

## CAT Critically Appraised Topic

### De waarde van $\beta$ 2-microglobuline bij auto-immuunziekten

Auteur: Stefanie Lefever  
Supervisors: Edith Vermeulen  
Date: 14/07/2020

#### CLINICAL BOTTOM LINE

---

**Objectief:**  $\beta$ 2-microglobuline ( $\beta$ 2MG) is een onderdeel van het MHC klasse I eiwit en de synthese wordt gestimuleerd bij activatie van lymfocyten.  $\beta$ 2MG zou daarom waarde kunnen hebben als biomarker bij auto-immuunziekten.

**Literatuur:** In de literatuur werd reeds aangetoond dat  $\beta$ 2MG verhoogd is bij systemische lupus erythematosus (SLE) en bij primair Sjögren syndroom (pSS), dat  $\beta$ 2MG een correlatie vertoont met de ziekteactiviteit en gebruikt zou kunnen worden om therapie op te volgen. Bij SLE zou er een correlatie bestaan tussen  $\beta$ 2MG en andere markers, zoals anti-dsDNA titer en complement C3 en C4. Bij pSS zou  $\beta$ 2MG mogelijk een voorspellende waarde kunnen hebben voor de ontwikkeling van een lymfoom.

**Studie:** In een kleine studie uitgevoerd in het Imeldaziekenhuis werd bevestigd dat de mediane  $\beta$ 2MG-concentraties hoger lagen bij SLE en pSS in vergelijking met andere auto-immuunziekten en gezonde controles. Bij de meeste SLE- en pSS-patiënten bleef de  $\beta$ 2MG-concentratie stabiel bij follow-up. Bij twee SLE- en twee pSS-patiënten daalde de  $\beta$ 2MG-concentratie na opstarten van adequate behandeling. Bij SLE werd een positieve correlatie aangetoond tussen  $\beta$ 2MG en de anti-dsDNA titer, maar kon geen correlatie aangetoond worden met C3 of C4.

Aangezien  $\beta$ 2MG voornamelijk vrijgezet wordt door lymfocyten, werd in deze CAT aangetoond dat er geen correlatie bestaat tussen  $\beta$ 2MG en de lymfocytose in perifeer bloed.  $\beta$ 2MG is echt een marker voor activiteit van lymfocyten. Dit heeft als gevolg dat  $\beta$ 2MG-concentraties beïnvloed worden door infectie, wat de interpretatie van  $\beta$ 2MG-waarden bij auto-immuunziekten bemoeilijkt.

**Conclusie:**  $\beta$ 2MG is een marker voor activiteit van lymfocyten, onafhankelijk van lymfocytenaantal. Het zou potentieel kunnen hebben als marker voor ziekteactiviteit bij SLE en pSS, voornamelijk in follow-up. Echter grotere studies met meer longitudinale opvolging zijn nodig om dit te bevestigen.

#### CLINICAL/DIAGNOSTIC SCENARIO

---

$\beta$ 2-microglobuline ( $\beta$ 2MG) is een reeds lang bestaande biomarker die in de huidige klinische praktijk voornamelijk gebruikt wordt omwille van zijn prognostische waarde bij multiple myeloom en B-non-Hodgkin lymfomen.[1–3] Gezien de  $\beta$ 2MG-concentratie in bloed voornamelijk beïnvloed wordt door activatie van lymfocyten, wordt  $\beta$ 2MG in de literatuur aangehaald als mogelijke biomarker bij auto-immuunziekten.[4]

Er zijn talrijke auto-immuunziekten beschreven in de literatuur, met elk een of meerdere ziekteactiviteitsscores (ZAS) en biomarkers. Zo worden C-reactief proteïne (CRP) en fecaal calprotectine gebruikt als biomarkers bij inflammatoire darmziekten (IBD).[5] Bij reumatoïde artritis (RA) worden voornamelijk CRP en erythrocytaire sedimentatiesnelheid (ESR) gebruikt als biomarkers en bestaan er verschillende ZAS (SDAI, CDAI, RADAI,...).[6]

Bij systemische lupus erythematosus (SLE) wordt reeds lange tijd gebruik gemaakt van CRP, ESR, complementconcentraties, anti-dubbelstrengs DNA (anti-dsDNA) antistoffen en leukopenie als biomarkers voor ziekteactiviteit.[7] Daarnaast bestaan talrijke ZAS bij SLE, zoals de SLEDAI-score, de BILAG en de PGA.[7] SLE vertoont echter een zeer grote variabiliteit in presentatie en in ziekteverloop.[8] De vele ZAS die er zijn, proberen hieraan tegemoet te komen, maar toch blijft het inschatten van ziekteactiviteit onderhevig aan een zekere vorm van subjectiviteit. Daarom zou het beter zijn om objectieve en meer reproduceerbare surrogaatmarkers te hebben om de ziekteactiviteit in te schatten en op te volgen.[8] Het definiëren van meer objectieve markers zou ook de opzet van klinische trials ten goede komen, o.a. voor stratificatie en het voorspellen of opvolgen van therapeutische respons.[8] Dit zal vervolgens de ontwikkeling van nieuwe medicatie in een stroomversnelling brengen.

Voor primair Sjögren syndroom (pSS) zijn eveneens verschillende ZAS ontwikkeld, zoals de ESSDAI-score voor systemische manifestaties en de ESSPRI-score voor symptomen.[9] Biochemisch worden verschillende zaken opgevolgd voor de inschatting van de ziekteactiviteit, zoals complementfactoren, gammaglobulinen, cryoglobulinen en cytopenieën. De ZAS zijn echter onderhevig aan subjectiviteit en ook de biomarkers kunnen niet alle manifestaties van pSS omvatten of het ziekteverloop voorspellen. Dus blijft er nog steeds een grote vraag naar objectieve biomarkers. Daarnaast gaat men de laatste jaren steeds meer op zoek naar nieuwe biologische

therapieën voor de behandeling van pSS, voornamelijk middelen die gericht zijn op B-lymfocyten, zoals o.a. rituximab.[10] Wanneer men nieuwe immuunmodulerende behandelingen onderzoekt, is het belangrijk om ook objectieve maatstaven te hebben om hun therapeutische respons te evalueren.

Daarom werd in deze CAT nagegaan wat de eventuele waarde van  $\beta$ 2MG zou kunnen zijn om tegemoet te komen aan de vraag naar biomerkers bij SLE en pSS.

## QUESTION(S)

---

- 1) Wat is  $\beta$ 2-microglobuline en hoe wordt het gemeten?
- 2) Bij welke auto-immuunziekten is er nog nood aan een nieuwe merker?
- 3) Welke waarde heeft de bepaling van  $\beta$ 2-microglobuline bij systemische lupus erythematosus en primair Sjögren syndroom?
- 4) Studie Imeldaziekenhuis: Bepaling van  $\beta$ 2-microglobuline bij systemische lupus erythematosus en primair Sjögren syndroom.
- 5) Is  $\beta$ 2-microglobuline een onafhankelijke merker voor ziekteactiviteit bij systemische lupus erythematosus en primair Sjögren syndroom?

## SEARCH TERMS

---

- 1) MeSH Database (PubMed): MeSH term: “beta 2-microglobulin”, “autoimmune diseases”, “Lupus Erythematosus, Systemic”, “Sjogren’s Syndrome”, “Arthritis, Rheumatoid”
- 2) PubMed Clinical Queries (from 1966; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>): Systematic Reviews; Clinical Queries using Research Methodology Filters (beta 2-microglobulin + autoimmune diseases, beta 2-microglobulin + Systemic Lupus Erythematosus, beta 2-microglobulin + Sjogren’s syndrome)
- 3) Pubmed (Medline; from 1966): beta 2-microglobulin + autoimmune diseases, beta 2-microglobulin + Systemic Lupus Erythematosus, beta 2-microglobulin + Sjogren’s syndrome
- 4) UpToDate Online version 12.2 (2019): “Beta 2 microglobulin”, “Systemic lupus erythematosus”, “Sjögren’s syndrome”, “Multiple myeloma”

## RELEVANT EVIDENCE/REFERENCES

---

- [1] Multiple myeloma: Staging and prognostic studies - UpToDate n.d. [https://www.uptodate-com.kuleuven.ezproxy.kuleuven.be/contents/multiple-myeloma-staging-and-prognostic-studies?search=beta 2 microglobulin&source=search\\_result&selectedTitle=1~121&usage\\_type=default&display\\_rank=1#H1827881794](https://www.uptodate-com.kuleuven.ezproxy.kuleuven.be/contents/multiple-myeloma-staging-and-prognostic-studies?search=beta%20microglobulin&source=search_result&selectedTitle=1~121&usage_type=default&display_rank=1#H1827881794) (accessed December 28, 2019).
- [2] Staging and prognosis of chronic lymphocytic leukemia - UpToDate n.d. [https://www.uptodate-com.kuleuven.ezproxy.kuleuven.be/contents/staging-and-prognosis-of-chronic-lymphocytic-leukemia?search=beta 2 microglobulin&source=search\\_result&selectedTitle=3~121&usage\\_type=default&display\\_rank=3#H12](https://www.uptodate-com.kuleuven.ezproxy.kuleuven.be/contents/staging-and-prognosis-of-chronic-lymphocytic-leukemia?search=beta%20microglobulin&source=search_result&selectedTitle=3~121&usage_type=default&display_rank=3#H12) (accessed December 28, 2019).
- [3] Evaluation, staging, and response assessment of non-Hodgkin lymphoma - UpToDate n.d. [https://www.uptodate-com.kuleuven.ezproxy.kuleuven.be/contents/evaluation-staging-and-response-assessment-of-non-hodgkin-lymphoma?search=beta 2 microglobulin&source=search\\_result&selectedTitle=8~121&usage\\_type=default&display\\_rank=8#H334141054](https://www.uptodate-com.kuleuven.ezproxy.kuleuven.be/contents/evaluation-staging-and-response-assessment-of-non-hodgkin-lymphoma?search=beta%20microglobulin&source=search_result&selectedTitle=8~121&usage_type=default&display_rank=8#H334141054) (accessed December 28, 2019).
- [4] Rifai N, Horvath AR, Wittwer CT. 28. Amino Acids, Peptides and Proteins. Tietz Textb. Clin. Chem. Mol. Diagnostics. 6th ed., Missouri: Elsevier Inc; 2018, p. 792–827.
- [5] Yilmaz B, Köklü S, Yüksel O, Arslan S. Serum beta 2-microglobulin as a biomarker in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2014;20:10916–20.
- [6] Assessment of rheumatoid arthritis activity in clinical trials and clinical practice n.d. [https://www.uptodate.com/contents/assessment-of-rheumatoid-arthritis-activity-in-clinical-trials-and-clinical-practice?search=reumatoïde arthritis disease activity&source=search\\_result&selectedTitle=1~150&usage\\_type=default&display\\_rank=1#H7361165](https://www.uptodate.com/contents/assessment-of-rheumatoid-arthritis-activity-in-clinical-trials-and-clinical-practice?search=reumatoïde%20arthritis%20disease&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1#H7361165) (accessed July 5, 2020).
- [7] Felten R, Sagez F, Gavand PE, Martin T, Korganow AS, Sordet C, et al. 10 most important contemporary challenges in the management of SLE. *Lupus Sci Med* 2019;6:1–6.
- [8] Manzi S, Raymond S, Tse K, Peña Y, Anderson A, Arntsen K, et al. Global consensus building and prioritisation of fundamental lupus challenges: The ALPHA project. *Lupus Sci Med* 2019;6.
- [9] Seror R, Theander E, Brun JG, Ramos-Casals M, Valim V, Dörner T, et al. Validation of EULAR primary Sjögren’s syndrome disease activity (ESSDAI) and Patient indexes (ESSPRI). *Ann Rheum Dis* 2015;74:859–66.
- [10] Pertovaara M, Korpela M. ESSPRI and other patient-reported indices in patients with primary sjögren’s syndrome during 100 consecutive outpatient visits at one rheumatological clinic. *Rheumatol (United Kingdom)* 2014;53:927–31.
- [11] Miyata T, Jadoul M, Kurokawa K, Van Ypersele de Strihou C. Beta-2 microglobulin in renal disease. *J Am Soc Nephrol* 1998;9:1723–35.
- [12] Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *Molecular Biology of the Cell*. 5th ed. New York: Garland Science; 2008.
- [13] Bossuyt X. 28. Serumeiwitten, M-proteïnen, Cryoglobulinen. *Wegwijs Lab*. 1st ed., Leuven: ACCO; 2016, p. 441–64.
- [14] Dialysis-related amyloidosis - UpToDate n.d. [https://www.uptodate-com.kuleuven.ezproxy.kuleuven.be/contents/dialysis-related-amyloidosis?search=beta 2 microglobulin&topicRef=5589&source=see\\_link](https://www.uptodate-com.kuleuven.ezproxy.kuleuven.be/contents/dialysis-related-amyloidosis?search=beta%20microglobulin&topicRef=5589&source=see_link) (accessed December 28, 2019).
- [15] Gottenberg JE, Seror R, Miceli-Richard C, Benessiano J, Devauchelle-Pensec V, Dieude P, et al. Serum Levels of

