbelzien (diplopie) vaak de eerste symptomen zijn. Men spreekt dan van oculaire MG. Dit kan gevolgd worden door zwakte van bulbair spieren met moeite bij kauwen, slikken en spreken, en gaat vaak gepaard met uitbreiding van de spierzwakte naar nek, armen en benen. Dit wordt gegeneraliseerde MG genoemd. Kenmerkend zijn de sterke wisselingen van de spierzwakte en de toename daarvan aan het einde van de dag en na inspanning. In 1934 lokaliseerde Walker de oorzaak van MG in de spierzenuw overgang (neuromusculaire synaps) door een kortdurend effect van een middel dat de afbraak van acetylcholine remt. Acetylcholine wordt door de zenuw afgegeven en draagt het signaal over naar de spier door binding aan de postsynaptische acetylcholine receptor (AChR). In 1976 toonden Lindstrom *et al.* antilichamen tegen deze AChR aan bij 87% van in totaal 71 patiënten met gegeneraliseerde MG. Deze antilichamen worden door het eigen immuunsysteem gemaakt en zijn gericht tegen lichaamseigen eiwitten. Myasthenia gravis is daarmee een autoimmuunziekte. De autoantilichamen tegen de AChR zijn vooral van de IgG1- en IgG3-subklasse. Dit type antilichamen veroorzaakt de transmissiestoornis door beschadiging van de postsynaptische membraan via activering van complement, een versnelde afbraak van AChRs en mogelijk ook door het blokkeren van de acetylcholine bindingsplaatsen. De autoantilichamen kunnen worden aangetoond met een radioimmunoassay. Hierin binden de autoantilichamen aan radioactief gelabelde receptoren en vormen zo complexen die neerslaan. De hoeveelheid radioactiviteit wordt gemeten en is een maat voor de hoeveelheid antilichamen. Bij ongeveer 10 tot 15% van de patiënten met gegeneraliseerde MG konden in het bloed echter op deze manier geen antilichamen tegen de AChR worden gevonden. Deze patiënten werden geclassificeerd als seronegatieve MG (SNMG). In 2001 werden voor het eerst antilichamen tegen muscle-specific kinase (MuSK) beschreven bij 70% van een cohort geselecteerde patiënten met SNMG. Het doel van dit proefschrift was de klinische verschijnselen van deze nieuwe ziekte te onderzoeken en het onderliggende immunologische mechanisme te verhelderen.

### Proefschrift

In **hoofdstuk 2** onderzochten we de epidemiologie van de verschillende vormen van gegeneraliseerde MG op zowel regionaal als landelijk niveau. Hiervoor definieerden we in Nederland een regio op basis van postcode en includeerden MG patiënten van alle ziekenhuizen binnen deze regio (Hoofdstuk 2). Het bleek dat MG met antilichamen tegen MuSK (MuSK

