



**Universiteit
Leiden**
The Netherlands

Exploring seropositive rheumatoid arthritis: from immunological depths to clinical course

Derksen, V.F.A.M.

Citation

Derksen, V. F. A. M. (2026, May 26). *Exploring seropositive rheumatoid arthritis: from immunological depths to clinical course*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4304617>

Version: 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/1887/4304617>

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



Addendum

Nederlandse samenvatting

Curriculum vitae

List of publications

Acknowledgements

Nederlandse samenvatting

Seropositieve reumatoïde artritis

Het immuunsysteem beschermt het lichaam continu tegen ziekmakende micro-organismen. Door een combinatie van verschillende factoren, waaronder genetische en omgevingsfactoren, valt het immuunsysteem soms lichaamseigen structuren aan, bijvoorbeeld door antilichamen tegen lichaamseigen eiwitten te maken. Dit wordt auto-immuniteit genoemd. Auto-immuniteit kan, maar hoeft niet, te leiden tot een auto-immuunziekte, zoals reumatoïde artritis (RA). RA is een ziekte waarbij ontsteking en uiteindelijk schade van de gewrichten optreedt, met name in de kleine gewrichten van de handen en voeten. RA kan ook ontstekingen veroorzaken buiten de gewrichten en kan bijvoorbeeld leiden tot interstitiële longziekten en het vroegtijdig ontwikkelen van hartvaatziekten. Bij meer dan de helft van de RA-patiënten zijn autoantilichamen tegen post-translatieel gemodificeerde eiwitten (AMPA) te meten in het bloed. Post-translatieele modificaties (PTMs) zijn veranderingen in de biochemische structuur van aminozuren, de bouwstenen van eiwitten, nadat het eiwit al is gevormd. Er zijn verschillende post-translatieele modificaties waartegen patiënten met RA kunnen reageren. De meeste bekende AMPA zijn autoantilichamen gericht tegen gecitrullineerde eiwitten (ACPA). ACPA worden door reumatologen gebruikt als hulpmiddel om RA vast te stellen. ACPA kunnen aan verschillende gecitrullineerde eiwitten binden, zowel aan lichaamseigen als aan lichaamsvreemde gecitrullineerde eiwitten. Daarnaast worden ook autoantilichamen tegen gecarbamyleerde eiwitten (anti-CarP) en autoantilichamen tegen geacetyleerde eiwitten (AAPA) gevonden bij RA-patiënten. Er is een bepaalde mate van kruisreactiviteit tussen deze AMPA, waarbij bijvoorbeeld sommige antilichamen tegen gecitrullineerde eiwitten ook kunnen binden aan gecarbamyleerde eiwitten. AMPA kunnen al jaren voor het ontstaan van gewrichtsontstekingen in het bloed aanwezig zijn. Verder kan ook reumafactor (RF), een ander soort autoantilichaam, aanwezig zijn in RA-patiënten. Bij een deel van de patiënten met RA is geen van bovengenoemde autoantilichamen aantoonbaar in het bloed. RA-patiënten zonder autoantilichamen worden seronegatief genoemd, terwijl patiënten met autoantilichamen seropositief zijn. Seronegatieve en seropositieve RA-patiënten hebben een verschillend ziektebeloop en ook de onderliggende risicofactoren voor het ontwikkelen van RA verschillen tussen beide groepen.

AMPA zijn heel specifiek voor RA, maar het is niet duidelijk hoe auto-immuniteit tegen gemodificeerde eiwitten ontstaat. Daarnaast is ook hun rol in het ziekteproces niet zeker. Er is bijvoorbeeld nooit aangetoond dat AMPA reumatoïde artritis veroorzaken. Een van de hypothesen over het ontstaan van AMPA is dat een combinatie tussen genetische aanleg en meerdere gebeurtenissen in de loop van tijd zorgen voor de ontwikkeling van deze

autoantilichamen en dat de onderliggende immuunprocessen uiteindelijk leiden tot RA. Mogelijk spelen de slijmvliezen hier een rol in. In dit proefschrift worden verschillende aspecten van de AMPA-response onderzocht, zowel factoren die een rol kunnen spelen bij het ontstaan van AMPA als het effect van AMPA op het ziektebeloop van patiënten.