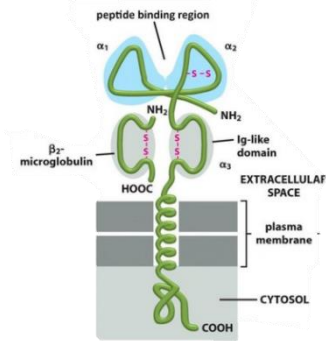
- Beta2-Microglobulin and Free Light Chains of Immunoglobulins Are Associated with Systemic Disease Activity in Primary Sjögren's Syndrome. Data at Enrollment in the Prospective ASSESS Cohort. *PLoS One* 2013;8:1–6.
- [16] National Center for Biotechnology Information US National Library of Medicine L. Systemic Lupus Erythematosus - MeSH n.d. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68008180> (accessed December 27, 2019).
- [17] Lisnevskaja L, Murphy G, Isenberg D. Systemic lupus erythematosus. *Lancet* 2014;384:1878–88.
- [18] Zychowska I, Suszek D, Dryglewska M, Majdan M. B 2-Microglobulin As a Marker of Systemic Lupus Erythematosus Activity. *Adv Clin Exp Med* 2018;27:379–82.
- [19] Hermansen MLF, Hummelshøj L, Lundsgaard D, Hornum L, Keller P, Fleckner J, et al. Increased serum  $\beta$  2-microglobulin is associated with clinical and immunological markers of disease activity in systemic lupus erythematosus patients. *Lupus* 2012;21:1098–104.
- [20] Clinical manifestations and diagnosis of systemic lupus erythematosus in adults - UpToDate n.d. [https://www.uptodate.com.kuleuven.ezproxy.kuleuven.be/contents/clinical-manifestations-and-diagnosis-of-systemic-lupus-erythematosus-in-adults?search=systemic+lupus+diagnosis&source=search\\_result&selectedTitle=1~150&usage\\_type=default&display\\_rank=1](https://www.uptodate.com.kuleuven.ezproxy.kuleuven.be/contents/clinical-manifestations-and-diagnosis-of-systemic-lupus-erythematosus-in-adults?search=systemic+lupus+diagnosis&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1) (accessed March 7, 2020).
- [21] Aringer M, Costenbader K, Daikh D, Brinks R, Mosca M, Ramsey-Goldman R, et al. 2019 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheumatol* 2019;71:1400–12.
- [22] Bombardier C, Gladman DD, Urowitz MB, Caron D, Chang CH, Austin A, et al. Derivation of the SLEDAI. A disease activity index for lupus patients. *Arthritis Rheum* 1992;35:630–40. <https://doi.org/10.1002/art.1780350606>.
- [23] Overview of the management and prognosis of systemic lupus erythematosus in adults n.d. [https://www.uptodate.com/contents/overview-of-the-management-and-prognosis-of-systemic-lupus-erythematosus-in-adults?search=sledai&source=search\\_result&selectedTitle=1~5&usage\\_type=default&display\\_rank=1](https://www.uptodate.com/contents/overview-of-the-management-and-prognosis-of-systemic-lupus-erythematosus-in-adults?search=sledai&source=search_result&selectedTitle=1~5&usage_type=default&display_rank=1) (accessed July 3, 2020).
- [24] Weissel M, Scherak O, Fritzsche H, Kolarz G. Serum B2-Microglobulin and SLE. *Arthritis Rheumatol* 1976;19:968.
- [25] Maury C, Helve T, Sjöblom C. Serum beta-2 microglobulin, sialic acid en C-reactive protein in systemic lupus erythematosus. *Rheumatol Int* 1982;2:145–9.
- [26] Yeung CK, Wong KL, Wong WS, Chan KH. beta 2-Microglobulin and systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1986;13:1053–8.
- [27] Samsonov MY, Nassonov EL, Tilz GP, Egorova O, Balabanova R m., Nasonova V a., et al. Serum soluble markers of immune activation and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 1995;4:29–32.
- [28] Kim H, Jeon J, Yoon J, Suh C. Beta 2-microglobulin can be a disease activity marker in systemic lupus erythematosus. *Am J Med Sci* 2010;339:337–40.
- [29] Wakabayashi K, Inokuma S, Matsubara E, Onishi K, Asashima H, Nakachi S, et al. Serum  $\beta$  2-microglobulin level is a useful indicator of disease activity and hemophagocytic syndrome complication in systemic lupus erythematosus and adult-onset Still's disease. *Clin Rheumatol* 2013;32:999–1005.
- [30] Aghdashi M, Salami S, Nezhadialami A. Evaluation of the serum  $\beta$  2 Microglobulin level in patients with systemic lupus erythematosus and its correlation with disease activity. *Biomed* 2019;9:6–11.
- [31] Font J, Coca A, Molina R, Ballesta A, Cardellach F, Ingelmo M, et al. Serum  $\beta$  2-microglobulin as a marker of activity in systemic lupus erythematosus. *Scand J Rheumatol* 1986;15:201–5.
- [32] Skare T, Ferri K, Santos M. Systemic lupus erythematosus activity and beta two microglobulin levels. *Sao Paulo Med J* 2014;132:239–42.
- [33] Choe JY, Park SH, Kim SK. Urine  $\beta$  2-microglobulin is associated with clinical disease activity and renal involvement in female patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2014;23:1486–93.
- [34] Ichinose K, Kitamura M, Sato S, Eguchi M, Okamoto M, Endo Y, et al. Complete renal response at 12 months after induction therapy is associated with renal relapse-free rate in lupus nephritis: a single-center, retrospective cohort study. *Lupus* 2019;28:501–9.
- [35] Leffers HCB, Hermansen ML, Sandholt B, Fuchs A, Sillesen H, Køber L, et al. Plasma levels of  $\beta$  2-microglobulin are associated with atherosclerosis in patients with systemic lupus erythematosus: a cross-sectional cohort study. *Lupus* 2018;27:1517–23.
- [36] Castro J, Jiménez-Alonso J, Sabio JM, Rivera-Cívico F, Martín-Armada M, Rodríguez MÁ, et al. Salivary and serum  $\beta$  2-microglobulin and gamma-glutamyl-transferase in patients with primary Sjögren syndrome and Sjögren syndrome secondary to systemic lupus erythematosus. *Clin Chim Acta* 2003;334:225–31.
- [37] National Center for Biotechnology Information US National Library of Medicine L. Sjögren's syndrome n.d. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68012859> (accessed December 27, 2019).
- [38] Diagnosis and classification of Sjögren's syndrome - UpToDate n.d. [https://www.uptodate.com.kuleuven.ezproxy.kuleuven.be/contents/diagnosis-and-classification-of-sjogrens-syndrome?search=sjogrens+syndrome+adult&source=search\\_result&selectedTitle=1~150&usage\\_type=default&display\\_rank=1](https://www.uptodate.com.kuleuven.ezproxy.kuleuven.be/contents/diagnosis-and-classification-of-sjogrens-syndrome?search=sjogrens+syndrome+adult&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1) (accessed March 7, 2020).
- [39] Lee SJ, Oh HJ, Choi BY, Jang YJ, Lee JY, Park JK, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D3 and BAFF levels are associated with disease activity in primary Sjögren's syndrome. *J Immunol Res* 2016;2016.
- [40] Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, Moutsopoulos HM, Alexander EL, Carsons SE, et al. Classification criteria for Sjögren's syndrome: A revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Ann Rheum Dis* 2002;61:554–8.
- [41] Seror R, Ravaud P, Bowman SJ, Baron G, Tzioufas A, Theander E, et al. EULAR Sjögren's syndrome disease activity index: Development of a consensus systemic disease activity index for primary Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 2010;69:1103–9.
- [42] Seror R, Meiners P, Baron G, Bootsma H, Bowman SJ, Vitali C, et al. Development of the ClinESSDAI: A clinical score without biological domain. A tool for biological studies. *Ann Rheum Dis* 2016;75:1945–50.
- [43] Michalski JP, Daniels TE, Talal N, Grey HM. Beta2 Microglobulin and Lymphocytic Infiltration in Sjögren's Syndrome. *N Engl J Med* 1975;293:1228–31.
- [44] Talal N, Grey HM, Zvaifler N, Michalski JP, Daniels TE. Elevated salivary and synovial fluid  $\beta$  2-microglobulin in sjögren's syndrome and rheumatoid arthritis. *Science (80- )* 1975;187:1196–8.
- [45] Bianucci G, Campana G, Bonghi SM, Palermo C, D'Agata A. [Salivary and serum beta 2-microglobulin in the diagnosis

- of primary Sjögren's syndrome]. *Minerva Med* 1992;83:705–13.
- [46] Swaak AJ, Visch LL, Zonneveld A. Diagnostic significance of salivary levels of beta 2-microglobulin in Sjögren's syndrome. *Clin Rheumatol* 1988;7:28–34.
- [47] Markusse HM, Otten HG, Vroom TM, Smeets TJ, Fokkens N, Breedveld FC. The diagnostic value of salivary fluid levels of beta 2-microglobulin, lysozyme and lactoferrin for primary Sjögren's syndrome. *Clin Rheumatol* 1992;11:521–5.
- [48] Brito-Zerón P, Pérez-Alvarez R, Pérez-de-Lis M, Hidalgo-Tenorio C, Ramos-Casals M. Laboratory abnormalities in primary Sjögren's syndrome. In: Ramos-Casals M, Stone JH, Moutsopoulos HM, editors. *Sjögren's Syndr. Diagnosis Ther.*, London: Springer; 2012, p. 347–66.
- [49] Bonggi SM, Campana G, D'agata A, Palermo C, Bianucci G. The diagnosis value of  $\beta$  2-microglobulin and immunoglobulins in primary Sjögren's syndrome. *Clin Rheumatol* 1995;14:151–6.
- [50] Riega-Torres J, Delgado-García G, Salas-Alanis JC, Skinner-Taylor C, Pérez-Barbosa L, Garza-Elizondo M, et al. Beta-2 microglobulin in whole unstimulated saliva can effectively distinguish between sjögren's syndrome and non-autoimmune sicca symptoms. *Arch Rheumatol* 2017;32:284–9.
- [51] Asashima H, Inokuma S, Onoda M, Oritsu M. Cut-off levels of salivary beta2-microglobulin and sodium differentiating patients with Sjögren's syndrome from those without it and healthy controls. *Clin Exp Rheumatol* n.d.;31:699–703.
- [52] Hu S, Gao K, Pollard R, Arellano M, Zhou H, ZHANG L, et al. Preclinical validation of salivary biomarkers for primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Care Res* 2010;62:1633–8.
- [53] Asashima H, Inokuma S, Nakachi S, Matsuo Y, Rokutanda R, Hagiwara K, et al. Extremely high salivary  $\beta$  2 - microglobulin and  $\text{Na}^+$  levels in a Sjögren syndrome patient. *Int J Rheum Dis* 2012;15:e31–33.
- [54] Garza-García F, Delgado-García G, Garza-Elizondo M, Ceceñas-Falcón LÁ, Galarza-Delgado D, Riega-Torres J. Salivary B2-microglobulin positively correlates with ESSPRI in patients with primary Sjögren's syndrome. *Rev Bras Reumatol* 2017;57:182–4.
- [55] Markusse HM, Huysen JC, Nieuwenhuys EJ, Swaak AJG.  $\beta$  2 Microglobulin in tear fluid from patients with primary Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 1992;51:503–5.
- [56] Ström T, Evrin PE, Karlsson A. Serum beta-2-microglobulin in Sjögren's syndrome. *Scand J Rheumatol* 1978;7:97–100.
- [57] Caraba A, Babalic FC, Iurciuc S, Iurciuc M. The Utility of Major Salivary Gland Ultrasonographic Parameters in the Diagnosis of Sjögren Syndrome. *Dis Markers* 2019;2019.
- [58] Gottenberg JE, Busson M, Cohen-Solal J, Lavie F, Abbed K, Kimberly RP, et al. Correlation of serum B lymphocyte stimulator and  $\beta$  2 microglobulin with autoantibody secretion and systemic involvement in primary Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 2005;64:1050–5.
- [59] Krejsek J, Slezák R, Kopecky O, Derner V, Andrys C. Elevation of serum soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) and beta-2-microglobulin in Sjögren's syndrome. *Clin Rheumatol* 1997;16:149–53.
- [60] Davidson B, Kelly C, Griffiths I. Primary Sjögren's syndrome in the North East of England : a long-term follow-up study. *Rheumatol* 1999;38:245–53.
- [61] Jülich M, Kanne AM, Sehnert B, Budweiser S, Voll RE, Kollert F. Serological lymphocytic activity and patient-reported outcomes in Sjögren's syndrome. *Clin Rheumatol* 2018;37:2361–6.
- [62] Pertovaara M, Korpela M, Kouri T, Pasternack A. The occurrence of renal involvement in primary Sjögren's syndrome: a study of 78 patients. *Rheumatol* 1999;38:1113–20.
- [63] Pertovaara M, Korpela M, Pasternack A. Factors predictive of renal involvement in patients with primary Sjögren's syndrome. *Clin Nephrol* 2001;56:10–8.
- [64] Pertovaara M, Korpela M, Saarelainen S, Laitinen J, Järvenpää R, Laippala P, et al. Long-term follow-up study of pulmonary findings in patients with primary Sjögren's syndrome. *Scand J Rheumatol* 2004;33:343–8.
- [65] Pertovaara M, Parkkila S, Korpela M. Anti-carbonic anhydrase autoantibodies and serum beta-2 microglobulin correlate with the ClinESSDAI score in patients with Sjögren's syndrome. *Clin Exp Rheumatol* 2017;35:351.
- [66] Pertovaara M, Korpela M. Serum  $\beta$  2 microglobulin correlates with the new ESSDAI in patients with Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 2011;70:2236–7.
- [67] Pertovaara M, Korpela M, Uusitalo H, Pukander J, Miettinen A, Helin H, et al. Clinical follow up study of 87 patients with sicca symptoms (dryness of eyes or mouth, or both). *Ann Rheum Dis* 1999;58:423–7.
- [68] Anaya JM, McGuff HS, Banks PM, Talal N. Clinicopathological factors relating malignant lymphoma with Sjogren's syndrome. *Semin Arthritis Rheum* 1996;25:337–46.
- [69] Pertovaara M, Pukkala E, Laippala P, Miettinen A, Pasternack A. A longitudinal cohort study of Finnish patients with primary Sjögren's syndrome: Clinical, immunological, and epidemiological aspects. *Ann Rheum Dis* 2001;60:467–72.

I. WAT IS  $\beta$ 2-MICROGLOBULINE EN HOE WORDT HET GEMETEN?

WAT IS  $\beta$ 2-MICROGLOBULINE?

$\beta$ 2-microglobuline ( $\beta$ 2MG) is een klein eiwit (11.8 kDa) geproduceerd door alle cellen die *major histocompatibility complex* (MHC) klasse I tot expressie brengen (**Figuur I**).<sup>[4,11,12]</sup> MHC klasse I bestaat uit een zware keten (ver-antwoordelijk voor de specificiteit) en een niet-covalent gebonden lichte keten, nl.  $\beta$ 2MG, die de structuur van de zware keten stabiliseert.<sup>[11]</sup>  $\beta$ 2MG wordt in bloed vrijgezet door lymfocyten en de concentratie is dan ook afhankelijk van de *turn-over* van lymfocyten.<sup>[13]</sup> De synthese van  $\beta$ 2MG wordt gestimuleerd bij mono- en polyklonale activatie en proliferatie van lymfoïde cellen zoals maligne tumoren, lymfoproliferatieve B-cel aandoeningen en chronisch inflammatoire ziekten zoals reumatoïde artritis (RA), systemische lupus erythematosus (SLE), primair Sjögren syndroom (pSS), de ziekte van Crohn, en infecties.<sup>[11]</sup>



**Figuur I: Structuur van MHC klasse I.** Aangepast uit Alberts et al. (2008): *Molecular Biology of the Cell* (figuur 25-50).<sup>[12]</sup>

$\beta$ 2MG wordt als klein eiwit efficiënt glomerulair gefiltreerd, en vervolgens bijna volledig gereabsorbeerd en vernietigd door de proximale tubuli.<sup>[4,11]</sup> Bij een verminderde nierfunctie worden dus verhoogde  $\beta$ 2MG-waarden waargenomen in het serum en urine. Anderzijds kan een verhoogd  $\beta$ 2MG in de urine wijzen op een vermindering of beschadiging van de tubulaire reabsorptiefunctie. Bij patiënten met chronische nierinsufficiëntie die langdurig dialyse ondergaan, kan  $\beta$ 2MG de oorzaak zijn van dialyse-gerelateerde amyloidose (DRA).<sup>[11]</sup> Bij DRA treedt accumulatie en afzetting op van  $\beta$ 2MG-fibrillen, voornamelijk ter hoogte van het bot, de peri-artculaire structuren en de viscera. Ten gevolge van meer moderne vormen van hemodialyse met een efficiëntere klaring van  $\beta$ 2MG komt DRA veel minder voor dan vroeger.<sup>[14]</sup>

$\beta$ 2MG heeft al enkele toepassingen in de hematologie. De belangrijkste is als prognostische merker in het *International Staging System* (ISS) voor multiple myeloom (MM).<sup>[1]</sup> Hoe hoger de waarde van  $\beta$ 2MG, hoe lager de overlevingskansen. Dit zou komen doordat hogere levels van  $\beta$ 2MG geassocieerd zijn met een hogere tumor load enerzijds en met nierfalen anderzijds (wat op zichzelf ook een slechtere prognose heeft). Bij diagnose heeft ongeveer 75% van de patiënten een verhoogd  $\beta$ 2MG. Daarnaast heeft  $\beta$ 2MG ook zijn waarde bij chronische lymfatische leukemie (CLL), folliculair lymfoom en andere indolente lymfomen waar het gebruikt kan worden bij prognose, een surrogaat marker voor ziektebelasting en voor de monitoring van respons op therapie.<sup>[2,3]</sup>

HOE WORDT  $\beta$ 2MG GEMETEN?

Laboratorium-technisch kan  $\beta$ 2MG op verschillende manieren gemeten worden, hoofdzakelijk immunologisch. Bij onderzoek naar de gebruikte methode in 24 Belgische en Nederlandse ziekenhuizen, bleken de meeste laboratoria gebruik te maken van immunonefelometrie of immunoturbidimetrie (**Tabel I**).

**Tabel I: Overzicht van de gebruikte meetmethoden en toestellen in 24 Belgische en Nederlandse ziekenhuizen.** In de meeste gevallen werd het gebruikte toestel nader gespecificeerd. Voor gedetailleerde informatie, zie bijlage I.

methode	Toestel	Aantal
Immunoturbidimetrie	Cobas® Roche	6/24
Immunonefelometrie	BN ProSpec® Siemens	5/24
	Atellica® Siemens	2/24
	IMMAGE® Beckman Coulter	1/24
	Niet gespecificeerd	2/24
Chemiluminescentie immunoassay	IMMULITE® Siemens	2/24
	LIAISON® DiaSorin	2/24
	Niet gespecificeerd	1/24
Enzyme-linked Fluorescence immunoassay	VIDAS® bioMérieux	1/24
Luminescentie enhanced immunoenzymometrische assay	Niet gespecificeerd	1/24
Immunoluminometrische assay	Niet gespecificeerd	1/24

Ook uit de externe kwaliteitsevaluatie (EKE) blijkt dat  $\beta$ 2MG voornamelijk immunologisch wordt gemeten. De CV bedraagt gemiddeld 9.1% (95% CI: [7.8;10.5]) op basis van de EKE van de afgelopen drie jaar (IMMPROVE™, The Binding Site, Birmingham, Verenigd Koninkrijk).

In Imeldaziekenhuis Bonheiden beschikken we over de methode immunoturbidimetrie (Tina-Quant®) op Cobas® 6000 (Roche, Basel, Zwitserland). Referentiewaarden worden gebruikt zoals gedefinieerd in de bijsluiters. Bij patiënten <60 jaar bedragen deze 0.8 – 2.4 mg/L en bij patiënten >60 jaar bedragen deze ≤3 mg/L.

