

CAT
Critically Appraised Topic

**Detectie van antineuronale autoantistoffen:
Paraneoplastische en anderen.**

Author: Dr. Bram Ngo
Supervisor: Prof. Dr. Xavier Bossuyt
Date: 17-03-2009

CLINICAL BOTTOM LINE

Antineuronale autoantistoffen vormen een heterogene groep van antistoffen die zich daarenboven ook klinisch met een grote diversiteit aan symptomen kunnen presenteren. In eerste instantie kan men ze indelen in twee grote groepen. De paraneoplastische antineuronale autoantistoffen en de niet paraneoplastische.

De eerste groep van autoantistoffen komen voornamelijk voor in associatie met een tumor. Deze autoantistoffen, ook wel onconeuronale antilichamen genoemd, zijn antilichamen die gericht zijn tegen tumorantigenen maar daarenboven ook gaan kruisreageren met antigenen van het centraal zenuwstelsel. Dit resulteert in een diversiteit van paraneoplastische neurologische syndromen. Het belang van de detectie van deze antilichamen ligt enerzijds in het feit dat deze antilichamen vaak maanden voor dat de tumor teruggevonden kan worden reeds detecteerbaar zijn. Anderzijds zijn zij ook belangrijk voor de uiteindelijke diagnose van een paraneoplastisch syndroom.

De tweede groep van neuronale autoantistoffen zijn diegenen die geen associatie met een tumor vertonen. Zij kunnen o.a. belangrijk zijn bij de differentiële diagnose van verschillende neurologische syndromen en aldus gevolg hebben voor de behandeling.

Er zijn vaak meerdere assays beschikbaar voor de detectie van deze antilichamen. Mede daarom vertonen vergelijking van inter-laboratorium resultaten vaak aanzienlijke variatie. Bij het kiezen van de meest geschikte assay moet men naast performantie dus ook kijken naar welke assays internationaal het meest gebruikt worden. Enkel op die manier zal een nodige standaardisatie en ontstaan van kwaliteitscontrole programma's tot stand kunnen komen.

CLINICAL/DIAGNOSTIC SCENARIO

Een paraneoplastisch syndroom is een ziekte of symptoom dat het gevolg is van de aanwezigheid van een tumor in het lichaam, maar dat niet het rechtstreeks gevolg is van de lokale aanwezigheid van de maligne cellen zelf. Het zijn humorale of immunologische factoren die aan de basis liggen van deze syndromen. Zowat elk orgaan of weefsel kan door een paraneoplastisch syndroom getroffen worden. Goed gekende voorbeelden van zulke syndromen zijn o.a. cachexie, hypercalcemie en het Cushing Syndroom.

Het was in 1949 dat Guichard en Vigneron de term paraneoplastisch gebruikten voor het beschrijven van neuropatische complicaties van een patiënt met een uteruscarcinoom¹. Ze kozen ervoor de term *paraneoplastisch* te gebruiken omdat er tijdens autopsie geen metastatisch neoplastische cellen teruggevonden werden in het CZS.

Paraneoplastisch neurologische syndromen (PNS) komen niet zo frequent voor en zijn dan ook niet zo goed gekend. Enkele onderzoekers suggereren een prevalentie van ongeveer 1 op 10.000 bij patiënten met een carcinoom¹ maar er zijn echter geen data beschikbaar om dit te bevestigen. Wel weten we dat bepaalde tumoren vaker geassocieerd worden met een paraneoplastisch syndroom dan andere. Zo zullen 3-5% van de patiënten met een kleincellig longcarcinoom, 15-20% met een thymoma en 3-10% met een B-cell of plasma-cel neoplasie een PNS ontwikkelen¹.

Klinisch zal een neurologisch syndroom dat zich subacut, progressief presenteert en tevens ernstige morbiditeit veroorzaakt sterk suggestief zijn voor een PNS^{1,2}. Naargelang de lokalisatie van het neurologisch probleem kan men de paraneoplastische syndromen indelen in die van het centraal zenuwstelsel, die van het perifeer zenuwstelsel en die van de neuro-musculaire junctie en spieren (tabel1). Belangrijk om te onthouden is dat elk van deze syndromen ook kan voorkomen in afwezigheid van een carcinoom en men dan niet mag spreken over een PNS.

