

Le sindromi neurologiche paraneoplastiche

Classificazione, diagnosi e cenni di terapia

Le sindromi neurologiche paraneoplastiche sono malattie immunomediate indotte dalla presenza di tumori sistemici. La recente definizione di nuovi criteri diagnostici e il riscontro nel siero dei pazienti di marcatori autoanticorpali ha facilitato la diagnosi neurologica e, di conseguenza, il precoce riconoscimento del tumore associato

➤ **Bruno Giometto, Roberta Vitaliani**

U.O. Neurologia, Ospedale Regionale "Ca' Foncello", Treviso;
Dipartimento di Neuroscienze, Università degli Studi di Padova

Le sindromi neurologiche paraneoplastiche (SNP) rappresentano un gruppo di malattie patogenicamente correlate alla presenza di una neoplasia e non attribuibili all'invasione diretta del sistema nervoso (SN) da parte del tumore o ad altre cause di danno indiretto (quali per esempio, fattori metabolico-nutrizionali, infettivi, coagulativi o tossici) [1].

Sono malattie rare con un'incidenza inferiore all'1 per cento dei casi con tumore, ma vi sono alcune eccezioni:

- ▶ La Miastenia Gravis, che si sviluppa nel 15 per cento dei pazienti con timoma;
- ▶ La Sindrome miastenica di Lambert ed Eaton (LEMS), che si presenta nel 3 per cento dei pazienti con microcitoma;
- ▶ Le neuropatie paraneoplastiche, che si sviluppano nel 10 per cento dei pazienti con gammopatie monoclonali maligne e nella metà dei casi di mieloma osteosclerotico.

La patogenesi di queste malattie non è completamente nota, anche se l'identificazione, in molti dei pazienti affetti da SNP, di anticorpi diretti contro antigeni delle cellule neuronali ha supportato l'ipotesi che queste patologie possano essere autoimmunitarie [2].

Esse deriverebbero, infatti, da un effetto indiretto della reazione immunitaria di difesa contro il tumore, la quale, qua-

lora il tumore esprima antigeni condivisi con il SN, è causa per "reazione crociata" di un danno anche a carico delle strutture nervose. Tuttavia, il ruolo svolto da anticorpi di questo tipo (anticorpi onconeurali) nella patogenesi delle SNP, è comprovato solo per quelle forme in cui questi sono diretti contro antigeni di superficie facilmente accessibili, come per esempio gli anticorpi anti-canali per il calcio voltaggio dipendenti (VGCC) che si riscontrano nella LEMS. In altre sindromi, gli antigeni hanno localizzazione intracellulare e quindi non accessibile a un attacco anticorpale diretto; per queste forme ci sono evidenze di un coinvolgimento dell'immunità cellulo-mediata [3].

La ricerca di anticorpi onconeurali rappresenta tuttavia, uno strumento utilissimo che facilita la diagnosi clinica della malattia neurologica e, poiché essa compare in 2/3 dei casi prima del riscontro del tumore, indirizza la ricerca della neoplasia e consente spesso il riscontro del tumore in una fase in cui risulta ancora trattabile.

SINDROMI CLINICHE

Nessuna sindrome clinica è patognomonica di un'origine paraneoplastica; tuttavia alcune sindromi si presentano in mo-

do relativamente frequente in associazione alla presenza di una neoplasia e vengono, pertanto, definite sindromi paraneoplastiche “classiche”. Sono le forme che saranno brevemente descritte nel nostro articolo.

► **Degenerazione cerebellare paraneoplastica.** La degenerazione cerebellare paraneoplastica (DCP) si caratterizza per avere come bersaglio il cervelletto, nel quale si ha la distruzione delle cellule di Purkinje.

Clinicamente esordisce in modo subacuto con nausea, vomito, vertigine e difficoltà nella deambulazione; la malattia evolve abbastanza rapidamente nell’arco di settimane o di pochi mesi con sviluppo di atassia del tronco e degli arti, a cui possono associarsi disartria e nistagmo con oscillopsia; al raggiungimento del picco massimo di disabilità segue una stabilizzazione clinica. I segni e i sintomi clinici sono ge-

neralmente limitati al coinvolgimento del cervelletto e delle vie cerebellari ma, a un attento esame clinico, è possibile riconoscere anche altre lievi anomalie in genere rappresentate da ipoacusia, disfagia, segni piramidali ed extrapiramidali, alterazioni cognitive e neuropatia periferica [4]. Nel siero e/o nel liquor dei pazienti sono presenti anticorpi onconeurali: i più frequenti sono gli anticorpi anti-Yo, seguiti da anticorpi anti-Hu, anti-Tr, anti-Ri e anti-mGluR1 (**Tabelle 1 e 2**). La presenza di un particolare tipo di anticorpo è dipendente dal tumore associato e condiziona il quadro clinico: anticorpi anti-Yo si riscontrano in circa il 60 per cento dei pazienti con DCP, sono preferenzialmente donne con tumori ginecologici o della mammella che si diagnosticano più spesso dopo lo sviluppo della sindrome neurologica (media 15 mesi). Questa forma di DCP è spesso causa di handicap severo (Rankin score 4-5), che viene raggiunto rapidamente (media 13 mesi).