**ANTWOORD OP VRAAG I**

$\beta$ 2MG is een klein eiwit geassocieerd met het MHC klasse I molecule. De synthese wordt gestimuleerd bij activatie van lymfocyten, dus  $\beta$ 2MG is verhoogd bij aandoeningen zoals lymfoproliferatieve aandoeningen, maligne tumoren, infectie en chronisch inflammatoire ziekten.  $\beta$ 2MG wordt efficiënt glomerulair gefiltreerd, maar volledig gereabsorbeerd en vernietigd door de proximale tubuli zodat bij verminderde nierfunctie de concentraties in serum en/of urine gestegen kunnen zijn afhankelijk van de locatie van de nierschade.  $\beta$ 2MG heeft in de huidige klinische setting waarde als prognostische merker voor multiple myeloom en non-Hodgkin lymfomen. De meting van  $\beta$ 2MG gebeurt immunologisch, met als meest gebruikte methoden immunoturbidimetrie en immunonefelometrie.

## II. BIJ WELKE AUTO-IMMUUNZIEKTEN IS ER NOG NOOD AAN EEN NIEUWE BIOMERKER?

Aangezien  $\beta$ 2MG-concentraties toenemen bij lymfocytactivatie, zou  $\beta$ 2MG een potentieel kunnen hebben als biomarker bij auto-immuunziekten. De vraag is echter bij welke auto-immuunziekten er nog nood is aan een nieuwe marker. In de literatuur vinden we vooral de noodzaak naar biomerkers terug bij SLE en pSS.

### SYSTEMISCHE LUPUS ERYTHEMATOSUS (SLE)

In tegenstelling tot reumatoïde artritis en psoriasis, komt er zelden tot nooit nieuwe medicatie uit de pipeline voor SLE. In de laatste 60 jaar is dit slechts het geval voor één molecule, belimumab.<sup>[8]</sup> Verdere ontwikkeling en onderzoek in de behandeling van SLE wordt bemoeilijkt door het feit dat er geen eenduidige entry criteria voor studies opgesteld kunnen worden enerzijds en ook geen duidelijke eindpunten kunnen gedefinieerd worden anderzijds. Dit onder andere door de heterogeniteit van ziekte, maar ook door de subjectiviteit van de ziekteactiviteitsscores waarmee het ziekteverloop wordt beschreven. Een objectieve biomarker kan helpen bij een betere stratificatie in klinische trials, bij een betere definiëring van eindpunten en om therapeutische respons te voorspellen en op te volgen. Dit werd uitgelicht in het recente ALPHA-project (2019) waarbij aan verschillende experts gevraagd werd wat de voornaamste obstakels waren binnen het veld van SLE.<sup>[8]</sup> Volgens deze groep van experts is een van de belangrijkste barrières het gebrek aan diagnostische, predictieve en prognostische biomerkers. De laatste jaren is er veel onderzoek gebeurd naar dergelijke merkers, maar een echte doorbraak is er nog niet gekomen. Er is nood aan multicenterstudies en aan studies met een meer longitudinale follow-up.

### PRIMAIR SJÖGREN SYNDROOM (pSS)

Ook bij pSS blijft er nog steeds een grote vraag naar merkers voor ziekteactiviteit en prognostische biomerkers, en dit omwille van verschillende redenen.<sup>[15]</sup> Ten eerste kan men niet voorspellen hoe de ziekte zal verlopen. Deze begint met een *sicca* syndroom maar ongeveer één derde van de patiënten ontwikkelt systemische klachten over het verloop van de ziekte. Welke patiënten dit ontwikkelen en wanneer is momenteel zeer moeilijk te voorspellen. Ten tweede ontwikkelen 5-10% van de patiënten een lymfoom, waarvoor nog geen predictieve markers bestaan. En ten derde, het gebruik van acute fase merkers zoals C-reactief proteïne (CRP) en erythrocytaire sedimentatiesnelheid (ERS) is beperkt bij pSS, dit in tegenstelling tot bij andere auto-immuunziekten. Ten slotte gaat men de laatste jaren steeds meer op zoek naar nieuwe biologische therapieën voor de behandeling van pSS, voornamelijk middelen die gericht zijn op B-lymfocyten, zoals o.a. rituximab.<sup>[10]</sup> Wanneer men nieuwe immuunmodulerende behandelingen onderzoekt, is het belangrijk om ook objectieve maatstaven te hebben om hun therapeutische respons te evalueren.

### **ANTWOORD OP VRAAG II**

Er bestaan talrijke auto-immuunziekten, maar voornamelijk bij systemische lupus erythematosus en primair Sjögren syndroom wordt nog een belangrijke nood beschreven. Objectieve merkers zijn nodig voor diagnose, prognose en om therapeutische respons te volgen.

### III. WELKE WAARDE HEEFT DE BEPALING VAN $\beta$ 2-MICROGLOBULINE BIJ SYSTEMISCHE LUPUS ERYTHEMATOSUS EN PRIMAIR SJÖGREN SYNDROOM?

#### SYSTEMISCHE LUPUS ERYTHEMATOSUS (SLE)

Systemische lupus erythematosus (SLE) is een bindweefselziekte die inflammatoir gemedieerd en vaak febriel is, en in opstoten verloopt met een weerslag op de huid, gewrichten, nieren en sereuse membranen.<sup>[16]</sup> De etiologie van SLE is nog niet helemaal duidelijk, maar het is een multifactoriële ziekte.<sup>[17]</sup> Er is o.a. een overmatige activatie van B- en T-lymfocyten, verstoring van apoptose en onvoldoende klaring van immuuncomplexen.<sup>[18]</sup> Er is een overproductie van pathogene auto-antistoffen (o.a. anti-nucleaire antistoffen (ANA)), afzetting van complement-activerende immuuncomplexen en infiltratie van inflammatoire cellen in doelwitorganen.<sup>[19]</sup> Een uitgebreid klinisch onderzoek en bevraging van de voorgeschiedenis bij diagnose is noodzakelijk gezien SLE verschillende organen kan aantasten. Daarnaast is laboratoriumdiagnostiek essentieel bij de diagnose. In de classificatie criteria (2019) van de *European League Against Rheumatism (EULAR)* en *American College of Rheumatology (ACR)* is een ANA-titer nodig van minstens 1:80 voor de diagnose van SLE. Laboratoriumonderzoeken die verder ook bijdragen aan de diagnose zijn hematologische parameters (leukopenie, thrombopenie, auto-immune hemolyse), complement, antifosfolipiden-antistoffen en SLE-specifieke antistoffen (anti-dubbelstrengsDNA (anti-dsDNA), anti-Smith).<sup>[20,21]</sup>

SLE vertoont een zeer grote variabiliteit in presentatie en in het verloop van de ziekteactiviteit. Een veel gebruikte maatstaf voor ziekteactiviteit bij SLE is de 'Systemic lupus erythematosus disease activity index' (SLEDAI)-score, waarbij verschillende zaken in rekening gebracht worden, zoals aangetaste organen, anti-dsDNA titer en complementactivatie.<sup>[22]</sup> Daarnaast zijn er nog talrijke andere scoresystemen die gebruikt worden zoals de SLEDAI-2K, SLAM-R, ECLAM, BILAG-2004 en BICLA.<sup>[23]</sup> Deze scoresystemen zijn voornamelijk ontwikkeld voor klinische trials, en zijn in mindere mate toepasbaar voor de algemene klinische praktijk. Daarom is er nood aan snellere en meer praktisch te hanteren surrogaatmerkers om de ziekteactiviteit in te schatten en op te volgen, zoals beschreven in §II.<sup>[8]</sup>

$\beta$ 2MG is een merker die al een lange historiek kent in dit domein. In 1976 werd  $\beta$ 2MG voor het eerst genoemd als potentiële marker bij SLE.<sup>[24]</sup> Er was een significant verschil in  $\beta$ 2MG-concentraties tussen een groep van SLE-patiënten met geassocieerde nefritis ( $6.56 \pm 3.5$  mg/L) en de controlegroep ( $1.40 \pm 0.3$  mg/L). Volgens de auteurs zou dit verschil echter ook verklaard kunnen worden door een verminderde nierfunctie van de SLE nefritis-patiënten. Anderzijds was er ook een significant verschil, zij het kleiner, tussen de  $\beta$ 2MG-levels van de controlegroep en de groep van SLE patiënten zonder nieraantasting ( $2.81 \pm 0.3$  mg/L), wat suggestief was voor mogelijke betrokkenheid van  $\beta$ 2MG bij de ziekte zelf. Maury *et al.* (1982) en Yeung *et al.* (1986) toonden gelijkaardige resultaten waarbij het percentage van patiënten met verhoogde  $\beta$ 2MG-concentraties het hoogst was in die groep met lupus nefritis.<sup>[25,26]</sup> In de jaren daarna stelden meerdere onderzoekers verhoogde  $\beta$ 2MG-concentraties vast bij SLE-patiënten (**Tabel II**).<sup>[19,27-30]</sup>

$\beta$ 2MG zou een merker kunnen zijn voor de graad van ziekteactiviteit bij SLE. In 1986 stelden Font *et al.* (1986) vast dat de gemiddelde  $\beta$ 2MG-concentraties hoger waren bij SLE-patiënten met actieve ziekte in vergelijking met patiënten met inactieve ziekte.<sup>[31]</sup> Later bevestigden verschillende studies dit door een correlatie aan te tonen tussen  $\beta$ 2MG en geobjectieerde ziekteactiviteitsscores. Samsonov *et al.* (1995) deden dit als eerste met de *European Consensus Lupus Activity Measurement (ECLAM)*.<sup>[27]</sup> Kim *et al.* (2010) vonden een positieve correlatie tussen  $\beta$ 2MG-concentraties en de SLEDAI-score, waarbij veranderingen in SLEDAI-score bij follow-up eveneens gecorreleerd waren met veranderingen in  $\beta$ 2MG-levels.<sup>[28]</sup> Hermansen *et al.* (2012) toonden een correlatie aan tussen  $\beta$ 2MG-concentraties en de SLEDAI-score, onafhankelijk van de serum creatinine-concentraties.<sup>[19]</sup> Ook andere onderzoekers vonden een positieve correlatie tussen  $\beta$ 2MG en de SLEDAI-score.<sup>[18,30,32]</sup> Ook  $\beta$ 2MG in urine is geassocieerd met de SLEDAI-score.<sup>[33]</sup>

Wakabayashi *et al.* (2013) toonden aan dat  $\beta$ 2MG-concentraties daalden bij hun patiënten na succesvolle behandeling, wat suggereert dat  $\beta$ 2MG mogelijk ook kan gebruikt worden om therapierespons te monitoren.<sup>[29]</sup> Ook fungeert een hoog  $\beta$ 2MG-gehalte als een negatief predictieve factor voor remissie bij patiënten met lupus nefritis.<sup>[34]</sup>

$\beta$ 2MG-concentraties correleren ook met andere SLE-markers. Kim *et al.* (2010) vonden een positieve correlatie met de anti-dsDNA titer en een negatieve correlatie met complement C3.<sup>[28]</sup> Daarentegen vonden Hermansen *et al.* (2012) geen correlatie tussen  $\beta$ 2MG en anti-dsDNA antistoffen. Ze vonden wel een negatieve correlatie tussen  $\beta$ 2MG en complement C3 en een positieve correlatie met een aantal inflammatoire cytokines (IL-6, IL-8, IL-10, IL-18 en IFN- $\alpha$ ).<sup>[19]</sup> Skare *et al.* (2014) vonden een negatieve correlatie van  $\beta$ 2MG met complement C3. Zychowska *et al.* (2018) vonden een positieve correlatie tussen  $\beta$ 2MG en de anti-dsDNA titer, een negatieve correlatie met complement C4 en geen correlatie met complement C3.<sup>[18]</sup>

$\beta$ 2MG zou ook nog andere toepassingen dan ziekteactiviteit kunnen hebben bij SLE-patiënten. Wakabayashi *et al.* (2013) onderzochten ook dat  $\beta$ 2MG mogelijk een indicator kan zijn voor de ontwikkeling van het hemofagocytair syndroom.<sup>[29]</sup>  $\beta$ 2MG was gemiddeld hoger ( $4.9 \pm 1.8$  mg/L) bij patiënten met een hemofagocytair syndroom in vergelijking met patiënten zonder hemofagocytair syndroom ( $3.3 \pm 1.4$  mg/L). Ook als merker voor atherosclerose bij SLE-patiënten zou  $\beta$ 2MG zijn nut kunnen hebben. Leffers *et al.* (2018) vonden een significante associatie tussen  $\beta$ 2MG en beeldvormingsmerkers voor atherosclerose (aanwezigheid van carotidenplaques en coronair calcium).<sup>[35]</sup>

**Tabel II: In de literatuur gerapporteerde  $\beta$ 2MG-concentraties bij patiënten met systemische lupus erythematosus, al dan niet in vergelijking met gezonde controles.** In sommige studies wordt een onderscheid gemaakt tussen patiënten met actieve of niet-actieve ziekte en patiënten met renale aantasting. AZ = actieve ziekte, NAZ = niet-actieve ziekte, CG = controlegroep, tSLE = totaal aantal patiënten met SLE geïncludeerd in de studie.

Studie	Systemische lupus erythematosus			Gezonde controles		Significantie	
	Subgroep	N	$\beta$ 2MG (mg/L)	N	$\beta$ 2MG (mg/L)	Vergelijking	P-waarde
Weissel et al. (1976) <sup>[24]</sup>	Nefritis	10	6.56 $\pm$ 3.5	9	1.40 $\pm$ 0.3	Nefritis vs CG	<0.001
	Non-nefritis	19	2.81 $\pm$ 1.3			Non-nefritis vs CG	<0.05
Font et al. (1986) <sup>[31]</sup>	tSLE	62	2.87 $\pm$ 2.19	-	1.48 $\pm$ 0.52	tSLE vs CG	<0.001
	AZ	22	4.53 $\pm$ 2.89			AZ vs NAZ	<0.001
	NAZ	40	2.40 $\pm$ 1.80				
Samsonov et al. (1995) <sup>[27]</sup>	tSLE	52	3.35 $\pm$ 2.71	-	-	-	-
Castro et al. (2003) <sup>[36]</sup>	tSLE	25	2.1 $\pm$ 0.5	30	1.4 $\pm$ 0.8	-	-
Kim et al. (2010) <sup>[28]</sup>	tSLE	100	2.64 $\pm$ 0.11	50	2.14 $\pm$ 0.04	tSLE vs CG	<0.001
Hermansen et al. (2012) <sup>[19]</sup>	tSLE	62	2.8 (1.1 – 21.6)	10	1.2 (0.9 – 1.7)	tSLE vs CG	<0.001
Wakabayashi et al. (2013) <sup>[29]</sup>	AZ	16	3.7 $\pm$ 1.6	-	-	AZ vs NAZ	<0.001
	NAZ	16	2.2 $\pm$ 0.8				
Zychowska et al. (2018) <sup>[18]</sup>	tSLE	69	3.0 $\pm$ 1.2	-	-	-	-
Aghdashi et al. (2019) <sup>[30]</sup>	tSLE	50	6.52 $\pm$ 0.77	25	2.80 $\pm$ 0.26	tSLE vs CG	<0.001

## PRIMAIR SJÖGREN SYNDROOM (pSS)

Het primair syndroom van Sjögren (pSS) wordt gekenmerkt door een progressieve destructie van de speeksel- en traanklieren door lymfocyten en plasmacellen.<sup>[37]</sup> Dit leidt voornamelijk tot klachten van droge ogen en een droge mond, maar pSS kan verschillende organen aantasten.<sup>[38]</sup> Bij pSS is het syndroom niet geassocieerd met andere ziekten, terwijl de secundaire vorm (sSS) overlap impliceert met een andere reumatische ziekte, meestal reumatoïde artritis (RA) of SLE.<sup>[38]</sup> Qua klinische kenmerken, kan men pSS opdelen in twee categorieën, enerzijds de exocriene glandulaire manifestaties, en anderzijds de extraglandulaire manifestaties (o.a. gewrichten, longen, zenuwen of nieren).<sup>[39]</sup>

De diagnose van pSS is complex en gebaseerd op zowel klinische als histologische en laboratoriumbevindingen.<sup>[38]</sup> Mogelijke pSS-patiënten worden klinisch onderzocht op vergrote traan- en of speekselklieren (eerder zeldzaam waargenomen). Daarnaast wordt de patiënt onderzocht op tekenen van lagere traan- en speekselproductie, en al dan niet verminderde functie. Klinisch kunnen er tekenen zijn van keratoconjunctivitis sicca en ter hoogte van de mond droge mucosa, cariës en hyperlobulatie van de tong. Er bestaan eveneens functietesten voor een verminderde functie van de traanklieren (bv. Schirmertest) en de speekselklieren (bv. ongestimuleerde speekseltest).<sup>[40]</sup> Eventueel wordt ook een biopsie van de lip genomen voor histopathologisch onderzoek. Daarnaast is de aanwezigheid van auto-antistoffen tegen Ssa/Ro- en/of Ssb/La-antigenen opgenomen in de diagnostische criteria van de *American European Consensus Group* (2002).<sup>[40]</sup>