In ongeveer 60-70% van de patiënten met een PNS zijn de neurologische symptomen de eerste manifestatie van de tumor^{1 3}. Het stellen van de diagnose van een PNS is dus belangrijk. Enerzijds omwille van het PNS zelf dat irreversibele neurologische schade kan veroorzaken en anderzijds omdat een juiste diagnose ook vaak zal leiden tot de ontdekking van een tot dan nog occulte tumor die zich dan vaak nog in een vroeg, behandelbaar stadium bevindt. Vroege detectie en behandeling van de tumor is immers de aanpak die het meeste kans op succes biedt voor stabilisatie van alle paraneoplastisch neurologische syndromen⁴. Bijkomende immunotherapie blijkt enkel nuttig in geval van het Lambert-Eaton myasteen syndroom (LEMS, tabel4) en het paraneoplastisch perifeer zenuw hyperexcitabiliteitssyndroom en bij kinderen ook bij het paraneoplastisch opsoclonus-myoclonus (POM, tabel4) syndroom. Uiteraard dient supportieve therapie bij alle patiënten met een PNS aangeboden te worden⁴.

Het correct diagnosticeren van een PNS is echter niet zo eenvoudig voor de clinicus. Dit is voornamelijk het gevolg van enerzijds de zeer lage prevalentie van PNS'en waardoor de clinici niet vertrouwd zijn met deze ziektebeelden en anderzijds de zeer uiteenlopende symptomen waarmee de patiënten zich kunnen presenteren. Daarom heeft het PNS Euronetwork in 2004 een artikel gepubliceerd waarin zij de aanbevolen diagnostische criteria voor paraneoplastische neurologische syndromen hebben samengevat⁵. Hierin delen ze de diagnose van een PNS op in twee categorieën, namelijk zeker PNS en mogelijks PNS (tabel2). Naast de klinische presentatie (klassiek syndroom of niet) en de al of niet aanwezigheid van een tumor zien we dat ook de detectie van onconeuronale antilichamen (goed gekarakteriseerd of niet) een belangrijk criteria vormt bij het stellen van een diagnose van een PNS.

Onconeuronale antilichamen zijn antilichamen die gericht zijn tegen tumorantigenen maar daarenboven ook gaan kruisreageren met antigenen van het centraal zenuwstelsel. Gedurende de laatste twintig jaar heeft de identificatie van verschillende antilichamen en hun neuronale target antigenen geleid tot het concept dat PNS'en immuungemedieerd zijn en het opsporen van deze antistoffen kan, indien aanwezig, een belangrijk hulpmiddel vormen bij het onderzoek van een patiënt met een PNS.

Voornamelijk in de situatie waarbij de patiënt zich met een neurologisch syndroom presenteert welk verdacht is voor een PNS maar waarbij niet meteen een tumor kan worden aangetoond, kunnen onconeuronale antistoffen zeer nuttig zijn. Indien men in dit geval in het serum van de patiënt goed gekarakteriseerde onconeuronale antistoffen kan aantonen kan men alsnog de diagnose van een PNS stellen. Men zal dan de zoektocht naar een tumor verder moeten zetten en indien nog steeds geen maligniteit weerhouden kan worden wordt een zes maandelijks follow-up gedurende minstens vier jaar aanbevolen⁴.

Ook wanneer een patiënt zich presenteert met een voor een PNS niet klassiek neurologisch syndroom, en waarbij een tumor gevonden wordt zal definitieve diagnose volgens de richtlijnen van het PNS Euronetwork enkel kunnen volgen na aantonen van onconeuronale antistoffen⁵.

Men kan tegenwoordig reeds een hele reeks verschillende onconeuronale antistoffen detecteren en men verwacht dat er in de toekomst nog verschillende zullen bijkomen. De klinische betekenis van deze verschillende soorten antistoffen is tweeledig. Enerzijds laat het de clinicus toe het risico op een onderliggende tumor in te schatten. Anderzijds zal een bepaalde antistof de clinicus een vermoeden kunnen geven over welk onderliggend carcinoom de oorzaak is van de neurologische problemen.