Anticorpi anti-Tr si riscontrano in genere in pazienti maschi con una storia di linfoma di Hodgkin di cui possono predire una recidiva. In questi casi la sindrome clinica si sviluppa più lentamente e il tempo di sopravvivenza medio è più lungo che nei pazienti con la forma associata ad anticorpi anti-Yo. Anticorpi anti-mGluR1 sono stati identificati in 2 casi di DCP associata a linfoma di Hodgkin; la loro importanza sta nel fatto che l’inoculazione di questi anticorpi in animali da esperimento ha provocato lo sviluppo di una sindrome atassica supportando il ruolo patogenetico degli stessi [5].

► **Encefalite limbica.** L’encefalite limbica si caratterizza per l’esordio acuto-subacuto di una sindrome cerebrale organica, rappresentata da disturbi affettivi, generalmente ansia o depressione severa, alterazioni comportamentali e di personalità, irritabilità, allucinazioni, attacchi epilettici parziali o generalizzati e deficit mnesici con talora quadro di franca demenza.

TABELLA 1 SINDROMI NEUROLOGICHE PARANEOPLASTICHE E AUTOANTICORPI.

Nella tabella sono riportate in grassetto le SNP “classiche” e a fianco di ogni forma sono riportati gli anticorpi che possono essere riscontrati nel siero dei pazienti. Vengono descritti anche alcuni anticorpi che si associano a un quadro clinico analogo a quello identificato nelle SNP, ma la cui natura è autoimmune non paraneoplastica (anti-GAD nella Stiff-Person Syndrome e anti-NMO nella mielite)

SNP VERSUS ANTICORPI ANTI-NEURONE	AUTOANTICORPI																	
	Paraneoplastici (onconeurali)										Non paraneoplastici							
	Hu	Yo	Ri	Cv2	Ma2	amffissina	Tr	recoverina	rianodina	titina	mGluR1	NMDAR	VCKC	VGCC	GAD	AChR m - Musk	NMO	AChR n
SISTEMA NERVOSO CENTRALE																		
Encefalomielite	●			●		●												
Encefalite limbica	●				●						●		●					
Corea				●														
Encefalite del tronco	●		●	●	●	●												
Degenerazione cerebellare	●	●		●	●	●	●			●			●	●				
Opsoclonio-mioclono	●		●															
Mielite	●			●		●											●	
Stiff-Person Syndrome						●								●				
CAR								●										
SISTEMA NERVOSO PERIFERICO																		
Neuropatia sensitiva	●			●		●												
Neuropatia autonoma				●														●
NEUROMUSCOLARI																		
LEMS													●					
Miastenia								●	●								●	
Neuromiotonia												●						

NOTE: AChR m, recettore per acetilcolina muscolare; AChR n, recettore per acetilcolina neuronale, NMO, neuromielite ottica; VGKC, canali per il potassio voltaggio dipendenti; VGCC, canali per il calcio voltaggio dipendenti, NMDAR, recettore N-metil-D-aspartato

TABELLA 2 ANTICORPI ONCONEURALI. Metodiche per il riconoscimento e tumori più frequentemente associati

	REATTIVITÀ IMMUNOISTOCHEMICA	REATTIVITÀ IN WESTERN BLOT	CARATTERISTICHE DELL'ANTIGENE	TUMORI FREQUENTEMENTE ASSOCIATI
Hu	Nucleo dei neuroni del SNC e SNP	Tripla banda a 38-40 kD su estratti di neuroni del SNC o di microcitoma	Proteine leganti DNA/RNA neuro-specifiche	Microcitoma
Yo	Citoplasma delle cellule di Purkinje con aspetto punteggiato	Banda a 34 e 62 kD su estratto di cellule di cervelletto o di tumori ginecologici	Proteine leganti il DNA	Mammella, tratto ginecologico
Ri	Nucleo dei neuroni del SNC	Banda a 55 e 80 kD su estratto di neuroni	NOVA proteina legante RNA	Mammella, microcitoma
CV2/CRMP5	Citoplasma degli oligodendrociti	Banda a 66 kD	CRMP5 (collapsine response mediator protein)	Timoma, microcitoma
Ma2	Nucleolo neuronale	Banda a 40 kD	Biogenesi mRNA	Tumore testicolare
amffifisina	Sinapsi dei neuroni del SNC	Banda a 128 kD	Recupero delle vescicole sinaptiche	Mammella, microcitoma
Tr	Citoplasma e colorazione finemente granulare dello strato molecolare del cervelletto	-	Non nota	Linfoma di Hodgkin
NMDAR	Strato molecolare dell'ippocampo	-	Recettore ionotropico per il glutammato	Teratoma ovarico
VGKC	Porzione media dello strato molecolare dell'ippocampo	(identificazione con tecnica RIA)	Canale per il potassio a dipendenza di voltaggio subunità Kv1.1	Timoma