Net zoals bij SLE, zijn er verschillende score-systemen ontwikkeld om de ziekteactiviteit bij pSS-patiënten te monitoren. Eén van de belangrijkste werd ontwikkeld door de EULAR, namelijk de *EULAR Sjögren's syndrome disease activity index* (ESSDAI).<sup>[41]</sup> Deze score wordt berekend op basis van twaalf orgaanspecifieke domeinen, waarvan de meeste klinisch geëvalueerd worden. Er zijn slechts twee laboratoriumtechnische domeinen, namelijk hematologisch (cytopenieën) en biologisch (o.a. complement-concentraties, hypergammaglobulinemie, IgG stijging en cryoglobulinen). Een variant op de ESSDAI score is de ClinESSDAI score, waarin het biologisch domein wordt weggelaten uit het score-systeem.<sup>[42]</sup> Dit om collineariteit te vermijden in studies die onderzoek doen naar B-cel biomerkers. Daarnaast is het tweede belangrijke score-systeem de ESSPRI, namelijk de *Eular SS patient-reported index*, waarbij patiënten worden bevraagd over hun gevoel van droogte, vermoeidheid en spier- en/of gewrichtspijn.<sup>[9,10]</sup>

Een mogelijke merker voor ziekteactiviteit die aangehaald wordt in de literatuur is  $\beta$ 2MG. In 1975 werd  $\beta$ 2MG voor het eerst beschreven als mogelijke biomarker voor pSS. Michalski et al. (1975) detecteerden hoge concentraties  $\beta$ 2MG in speeksel van patiënten met pSS, waarbij er eveneens een correlatie was tussen de  $\beta$ 2MG-concentratie en de graad van inflammatie in een speekselklierbiopt.<sup>[43]</sup> Daarnaast vonden ook Talal et al. (1975) verhoogde  $\beta$ 2MG-concentraties in speeksel van pSS-patiënten, die daalden na respons op systemische therapie.<sup>[44]</sup> In de daaropvolgende jaren bevestigden verschillende onderzoekers dat  $\beta$ 2MG-concentraties inderdaad verhoogd zijn in speeksel van pSS-patiënten in vergelijking met gezonde individuen of in vergelijking met patiënten met sicca symptomen zonder onderliggende auto-immuunziekte (**Tabel III**).<sup>[36,45–52]</sup> Er bestaan echter wel zeer grote verschillen in gerapporteerde  $\beta$ 2MG-concentraties in speeksel, zoals aangegeven door Riega-Torres et al. (2017), die mogelijk te wijten zijn aan verschillen in meetmethodes. De hoogst gerapporteerde speekselconcentratie van  $\beta$ 2MG was 32.8 mg/L in een case report van Asashima et al. (2012), die ook terug daalde na effectieve corticosteroïdentherapie.<sup>[53]</sup> Volgens Garza-García et al. (2017) bestaat er een positieve correlatie tussen  $\beta$ 2MG-concentraties in speeksel en de ESSPRI-score.<sup>[54]</sup> Ook in traanvocht van pSS-patiënten is het gehalte  $\beta$ 2MG hoger in vergelijking met gezonde personen.<sup>[55]</sup>

Daarnaast ging men ook op zoek naar de waarde van  $\beta$ 2MG in serum bij pSS. In 1975 werd voor het eerst beschreven dat  $\beta$ 2MG verhoogd was in het serum van pSS-patiënten, waarbij de hoogste concentraties gezien werden bij geassocieerde renale of lymfoproliferatieve complicaties.<sup>[43]</sup> Verschillende groepen bevestigden in de jaren daarna dat  $\beta$ 2MG in serum inderdaad verhoogd is bij pSS-patiënten (**Tabel IV**).<sup>[15,36,48,49,56–61]</sup> Een belangrijke studie is van Gottenberg et al. (2013) die  $\beta$ 2MG bepaald hebben in een cohorte van 395 patiënten waar de mediane  $\beta$ 2MG-concentratie 2.2 mg/L bedroeg.<sup>[15]</sup>



**Tabel III: In de literatuur gerapporteerde  $\beta$ 2MG-concentraties in speeksel van patiënten met het syndroom van Sjögren (SS).** In sommige studies wordt een onderscheid gemaakt tussen de primaire vorm van SS (pSS) en de secundaire vorm van SS (sSS). CG = controle groep.

Studie	Sjögren syndroom			Gezonde controles		Significantie	
	Subgroep	N	$\beta$ 2MG (mg/L)	N	$\beta$ 2MG (mg/L)	Vergelijking	P-waarde
Swaak et al. (1988) <sup>[46]</sup>	pSS	19	1.13 $\pm$ 0.58	20	0.53 $\pm$ 0.22	-	-
	sSS	15	1.39 $\pm$ 0.69				
Castro et al. (2003) <sup>[36]</sup>	pSS	19	2.1 $\pm$ 0.3	30	0.7 $\pm$ 0.1	pSS vs CG	<0.001
	sSS	15	2.1 $\pm$ 0.4			sSS vs CG	<0.001
Asashima et al. (2012) <sup>[53]</sup>	pSS	1	32.8	-	-	-	-
Asashima et al. (2013) <sup>[51]</sup>	pSS	71	5.3 $\pm$ 4.6	75	1.2 $\pm$ 0.7	-	-
	sSS	50	5.1 $\pm$ 2.0				
Garza-García et al. (2017) <sup>[54]</sup>	pSS	71	0.00067	-	-	-	-
Riega-Torres et al. (2017) <sup>[50]</sup>	pSS	64	0.00071	63	0.00035	-	-
	sSS	64	0.00076				

Een verhoogd  $\beta$ 2MG in serum is ook geassocieerd met extraglandulaire manifestaties van pSS, onder andere met pulmonale en renale aantasting.<sup>[58,62–64]</sup> Hoge concentraties  $\beta$ 2MG waren een goede predictieve factor voor het ontwikkelen van distale renale tubulaire acidose bij pSS-patiënten.<sup>[62,63]</sup> Patiënten die verhoogde  $\beta$ 2MG-concentraties hadden bij aanvang van de ziekte hadden een hoger risico op longfunctie-problemen.<sup>[64]</sup> Ook stelden verschillende andere onderzoeksgroepen vast dat  $\beta$ 2MG in serum geassocieerd is met systemische ziekteactiviteit, door een correlatie aan te tonen tussen  $\beta$ 2MG en de ESSPRI-, ESSDAI- of de ClinESSDAI-score.<sup>[10,15,39,61,65,66]</sup> Daarnaast werd in enkele studies vastgesteld dat patiënten met een exacerbatie van pSS hogere concentraties  $\beta$ 2MG hebben, dewelke na klinische effectieve therapie afnemen.<sup>[43,58]</sup>

Ook werd in verschillende studies gezocht naar een correlatie tussen  $\beta$ 2MG en de aan- of afwezigheid van auto-antistoffen. Davidson et al. (1999) vonden dat  $\beta$ 2MG-concentraties in serum hoger waren bij patiënten met anti-SSa of anti-SSb antistoffen.<sup>[60]</sup> Als aanvulling hierop stelden Gottenberg et al. (2005) vast dat serum  $\beta$ 2MG-concentraties het hoogst zijn bij patiënten met zowel anti-SSa als anti-SSb antistoffen.<sup>[58]</sup>

$\beta$ 2MG kan ook een voorspellende waarde hebben voor het ontwikkelen van pSS bij patiënten met sicca symptomen (droge ogen en/of droge mond) zonder bewezen onderliggend lijden.<sup>[67]</sup> Patiënten die pSS ontwikkelden over het verloop van de studie (11 jaar) hadden bij baseline een significant hogere  $\beta$ 2MG-concentratie in serum, namelijk 2.15 mg/L in vergelijking met 1.63 mg/L bij patiënten die geen pSS ontwikkelden.

Patiënten met Sjögren syndroom hebben een hoger risico op het ontwikkelen van een non-Hodgkin lymfoom (NHL) in vergelijking met de gewone populatie.<sup>[48,68]</sup> Verschillende factoren worden als predictief beschouwd voor de evolutie naar een NHL bij pSS-patiënten, zoals o.a. persisterend vergrote speekselklieren, adenopathie, monoklonale gammopathie, maar ook verhoogd  $\beta$ 2MG.<sup>[68]</sup> Michalski et al. vonden in 1975 reeds verhoogde  $\beta$ 2MG-concentraties in 77% van de patiënten met pSS en een lymfoom.<sup>[43]</sup> In 2001, beschreven Pertovaara et al.  $\beta$ 2MG als een onafhankelijke predictieve factor voor de ontwikkeling van een lymfoom bij pSS-patiënten.<sup>[69]</sup> In een Finse cohorte van 110 pSS-patiënten zagen zij dat de gemiddelde  $\beta$ 2MG-concentratie bij diegenen die een lymfoom ontwikkelden 5.4 mg/L was bij baseline, in vergelijking met 3.2 mg/L bij diegenen die geen lymfoom ontwikkelden. Gottenberg et al. (2013) vonden een significant verschil in  $\beta$ 2MG-concentratie bij pSS-patiënten met een voorgeschiedenis van lymfoom in vergelijking met pSS-patiënten zonder een lymfoom in de voorgeschiedenis (2.6 mg/L vs. 2.1 mg/L).<sup>[15]</sup>

**Tabel IV: In de literatuur gerapporteerde  $\beta$ 2MG-concentraties in serum van patiënten met het syndroom van Sjögren.** In sommige studies wordt een onderscheid gemaakt tussen de primaire vorm van SS (pSS) en de secundaire vorm van SS (sSS). Afkortingen: ANA = antinucleaire antistoffen, RF = reumafactor, dRTA = distale renale tubulaire acidose.

Studie	Sjögren syndroom			Gezonde controles		Significantie	
	Subgroep	N	$\beta$ 2MG (mg/L)	N	$\beta$ 2MG (mg/L)	Vergelijking	P-waarde
Krejsek et al. (1997) <sup>[59]</sup>	pSS	-	4.4 $\pm$ 1.5	-	1.3 $\pm$ 0.38	-	-
	sSS		4.4 $\pm$ 2.67				
Davidson et al. (1999) <sup>[60]</sup>	pSS: sero-	32	1.8 $\pm$ 0.5	-	-	-	-
	pSS: ANA/RF	23	1.9 $\pm$ 0.4				
	pSS: anti-SSa/SSb	19	4.2 $\pm$ 1.6				
Pertovaara et al. (1999) <sup>[62]</sup>	pSS met dRTA	18	3.3 $\pm$ 1.6	-	-	dRTA vs	<0.025
	pSS zonder dRTA	37	2.6 $\pm$ 0.6			zonder dRTA	
Pertovaara et al. (2001) <sup>[69]</sup>	pSS	110	3.10 $\pm$ 1.50	-	-	-	-
Pertovaara et al. (2001) <sup>[63]</sup>	pSS met dRTA	-	3.1 $\pm$ 1.1	-	-	dRTA vs	0.072
	pSS zonder dRTA		2.6 $\pm$ 0.8			zonder dRTA	
Castro et al. (2003) <sup>[36]</sup>	pSS	19	2.8 $\pm$ 0.7	30	1.4 $\pm$ 0.8	pSS vs sSS	<0.001
	sSS	15	4.7 $\pm$ 1.3			sSS vs CG	<0.001
Pertovaara et al. (2004) <sup>[64]</sup>	pSS	19	3.07 $\pm$ 0.96	-	-	-	-
Gottenberg et al. (2005) <sup>[58]</sup>	pSS	154	1.9 $\pm$ 0.9	-	-	-	-
Gottenberg et al. (2013) <sup>[15]</sup>	pSS	395	2.2 $\pm$ 1.4	-	-	-	-
Pertovaara et al. (2014) <sup>[10]</sup>	pSS	90	2.38 $\pm$ 0.70	-	-	-	-
Lee et al. (2016) <sup>[39]</sup>	pSS	69	1.57 $\pm$ 0.08	22	1.19 $\pm$ 0.08 (Sicca)	pSS vs Sicca	0.023
Jülich et al. (2018) <sup>[61]</sup>	SS	46	2.76	-	-	-	-
Caraba et al. (2019) <sup>[57]</sup>	pSS	32	2.84 $\pm$ 0.55	32	1.86 $\pm$ 0.44	pSS vs CG	<0.0001

### **ANTWOORD OP VRAAG III**

#### SYSTEMISCHE LUPUS ERYTHEMATOSUS (SLE)

Er werd in meerdere onafhankelijke studies aangetoond dat  $\beta$ 2MG verhoogd is bij SLE-patiënten in vergelijking met gezonde personen. Daarnaast correleert  $\beta$ 2MG met ziekteactiviteit, voornamelijk vastgesteld op basis van de SLEDAI-score.  $\beta$ 2MG zou eventueel ook gebruikt kunnen worden voor therapiemonitoring. Huidige gegevens suggereren een correlatie tussen  $\beta$ 2MG en andere merkers voor SLE, zoals anti-dsDNA titer en complement C3 en C4, maar dit kon nog niet voldoende bevestigd worden in onafhankelijke studies.

#### PRIMAIR SJÖGREN SYNDROOM (pSS)

In de literatuur werd aangetoond dat  $\beta$ 2MG verhoogd is in zowel speeksel als serum van patiënten met pSS.  $\beta$ 2MG correleert met systemische ziekteactiviteit, geobjectiveerd door ziektescores als de ESSDAI en de ESSPRI. Daarnaast is  $\beta$ 2MG ook geassocieerd met extraglandulaire manifestaties van pSS. Ook zou  $\beta$ 2MG gebruikt kunnen worden om therapierespons op te volgen. Bovendien is de  $\beta$ 2MG-concentratie het hoogst bij seropositieve pSS. Tot slot zou  $\beta$ 2MG ook een voorspellende waarde kunnen hebben voor de ontwikkeling van een lymfoom.

#### IV. STUDIE IMELDAZIEKENHUIS: BEPALING VAN $\beta$ 2-MICROGLOBULINE BIJ SYSTEMISCHE LUPUS ERYTHEMATOSUS EN PRIMAIR SJÖGREN SYNDROOM.

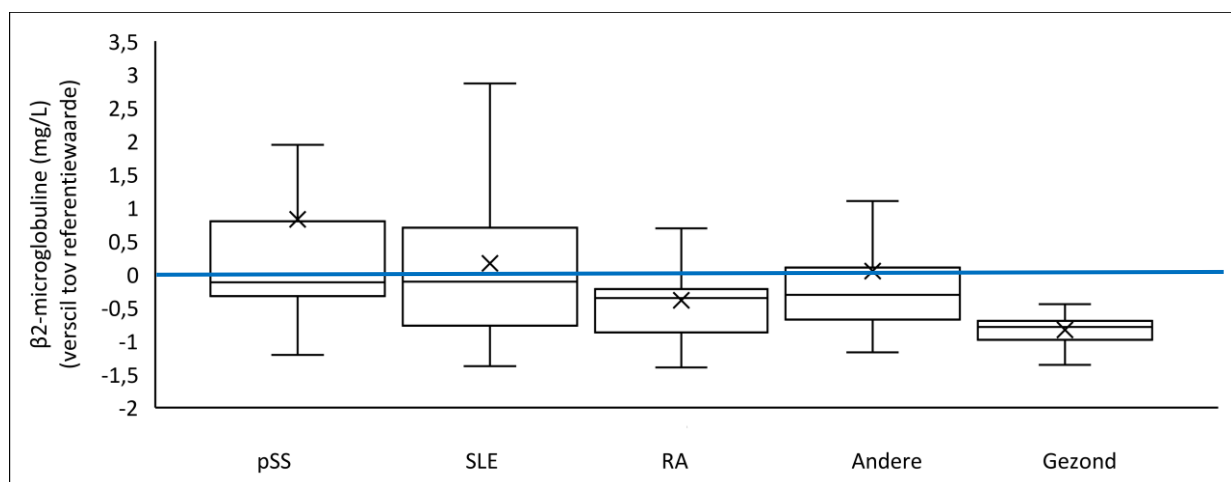
Op basis van §II en §III werd besloten om in het Imeldaziekenhuis (Bonheiden) retrospectief  $\beta$ 2MG te bepalen in gestockeerde serum- en heparinestalen van patiënten met SLE, pSS en een aantal andere auto-immuunziekten.

Er werd nagegaan of  $\beta$ 2MG hoger was bij SLE- en pSS-patiënten in vergelijking met patiënten met andere auto-immuunziekten en in vergelijking met een gezonde controlegroep. Daarnaast werd bij een beperkt aantal patiënten  $\beta$ 2MG gemeten in opeenvolgende stalen om na te gaan hoe  $\beta$ 2MG zich gedraagt gedurende het ziekteverloop en in verhouding tot de gerapporteerde ziekteactiviteit door de behandelende artsen. Ook werd bestudeerd of er in de populatie SLE-patiënten in het Imeldaziekenhuis correlaties bestaan tussen  $\beta$ 2MG en de anti-dsDNA titer en C3/C4-concentraties.