ACPA B-cellen en glycanen

In **deel 1, hoofdstuk 2** is gekeken naar B-cellen gericht tegen gecitrullineerde eiwitten. B-cellen zijn witte bloedcellen die uiteindelijk leiden tot de productie van antilichamen. De B-cel receptor (BCR) heeft dezelfde structuur als een antilichaam, maar zit op het celmembraan van de B-cel gebonden. Aan zowel de B-cel receptor als aan een antilichaam zijn op specifieke plaatsen suikerstructuren (glycanen) gebonden. ACPA-antilichamen en ACPA B-cel receptoren van de IgG klasse hebben de bijzondere eigenschap dat ze niet alleen suikerstructuren dragen in het constante domein (Fc), maar ook in de antigeen bindende regio, oftewel het variabele domein. Deze variabele domein glycanen (VDG) verhogen de activeringsstatus van de B-cel wanneer de B-cel receptor aan gecitrullineerde eiwitten bindt. In **hoofdstuk 2** is de invloed van Fc suikerstructuren, die op alle IgG B-cel receptoren voorkomen, op de ACPA B-cel onderzocht. De afwezigheid van de Fc-glycaan heeft geen invloed op de binding van de B-cel receptor aan gecitrullineerde eiwitten en ook geen invloed op de activering van de B-cellen. In tegenstelling tot variabele domein glycanen, lijken de Fc-glycanen dus minder belangrijk voor de B-cel receptor functie. Voor de functie van antilichamen zijn de Fc-glycanen wel heel belangrijk, omdat ze een rol spelen in de binding aan Fc-receptoren op verschillende witte bloedcellen en aan eiwitten van het complementsysteem, die een essentiële rol spelen in de immuunrespons.

De rol van de slijmvliezen bij het ontstaan van AMPA

Een van de hypothesen is dat de slijmvliezen betrokken zijn bij het ontstaan van AMPA. In **deel 2** van dit proefschrift wordt deze hypothese op verschillende manieren onderzocht. In **hoofdstuk 3** is gekeken naar antilichamen van de IgA klasse. IgA wordt veel meer geproduceerd ter hoogte van de slijmvliezen dan in het bloed. Er zijn twee subklassen van IgA, namelijk IgA1 en IgA2. De hoeveelheid IgA1 en IgA2 is niet gelijk verdeeld. In het bloed is bijna al het IgA van de IgA1 subklasse, terwijl bij de longslijmvliezen een kwart van het totale IgA uit IgA2 bestaat. In de dikke darm is het meeste IgA2 aanwezig, daar is ongeveer de helft van al het IgA van de IgA2 subklasse. Uit ons onderzoek bleek dat zowel de totale IgA1 waardes als de totale IgA2 waardes verhoogd zijn in het bloed van seropositieve RA-patiënten, vergeleken met seronegatieve RA-patiënten en gezonde vrijwilligers. ACPA-IgA antilichamen kunnen zowel in de IgA1 als de IgA2 vorm voorkomen in het bloed van seropositieve RA-patiënten, net als reumafactor IgA1 en IgA2. De precieze verhouding tussen ACPA IgA1 en IgA2 kon niet worden vastgesteld,

omdat reumafactor de testen verstoort. De reden van de verhoogde IgA (subklassen) waardes in RA is niet geheel duidelijk, maar een van de mogelijke verklaringen is dat RA-patiënten meer ontsteking bij de slijmvliezen hebben. Dit wordt ondersteund door de bevinding dat RA-patiënten die roken een hoger totaal IgA2 en RF IgA1 hebben dan in RA-patiënten die nooit hebben gerookt. Een andere denkbare verklaring is dat de B-cellen in RA-patiënten veel te actief zijn, aangezien andere antilichaamklassen zoals IgG en IgM ook verhoogd kunnen zijn in RA. Eerder is beschreven dat IgA2 ontsteking sterk kan bevorderen, meer dan IgA1 dat doet. In onze studie vonden we geen relatie tussen de hoogte van de IgA2-waardes en een ontstekingswaarde (CRP) in het bloed en er was ook geen relatie tussen IgA2 en ziekteactiviteit in RA-patiënten.

Eerdere onderzoeken hebben aangetoond dat ACPA aanwezig kunnen zijn in slijm uit de longen en in speeksel van seropositieve RA-patiënten. De aanwezigheid van ACPA in de darm, het grootste slijmvliesoppervlakte in het lichaam, was nog niet onderzocht. Daarnaast was ook niet bekend of andere AMPA dan ACPA aanwezig zijn bij de slijmvliezen. Om deze vragen te onderzoeken, hebben we de MUCOSA-studie opgezet, waarin we bloed, speeksel en ontlasting van patiënten met RA en gezonde individuen hebben verzameld. De resultaten, beschreven in **hoofdstuk 4**, laten zien dat zowel ACPA, anti-CarP en AAPA IgA antilichamen aanwezig kunnen zijn in speeksel van seropositieve RA-patiënten, hoewel ze slechts bij een klein deel van de patiënten werden gevonden. In het bloed van deze patiënten waren dezelfde AMPA aanwezig, maar niet altijd van de IgA klasse. Dit betekent dat de IgA AMPA in speeksel lokaal geproduceerd zijn. RF IgA kwam vaker voor in speeksel van seropositieve RA-patiënten. De aanwezigheid van autoantilichamen was niet geassocieerd met hogere ontstekingswaarden in het speeksel, maar alle patiënten in de studie kregen behandeling met medicijnen voor RA op het moment dat de lichaamsmaterialen afgenomen werden.