Nel 60 per cento dei casi la sindrome neurologica precede la diagnosi di neoplasia. Le neoplasie più frequentemente associate comprendono: tumore del polmone (50 per cento), dei testicoli (20 per cento) e della mammella (8 per cento).

Attre neoplasie, che più raramente possono essere riscontrate, comprendono: linfoma di Hodgkin (4 per cento), timoma (2 per cento), teratoma (4 per cento), tumore della vescica, del colon e del rene.

Nel liquor e/o nel siero del 60 per cento circa dei pazienti, possono essere riscontrati anticorpi onconeurali diversi a seconda del tipo di tumore associato; la loro presenza condiziona il fenotipo clinico [6].

Gli anticorpi che più frequentemente vengono riscontrati sono gli anti-Hu e anti-Ma2; più recentemente sono stati descritti anche anticorpi anti-NMDAR (**Tabelle 1 e 2**). Anticorpi anti-Hu si riscontrano in pazienti con encefalite limbica che compare in soggetti di età superiore ai 40 anni, fu-

matori, con tumore a piccole cellule del polmone; si associa frequentemente a segni e sintomi che indicano il coinvolgimento anche di altre aree del sistema nervoso (per esempio cervelletto, gangli dorsali ecc.).

Gli anticorpi anti-Ma2 si riscontrano in soggetti maschi di età inferiore ai 40 anni con tumore testicolare. Clinicamente, in questi pazienti si osserva spesso un coinvolgimento anche del tronco encefalico e del diencefalo con paralisi coniugata dello sguardo verso l'alto (che talora evolve verso oftalmoplegia esterna completa), parkinsonismo, diplopia, disfagia e instabilità nella marcia. È descritta anche eccessiva sonnolenza diurna fino alla narcolessia, diabete insipido, calo della libido, aumento ponderale e deficit degli ormoni ipotalamici.

Gli anticorpi anti-NMDAR si riscontrano più frequentemente in donne giovani con teratoma ovarico e il quadro clinico si caratterizza per la frequente presenza di sintomi psichiatrici

ci e ipoventilazione centrale.

Bisogna tuttavia tener presente che in una discreta percentuale di casi con encefalite limbica paraneoplastica “classica” possono non essere presenti anticorpi onconeurali, come pure ci sono pazienti con encefalite limbica autoimmune non paraneoplastica che presentano altre reattività anticorpali (Tabella 1).

► **Opsoclono-Mioclono.** L’opsoclono è un disordine della motilità oculare che consiste in movimenti involontari aritmici, mutidirezionali di entrambi i globi oculari. Si può presentare in maniera intermittente oppure, nei casi più severi, in maniera continuativa non interrompendosi nemmeno al buio o con la chiusura degli occhi. Si associa spesso alla presenza di mioclono, cioè scosse involontarie improvvise di un muscolo o gruppo muscolare, che può avere una distribuzione diffusa o focale. Diversamente dalle altre SNP l’opsoclono-mioclono può avere un decorso fluttuante di tipo recidiva/remissione.

L’opsoclono-mioclono ha un’origine paraneoplastica nel 20 per cento dei casi in soggetti adulti, dove più frequentemente si associa a microcitoma o a un tumore della mammella o ginecologico, e nel 50 per cento dei bambini dove tipicamente si associa a neuroblastoma [7].

Nel siero e/o nel liquor dei pazienti si possono trovare anticorpi diretti contro antigeni onconeurali (Tabelle 1 e 2) più tipicamente anti-Ri in donne con tumore della mammella o ginecologici o più raramente in maschi con tumore del polmone o della vescica. Un quadro di opsoclono-mioclono può, inoltre, trovarsi in associazione ad anticorpi anti-Hu in genere nell’ambito di un’encefalomielite.

► **Neuronopatia sensitiva subacuta.** Le caratteristiche cliniche di tale patologia sono state descritte per la prima volta nel 1948 da Denny-Brown, per cui talora ci si riferisce a tale condizione come alla Sindrome di Denny-Brown. Essa esordisce generalmente in maniera subacuta raggiungendo l’apice clinico in un periodo di poche settimane/mesi dopo il quale si evidenziano solo modeste modificazioni; più raramente l’esordio è cronico.