$\beta$ 2MG werd bepaald met de Tina-Quant<sup>®</sup> immunoturbidimetrische assay op Cobas<sup>®</sup> 6000 (Roche, Bazel, Zwitserland). Referentiewaarden voor  $\beta$ 2MG werden gebruikt zoals beschreven in de bijsluiter (<60 jaar: 0.8-2.4 mg/L, > 60 jaar:  $\leq$ 3 mg/L). Voor statistische analyses werd gebruik gemaakt van Analyse-it<sup>®</sup> in Excel 2013 met een significantieniveau van 5%. In **bijlage II** worden de patiëntkarakteristieken vermeld.

##### ALGEMEEN

$\beta$ 2MG werd bepaald in serum- of heparinestalen van patiënten met gekende SLE (n = 25), gekende pSS (n = 23), gekende reumatoïde artritis (RA) (n = 16), andere auto-immuunziekten (n = 29) en een gezonde controlegroep (n = 22) (**Figuur II**).  $\beta$ 2MG-concentraties zijn weergegeven t.o.v. de referentiewaarden.



**Figuur II:**  $\beta$ 2-microglobuline-concentraties bij patiënten met primair Sjögren syndroom (pSS), systemische lupus erythematosus (SLE), reumatoïde artritis (RA), een groep patiënten met andere auto-immuunziekten (andere) en een gezonde controlegroep.  $\beta$ 2MG-concentraties zijn weergegeven als verschil t.o.v. de referentiewaarden (<60 jaar: de bovengrens van 2.4 mg/L wordt als referentie gebruikt), > 60 jaar:  $\leq$ 3 mg/L). Kruisjes geven gemiddelde waarden weer. Het nulpunt wordt weergegeven door de blauwe lijn.

Bij alle patiënten, ongeacht welke auto-immuunziekte, is de mediane  $\beta$ 2MG-concentratie lager dan de referentiewaarde (zoals opgegeven door de bijsluiter van de firma). De mediane  $\beta$ 2MG-concentratie t.o.v. de referentiewaarde lag hoger bij patiënten met pSS en SLE in vergelijking met patiënten met RA en andere auto-immuunziekten. De gemiddelde  $\beta$ 2MG-concentratie t.o.v. de referentiewaarde is echter hoger dan de referentiewaarde bij patiënten met pSS (0,82 mg/L) en SLE (0,16 mg/L). In beide groepen werd wel een hoge variatie vastgesteld in  $\beta$ 2MG-concentratie, mogelijk door patiënten met meer of minder actieve ziekte zoals beschreven werd in de literatuur (cfr. onderzoeksvraag §III). Gezien de retrospectieve aard van deze studie, kon echter niet nagegaan worden of hogere  $\beta$ 2MG-concentraties toe te schrijven waren aan hogere ziekteactiviteit. Patiënten met RA en andere auto-immuunaandoeningen hadden een mediane en gemiddelde  $\beta$ 2MG-concentratie lager dan of gelijk aan de referentiewaarde.

In een studie van Gottenberg *et al.* (2013) werd bij een cohort van 395 pSS-patiënten een mediane  $\beta$ 2MG-concentratie gemeten van 2.2 mg/L.<sup>[15]</sup> De mediane  $\beta$ 2MG-concentratie in de studie in het Imeldaziekenhuis lag in lijn met deze bevindingen, namelijk 2.67 mg/L. Zeker in vergelijking met een groep gezonde personen (mediane  $\beta$ 2MG-concentratie 1.64 mg/L) lage deze waarde veel hoger. De mediane concentratie van de pSS-patiënten bij de populatie <60 jaar (n = 14) was 2.44 mg/L en bij de populatie >60 jaar (n = 9) was 2.74 mg/L. Deze liggen respectievelijk net buiten en net binnen de referentiewaarden van de bijsluiter. In een studie van Kim *et al.* (2010) bedroeg de gemiddelde  $\beta$ 2MG-concentratie bij een groep van 100 SLE-patiënten 2.64 mg/L.<sup>[28]</sup> De gemiddelde en mediane  $\beta$ 2MG-concentratie in deze studie in het Imeldaziekenhuis bedroegen 2.70 mg/L en 2.30 mg/L wat in lijn ligt met de bevindingen van Kim *et al.* (2010).<sup>[28]</sup> De mediane concentratie van de SLE-patiënten bij de populatie <60 jaar (n = 20) was 2.29 mg/L en bij de populatie >60 jaar (n = 9) was 2.79 mg/L. Deze concentraties liggen in beide populaties net binnen de referentiewaarden.

De vraag rijst dus of de referentiewaarden dienen aangepast te worden. Zeker wanneer de resultaten van de gezonde controlegroep in rekening wordt gebracht. De gemiddelde concentratie  $\beta$ 2MG bedroeg in deze groep

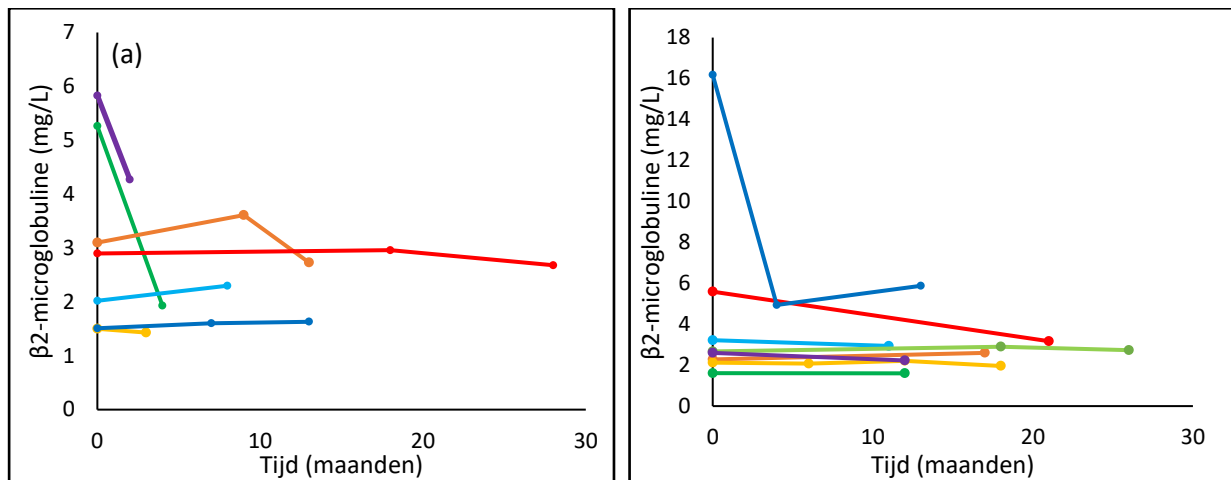
1.65 mg/L met een maximale waarde van 1.95 mg/L binnen de populatie <60 jaar (n = 19) en 2.13 mg/L binnen de populatie > 60 jaar (n = 3). Dit zou uiteraard in een bredere studie moeten worden geverifieerd. Maar gezien de verouderde bronnen betreffende referentiewaarden voor  $\beta$ 2MG lijkt dit niet overbodig.

### FOLLOW-UP

Van enkele SLE- en SS-patiënten waren meerdere stalen beschikbaar. Zo kon nagegaan worden welke evolutie  $\beta$ 2MG-waarden ondergaan gedurende het ziekteverloop (**figuur III**).

Bij vijf van de zeven patiënten met SLE was de  $\beta$ 2MG-concentratie gedurende follow-up vrij stabiel. Bij één patiënt was er een drastische daling van  $\beta$ 2MG, van 5.3 mg/L naar 1.9 mg/L. De hoge  $\beta$ 2MG-concentratie van deze patiënt werd vastgesteld bij diagnose en nam sterk af na enkele maanden onder adequate therapie. Een andere patiënt had een opstoot van SLE met een  $\beta$ 2MG-concentratie van 5.8 mg/L die zakte naar 4.3 mg/L na opstart van een corticosteroidenkuur.

Bij patiënten met pSS was de  $\beta$ 2MG-concentratie in het algemeen vrij stabiel, namelijk bij zes van de acht patiënten. Bij twee patiënten was er een grote variatie. De eerste patiënt had bij diagnose een  $\beta$ 2MG-concentratie van 16.2 mg/L die door behandeling met glucocorticoiden daalde tot 4.9 mg/L. De tweede patiënt had op tijdstip 0 een  $\beta$ 2MG-concentratie van 5.6 mg/L. Dit was een patiënt met het syndroom van Sjögren dat ontaard was in een marginale zone lymfoom, een vorm van een NHL. Bij deze patiënt nam de  $\beta$ 2MG-concentratie af tot 3.2 mg/L onder therapie.



**Figuur III: Follow-up van  $\beta$ 2-microglobuline concentraties over enkele maanden bij SLE- en pSS-patiënten.** (a) Follow-up bij SLE-patiënten (n = 7) en (b) Follow-up bij pSS-patiënten (n = 8). Elke patiënt wordt weergegeven door een andere kleur.

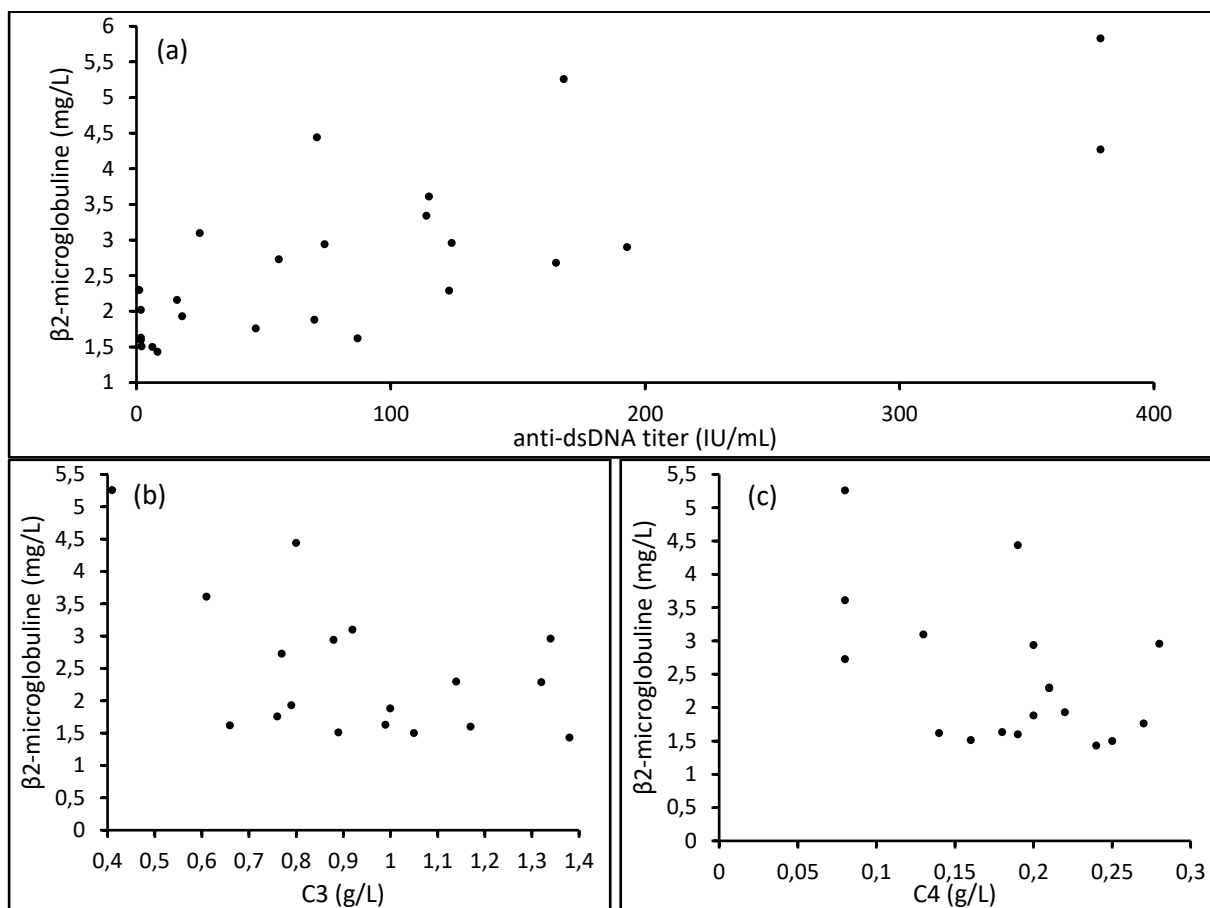
Uit deze zeer beperkte follow-up studie kunnen we concluderen dat  $\beta$ 2MG in het algemeen vrij stabiel blijft tijdens het verloop van de ziekte. Daarnaast zou  $\beta$ 2MG mogelijk kunnen fungeren als merker om de therapie op te volgen gezien bij vier patiënten de  $\beta$ 2MG-concentratie afnam onder adequate therapie.

### CORRELATIE TUSSEN $\beta$ 2MG EN ANTI-dsDNA TITER, C3 en C4 BIJ SLE

In de literatuur wordt door enkele auteurs bij SLE-patiënten een correlatie aangetoond tussen  $\beta$ 2MG en de anti-dsDNA titer, C3 of C4 (*vide supra*). Dit kon echter niet steeds bevestigd worden in onafhankelijke studies. Daarom werd in deze CAT ook onderzocht of er eventueel een correlatie bestond tussen deze parameters.

Bij 25 SLE-patiënten was de anti-dsDNA titer gekend. De Spearman correlatie-analyse toonde een positieve correlatie met  $\beta$ 2MG op het 5% significantieniveau ( $p < 0.0001$ ) met een correlatiecoëfficiënt van 0.698 [0.464; 1.000] (**Figuur IVa**). Dus zoals beschreven in de literatuur kon in onze studie in het Imeldaziekenhuis ook een positief verband worden aangetoond tussen  $\beta$ 2MG en de anti-dsDNA titer.

Van 18 SLE-patiënten in deze studie waren de C3- en C4-concentraties gekend. Er werd een Spearman correlatie-analyse uitgevoerd om na te gaan of er een correlatie bestond met  $\beta$ 2MG (**Figuur IVb en IVc**). In deze studie kon geen correlatie aangetoond worden tussen  $\beta$ 2MG en C3 ( $p = 0.0895$ ) of C4 ( $p = 0.1230$ ) met respectievelijke correlatiecoëfficiënten van -0.412 [-0.744; 0.083] van -0.377 [-0.725; 0.124].



**Figuur IV: Correlatie tussen  $\beta$ 2MG en de anti-dsDNA titer, C3 en C4 binnen de patiëntengroep met gekende SLE.** (a) Spearman correlatie-analyse ( $n = 25$ ) tussen  $\beta$ 2MG en de anti-dsDNA titer toont een positieve correlatie met een correlatie-coëfficiënt van 0.698 [0.464;1.000] ( $p < 0.0001$ ). (b) Spearman correlatie-analyse ( $n = 18$ ) tussen  $\beta$ 2MG en C3 toont geen correlatie met een correlatie-coëfficiënt van -0.412 [-0.744;0.083] ( $p = 0.0895$ ). (c) Spearman correlatie-analyse ( $n = 18$ ) tussen  $\beta$ 2MG en C4 toont geen correlatie met een correlatie-coëfficiënt van -0.377 [-0.725;0.124] ( $p = 0.1230$ ).

## ANTWOORD OP VRAAG IV

### SYSTEMISCHE LUPUS ERYTHEMATOSUS (SLE)

Bij SLE-patiënten lag de mediane  $\beta$ 2MG-concentratie lager dan de bovenste referentiewaarde, maar de gemiddelde  $\beta$ 2MG-concentratie was hoger dan de bovenste referentiewaarde (bijsluiter Tina-Quant<sup>®</sup> op Roche Cobas<sup>®</sup> 6000: <60 jaar: 0.8-2.4 mg/L, > 60 jaar:  $\leq 3$  mg/L). Bij de meeste SLE-patiënten was de  $\beta$ 2MG-concentratie vrij stabiel gedurende het ziekteverloop. Bij twee patiënten nam de  $\beta$ 2MG-concentratie af na instellen van de adequate therapie. Mogelijk zou  $\beta$ 2MG bij SLE gebruikt kunnen worden voor de opvolging van therapeutische respons. Daarnaast werd ook een positieve correlatie aangetoond tussen de anti-dsDNA titer en  $\beta$ 2MG binnen de groep van SLE-patiënten. Er kon echter geen correlatie aangetoond worden tussen complement C3 of C4 en  $\beta$ 2MG.