Naast deze paraneoplastische antineuronale autoantistoffen bestaan er ook een heel aantal niet-paraneoplastische antineuronale autoantistoffen. De anti-AChR autoantistoffen, die men terug kan vinden bij patiënten met myasthenia gravis, zijn hiervan een bekend voorbeeld. In deze CAT zullen we ons echter beperken tot de bespreking van anti-GAD, de anti-ganglioside en de anti-MAG autoantistoffen.

QUESTION(S)

- 1) *Welke antineuronale antilichamen moeten, bij verdenking van een PNS worden opgespoord worden?*
- 2) *Welke niet-paraneoplastische neuronale autoantistoffen kunnen bij een verdenking van een auto-immuun neurologisch syndroom opgespoord worden?*
- 3) *Welke methode(s) moeten we gebruiken voor de detectie van antineuronale antistoffen?*

APPRAISAL

Welke onconeuronale antistoffen moeten bij een verdenking van een PNS opgespoord worden?

Aangezien detectie van goed gekarakteriseerde onconeuronale antistoffen op dit moment de gemakkelijkste manier is om de diagnose van een PNS te stellen is het aangeraden bij vermoeden van deze syndromen steeds naar deze antistoffen te zoeken.

Het onderscheid tussen goed gekarakteriseerde onconeuronale antistoffen en de overigen wordt gemaakt op basis van hun prevalentie en hun associatie met een onderliggende tumor (tabel3). De goed gekarakteriseerde antistoffen worden bijna uitsluitend teruggevonden bij patiënten met een onderliggend carcinoom en zijn bijgevolg een zeer specifieke parameter voor de diagnose van een PNS. Men mag er echter nooit vanuit gaan dat wanneer er geen goed gekarakteriseerde antineuronale antistoffen teruggevonden worden er geen sprake kan zijn van een PNS aangezien bij bijna één op drie patiënten met een bewezen PNS geen goed gekarakteriseerde antistoffen teruggevonden kunnen worden.

Anti-Hu

Anti-Hu antilichamen zijn de meest frequent gerapporteerde onconeuronale antistoffen die we kennen. Aangezien ze tevens bijna uitsluitend bij patiënten met een onderliggend carcinoom worden teruggevonden worden deze antistoffen tot de categorie van goed gekarakteriseerde antistoffen gerekend.

Deze antistoffen komen voor in associatie met kleincellige longcarcinoma en veroorzaken uitgebreide ontstekingsinfiltraten in het centraal zenuwstelsel (CZS) die niet enkel beperkt blijven tot de cerebellaire Purkinje cellen⁵.

De meest frequent geassocieerde neurologische syndromen zijn paraneoplastische encefalomyelitis (PEM, tabel4), paraneoplastisch cerebellaire degeneratie (PCD, tabel4), limbische encefalitis (LE, tabel4) en subacute sensorische neuropathie (SSN, tabel4). Deze laatste zal zich typisch asymmetrisch ontwikkelen en komt bij meer dan 40% van de patiënten voor. De neurologische symptomen die het gevolg zijn van anti-Hu antistoffen zijn bij meer dan 65% van de patiënten de doodsoorzaak⁷.

Anti-Yo

Samen met anti-Hu antilichamen vormen de anti-Yo antilichamen de belangrijkste groep van onconeuronale antilichamen. Zij komen voornamelijk voor bij de vrouwelijke populatie met een gemiddelde leeftijd van 61 jaar.

Als onderliggende tumor bij anti-Yo antilichamen worden voornamelijk gynaecologische tumoren teruggevonden en meest frequent zijn dit eierstok- en borsttumoren⁸. De antilichamen beperken zich meestal tot het cytoplasma van de cerebellaire Purkinje cellen.