In tegenstelling tot speeksel waren er geen AMPA aantoonbaar in ontlasting. Om deze resultaten te bevestigen zijn ontlastingsmonster van RA-patiënten die deelnamen aan een andere Nederlandse studie onderzocht, net als monsters die zijn afgenomen tijdens een kijkonderzoek van de dikke darm in Zweedse RA-patiënten. In al deze monsters was geen AMPA meetbaar, terwijl er wel IgA antilichamen en antilichamen tegen de darmbacterie *E. coli* aantoonbaar waren. Onze onderzoeksresultaten suggereren dat er lokale productie is van AMPA in de mondholte, maar niet in de darm.

In de periode dat de onderzoeken beschreven in dit proefschrift zijn uitgevoerd, werd de wereld geconfronteerd met de COVID-19 pandemie, veroorzaakt door het nieuwe coronavirus SARS-CoV-2. Dit virus veroorzaakt ernstige ontsteking met name in de luchtwegen en kan daarnaast leiden tot de vorming van autoantilichamen. Gezien het

mogelijke verband tussen de slijmvliezen van de luchtwegen en ACPA, hebben we in **hoofdstuk 5** onderzocht of ACPA vaker voorkomen na een ernstige COVID-19 infectie. Geen van de patiënten die de speciale COVID polikliniek in het LUMC bezochten na ziekenhuisopname wegens COVID-19 testten positief op ACPA in het bloed, behalve twee patiënten die al voor COVID-19 gediagnostiseerd waren met seropositieve RA. We vonden dus geen toename van ACPA na COVID-19, hoewel het aantal mensen wat aan de studie meedeed beperkt was. Daarnaast hebben samen met verschillende ziekenhuizen en klinieken in Nederland vijf patiënten geïdentificeerd die RA ontwikkelden na hun COVID-19 infectie. Drie van de vijf patiënten waren seropositief. Het AMPA-profiel en de hoeveelheid suikerstructuren in het variabele domain van ACPA waren vergelijkbaar met patiënten die RA hadden gekregen voor de coronapandemie. Het is bekend dat de uitgebreide AMPA-reacties zich vaak meerdere jaren voor de eerste gewrichtsklachten ontwikkelen. Daarom is het aannemelijk dat de patiënten die RA kregen net na COVID-19 al een uitgebreid autoantilichaam profiel hadden en dat dit niet door de virusinfectie is ontstaan. Het is wel mogelijk dat de ontstekingsreactie in COVID-19 het 'laatste zetje' heeft gegeven voor het ontwikkelen van RA, maar waarschijnlijk had een infectie met een ander virus of bacterie ook tot het ontwikkelen van RA geleid bij deze patiënten.

De relatie tussen AMPA en ziekte kenmerken

In **deel 3** van dit proefschrift is gekeken naar de samenhang tussen het AMPA-profiel, ziektepresentatie en ziektebeloop in RA. In **hoofdstuk 6** is de associatie tussen AMPA en symptomen/kenmerken bij eerste presentatie van de RA-patiënt bekeken. Het blijkt dat patiënten met meer autoantilichamen jonger zijn als de ziekte zich openbaart in vergelijking met patiënten met minder AMPA-autoantilichamen. Mogelijk hebben patiënten met meer autoantilichamen een sterkere genetische aanleg, wat zou kunnen verklaren dat ze de ziekte op jongere leeftijd ontwikkelen. Daarnaast roken patiënten met meerdere autoantilichamen vaker en hebben ze hogere ontstekingswaarden in het bloed. Ook hebben ze langer klachten voordat RA daadwerkelijk wordt vastgesteld dan RA-patiënten met weinig autoantilichamen. Deze effecten worden niet veroorzaakt door de aanwezigheid van één specifiek autoantilichaam, maar door de aanwezigheid van meerdere autoantilichamen tegelijkertijd. Dit impliceert dat AMPA een rol spelen in de ontwikkeling van RA, maar omdat dit nooit is aangetoond, kunnen de AMPA-autoantilichamen ook een bijproduct zijn van een onderliggend ontstekingsproces wat uiteindelijk zorgt voor de ontwikkeling van RA.