### PRIMAIRE SJÖGREN SYNDROOM (pSS)

Gemiddelde  $\beta$ 2MG-concentraties waren het hoogst bij patiënten met pSS, met een mediane  $\beta$ 2MG-waarde net onder de bovenste referentiewaarde (*vide supra*). Er is een grote variatie in  $\beta$ 2MG-concentraties binnen de groep van pSS-patiënten. Mogelijks gaat dit gepaard met het al dan niet aanwezig zijn van extraglandulaire manifestaties van pSS. Uit de beperkte follow-up studie kunnen we besluiten dat de  $\beta$ 2MG-waarde bij pSS-patiënten over het ziekteverloop vrij stabiel blijft. Bij twee patiënten daalde de  $\beta$ 2MG-concentratie sterk na instellen van adequate therapie waardoor  $\beta$ 2MG mogelijks zou kunnen ingezet worden ter opvolging van de therapeutische respons. Dit zou verder onderzocht moeten worden in meer uitgebreide longitudinale follow-up studies.

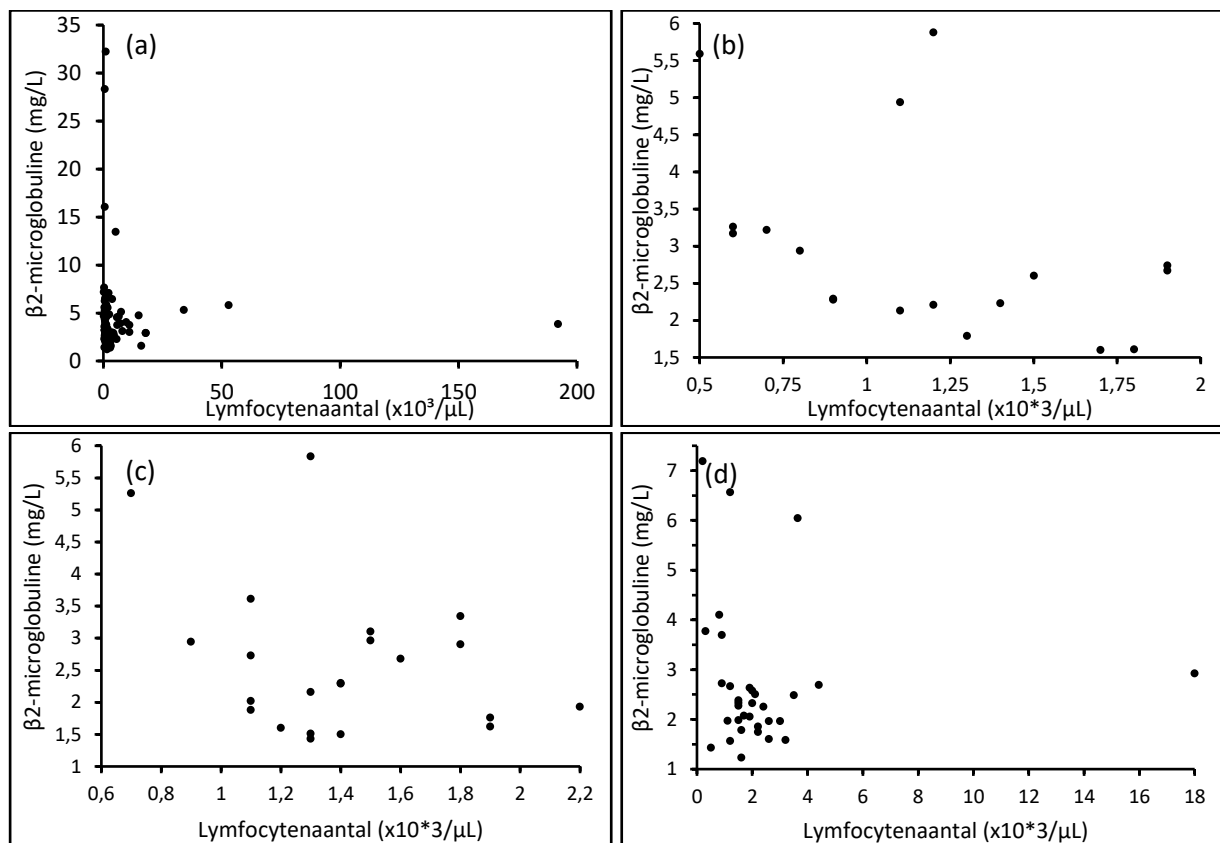
## V. IS $\beta$ 2-MICROGLOBULINE EEN ONAFHANKELIJKE MERKER VOOR ZIEKTEACTIVITEIT BIJ SYSTEMISCHE LUPUS ERYTHEMATOSUS EN PRIMAIR SJÖGREN SYNDROOM?

Bij de vorige onderzoeksvragen werd aangetoond dat  $\beta$ 2MG verhoogd is bij SLE en pSS en vermoedelijk correleert met de ziekteactiviteit. Gezien  $\beta$ 2MG echter een merker is voor lymfocytactivatie, dient de vraag gesteld of deze merker bijkomende informatie verschaft (en meerwaarde biedt) ten opzichte van andere inflammatoire markers. Hierom werd de correlatie bestudeerd met het absoluut lymfocytenaantal enerzijds en de concentratie van  $\beta$ 2MG bij infectie en lymfoproliferatieve aandoeningen bestudeerd anderzijds.

Er werd een studie uitgevoerd in het Imeldaziekenhuis (Bonheiden) waarbij  $\beta$ 2MG werd bepaald met de Tina-Quant<sup>®</sup> immunoturbidimetrische assay op Cobas<sup>®</sup> 6000 (Roche, Bazel, Zwitserland). Referentiewaarden voor  $\beta$ 2MG worden gebruikt zoals beschreven in de bijsluiters (<60 jaar: 0.8-2.4 mg/L, > 60 jaar:  $\leq$ 3 mg/L). Voor statistische analyses werd gebruik gemaakt van Analyse-it<sup>®</sup> in Excel 2013 met een significantieniveau van 5%. In **bijlage II** worden de patiëntkarakteristieken vermeld.

### LYMFOCYTENAANTAL

$\beta$ 2MG wordt beschouwd als een merker voor de activiteit van lymfocyten. Men kan zich de vraag stellen of deze activatie onafhankelijk is van het aantal lymfocyten. Als de correlatie tussen  $\beta$ 2MG en het absoluut aantal lymfocyten in perifere bloed sterk is, heeft het waarschijnlijk weinig meerwaarde om naast lymfocytentelling nog een extra bepaling uit te voeren voor  $\beta$ 2MG. Daarom werden 136 stalen verzameld waarvan het lymfocytenaantal gekend was (Sysmex<sup>®</sup>, Hyogo, Japan). De patiënten hadden uiteenlopende aandoeningen, inclusief auto-immuunziekten. Bij deze stalen werd  $\beta$ 2MG bepaald (eenmalig). Vervolgens werd een *Spearman* correlatie-analyse uitgevoerd (**figuur V**). Deze toonde geen correlatie tussen het absoluut lymfocytenaantal en de concentratie  $\beta$ 2MG ( $p = 0.1754$ ) met een correlatiecoëfficiënt van  $-0.117 [-0.284;0.058]$ . Dit betekent dus dat  $\beta$ 2MG effectief een merker is voor activiteit van lymfocyten ongeacht het absoluut lymfocytenaantal.

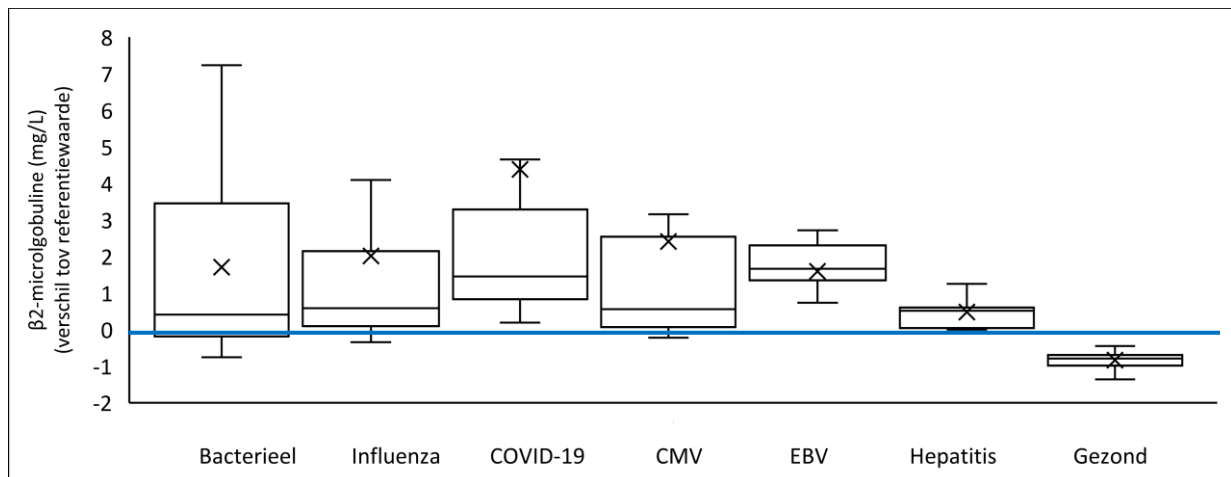


**Figuur V: Spearman correlatie analyse tussen  $\beta$ 2-microglobuline en het absoluut lymfocytenaantal, binnen de totale patiëntengroep, en binnen verschillende subgroepen (pSS, SLE en andere auto-immuunziekten).** (a) Totale studiegroep (n = 136): Er kon geen correlatie aangetoond worden ( $p = 0.1754$ ) met een correlatiecoëfficiënt van  $-0.117$  (95%CI  $[-0.284;0.058]$ ). (b) pSS (n=18): Er bestaat een negatieve correlatie ( $p = 0.0112$ ) met een correlatiecoëfficiënt van  $-0.534$  (95%CI  $[-1.000;-0.157]$ ). (c) SLE (n=22): Er kon geen correlatie aangetoond worden ( $p = 0.2354$ ) met een correlatiecoëfficiënt van  $-0.162$  (95%CI  $[-1.000;0.221]$ ). (d) Andere auto-immuunziekten (n=33): Er kon geen correlatie aangetoond worden ( $p = 0.1349$ ) met een correlatiecoëfficiënt van  $-0.198$  (95%CI  $[-1.000;0.108]$ ).

Bij de meeste auto-immuunziekten wordt voornamelijk leukopenie, en dus eventueel ook lymfopenie, vastgesteld. Bij pSS is lymfopenie zelfs opgenomen in het hematologisch domein van de ESSDAI-score.<sup>[9]</sup> Daarom werd ook een *Spearman* correlatie-analyse uitgevoerd tussen  $\beta$ 2MG en het absoluut lymfocytenaantal binnen verschillende subgroepen, nl. pSS-patiënten, SLE-patiënten en patiënten met andere auto-immuunziekten. Enkel bij pSS-patiënten werd een negatieve correlatie aangetoond ( $p = 0.0112$ ) met een correlatiecoëfficiënt van  $-0.534 [-1.000;-0.157]$ .

## INVLOED VAN INFECTIE

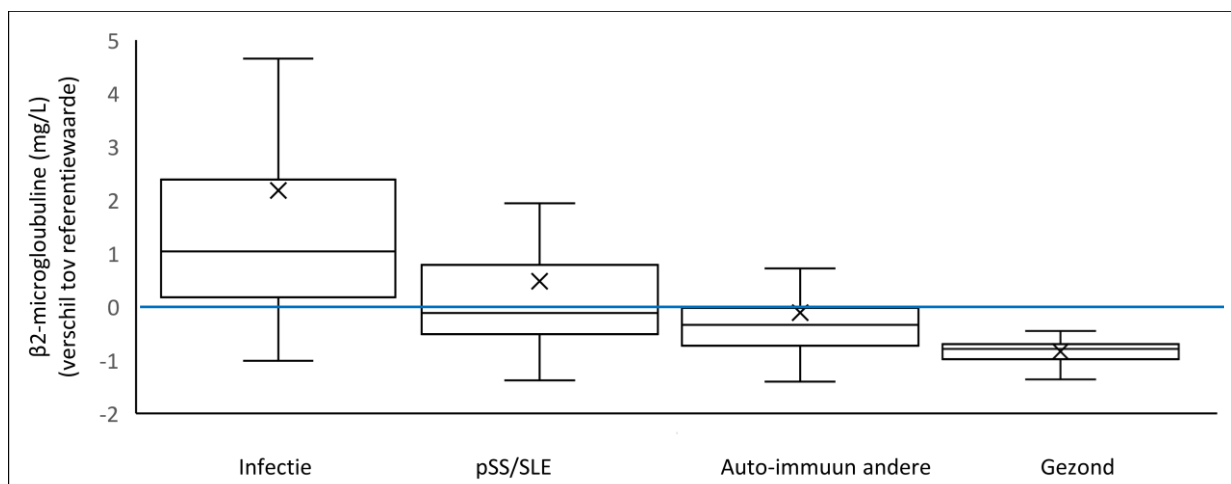
Er werd nagegaan hoe concentraties van  $\beta$ 2MG beïnvloed worden door een virale of bacteriële infectie. Bij patiënten (**bijlage II**) met een bewezen virale (n = 43) en bacteriële infectie (n = 9), werd de concentratie  $\beta$ 2MG bepaald in serum of lithiumheparine-plasma (afhankelijk van de beschikbaarheid) (**figuur VI**). Daarnaast werd ook de  $\beta$ 2MG-concentratie bepaald bij een aantal gezonde personen (n = 22).



**Figuur VI:  $\beta$ 2-microglobuline-concentraties bij infecties in vergelijking met een gezonde controlegroep.**  $\beta$ 2MG-concentraties zijn weergegeven als verschil t.o.v. de referentiewaarden (<60 jaar: 0.8-2.4 mg/L, (de bovengrens van 2.4 mg/L wordt als referentie gebruikt), > 60 jaar:  $\leq$ 3 mg/L). Patiëntengroepen zijn opgesplitst in bacteriële infectie (n = 9), influenza (n = 12), COVID-19 (n = 9), acute CMV (n = 6), acute EBV (n = 11) en hepatitis (n = 5). Kruisjes geven gemiddelde waarden weer. Het nulpunt wordt weergegeven door de blauwe lijn.

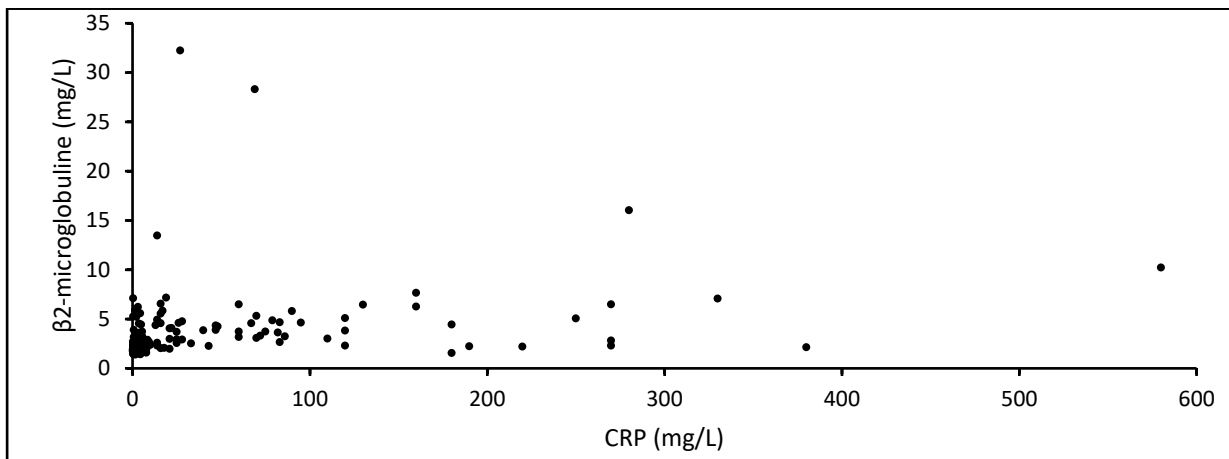
Bij zowel virale als bacteriële infecties ligt de mediane  $\beta$ 2MG-concentratie hoger dan de referentiewaarde, en duidelijk hoger in vergelijking met de gezonde populatie. Bijna alle patiënten met een virale infectie hadden een  $\beta$ 2MG-concentratie hoger dan de referentiewaarde (36/43). Bij virale infecties worden de lymfocyten immers sterk geactiveerd. Binnen de groep van patiënten met een bacteriële infectie was de variatie in  $\beta$ 2MG-concentratie het hoogst, met een verhoogde concentratie bij vijf van de negen patiënten.