I sintomi e segni predominanti sono rappresentati da parestesie, disestesie dolorose, talora in attacchi, ipoestesia, che coinvolge tutte le modalità, riflessi tendinei ridotti o assenti, atassia sensitiva e pseudoatetosi. Vengono coinvolti sia gli arti superiori che inferiori che sono interessati prevalentemente a livello distale e con distribuzione asimmetrica. Il tronco e la faccia possono essere colpiti in genere più tardivamente e più raramente. Talora si può sviluppare sordità percettiva e paralisi degli sfinteri.

Lo studio elettrofisiologico è utile per l’identificazione di tale condizione mediante la dimostrazione di velocità di conduzione sensitiva marcatamente ridotta o assente, con velocità di conduzione motoria conservata e assenza di segni di denervazione.

TABELLA 3 CRITERI DIAGNOSTICI PER LE SINDROMI NEUROLOGICHE PARANEOPASTICHE

DEFINITA

1. Sindrome classica e tumore che si sviluppa entro 5 anni dalla diagnosi di sindrome neurologica
2. Sindrome non classica che si risolve o migliora significativamente dopo il trattamento del tumore senza immunoterapia concomitante, provando che la sindrome non sia suscettibile di remissione spontanea
3. Sindrome non classica con anticorpi anti-neurone (ben caratterizzati e non) e tumore che si sviluppa entro 5 anni dalla diagnosi di sindrome neurologica
4. Sindrome neurologica (classica o no) con anticorpi anti-neurone ben caratterizzati (anti-Hu, CV2, Ri, Ma2 o amfifisina) e non tumore

POSSIBILE

1. Sindrome classica, non anticorpi anti-neurone, assenza di tumore, ma alto rischio di avere un tumore
2. Sindrome neurologica (classica o non) con anticorpi parzialmente caratterizzati e assenza di tumore
3. Sindrome non classica, non anticorpi anti-neurone e tumore presente entro 5 anni dalla diagnosi

La neuronopatia sensitiva subacuta è associata nel 70 per cento dei casi ad anticorpi anti-Hu e rappresenta il sintomo di esordio della malattia oncologica (microcitoma) nel 60 per cento dei casi [8].

► **Encefalomielite paraneoplastica.** Descritta per la prima volta da Henson et al. nel 1965, l’encefalomielite paraneoplastica è una sindrome clinica a esordio in genere subacuto, caratterizzata dal coinvolgimento polidistrettuale del SN a cui corrisponde, sul piano anatomico-patologico, la presenza di perdita neuronale, proliferazione microgliale e infiltrati infiammatori a distribuzione multifocale.

La malattia può inizialmente presentarsi con segni e sintomi indicativi dell’interessamento di una sola area del SN che in genere corrisponde a quella maggiormente interessata dal processo degenerativo-infiammatorio. Le aree coinvolte includono: i lobi temporali (encefalite limbica), il tronco encefalico (encefalite del tronco), il cervelletto (degenerazione cerebellare), il midollo spinale (mielite), i gangli dorsali (neuropatia sensitiva subacuta), il SN autonomico (neuropatia autonoma). In una fase successiva c’è tuttavia una tendenza del processo patologico a estendersi, interessando contemporaneamente più aree.

I sintomi clinici relativi all'encefalite limbica, alla degenerazione cerebellare e alla neuropatia non sono dissimili dalle forme pure di malattia descritte in precedenza.

L'encefalite del tronco si manifesta con un quadro clinico indicativo di un preferenziale coinvolgimento del midollo allungato, ed è caratterizzato dalla presenza di disartria, disfagia, disfonia, vertigine, atassia e nistagmo a cui possono essere associati segni di interessamento delle vie lunghe. Più raramente si ha un coinvolgimento mesencefalico e pontino, che può determinare lo sviluppo di segni oculari quali, paralisi coniugata dello sguardo, oftalmoplegia internucleare, paralisi di singoli muscoli extraoculari, oscillopsia e opsoclonno e tardivamente ipoventilazione centrale, da interessamento dei centri del respiro; sono, inoltre, descritti disordini del movimento acinetico-rigidi, da interessamento della sostanza nera mesencefalica.

La mielite invece è espressione del coinvolgimento preferenziale delle corna anteriori del midollo spinale e si presenta con deficit di forza e atrofia muscolare, con o senza fascicolazioni, che possono interessare sia gli arti inferiori che superiori anche in modo asimmetrico. È stata descritta, inoltre, la presenza di interessamento della muscolatura facciale e di "testa cadente" legata al coinvolgimento della muscolatura estensoria del collo.