MG) een zeldzame aandoening was. De incidentie, dat wil zeggen het aantal patiënten dat de ziekte krijgt in een bepaalde periode, was 0,17 per miljoen persoonsjaren tussen 1 januari 1990 en 1 januari 2004. De prevalentie, of met andere woorden, alle patiënten die met de ziekte op een bepaald tijdstip in leven zijn, was 2,8 per miljoen inwoners op 1 januari 2004. Vervolgens deden we landelijk onderzoek om alle traceerbare patiënten met gegeneraliseerd MG zonder antilichamen tegen de AChR te includeren. De resultaten van dit onderzoek waren vergelijkbaar met die uit het regionale onderzoek. De incidentie van MuSK MG was 0,10 per miljoen persoonsjaren. De prevalentie was 1,9 per miljoen inwoners op 1 januari 2004. Van alle patiënten met gegeneraliseerde MG had 14,5% geen antilichamen tegen de AChR. Van deze seronegatieve patiënten had slechts 22% antilichamen tegen MuSK. Daarmee heeft ongeveer 3% van alle patiënten met gegeneraliseerde MG antilichamen tegen MuSK. Een van de kenmerken van MuSK MG was dat het vaker voorkomt bij vrouwen. De leeftijd waarop patiënten de eerste symptomen kregen varieerde sterk tussen 2 en 74 jaar. In het klinisch onderzoek beschreven in hoofdstuk 3, onderzochten we de verdeling van de spierzwakte bij de drie vormen van gegeneraliseerde MG in detail. We includeerden de eerste 25 patiënten die vanuit het landelijk epidemiologisch onderzoek werden geïdentificeerd met MuSK MG en vergeleken hen met 50 patiënten met gegeneraliseerde MG en antilichamen tegen de AChR (AChR MG). Deze werden in de verhouding 2:1 willekeurig geselecteerd uit databases in Leiden en Groningen, waarbij ze werden gepaard wat betreft geslacht en de leeftijd waarop de eerste symptomen van de ziekte waren begonnen. Met behulp van gegevens uit de medische status en een hernieuwde anamnese met de patiënt werd het moment bepaald waarop symptomen voor het eerst waren opgetreden in de eerste 5 jaar na het begin van de ziekte. Dit werd ook gedaan bij patiënten met SNMG. Met behulp van alleen het symptoom dat het allereerst optrad kon geen onderscheid gemaakt worden tussen de verschillende vormen van MG. Gedurende de duur van dit onderzoek werd ook een andere techniek ontwikkeld om antilichamen tegen de AChR of MuSK aan te tonen. Deze techniek maakt gebruik van cellen die kunstmatig AChR of MuSK aan hun celoppervlakte tot expressie brengen. Na toevoegen van serum van patiënten kan door een kleuring het binden van antilichamen aan deze cellen worden aangetoond. Binnen de groep van 41 patiënten die volgens de gebruikelijke methode met een radioimmunoassay waren gediagnosticeerd als SNMG, bleken met deze nieuwe techniek bij 10 patiënten toch antilichamen tegen de AChR aantoonbaar. Nog eens 10 andere patiënten hadden antilichamen tegen MuSK. Bij de resterende 21 patiënten met SNMG bleek de zwakte voornamelijk in de proximale bekken- en schoudergordel spieren te zitten. Ook waren de externe oogspieren vaak betrokken wat meestal leidde tot ptosis (hangen van de oogleden) en in mindere mate tot diplopie (dubbelzien).

Patiënten met MuSK MG hadden met name zwakte van bulbaire spieren en nekspieren. Van de symptomen die wezen op zwakte van de bulbaire spieren werden dysarthrie (onduidelijke

spraak) en dysphagie (moeite met slikken) het vaakst genoemd, gevolgd door gelaatzwakte. Het kauwen was daarentegen relatief gespaard. Benauwdheid werd vaker als symptoom genoemd door patiënten met MuSK MG en bij een enkeling zelfs als het eerste symptoom van de ziekte. Binnen de eerste 5 jaar na het begin van de ziekte kwam 28% van de MuSK MG patiënten op de IC terecht voor een periode met kunstmatige beademing in vergelijking met maar 10% van de patiënten met AChR MG. Bij patiënten met AChR MG gaf medicatie die de afbraak remt van acetylcholine door remming van het enzym acetylcholinesterase vaak een verbetering van de spierzwakte. De spieren van patiënten met MuSK MG waren daarentegen vaker overgevoelig voor deze medicatie wat bleek uit het spontaan samentrekken van spiervezels zonder dat de spierzwakte verbeterde. De verschijnselen van de 10 patiënten bij wie de antilichamen tegen MuSK alleen aantoonbaar waren met behulp van de nieuwe cel techniek waren identiek aan die van de 25 MuSK MG patiënten bij wie de antilichamen met behulp van de gebruikelijke radioimmunoassay gevonden waren.

In **hoofdstuk 4** wordt beschreven dat 22% van de patiënten met MuSK MG een tweede autoimmuunziekte heeft en 35% een eerstegraads familielid met een dergelijk aandoening. Een van de bekendste genetische factoren die de gevoeligheid voor het krijgen van autoimmuunziekten bepaalt zijn de HLA genen. Twee vormen van myasthenie, namelijk die met antilichamen tegen de AChR en die met antilichamen tegen een presynaptisch calcium kanaal (het Lambert-Eaton myastheen syndroom), zijn geassocieerd met HLA-B8-DR3 indien de patiënten geen tumor hebben (geen thymoom bij AChR MG of geen kleincellig longcarcinoom bij LEMS). Aangezien bij MuSK MG geen tumoren zijn beschreven veronderstelden we dat HLA-B8-DR3 ook bij deze patiënten vaker gevonden zou worden. Zoals beschreven in hoofdstuk 4 bleek echter dat MuSK MG geassocieerd is met een ander type HLA, namelijk HLA-DR14-DQ5. Dit type komt ook vaker voor bij patiënten met pemphigus vulgaris. Dit is een autoimmuunziekte van de huid die leidt tot blaarvorming. Belangwekkend is dat de autoantilichamen bij zowel pemphigus als MuSK MG van een bepaald type zijn, de IgG4 subklasse.