In **figuur VII** wordt de mediane  $\beta$ 2MG-concentratie bij infecties vergeleken met  $\beta$ 2MG-waarden van patiënten met pSS/SLE, andere auto-immuunziekten en gezonde personen. De  $\beta$ 2MG-waarden liggen duidelijk het hoogst bij patiënten met een infectie. Dit betekent dat bij opvolging van  $\beta$ 2MG-concentraties bij pSS/SLE-patiënten een onderliggende infectie moet worden uitgesloten om de waarde correct te kunnen interpreteren.



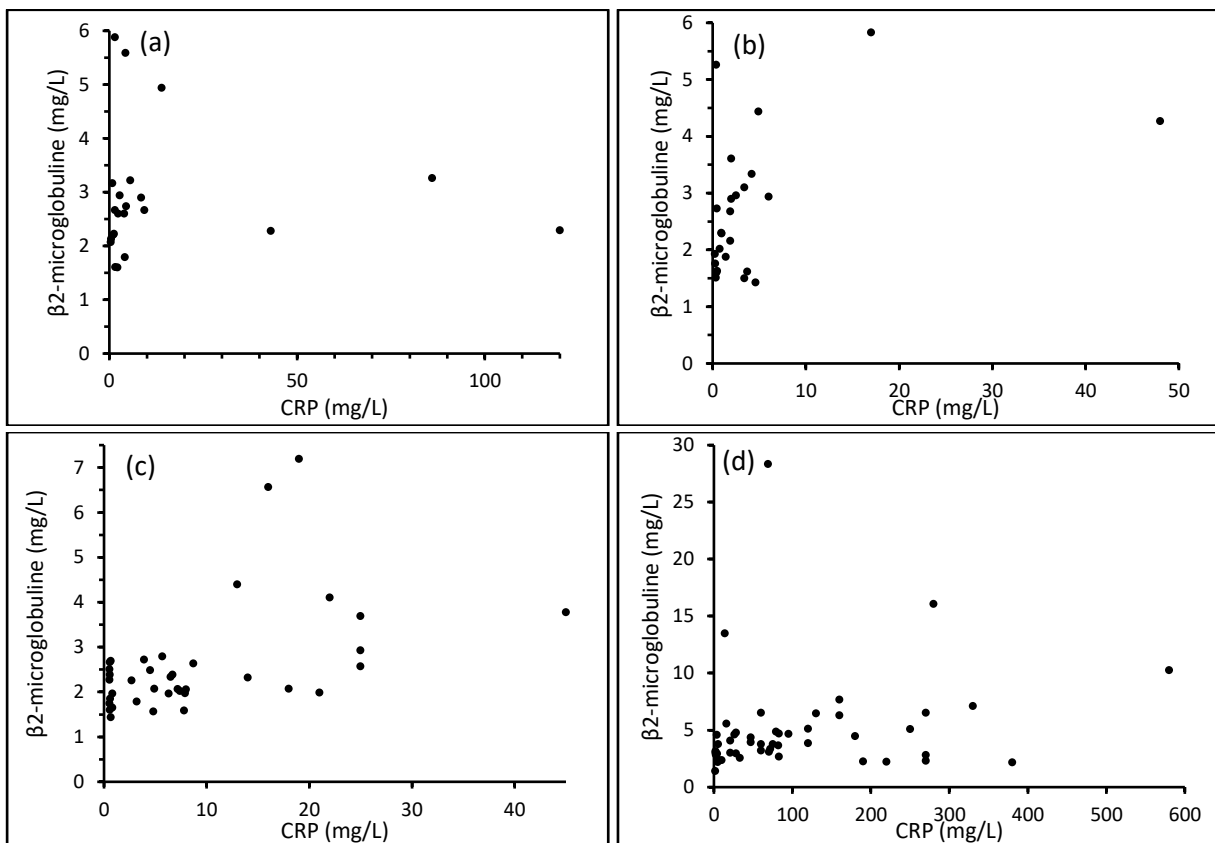
**Figuur VII:  $\beta$ 2-microglobuline-concentraties bij infecties in vergelijking met een gezonde controlegroep.**  $\beta$ 2MG-concentraties zijn weergegeven als verschil t.o.v. de referentiewaarden (<60 jaar: 0.8-2.4 mg/L, (de bovengrens van 2.4 mg/L wordt als referentie gebruikt), > 60 jaar:  $\leq$ 3 mg/L). Patiëntengroepen zijn opgesplitst in een groep met infectie, pSS/SLE-patiënten, patiënten met andere auto-immuunziekten en een gezonde controlegroep. Kruisjes geven gemiddelde waarden weer. Het nulpunt wordt weergegeven door de blauwe lijn.

Vervolgens werd nagegaan of er een correlatie bestaat tussen  $\beta$ 2MG en CRP (**figuur VIII**). CRP was gekend van 161 patiënten uit de studie. Deze hadden zeer uiteenlopende aandoeningen (patiëntkarakteristieken: zie **bijlage II**). De Spearman correlatie-analyse toonde een positieve, zij het zwakke, correlatie ( $p < 0.0001$ ) met een correlatiecoëfficiënt van 0.476 [0.366;1.000]. Dit betekent dat patiënten met een verhoogd CRP in het algemeen hogere  $\beta$ 2MG-concentraties hebben.



**Figuur VIII: Spearman correlatie analyse van  $\beta$ 2-microglobuline en CRP bij patiënten met gekend CRP (n = 161).** Er bestaat een zwak positieve correlatie met een correlatiecoëfficiënt van 0.476 (95% CI [0.366;1.000]), bij een p-waarde van <0.0001.

Vervolgens werd in verschillende subgroepen nagegaan of  $\beta$ 2MG correleerde met CRP (**Figuur IX**). Bij patiënten met pSS (n=22) kon geen correlatie aangetoond worden. Dit kan mogelijk te wijten zijn aan het feit dat CRP als inflammatoire merker bij pSS weinig nut heeft. Bij patiënten met SLE (n=25) en andere auto-immuunziekten (n=38) kon wel een significante positieve correlatie aangetoond worden tussen  $\beta$ 2MG en CRP. Dit is mogelijk te wijten aan het inflammatoire aspect van de ziekten. Dit betekent dus wel dat  $\beta$ 2MG-waarden met voorzichtigheid dienen geïnterpreteerd worden op het moment dat ze een infectie doormaken.



**Figuur IX: Spearman correlatie-analyse van de waarde van  $\beta$ 2-microglobuline en CRP binnen de groep van patiënten met pSS, SLE, andere auto-immuunziekten en infectie.** (a) pSS (n=22): Er bestaat geen correlatie met een correlatiecoëfficiënt van 0.360 (95%CI [-0.086;0.686]), bij een p-waarde van 0.096. (b) SLE (n=25): Er bestaat een positieve correlatie met een correlatiecoëfficiënt van 0.406 (95%CI [0.070;1.000]), bij een p-waarde van 0.022. (c) Auto-immuun andere (n=38): Er bestaat een positieve correlatie met een correlatiecoëfficiënt van 0.447 (95%CI [0.192;1.000]), bij een p-waarde van 0.0025. (d) Infectie (n=49): Er bestaat een positieve correlatie met een correlatiecoëfficiënt van 0.309 (95%CI [0.070;1.000]), bij een p-waarde van 0.0154.

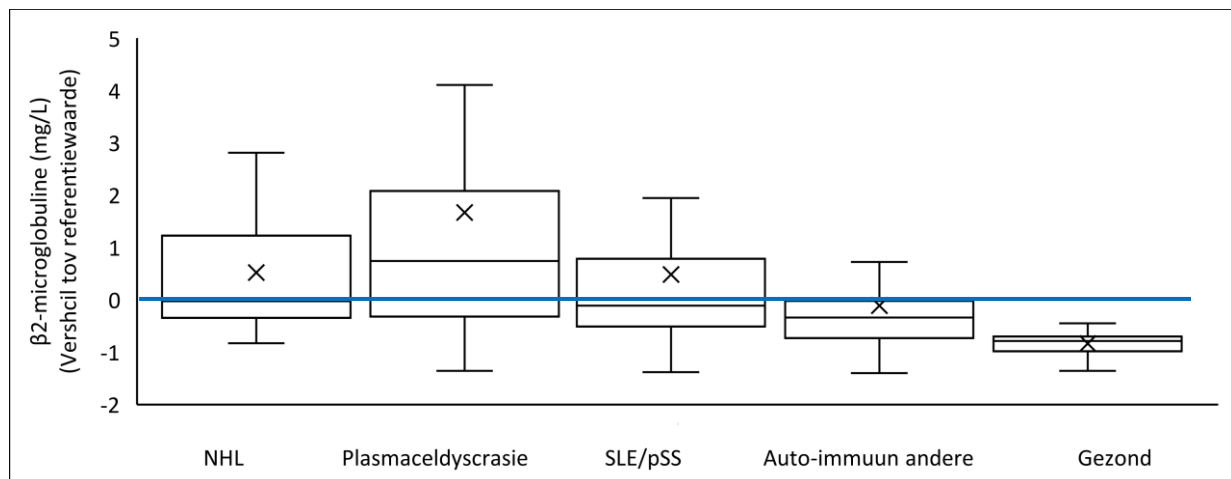
### INVLOED VAN LYMFOPROLIFERATIEVE AANDOENINGEN

Bij lymfoproliferatieve aandoeningen wordt  $\beta$ 2MG gebruikt als prognostische merker (cfr onderzoeksvraag §1). Voornamelijk bij plasmaceldyscrasieën is dit zeer goed beschreven en worden patiënten ingedeeld één van de drie ISS-stadia. Om na te gaan hoe  $\beta$ 2MG zich verhoudt tussen patiënten met een lymfoproliferatieve aandoening en patiënten met een auto-immuunziekte, werd  $\beta$ 2MG waarden bepaald bij patiënten met een non-Hodgkin lymfoom (n = 8) en een plasmaceldyscrasie (n = 14) (**figuur X**).

In het geval van NHL komt de mediane  $\beta$ 2MG-waarde overeen met de referentiewaarde. Binnen de groep van patiënten met een plasmaceldyscrasie ligt de mediane  $\beta$ 2MG-waarde boven de referentiewaarde (9/14). Er is dus



enige variatie in  $\beta$ 2MG-concentratie bij patiënten met een lymfoproliferatieve aandoening, wat ook te verwachten is gezien  $\beta$ 2MG dienst doet als prognostische merker bij deze aandoeningen.



**Figuur X:  $\beta$ 2-microglobuline-concentraties bij lymfoproliferatieve aandoeningen in vergelijking met een gezonde controlegroep.** De patiëntengroepen zijn opgesplitst in patiënten met non-Hodgkin lymfoom (NHL) (n = 8), patiënten met een plasmaceldyscrasie (n = 14), patiënten met SLE/pSS (n = 22) en patiënten met andere auto-immuunaandoeningen (n = 25).  $\beta$ 2MG-concentraties zijn weergegeven als verschil t.o.v. de referentiewaarden (<60 jaar: 0.8-2.4 mg/L, (de bovengrens van 2.4 mg/L wordt als referentie gebruikt), > 60 jaar:  $\leq$ 3 mg/L). Kruisjes geven gemiddelde waarden weer. Het nulpunt wordt weergegeven door de blauwe lijn.

Wat opvalt is dat de  $\beta$ 2MG-waarden binnen de groep met een NHL en binnen de groep met pSS/SLE zeer sterk vergelijkbaar zijn. De groep pSS/SLE is hier samen genomen voor vergelijking gezien in onderzoeksvraag §IV de  $\beta$ 2MG-waarden zeer vergelijkbaar waren tussen deze twee groepen. De gemiddelde  $\beta$ 2MG-waarde bij patiënten met een NHL bedraagt 3.45 mg/L, terwijl die bij pSS-patiënten 3.46 mg/L bedraagt in deze studie. Enerzijds is het mogelijk dat een deel van de pSS-patiënten geïnccludeerd in deze studie *at risk* is voor de ontwikkeling van een lymfoom. Anderzijds is het ook mogelijk dat  $\beta$ 2MG niet voorspellend is voor de ontwikkeling van een lymfoom, en dat de hogere  $\beta$ 2MG-concentraties waargenomen bij pSS louter ten gevolge zijn van ziekte-activiteit, net zoals bij SLE-patiënten.

#### ANTWOORD OP VRAAG V

De concentratie  $\beta$ 2MG is niet gecorreleerd met het absolute lymfocytenaantal in perifere bloed.  $\beta$ 2MG is echt een merker voor activiteit van lymfocyten, niet voor het aantal.  $\beta$ 2MG-concentraties worden wel beïnvloed door infectie, zowel viraal als bacterieel. Dit bemoeilijkt mogelijks de interpretatie van  $\beta$ 2MG-waarden bij patiënten met een auto-immuunziekte.  $\beta$ 2MG vertoont een zwak positieve correlatie met CRP, behalve in de groep patiënten met pSS. Zoals verwacht zijn de  $\beta$ 2MG-concentraties wisselend verhoogd bij lymfoproliferatieve aandoeningen, waar  $\beta$ 2MG dienst doet als prognostische merker. In deze studie lagen de  $\beta$ 2MG-waarden bij lymfoproliferatieve aandoeningen niet hoger dan bij pSS-patiënten.

#### TO DO/ACTIONS

- 1) Verdere opvolging van  $\beta$ 2MG bij patiënten met SLE en pSS in het Imeldaziekenhuis in Bonheiden zodat:
  - grotere cohorten van patiënten geïnccludeerd kunnen worden en meer solide conclusies gemaakt kunnen worden.
  - meer informatie kan verzameld worden over de evolutie van  $\beta$ 2MG tijdens het verdere ziekteverloop.
- 2) Definiëren van in-house referentiewaarden.
- 3) Invloed van nierfunctie verder onderzoeken.

**Bijlage I: Overzicht gebruikte methoden voor  $\beta$ 2MG meting in verschillende Nederlandse en Belgische ziekenhuizen**

Ziekenhuis	Methode	Toestel
Ijsselland Ziekenhuis – Capelle a/d IJssel	Chemiluminescentie immunoassay	LIAISON® DiaSorin
Erasmus MC – Rotterdam	Immunoturbidimetrie	Cobas® Roche
Medisch Universitair Centrum – Maastricht	Luminescentie enhanced immunoenzymometrische assay	/
Universitair Medisch Centrum – Utrecht	Immunonefelometrie	BN ProSpec® Siemens
Universitair Medisch Centrum – Groningen	Immunonefelometrie	BN ProSpec® Siemens
Reinier de Graaf Groep Diagnostisch Centrum – Delft	Immunoluminometrische assay	/
RadboudUMC – Nijmegen	Immunonefelometrie	Atellica® Siemens
Isala – Zwolle	Immunonefelometrie	BN ProSpec® Siemens
Ant. Van Leeuwenhoek Ziekenhuis – Amsterdam	Immunoturbidimetrie	Cobas® Roche
Amsterdam UMC – Amsterdam	Immunoturbidimetrie	Cobas® Roche
Maasstad Ziekenhuis – Rotterdam	Chemiluminescentie immunoassay	IMMULITE® Siemens
Meander Medisch Centrum – Amersfoort	Immunonefelometrie	/
Catharine Ziekenhuis – Eindhoven	Chemiluminescentie immunoassay	LIAISON® DiaSorin
Ziekenhuis Oost-Limburg – Genk	Immunonefelometrie	BN ProSpec® Siemens
AZ Sint-Jan – Brugge	Immunonefelometrie	BN ProSpec® Siemens
UZ Leuven Gasthuisberg – Leuven	Immunonefelometrie	IMMAGE® Beckman Coulter
AML – Antwerpen	Immunonefelometrie	/
UZ Brussel – Brussel	Chemiluminescentie immunoassay	IMMULITE® Siemens
UCL Saint-Luc – Brussel	Chemiluminescentie immunoassay	/
Imelda – Bonheiden	Immunoturbidimetrie	Cobas® Roche
AZ Sint-Lucas – Brugge	Immunonefelometrie	Atellica® Siemens
OLV – Aalst	Enzyme-linked Fluorescence immunoassay	VIDAS® bioMérieux
Virga Jesse Ziekenhuis – Hasselt	Immunoturbidimetrie	Cobas® Roche
AZ Delta - Roeselare	Immunoturbidimetrie	Cobas® Roche

**Bijlage II: Patiëntkarakteristieken en ruwe data  $\beta$ 2MG-meting**

$\beta$ 2MG werd gemeten in serum, gezien dit het voorkeursstaal is waarmee de validatie van deze parameter gebeurd is. Wanneer echter geen serum beschikbaar was, werd geopteerd voor meting in lithium-heparine plasma, wat ook een aanvaardbaar staal is volgens de bijsluiters. Dit werd eveneens kort geverifieerd tijdens de validatie van de meetmethode.