La neuropatia autonoma si presenta con ipotensione ortostatica, impotenza, anidrosi, deficit di lacrimazione e stipsi. Nell'ambito dell'interessamento autonomo lo sviluppo di pseudo-ostruzione intestinale cronica rappresenta una sindrome clinica ben caratterizzata e composta da perdita di peso, stipsi ostinata e distensione addominale, che in alcuni pazienti si associa a dismotilità esofagea e paralisi gastrica. Questa condizione è legata alla perdita di neuroni nel plesso mienterico ove si riscontra anche la presenza di infiltrati infiammatori.

Nel siero e/o liquor dei pazienti affetti si può riscontrare la presenza di una positività per anticorpi diretti contro antigeni onconeurali le cui caratteristiche sono riassunte nelle **Tabelle 1 e 2**.

Gli anticorpi più frequentemente associati sono gli anticorpi anti-Hu (85 per cento), ma si possono riscontrare anche anticorpi anti-CV2/CRMP-5 e anticorpi anti-amfifisina.

La presenza di un particolare tipo di anticorpo è dipendente dal tumore associato e condiziona il quadro clinico; in tutti e tre i casi il tumore più spesso riscontrato è il microcitoma.

Gli anticorpi anti-Hu vengono riscontrati nella quasi totalità dei pazienti con encefalomielite associata a microcitoma di cui sono considerati marcatori, tanto che l'encefalomielite associata ad anticorpi anti-Hu è anche definita "sindrome da anti-Hu" [9].

Questa si sviluppa prevalentemente in soggetti fumatori di età media di 65 anni, con un'uguale distribuzione per sesso. Nella maggior parte dei casi (75 per cento) la diagnosi della sindrome neurologica precede quella del tumore di circa 6 me-

si, mentre nel 10 per cento dei casi circa è invece il tumore a precedere la sindrome neurologica, la cui comparsa generalmente indica una progressione o una recidiva del tumore stesso.

Il tumore preferenzialmente associato ha localizzazione polmonare (85,6 per cento) e, in misura largamente prevalente, è rappresentato dal microcitoma (80 per cento). Raramente si riscontrano tumori con altra localizzazione: prostata, gastrointestinali, mammella, vescica, pancreas, ovaio.

Gli anticorpi anti-CV2 si riconoscono preferenzialmente in associazione con microcitoma e timoma.

Recentemente, inoltre, è stata identificata un'associazione tra anti-CV2 e lo sviluppo di un'encefalite con interessamento preferenziale dei nuclei della base che si manifesta clinicamente con corea.

INDAGINI DIAGNOSTICHE

Le sindromi cliniche non sono mai patognomoniche di un'origine paraneoplastica tanto che questa origine viene spesso inclusa nella diagnosi differenziale di una sindrome neurologica non altrimenti spiegabile. Recentemente sono state tuttavia proposte delle Linee guida per la diagnosi di SNP "definita" o "possibile" che si basano sulla presenza di tumore, di un determinato quadro clinico e di anticorpi onconeurali e che sono riassunte in **Tabella 3** a pag. 20 [10].

L'iter diagnostico dei pazienti con sospetta SNP prevede la ricerca di anticorpi onconeurali nel siero dei pazienti. Questi anticorpi vengono usualmente distinti in tre categorie.

Nella prima sono compresi gli anticorpi "ben caratterizzati" cioè anticorpi che reagiscono con antigeni onconeurali specifici, che sono fortemente associati alla presenza di neoplasia e che sono stati identificati in modo inequivocabile da diversi laboratori. A questo gruppo appartengono gli anticorpi anti-Hu, anti-Yo, anti-Ri, anti-Tr, anti-CV2, anti-Ma.

Nel secondo gruppo sono compresi gli anticorpi "parzialmente caratterizzati" che comprendono gli anticorpi diretti contro antigeni non ancora identificati o anticorpi identificati da solo un laboratorio o descritti in pochi pazienti. A questo gruppo appartengono: anticorpi anti-Tr, anti-mGluR1, anti-NMDAR.

Nell'ultimo gruppo sono compresi gli anticorpi che si associano con una specifica sindrome clinica, ma che non discriminano tra forma paraneoplastica e non paraneoplastica.

In questa categoria sono compresi: gli anticorpi anti-recettore per l'acetilcolina, i VGCC e anticorpi contro canali per il potassio (VGKC).

Dal momento che diversi anticorpi possono associarsi a una medesima SNP e che lo stesso anticorpo può essere associato a diverse SNP, i diversi anticorpi andrebbero testati secondo un programma di screening articolato per tipo di malattia e non come ricerca di un singolo anticorpo. Il tipo d'anticorpo identificato può poi indirizzare la ricerca della neoplasia sottostante.