Anti-Yo antilichamen uiten zich klinisch als een PCD. Meer specifiek wordt bij meer dan 50% van de patiënten paraneoplastisch cerebellaire ataxie (PCA, tabel4) gezien⁶. Deze cerebellaire degeneratie zal zich meestal stabiliseren maar heeft ondertussen vaak reeds ernstige morbiditeit veroorzaakt bij de patiënt. Ook andere niveaus van het zenuwstelsel zijn vaak betrokken maar deze vertonen meestal slechts milde symptomen. De neurologische verwickelingen zijn bij ongeveer 30% van de patiënten de doodsoorzaak. Tumorprogressie is echter de hoofdoorzaak van overlijden bij deze groep patiënten. Meer dan de helft overlijdt ten gevolge van de tumor zelf, waarbij de prognose bij een borstcarcinoom (gemiddelde overleving 100 maanden) beter is dan die van een eierstokcarcinoom (gemiddelde overleving 22 maanden)⁸.

Anti-CV2 (CRMP5)

Naast de voornaamste onconeuronale antistoffen, anti-Hu en anti-Yo, zijn er nog vier andere antistoffen die men bij de groep van goed gekarakteriseerde onconeuronale antistoffen rekent. Hiervan komt het anti-CV2 antilichaam het vaakst voor, voornamelijk bij mannen (70%) met een gemiddelde leeftijd van 62 jaar⁶.

De onderliggende tumor is bij meer dan de helft van de patiënten (60%) een kleincellig longcarcinoom. Bij de overige patiënten worden maligne thymoma's en uteriene sarcomas teruggevonden⁹.

Klinisch kunnen deze patiënten zich met verscheidene syndromen presenteren. Meest frequent worden polyneuropathie (sensorimotorisch) en PCD (met cerebellaire ataxie) waargenomen. LE, LEMS en PEM kunnen echter ook voorkomen. Retinopathie en optische neuritis worden ook typisch frequent gezien bij patiënten met anti-CV2 antilichamen⁶.

Anti-Ma/Ta

Anti-Ta sera herkennen een onconeuraal antigeen genaamd PNMA2, en anti-Ma sera herkennen zowel het PNMA1 als het PNMA2 antigeen.

Bij patiënten met anti-Ta antistoffen worden voornamelijk testiculaire carcinoma teruggevonden maar ook longtumoren worden waargenomen. Het geassocieerd neurologisch syndroom is meestal een LE. Bij patiënten met anti-Ma antistoffen vinden we een meer heterogene groep van tumoren terug alsook verscheidene neurologische presentaties. Anti-Ta positieve patiënten beantwoorden beter op therapie met een langere overlevingsduur¹⁰.

Anti-Ri

Anti-Ri antilichamen zijn op immunohistochemische testen niet te onderscheiden van anti-Hu antilichamen maar kunnen via immunoblotting toch gedifferentieerd worden.

Als onderliggende tumor worden zowel borstcarcinoma als kleincellig longcarcinoma teruggevonden.

De neurologische schade wordt veroorzaakt ter hoogte van de hersenstam met een POM syndroom als gevolg^{5 6}.

Anti-amphiphysin

Daar waar deze antilichamen initieel werden waargenomen bij patiënten met een Stiff-person syndroom (SPS) en borstcarcinoma zijn ze ondertussen ook teruggevonden bij patiënten met diverse syndromen zoals paraneoplastische encephalomyelitis of sensorische neuropathie. Bij deze tweede groep van patiënten is de onderliggende tumor een kleincellig longcarcinoom in plaats van een borstcarcinoom⁶.

Niet goed gekarakteriseerde antilichamen (anti-Tr, Anti-VGCC, anti-NMDAR)

Ook het opsporen van niet goed gekarakteriseerde antilichamen loont de moeite aangezien de aanwezigheid van deze antistoffen in sommige situaties noodzakelijk is voor het stellen van de diagnose van een PNS. Wel moet men steeds goed onthouden dat deze antistoffen in tegenstelling tot de goed gekarakteriseerde onconeuronale antistoffen ook vaak voorkomen bij patiënten zonder onderliggende tumor. Deze antistoffen worden tevens veel minder vaak aangetroffen dan de goed gekarakteriseerde onconeuronale antistoffen.