In **hoofdstuk 7** is onderzocht of AMPA gerelateerd zijn aan de mate waarop RA-patiënten reageren op de eerste behandeling met medicatie. In de eerste maanden van de behandeling met methotrexaat en hoge dosis prednison daalt de ziekteactiviteit van patiënten met meerdere autoantilichamen harder dan in patiënten met weinig

autoantilichamen. Na het afbouwen van de medicijnen was een uitgebreide AMPA-reactie juist geassocieerd met meer ziekte opvlammingen. De hoogte van de autoantilichamen op het moment van afbouwen leverde geen extra informatie op over het risico op ziekte opvlammingen vergeleken met de hoogte van AMPA gemeten aan het begin van de ziekte. Deze data suggereren dat RA-patiënten met een breed AMPA-profiel goed reageren op medicijnen en dat deze medicijnen de ziekte goed kunnen onderdrukken, maar dat de gewrichtsontstekingen in de meeste seropositieve patiënten terugkomen na het staken van de medicijnen. Een uitzondering is een kleine groep AMPA-positieve patiënten die na het staken van de medicijnen lange tijd geen gewrichtsontstekingen meer hadden. In al deze patiënten blijven AMPA meetbaar. Het immuunsysteem van deze patiënten lijkt op een of andere manier terug te zijn gegaan naar de situatie voordat de ziekte zich openbaarde, waarbij er wel autoantilichamen aanwezig zijn, maar geen ziekte. Waarom dit bij sommige mensen wel gebeurt, maar bij de meeste niet, moet verder worden onderzocht.

De langetermijnprognose wordt in RA-patiënten niet bepaald door gewrichtsontstekingen, maar door het ontwikkelen van potentieel dodelijke RA-gerelateerde aandoeningen buiten de gewrichten, zoals longproblemen en hartvaatziekten. Door betere behandeling is de levensverwachting van RA-patiënten zonder ACPA genormaliseerd, maar ACPA-positieve RA-patiënten hebben nog steeds een kortere levensverwachting ten opzichte van de algehele bevolking, met name door hartvaatziekten. In sommige eerdere onderzoeken in RA is een associatie tussen ACPA en hartvaatziekten gevonden, maar in andere studies werd dit verband niet gezien. Daarom hebben we de relatie tussen ACPA en sterfte (door hartvaatziekten) in **hoofdstuk 8** nader onderzocht. Hiervoor hebben we niet alleen RA-patiënten bestudeerd, maar ook patiënten zonder RA met hartvaatziekten. Uit eerdere onderzoeken bleek dat 10% van deze hartvaatziekten patiënten zonder RA ook meetbaar ACPA in het bloed hadden en dat ACPA geassocieerd waren met slechtere ziekte uitkomsten. Dat was verrassend, omdat ACPA specifiek gevonden worden bij mensen met RA. We hebben dit onderzoek herhaald in twee grotere groepen patiënten met hartvaatziekten, na het zorgvuldig uitsluiten van RA-patiënten. Uit ons onderzoek blijkt dat ACPA niet vaker voorkomen in hartvaatziekten patiënten zonder RA dan in de algemene bevolking. Daarnaast was de aanwezigheid van ACPA niet geassocieerd met de overleving in deze individuen.

Op basis van deze resultaten en eerdere onderzoeken vroegen we ons af of in ACPA-positieve RA niet de aanwezigheid van autoantistoffen, maar chronisch verhoogde ontstekingswaardes belangrijk zijn voor het ontwikkelen van hartvaatziekten. Om dit te onderzoeken is een eerdere studie in RA-patiënten, waarin een verband was gevonden

tussen ACPA en sterfte (met name door hartvaatziekten), opnieuw geanalyseerd. Door middel van nieuwere statistische methoden hebben we CRP, een maat voor ontsteking in het bloed, toegevoegd aan de analyse. CRP was over de jaren heen op meerdere momenten gemeten in deze studie. Na het toevoegen van CRP aan de analyse was het verband tussen ACPA en sterfte niet meer aantoonbaar. In tegenstelling waren de langdurige verhoogde ontstekingswaardes wel geassocieerd met sterfte in RA. Het lijkt dus niet zozeer de aanwezigheid van ACPA, maar verhoogde ontstekingsparameters in ACPA-positieve RA-patiënten die kunnen leiden tot sterfte aan hartvaatziekten.

Conclusie

In dit proefschrift zijn verschillende aspecten van de AMPA-response in reumatoïde artritis patiënten onderzocht: van nieuwe aanwijzingen dat de slijmvliezen betrokken zijn bij de productie van AMPA tot de relatie van AMPA met ziektepresentatie en ziekte uitkomsten. In **hoofdstuk 9** worden de bevindingen beschreven in dit proefschrift besproken in de context van de bestaande literatuur. De resultaten geven aanleiding tot verder onderzoek, bijvoorbeeld naar de details van de relatie tussen de slijmvliezen, het microbiom en RA.