TABELLA 4 ITER PER LA RICERCA DI TUMORE SOTTOSTANTE

Esami di primo livello	Anamnesi (storia di fumo, abuso alcolico, calo ponderale, sudorazione notturna, febbre, pregresse neoplasie) Esame clinico neurologico e obiettivo generale, con particolare attenzione a palpazione linfonodale, mammella e testicolo, esplorazione rettale e pelvica Esami ematochimici (importanti marcatori di neoplasia, includendo enolasi neuron-specifica-NSE e Cyfra) Ricerca anticorpi onconeurali
Esami di secondo livello	TAC e/o RNM encefalica EEG Studio elettrofisiologico (elettromiografia, elettroencefalografia) TAC torace e addome Mammografia Ecografia testicolare
Esami di terzo livello	FDG-PET total body

Altri esami possono essere utili nei pazienti con sospetta SNP benché non patognomoni di malattia. L'esame del liquor non è generalmente richiesto per la ricerca di anticorpi onconeurali dal momento che questi possono essere identificati anche nel siero dei pazienti. Tuttavia, l'analisi liquorale può mettere in evidenza segni d'inflammazione dati da lieve-moderata pleiocitosi linfo-monocitaria, un elevato contenuto proteico, evidenza di sintesi intratecale di IgG e presenza di bande oligoclonali. Nei pazienti con tumore noto è invece utile uno studio citologico del liquor per escludere l'eventuale presenza di metastasi lepto-meningea.

La diagnostica con neuroimmagini cerebrali mediante TAC o RNM è utile per escludere la presenza di complicanze metastatiche o non mentre nella maggior parte delle SNP queste indagini risultano normali. Fanno eccezione il 60 per cento dei pazienti con encefalite limbica, che alla RNM encefalica mostrano alterazioni di segnale, meglio evidenti nelle sequenze pesate in T2, a livello del lobo temporale uni- o bilateralmente. Inoltre, i pazienti con DCP in cui lo studio neuroradiologico è generalmente negativo nelle fasi iniziali di malattia mostra, in quelle avanzate, la presenza di un'atrofia cerebellare.

La ricerca del tumore sottostante richiede un'accurata anamnesi (storia di fumo, potus, sudorazioni notturne, calo ponderale ecc.) ed esame clinico (palpazione delle principali stazioni linfonodali, delle mammelle, dei testicoli, esplorazione rettale ecc.) a cui fanno seguito esami strumentali tra cui TAC torace-addome, mammografia, ecografia testicolare.

Nel caso di negatività di questi accertamenti può essere utile eseguire una tomografia a emissione di positroni con fluo-

ro deossiglucosio (FDG-PET) dell'intero soma che nel caso di negatività va ripetuta a un intervallo di 6 mesi per un periodo di 2-3 anni (Tabella 4) [11].

TERAPIA

La rapida identificazione e il trattamento del tumore sottostante rappresentano la migliore delle opzioni terapeutiche per la stabilizzazione dei pazienti con SNP e la prevenzione di un ulteriore deterioramento delle funzioni neurologiche. Un trattamento immunoterapico è sicuramente indicato e va stabilito sulla base della gravità dei sintomi per quelle forme per cui è provato il meccanismo patogenetico anticorpo-

mediato: nella Miastenia Gravis, nel LEMS e nella Neuro-miotonia. Per le altre forme, un trattamento immunomodulatorio o immunosoppressivo viene suggerito nei casi in cui il tumore non sia ancora stato identificato, oppure la sindrome progredisca nonostante il trattamento del tumore o si sia sviluppata dopo il trattamento dello stesso.

Una terapia atta a rimuovere gli anticorpi onconeurali (plasmaferesi, immunoadsorbimento con proteina A, IgVena) risulta indicato nelle forme associate alla presenza di anticorpi diretti contro antigeni di superficie (VGCC e VGKC) in cui questi con maggiore probabilità hanno un ruolo patogenetico.

Per le forme associate ad anticorpi diretti contro antigeni intracellulari (anti-Yo, anti-Hu, anti-Ri), in cui sembra essere principalmente interessato un meccanismo immunologico cellulare-mediato, hanno probabilmente un ruolo maggiore i farmaci immunosoppressori. Tuttavia non esistono studi clinici controllati che confermino l'efficacia di tali terapie data la rarità delle sindromi cliniche per cui le indicazioni sono date sulla base di casi aneddotici. Inoltre, un trattamento immunomodulante in questi casi potrebbe suscitare delle preoccupazioni soprattutto relative al possibile effetto negativo sull'evoluzione della neoplasia. Tuttavia, in tutti gli studi finora effettuati, si è dimostrata un'analogia evoluzione della neoplasia a prescindere dal fatto che i pazienti avessero o meno ricevuto una terapia immunosoppressiva [12-13].

Ringraziamenti: questo lavoro è stato supportato dalla Commissione Europea: Grant LSSM-CT-2005-518174.