In **hoofdstuk 5** wordt de relatie tussen de ernst van de symptomen en de hoeveelheid antilichamen tegen MuSK van verschillende IgG subklassen beschreven. We ontwikkelden een score systeem dat het mogelijk maakte retrospectief de ernst van de symptomen te bepalen. Deze score leverde een variabele op die gebruikt kon worden voor statistische analyse met behulp van regressie analyse in een lineair gemengd effect model. We konden 6 patiënten met MuSK MG includeren die gedurende 2,5 tot 13,4 jaar waren gevolgd en van wie er bij ieder tussen de 7 en 12 bloedmonsters waren bewaard. Op groepsniveau vonden we een verband tussen de ziekte ernst en de hoogte van de IgG4 antilichamen tegen MuSK, maar niet de hoogte van IgG1 antilichamen of van de totale hoeveelheid IgG tegen MuSK. Bij analyse van de patiënten afzonderlijk bleek er een positieve relatie tussen de hoogte van de IgG4 antilichamen tegen MuSK en de ernst van de symptomen bij 5 van de 6 patiënten.

In **hoofdstuk 6** onderzochten we of er bij patiënten met SNMG antilichamen waren tegen een ander eiwit, de ErbB receptor. ErbB receptoren zijn eiwitten die in de spiercelmembraan van de neuromusculaire synaps tot expressie komen. Ze kunnen daarom mogelijk door het afweersysteem worden gezien en dienen als antigeen voor een autoimmuunziekte. In dierexperimenteel onderzoek is ook een belangrijke rol van deze eiwitten bij de aanleg van de neuromusculaire synaps beschreven. Met behulp van cellen die ErbB receptoren kunstmatig tot expressie brengen en twee technieken om eventueel gebonden antilichamen zichtbaar te maken, konden we echter geen antilichamen tegen ErbB receptoren vinden in het bloed van 42 patiënten met SNMG.

Tenslotte wordt in de hoofdstukken 7 en 8 de ziektegeschiedenis van enkele patiënten beschreven. Bij de eerste casus in **hoofdstuk 7** veroorzaakten antilichamen tegen MuSK die aanwezig zijn in het bloed van de moeder een tijdelijke myasthene spierzwakte bij haar pasgeboren kind. Ook deze antilichamen waren vooral van de IgG4 subklasse. De verschijnselen bij het kind begonnen ongeveer 8 uur na de geboorte en verdwenen op de zesde dag. Een dergelijke overdracht van symptomen door antilichamen is belangrijk omdat het één van de bewijzen vormt dat deze antilichamen ook daadwerkelijk ziekmakend zijn.

De tweede casus in **hoofdstuk 8** beschrijft een vrouwelijke patiënt met MuSK MG bij wie een spierbiopt met daarin neuromusculaire synapsen is onderzocht. Dit was gedaan in de tijd dat antilichamen tegen MuSK nog niet waren ontdekt met het doel de diagnose MG te bevestigen. Elektrofysiologisch onderzoek van de spierzenuw overgang liet zien dat de signaaloverdracht was verminderd. Deze verstoring bevond zich zowel aan de kant van de zenuw (presynaptisch, er werd minder acetylcholine afgegeven) als aan de kant van de spier (postsynaptisch, het door de zenuw afgegeven acetylcholine genereerde een te lage elektrische potentiaal). Dit is anders dan bij AChR MG waar het probleem postsynaptisch is door een tekort aan receptoren. Licht- en elektronenmicroscopisch onderzoek liet zien dat delen van de postsynaptische spiermembraan geen tegenoverliggende zenuw meer hadden en dat de plooiing van deze spiermembraan was verminderd.

Samenvattend is in dit proefschrift beschreven dat MuSK MG een zeldzame maar duidelijk te onderscheiden ziekte is. Zowel de klinische verschijnselen, de genetische aanleg om de ziekte te krijgen, het type antilichaam waarmee het immuunsysteem de ziekte veroorzaakt en manier waarop de antilichamen de signaaloverdracht in de spierzenuw overgang verstoren, zijn duidelijk anders dan bij de veel langer bekende aandoening AChR MG.