Anti-Tr Dit antilichaam vertoont een gelijkaardig patroon als anti-Yo antilichamen bij immunohistochemische testen maar kan onderscheiden worden van de anti-Yo antilichamen omwille van tevens diffuus aankleuren van de moleculaire laag. Via western-blotting kan echter geen eiwit aangetoond worden hetgeen suggereert dat het antigeen waarschijnlijk een conformationeel epitoom is¹¹. De geassocieerde onderliggende tumor is de ziekte van Hodgkin. Patiënten met anti-Tr antilichamen presenteren zich klinisch met PCD.

Anti-VGCC Anti-voltage-gated-calcium-channel antilichamen, en dan voornamelijk diegene gericht tegen het P/Q type VGCC, veroorzaken bij de patiënt een klinisch beeld van een LEMS. Dit antilichaam is echter geen goede parameter om aan te tonen of het al dan niet om een paraneoplastisch syndroom gaat aangezien het LEMS ook zonder aanwezigheid van een tumor veroorzaakt wordt door anti-VGCC antilichamen. Desalniettemin vindt men bij ongeveer 50% van de patiënten met een LEMS een kleincellig longcarcinoom terug. Een studie heeft aangetoond dat 43% van deze patiënten met een LEMS en een longcarcinoom antigliale nucleaire antilichamen (AGNA), ook wel SOX1-antilichamen genoemd, vertonen. Het nut van deze antilichamen ligt in het feit dat bij patiënten met een LEMS zonder onderliggende tumor deze antilichamen niet werden teruggevonden¹².

Er zijn tevens ook patiënten met deze anti-VGCC antilichamen en longcarcinooma die zich klinisch presenteren met paraneoplastische cerebellaire ataxie zonder aanwezigheid van een LEMS¹³.

Anti-NMDAR Dit is één van de meest recent beschreven antilichamen. Anti-NMDAR (anti-N-methyl-D-asparaginezuur receptor) antilichamen worden gewoonlijk teruggevonden bij jonge vrouwen met een teratoom van de eierstok. Klinisch vertoont deze patiënt symptomen van LE beginnend met prodromen zoals koorts en hoofdpijn. Deze symptomen evolueren verder naar psychiatrische problemen, verlies van korte termijn geheugen, centrale hypoventilatie, autonome instabiliteit en dystonie van de ledematen. De gevolgen zijn mogelijks fataal, doch de meerderheid van patiënten herstelt na immuuntherapie en verwijdering van de tumor¹².

Overige antineuronale antistoffen (Zic4, PCA-2, mGluR1, Recoverin, VGKC, ANNA3)

Deze antistoffen komen veel minder frequent voor en worden meestal, indien gedetecteerd, geassocieerd met verscheidene neurologische syndromen. Verder worden ze ook vaak teruggevonden bij patiënten zonder onderliggende tumor of bij patiënten met tumor maar zonder PNS.

Anti-Zic4 en PCA-2 komen voor bij kleincellige longcarcinoma, anti-mGluR1 (metabotrope glutamaatreceptor) antistoffen bij patiënten met een PCD en de ziekte van Hodgkin⁵. Anti-Recoverin antilichamen tenslotte, kunnen teruggevonden worden bij patiënten met het CAR-syndroom (cancer associated Retinopathie) en veroorzaken blindheid via apoptose van de fotoreceptor-cellen¹⁴.

Anti-voltage-gated-kalium-channel (anti-VGKC) antilichamen worden geassocieerd met LE en een minder focale vorm van encephalitis. Tot bij 30% van de patiënten met anti-VGKC antilichamen wordt er een tumor, voornamelijk kleincellige longcarcinoma en thymoma, teruggevonden.

naast het anti-Hu (ANNA1) en anti-Ri (ANNA2) antilichaam bestaat er nog een derde anti-neuronaal nucleair antilichaam, ANNA3. Dit antilichaam werd pas recenter ontdekt. Neurologisch presenteren deze patiënten zich met een hele range van verschillende neurologische symptomen, zowel centraal, perifeer als autonoom. De meest frequent geassocieerde tumor is een kleincellig longcarcinoom, meer specifiek tabak-gerelateerde luchtwegcarcinomen¹⁵.