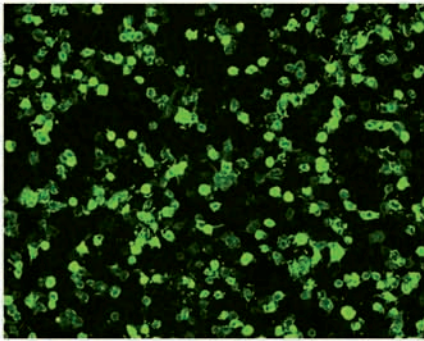
1. Posner JB. *Paraneoplastic syndromes*. In Posner JB (Ed), *Neurologic Complication of Cancer*. Philadelphia, PA: FA Davis Co; 1995 p-353-385.
2. Giometto B., Tavolato B, Graus F. *Autoimmunity in Paraneoplastic Neurological Syndromes*. *Brain Pathol*, 9, 261-274, 1999.
3. Darnell RB. *Onconeural antigens and the paraneoplastic neurologic disorders: at the intersection of cancer, immunity and the brain*. *PNAS* 1996; 93: 4529-4536
4. Shams'ili S, Grefkens J, De Leeuw B, Van Den Bent M, Hooijkaas H, Van Der Holt B, Vecht C, Sillevs Smitt P. *Paraneoplastic cerebellar degeneration associated with anti-neuronal antibodies: analysis of 50 patients*. *Brain* 2003; 126: 1409-1418
5. Sillevs Smitt P, Kinoshita A, De Leeuw B, Moll W, Coesmans M, Jaarsma D, Henzen-Logmans S, Vecht C, De Zeeuw C, Sekiyama N, Nakaniishi S, Shigemoto R. *Paraneoplastic cerebellar ataxia due to autoantibodies against a glutamate receptor*. *N Engl J Med*. 2000 Jan 6;342(1):21-7.
6. Gultekin SH, Rosenfeld MR, Voltz R, Eichen J, Posner JB, Dalmau J. *Paraneoplastic limbic encephalitis: neurological symptoms, immunological finding and tumor association in 50 patients*. *Brain* 2000; 123: 1481-1494.
7. Bataller L, Rosenfeld MR, Graus F, Vilchez JJ, Cheung NK, Dalmau J. *Autoantigen diversity in the opsoclonus-myoclonus syndrome*. *Ann Neurol*. 2003 Mar;53(3):347-53.
8. Oh SJ, Gurtekin Y, Dropcho EJ, King P, Claussen GC. *Anti-Hu antibody neuropathy: a clinical, electrophysiological, and pathological study*. *Clin Neurophysiol* 2005;116(1):28-34.
9. Graus F, Keime-Guibert F, Rene R, Benyahia B, Ribalta T, Ascaso C, Escaramis G, Delattre JY. *Anti-Hu-associated paraneoplastic encephalomyelitis: analysis of 200 patients*. *Brain* 2001; 24:1138-1148.
10. Graus F, Delattre JY, Antoine JC, Dalmau J, Giometto B et al. *Recommended diagnostic criteria for paraneoplastic neurological syndromes*. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004; 75(8): 1135-40.
11. Honnorat J, Antoine JC. *Paraneoplastic neurological syndromes*. *Orphanet J Rare Dis*. 2007 May 4;2:22.
12. Graus F, Dalmau J. *Paraneoplastic neurological syndromes: diagnosis and treatment*. *Curr Opin Neurol*. 2007 Dec;20(6):732-7
13. Vedeler CA, Antoine JC, Giometto B, Graus F, Grisold W, Hart IK, Honnorat J, Sillevs Smitt PA, Verschuuren JJ, Voltz R; Paraneoplastic Neurological Syndrome Euronetwork. *Management of paraneoplastic neurological syndromes: report of an EFNS Task Force*. *Eur J Neurol*. 2006 Jul; 13(7): 682-90

Test in immunofluorescenza indiretta per la ricerca degli anticorpi anti recettore del glutammato (tipo NMDA) per la diagnosi differenziale delle encefalopatie.