Staal-nummer	Geboortedatum	Diagnose	B2MG (mg/L)		Lymfocytose (x10 <sup>3</sup> / $\mu$ L)	CRP (mg/L)	Anti-dsDNA (IU/mL)
			Serum	LiHep			
120-008471	9/09/1943	RA	3,69		0,9	25	-
120-021369	5/06/1945	RA	1,96		3	0,81	-
120-025684	16/10/1949	RA	2,63		1,9	8,7	0,7
120-004046	15/12/1944	RA	4,39		-	13	2
119-158342	19/03/1959	RA	1,85		2,2	0,62	-
119-157299	17/01/1980	RA	1,58		3,2	7,8	1,3
119-165532	26/07/1996	RA	2,13		-	-	-
119-168836	8/01/1989	RA	2,05		1,9	8	1
119-146223	9/04/1949	RA	2,92		18	25	-
119-136966	20/03/1972	RA	2,07		1,7	18	-
120-015836	14/02/1955	RA	1,74		2,2	0,53	38
120-042575	13/02/1941	RA, MGUS		1,6	2,6	0,59	-
120-042653	1/08/1964	RA, MGUS		2,48	3,5	4,5	-
120-063951	16/04/1948	RA		2,66	1,2	0,56	0,7
120-056963	24/06/1979	RA		1,97	1,1	7,9	18
120-023167	20/12/1962	RA		1,78	1,6	3,2	0,9
120-017534	14/07/1964	M. Sjogren met MZL	3,17		0,6	0,84	0,8
118-070094	14/07/1964	M. Sjogren met MZL	5,59		0,5	4,3	1,1
120-013749	17/11/1976	M. Sjogren	2,6		-	2,4	0,9
118-110164	17/11/1976	M. Sjogren	2,28		0,9	43	0,9
118-150075	1/05/1983	M. Sjogren	3,22		0,7	5,6	0,9
119-144831	1/05/1983	M. Sjogren	2,94		0,8	2,8	1,9
120-008608	16/02/1954	M. Sjogren	2,29		0,9	120	-
120-032497	7/09/1947	M. Sjogren	2,67		-	1,5	22
120-018414	22/09/1960	Niet-gedifferentieerd systeemlijden	6,04		-	1,8	1,2
119-125912	20/12/1948	Niet-gedifferentieerd systeemlijden	32,23		1,1	27	1
120-083341	01/07/1960	M. Sjogren	1,96		1,4	0,45	
119-077961	01/07/1960	M. Sjogren	2,07		-	0,4	0,6
119-163651	01/07/1960	M. Sjogren	2,21		1,2	1,1	0,8
118-163730	01/07/1960	M. Sjogren	2,13		1,1	0,52	<0,5
119-068542	17/02/1943	M. Sjogren	16,18		-	-	-
119-130160	17/02/1943	M. Sjogren	4,94		1,1	14	1,4
120-075942	17/02/1943	M. Sjogren	5,88		1,2	1,5	-
120-026145	8/03/1942	M. Sjogren	1,79		1,3	4,2	1,2
120-033482	21/07/1959	M. Sjogren	2,74		1,9	4,5	28
119-095672	21/07/1959	M. Sjogren	2,9		-	8,5	27
118-008899	21/07/1959	M. Sjogren	2,67		1,9	9,4	37
120-026211	01/02/1974	M. Sjogren	1,6		1,7	2,2	2,1

I19-030953	01/02/1974	M. Sjogren	1,61		1,8	1,6	2,2
I20-075463	9/12/1965	M. Sjogren	3,26	3,26	0,6	86	-
I20-075769	25/06/1969	M. Sjogren		2,23	1,4	1,3	-
I19-073083	25/06/1969	M. Sjogren	2,6		1,5	4	1,6
I19-140717	24/09/1970	SLE nefritis	1,76		1,9	<0,6	47
I19-132436	26/03/1992	SLE	5,26		0,7	<0,6	168
I20-002477	26/03/1992	SLE		1,93	2,2	<0,6	18
I19-017529	04/11/1977	SLE	3,1		1,5	3,4	25
I19-159399	04/11/1977	SLE	3,61		1,1	2	115
I20-044044	04/11/1977	SLE	2,73		1,1	<0,6	56
I20-014143	05/12/1962	SLE	2,16		1,3	1,9	16
I19-118805	27/02/1950	SLE	2,68		1,6	1,9	165
I18-145215	27/02/1950	SLE	2,96		1,5	2,5	124
I17-067931	27/02/1950	SLE	2,9		1,8	2	193
I19-135801	10/12/1943	SLE	1,88		1,1	1,4	70
I19-175513	15/02/1955	SLE	4,44		-	4,9	71
I19-170785	09/01/1991	SLE	1,5		1,4	3,4	6,3
I20-034846	20/04/1971	SLE		5,83	1,3	17	>379
I20-061033	20/04/1971	SLE		4,27	-	48	>379
I20-036793	18/03/1951	SLE		1,62	1,9	3,7	87
I19-037073	2/05/2005	Juvenile SLE	3,34		1,8	4,2	114
I20-021192	23/07/1984	Niet-gedifferentieerd systeemlijden	2,33		1,5	6,5	0,6
I19-127276	23/07/1984	Niet-gedifferentieerd systeemlijden	2,02		-	7,4	1
I17-083084	23/07/1984	Niet-gedifferentieerd systeemlijden	2,38		1,5	6,7	1,2
I20-017706	18/05/1965	SLE	2,3		1,4	0,94	1,2
I19-085557	18/05/1965	SLE	2,02		1,1	0,75	1,8
I20-031483	09/01/1991	SLE	1,43		1,3	4,6	8,3
I19-048385	02/03/1982	SLE	1,51		1,3	0,33	2,1
I19-157905	02/03/1982	SLE	1,6		1,2	0,42	1,8
I20-063397	02/03/1982	SLE	1,63	1,63	-	<0,6	1,8
I20-046081	31/01/1973	SLE		2,94	0,9	6	74
I20-051735	26/02/1974	SLE		2,29	1,4	0,95	123
I19-150455	24/12/1942	Anti-KU + systeemlijden	2,57		2	25	5,6
I20-051253	29/10/1951	Niet-gedifferentieerd systeemlijden		7,19	0,2	19	6,2
I18-128680	29/10/1951	Niet-gedifferentieerd systeemlijden	3,77		0,3	45	4,5
I20-051683	03/10/1935	Polymyalgia reumatica		2,27	1,5	0,54	0,8
I20-063166	10/01/1967	Niet-gedifferentieerde myositis		2,58	-	-	10
I20-064138	17/12/1975	Niet-gedifferentieerd systeemlijden		1,97	-	-	-
I20-062792	27/05/1967	Niet-gedifferentieerd systeemlijden		2,5	2,1	<0,60	0,9
I20-053207	10/02/1962	M. Crohn	2,07		-	4,9	54
I20-060232	23/05/1949	Niet-gedifferentieerd systeemlijden		2,69	4,4	0,67	45
I19-150057	18/11/1944	Dermatomyositis	4,1		0,8	22	0,8
I19-129316	20/07/1960	Niet-gedifferentieerd systeemlijden	1,43		0,5	0,68	<0,5
I19-152033	04/10/1950	Polymyalgia reumatica	2,85		-	-	11
I19-154883	04/08/1975	Colitis ulcerosa	3,12		-	-	1,5
I19-157800	27/06/1956	Niet-gedifferentieerde artropathie	2,72		0,9	3,9	2,9
I20-000411	28/08/1949	Vasculitis grote vaten	6,56		1,2	16	25
I20-015971	17/01/1971	Niet-gedifferentieerd systeemlijden	2,25		2,4	2,7	17
I20-023128	24/06/1965	HLA B27 + spondylartritis		1,96	2,6	6,3	18
I20-025814	08/05/1999	M. Crohn	1,98		1,5	21	-
I20-025830	21/01/1990	Colitis ulcerosa		1,23	1,6	-	-
I20-025686	29/01/1998	M. Crohn	1,65		-	0,83	-
I20-026405	27/09/1973	M. Crohn		2,38	-	0,58	-
I20-029919	11/06/1974	Colitis ulcerosa		1,56	1,2	4,8	-
I20-029007	04/08/1980	M. Crohn		2,79	-	5,7	-
I20-027985	18/05/1958	M. Crohn		2,06	-	7,2	-
I20-029100	26/09/1957	M. Crohn		2,32	2	14	-
I20-083206	23/06/1982	Gezond	1,66		-	-	-
I20-082906	03/07/1992	Gezond	1,71		-	-	-
I20-082675	24/12/1975	Gezond	1,38		-	-	-
I20-082666	22/01/1988	Gezond	1,77		-	-	-
I20-082551	17/05/1968	Gezond	1,58		-	-	-
I20-082537	25/09/1957	Gezond	1,64		-	-	-
I20-082536	13/10/1977	Gezond	1,58		-	-	-
I20-082531	16/07/1962	Gezond	1,95		-	-	-
I20-082526	04/02/1961	Gezond	1,75		-	-	-
I20-082522	09/01/1988	Gezond	1,30		-	-	-
I20-083247	11/06/1960	Gezond	1,61		-	-	-
I20-083244	27/08/1974	Gezond	1,61		-	-	-
I20-083237	07/08/1958	Gezond	1,94		-	-	-
I20-083235	18/05/1995	Gezond	1,36		-	-	-
I20-083234	17/02/1971	Gezond	1,23		-	-	-
I20-083231	03/12/1984	Gezond	1,84		-	-	-
I20-083214	24/07/1980	Gezond	1,67		-	-	-
I20-083211	04/06/1971	Gezond	1,63		-	-	-
I20-083210	12/07/1960	Gezond	1,54		-	-	-
I20-082635	13/11/1958	Gezond	2,13		-	-	-
I19-150341	09/08/1994	Gezond	1,71		2,4	-	-
I19-164072	13/06/1964	Gezond	1,61		1,5	0,33	-
I20-002907	19/10/1973	Urineweginfectie	2,3		1,7	270	-

I20-003070	20/06/1972	Lobaire pneumonie		2,21	1,1	220	-
I20-003042	19/02/1960	Infectie operatiewonde		2,14	-	380	-
I20-002992	21/02/1960	Cellulits+bursitis olecrani	2,81		1,1	270	-
I20-002955	31/12/1936	Pneumonie	6,45		3,8	130	-
I20-003099	23/09/1926	Spondylodiscitis		6,49	-	270	-
I20-003002	2/05/1938	Peritonitis		10,23	-	580	-
I20-003106	25/06/1942	Dundarmobstructie		2,24	0,6	190	-
I20-003045	14/02/1954	Biliaire pancreatitis en cholangitis		5,06	0,7	250	-
I20-003550	4/08/1940	Pre-operatief ultinodulaire goiter	6,6		-	-	-
I20-003570	17/08/1948	Pre-operatief lobectomie		1,64	-	1	-
I20-003122	5/09/1960	Pre-operatief talkage		2,05	-	16	-
I20-001348	3/10/2012	Influenza	2,54		2	33	-
I19-165849	15/06/1988	Influenza		2,36	0,5	10	-
I19-165858	26/04/2017	Influenza	2,93		4,3	28	-
I19-166055	12/03/1960	Influenza	2,33		-	6,1	-
I19-167483	19/11/1964	Influenza		3,08	-	70	-
I19-157846	27/02/2013	Acute EBV (VCA IgM+-IgG+-)	3,13		8,1	2	-
I19-162419	21/11/2001	Acute EBV (VCA IgM+IgG+)	4,65		6,6	95	-
I20-001243	30/11/1963	Acute EBV (VCA IgM+IgG+-)		4,86	2,5	79	-
I19-127453	4/09/2009	Acute EBV (VCA IgM+IgG-)	4,56		5,8	3,7	-
I19-121234	21/05/2003	Acute EBV (VCA IgM+IgG-)	4,06		9,7	21	-
I19-111573	23/12/2010	Acute EBV (VCA IgM+IgG+)	3,75		11	60	-
I19-106803	18/08/1998	Acute EBV (VCA IgM+IgG+)	3,91		7,3	47	-
I19-141778	21/04/1964	Acute EBV (VCA IgM+IgG+)	1,39		2,9	1,7	0,8
I19-146457	18/05/1998	Acute EBV (VCA IgM+IgG-)	5,11		7,6	120	-
I20-040557	15/01/2002	Acute EBV (VCA IgM+IgG+)		4,76	15	28	-
I20-038728	9/06/2004	Acute EBV (VCA IgM+IgG-)		3,74	5,9	5,4	-
I20-040140	17/04/1957	Acute CMV (IgM+IgG+)		13,46	5,3	14	-
I19-120530	11/10/1986	Acute CMV (IgM+IgG+)	3,1		-	-	-
I19-153338	24/04/1997	Acute CMV (IgM+IgG+)	2,82		2,7	2,4	-
I19-041072	11/04/1988	Acute CMV (IgM+IgG+)	2,35		-	-	-
I18-135485	1/09/2016	Acute CMV (IgM+IgG+)	2,18		3,2	4,9	1,3
I18-129921	18/07/1964	Acute CMV (IgM+IgG+)	5,55		1,9	16	-
I18-118348	24/02/2009	Acute hepatitis A (IgM+)	2,91		3,5	4	-
I19-118043	26/12/2002	Acute hepatitis A (IgM+)	3		3,6	1,9	1,4
I20-004131	7/11/1967	Acute hepatitis E (IgM+IgG+)		2,44	1,9	4,6	-
I19-147244	20/11/1949	Acute hepatitis E (IgM+IgG+)	4,25		-	-	1
I19-097547	15/11/1955	Acute hepatitis E (IgM+IgG+)	2,99		2,2	21	-
I19-159834	9/01/1944	Influenza	2,65		0,6	83	-
I19-165341	8/04/1928	Influenza		7,09	-	330	-
I19-167313	16/06/1956	Influenza		3,32	1,4	72	-
I20-000523	11/04/1939	Influenza	16,05		0,7	280	-
I20-000282	17/02/1933	Influenza		3,63	-	82	-
I20-000710	19/04/1925	Influenza		6,51	0,8	60	-
I20-000624	23/07/1937	Influenza	4,69		0,3	83	-
I20-036668	24/08/1947	COVID-19		28,32	0,6	69	-
I20-036929	13/07/1942	COVID-19		4,35	0,6	47	-
I20-035766	29/12/1949	COVID-19		7,65	0,4	160	-
I20-036572	26/04/1945	COVID-19		3,83	0,9	120	-
I20-036948	16/01/1940	COVID-19		3,19	0,6	60	-
I20-037624	10/12/1944	COVID-19		3,74	1,3	75	-
I20-037847	28/08/1949	COVID-19		4,6	1,2	26	-
I20-035946	3/10/1947	COVID-19		6,28	-	160	-
I20-036570	22/03/1937	COVID-19		4,45	-	180	-
I20-001703	20/04/1960	CLL		1,57	16	180	-
I19-146223	9/04/1949	CLL	2,92		18	25	-
I19-167780	1/02/1950	CLL	2,29		5,7	1	-
I20-002382	8/10/1953	CLL		3,86	192	40	-
I20-002420	21/02/1940	CLL		5,81	53	90	-
I19-146062	13/01/1938	HCL		3,03	11	110	-
I19-146158	21/04/1959	HCL		2,78	3,6	5,2	-
I19-146327	8/10/1943	MCL	5,32		34	70	-
I19-116735	2/03/1942	Smouldering Myeloom	3,02		1,7	1,5	-
I19-149448	25/02/1959	Smouldering Myeloom	3,89		1,1	0,8	-
I19-161360	20/04/1947	Smouldering Myeloom	15,43		-	-	-
I19-162875	25/10/1939	Smouldering Myeloom	7,1		2,3	0,39	-
I20-001832	12/02/1938	M. Waldenström	3,59		0,5	3,7	-
I19-139646	17/12/1938	M. Waldenström	4,57		1,2	67	-
I19-115957	27/10/1945	M. Waldenström	1,64		1,5	0,79	-
I19-146145	14/03/1948	Multiple myeloom	2,23		0,7	0,87	-
I19-146166	10/11/1935	Multiple myeloom	5,24		1	2,2	-
I19-136988	13/11/1944	Multiple myeloom	2,34		1,2	0,48	-
I19-116108	28/10/1944	Multiple myeloom	2,61		2,1	14	-
I19-128696	11/01/1940	Multiple myeloom	6,24		0,6	3,1	-
I19-113305	3/06/1945	MGUS	4,58		1	16	-
I19-115961	4/03/1960	MGUS	2,28		1,4	6,3	0,7
I20-053207	10/02/1962	Niet-gedifferentieerd systeemijden	2,07		-	4,9	54
I20-060232	23/05/1949	Niet-gedifferentieerd systeemijden		2,69	4,4	0,67	45