Welke niet-paraneoplastische neuronale autoantistoffen kunnen bij een verdenking van een auto-immuun neurologisch syndroom opgespoord worden?
--

Er zijn tevens nog een heel aantal antineuronale autoantistoffen die zonder aanwezigheid van een tumor voorkomen en geassocieerd worden met enkele neurologische syndromen.

Deze allemaal bespreken zou ons buiten het doel van deze CAT leiden. Toch zullen we hier nog drie niet paraneoplastische antineuronale autoantilichamen bespreken.

Anti-GAD Anti-glutamaatzuurdecarboxylase antilichamen worden op neurologisch vlak voornamelijk geassocieerd met het SPS hoewel cerebellaire ataxie, myoclonus en epilepsie ook kunnen voorkomen. Zeldzaam zal de patiënt zich met meerdere neurologische syndromen tegelijkertijd presenteren¹⁶. Twee isovormen worden opgespoord, de 65kD isovorm GAD65 en de 67kD isovorm GAD67. Anti-GAD65 antilichamen kunnen teruggevonden worden bij 80% van de patiënten met een SPS, anti-GAD67 antilichamen bij ongeveer 60% van de patiënten met een SPS¹⁷. Hoewel anti-GAD antilichamen als diagnostische merker voor het SPS gebruikt kan worden, worden ze ook teruggevonden bij andere neurologische aandoeningen alsook bij niet neurologische, voornamelijk bij patiënten met een insuline-dependente diabetes mellitus (IDDM). Bij deze patiënten worden echter lagere titers teruggevonden. Overigens lijden tot 30% van de patiënten met het SPS ook aan IDDM¹⁶.

Recent bewijs toont dat anti-GAD antilichamen functionele stoornissen van de GABA-nerge synaptische transmissie in het ruggenmerg veroorzaken en op deze manier ook de functionele stoornissen die waargenomen worden bij deze patiënten zouden kunnen verklaren.

Slechts in een kleine minderheid van de gevallen ligt een paraneoplastische oorzaak, meestal een thymoma, aan de basis van dit antistof¹². Een tumor wordt dan ook zelden teruggevonden bij deze patiënten en dit antistof wordt algemeen dan ook niet tot de groep van paraneoplastische antistoffen gerekend.

Anti-ganglioside Anti-ganglioside antilichamen kunnen bij een klein percentage van de gezonde populatie teruggevonden worden in lage titers. Hoge titers vindt men voornamelijk terug bij patiënten met het Guillain-Barré syndroom (GBS)¹⁸. Het GBS is de voornaamste oorzaak van postinfectieuze neuro-musculaire paralyse wereldwijd. Het is een acute fase ziekte die zich, in de meerderheid van de gevallen, 10-14 dagen na een infectie (C. jejuni, Epstein-Barr virus, Cytomegalovirus of M. pneumoniae) voordoet, snel terug verdwijnt (binnen de 4 weken) en variabele residuele letsels achterlaat.

Het GBS wordt op basis van pathofysiologische verschillen onderverdeeld in de acute inflammatoire demyelinerende polyneuropathie (AIDP), de acute motorische axonale neuropathie (AMAN) en de acute motorisch en sensorisch axonale neuropathie (AMSAN). Er bestaan tevens meer focale vormen zoals bijvoorbeeld het Miller-Fisher syndroom (MFS).

De best bestudeerde antilichamen zijn de anti-GM1 en anti-GQ1b antilichamen omdat zij de duidelijkste associatie lijken te vertonen met het GBS. Er bestaat echter een zeer grote heterogeniteit aan anti-ganglioside antilichamen (anti-GM1, -GM2,-GM3, -GM4, GD1a, -GD1b, -GD2, -GD3, -GT1a, -GT1b, -GQ1b, -sulfatiden).

Verder is het belangrijk om te weten dat bij deze antilichamen ook een onderscheid gemaakt wordt tussen IgG- en IgM-antilichamen aangezien IgM-antilichamen met andere pathologieën geassocieerd worden.

Anti-GM1

IgG-subklasse Is één van de antilichamen die teruggevonden kan worden bij patiënten met het GBS. Voornamelijk bij AMAN stellen we een verhoogde incidentie vast van deze antilichamen.