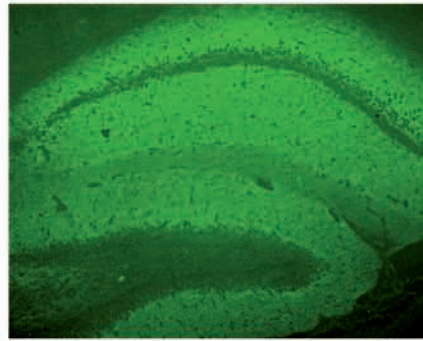
K.P. Wandinger¹, J. Dalmau², K. Borowski¹, C. Probst¹,
K. Fechner¹, e W. Stoecker¹

¹Istituto di Immunologia Sperimentale, affiliato a EUROIMMUN AG, Lubecca, Germania

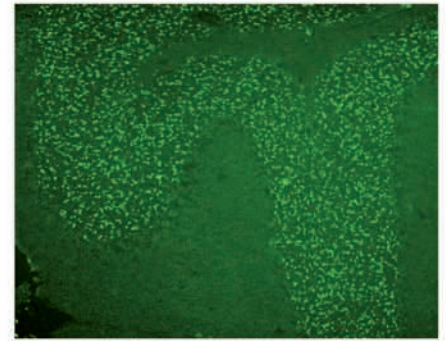
²Dipartimento di Neurologia, Università della Pennsylvania, Filadelfia, USA



Cellule HEK293 transfettate con il recettore ricombinante NMDA



Fluorescenza dei neuropili nello strato molecolare di ippocampo di ratto



Fluorescenza dello strato granulare in cervelletto di ratto

Introduzione

L'encefalite da anti-recettore di N-metil-D-aspartato (NMDAR) è una patologia grave e sottostimata che colpisce frequentemente giovani donne affette da teratoma dell'ovaio, ma viene anche riscontrata in donne, uomini e bambini non colpiti da neoplasie. I pazienti di norma presentano sintomi quali perdita di memoria, disorientamento, confusione, paranoie, allucinazioni sia visive che uditive, discinesie, disfunzioni cognitive, letargia, convulsioni e disautonomia. Una diagnosi precoce è essenziale dato che i pazienti spesso migliorano dopo immunoterapia e rimozione del tumore. La diagnosi conclusiva si basa sulla determinazione degli anticorpi anti recettore del glutammato (tipo NMDA) nel siero o nel liquido cerebrospinale (CSF). In questa pubblicazione descriviamo un test ricombinante per la determinazione standardizzata di anticorpi anti recettore del glutammato (tipo NMDA) eseguibile in qualsiasi laboratorio che abbia familiarità con tecniche di immunofluorescenza indiretta.

Metodi

cDNAs per il recettore del glutammato (tipo NMDA; subunità NR1/NR1 e NR1/NR2, rispettivamente) sono stati inseriti in vettori ad espressione eucariotica e transfettati in cellule HEK293. Successivamente queste cellule vengono fatte crescere su vetrini copri oggetto, a ciò segue una fissazione con acetone. I substrati così otte-

nuti vengono tagliati in BIOCHIPS e inseriti in un mosaico che contiene inoltre sezioni congelate di ippocampo e cervelletto di ratto per la determinazione degli autoanticorpi mediante test in immunofluorescenza indiretta.

Sono stati testati 47 sieri e 23 campioni di CSF provenienti da pazienti affetti da encefalite anti-NMDAR e controlli con altre patologie quali encefaliti da recettori anti-VGKC e AMPA. Sono stati inoltre analizzati i sieri di 100 donatori.

Risultati

Tutti i campioni provenienti da pazienti affetti da encefalite anti-NMDAR (29 sieri, 10 CSF) sono risultati positivi utilizzando le cellule transfettate, mentre tutti i pazienti di controllo (18 sieri, 13 CSF) e i donatori (100 sieri) sono risultati negativi. In aggiunta, tutti i campioni positivi per l'anti-recettore del glutammato (tipo NMDA) mostrano una fluorescenza diffusa dei neuropili nello strato molecolare dell'ippocampo di ratto mentre in quello granulare del cervelletto di ratto tale positività, pur

altamente caratteristica, è meno specifica. Inoltre, l'immunoistochimica a carico del cervello di ratto è servita ad identificare altri anticorpi (ad es. recettori VGKC e AMPA) nel 23% di pazienti risultati negativi per anticorpi anti recettori del glutammato (tipo NMDA).

Conclusioni

L'immunofluorescenza indiretta che utilizza come substrato antigenico i recettori del glutammato (tipo NMDA) espressi mediante transfezione in cellule umane, si è dimostrata una tecnica altamente affidabile nella diagnosi dell'encefalite NMDAR. L'uso combinato di cellule transfettate con substrati tissutali di ippocampo e cervelletto consente la determinazione di altri autoanticorpi implicati nella diagnosi differenziale delle encefalopatie autoimmuni, quali gli anticorpi verso i recettori VGKC e AMPA o antigeni non ancora caratterizzati dei neuropili dell'ippocampo.

	n	NMDAR Ricombinante	Ippocampo	Cervelletto
Encefalite Anti-NMDAR	39	100%	100%	100%
Altre patologie	31	0%	23%	23%
Donatori sani	100	0%	0%	0%

Lavoro presentato in occasione del 9th Dresden Symposium on Autoantibodies (Dresda, Germania, Settembre 2009)