Ook bij AIDP kunnen we deze antilichamen terugvinden, doch zal dit slechts bij minder dan 25% van de patiënten het geval zijn²³.

IgM-subklasse Dit antilichaam wordt geassocieerd aan multifocale motorische neuropathie (MMN). In de literatuur vinden we weliswaar zeer verscheidene percentages van voorkomen terug, gaande van 30 tot 80% bij patiënten met een MMN. Een van de recentere studies komt uit op bijna 30% en besluit dat dit significant hoger is dan bij andere vormen van neuropathie of motorische neuron disease (MND)¹⁹. Hoewel er nog controverse bestaat rond het nut van dit antilichaam in de diagnose van MMN werd detectie van verhoogd IgM anti-GM1 autoantilichamen toch opgenomen in de diagnostische criteria voor MMN door het EFNS (European Federation of Neurological Societies) Task Force²⁰.

Anti-GQ1b

IgG-subklasse Klassiek wordt dit antilichaam geassocieerd bij patiënten met het MFS. Dit syndroom omvat de klinische triade van ataxie, areflexie en opthalmoplegie. Anti-GQ1b antilichamen zijn zeer sensitief en specifiek voor het MFS met waarden rond de 90% en hoger²¹²². Daarenboven correleren hun titers met de klinische evolutie van de ziekte²³.

Recent wordt er echter ook gebruik gemaakt van de term 'anti-GQ1b IgG antilichaam syndroom'. Dit komt omdat anti-GQ1b antilichamen ook teruggevonden worden bij patiënten met de meer klassieke vormen van het GBS in combinatie met opthalmoplegie, bij Bricker's brainstem encephalitis (BBE) en bij acute opthalmoparese²⁴. Deze term wordt gebruikt om een etiologische relatie tussen deze verschillende ziektebeelden te onderschrijven zonder de bedoeling als klinische diagnose gebruikt te worden.

IgM-subklasse De IgM-subklasse van anti-GQ1b is veel minder goed gekarakteriseerd dan haar IgG-subklasse tegenhanger. Dit antilichaam wordt geassocieerd met ataxische polyneuropathie, voornamelijk met sensorische tekenen maar zeldzaam ook gezien bij motorische vormen, bij patiënten met een monoklonale gammopathie (zie hieronder)¹⁹²⁵.

Anti-MAG Autoantilichamen tegen myeline-geassocieerd glycoproteïne (MAG) herkennen het L2/HNK-1 epitoom. Dit epitoom kan onder andere ook teruggevonden worden bij andere MAG's zoals het sulfaat-3-glucuronyl paragloboside (SGPG), het perifeer myeline proteïne 22 (PMP22) en het nul proteïne (P0). Deze antilichamen worden uitsluitend teruggevonden bij patiënten met een demyeliniserende sensorische/sensorimotorische polyneuropathie in combinatie met een monoklonale IgM gammopathie. De prevalentie van patiënten met een monoklonale IgM gammopathie die ook een neuropathie ontwikkelen varieert afhankelijk van de studie gaande van 5 tot 31%. Een studie bij deze patiënten toont een zenuwspecificiteit van 72% voor deze IgM antilichamen. Van deze antilichamen bleek nog eens meer dan de helft (52%) gericht tegen het MAG²⁶. De overige antilichamen waren voornamelijk gericht tegen gangliosiden en sulfatiden. Anti-MAG neuropathie wordt beschouwd als één van de vormen van chronisch demyeliniserende polyneuropathie en moet dan ook differentieel diagnostisch onderscheiden worden van andere vormen zoals de chronisch inflammatoire demyeliniserende polyneuropathieën (CIPD). Hoewel anti-MAG testen diagnostisch zijn, zijn resultaten echter niet snel beschikbaar en wordt in eerste lijn gebruik gemaakt van elektrofysiologisch onderzoek om het onderscheid tussen CIPD en anti-MAG neuropathie te maken.

Welke methode('s) moeten we gebruiken voor de detectie van antineuronale antistoffen?

Paraneoplastische antistoffen:

Voor de detectie van deze antistoffen volgt men nog steeds in grote lijnen de guidelines die door Mol et al. werden opgesteld²⁷, hoewel er ondertussen reeds een heel aantal nieuwe paraneoplastische antistoffen opgespoord worden. De methode is echter hetzelfde gebleven.

Bij de detectie van de paraneoplastische antistoffen maakt men gebruik van het feit dat de neuronale antigenen die tot expressie komen in het cytoplasma en/of de nuclei van neuronen (in het bijzonder de Purkinje-cellen) identiek zijn aan die antigenen die tot expressie komen op de geassocieerde tumor.

De antigeen-antilichaam interactie kan gevisualiseerd worden door gebruik van indirecte immunofluorescentie (IIF) op coupes van normale hersenen en perifere neuronen. Hoewel de hersenen van knaagdieren in het algemeen volstaan voor detectie prefereert men toch de hersenen van primaten (apen/mens) omwille van de gelijkenis van antigenen. Daarenboven raadt men ook aan gebruik te maken van bevroren coupes²⁸. Paraneoplastische antilichamen die op paraffine-gefixeerde coupes aantoonbaar zijn, zijn ook steeds aantoonbaar op bevroren coupes terwijl het omgekeerde niet steeds waar is. Zo zullen anti-GAD antistoffen beter gedetecteerd kunnen worden op bevroren coupes²⁹.

IIF is de verkozen methode voor de screening naar paraneoplastische antistoffen. Aan de hand van het herkennen van verschillende patronen kan men reeds een idee krijgen welke antistof eventueel in het serum aanwezig is (tabel5). Een patroon wordt als positief beschouwd bij een serumverdunding van

1/500²⁷. De patronen die men via IIF kan zien zijn echter niet steeds even eenvoudig interpreteerbaar. Daarom mag men deze patronen enkel als indicatief beschouwen en dient de specificiteit van gedetecteerde antistoffen steeds bevestigd te worden door een Western blot. In hun studie betreffende de interpretatie van IIF-patronen bij paraneoplastische antistoffen leggen Karim A. et al.³⁰ een paar van de moeilijkheden die men bij deze test kan tegenkomen bloot.

Een eerste probleem is de aanwezigheid van antineuronale *antilichamen met ongekende klinische relevantie*. Deze groep vormde iets meer dan de helft van de positieve stalen (27/49) met patronen die gelijkend waren aan die van Hu-, Yo- of Ma-antilichamen. Op Western blot konden deze antilichamen echter niet gedetecteerd worden. Zes van deze patiënten hadden een of andere vorm van kanker.

Een andere fenomeen dat de interpretatie van de IIF-patronen kan bemoeilijken is de *gelijktijdige aanwezigheid van andere antilichamen* die gaan aankleuren.

Zo vonden Karim A. et al. bij 6/13 patiënten met positiviteit voor Hu-antilichamen tevens aanwezigheid van anti-nucleaire antistoffen (ANA) terug. Bij 2/13 patiënten werden ook anti-mitochondriale antilichamen (AMA, merker voor primaire biliaire sclerose) teruggevonden waarbij in één geval het antineuronaal patroon op het cerebellum volledig gemaskeerd werd door de aanwezigheid van deze AMA's zodat anti-Hu specificiteit enkel via Western blot aangetoond kon worden.

Eenzelfde fenomeen werd reeds in de literatuur beschreven voor Ri-positieve patiënten waarbij tot 30% van de patiënten ook ANA's worden teruggevonden en tot 15% AMA's.

Verder werd door Karim A. et al. ook bij 1/6 patiënten met positieve anti-Yo antilichamen ANA's teruggevonden.

Deze problemen dienen te worden onderkend en er moet rekening mee gehouden worden wanneer IIF-patronen worden beoordeeld. Zo zal men steeds rekening dienen te houden met het feit dat gelijktijdige aanwezigheid van ANA's of AMA's frequent voorkomt en dat deze bovendien de patronen van antineuronale autoantistoffen mogelijks kunnen maskeren.

Een tweede belangrijk probleem bij de interpretatie van IIF-patronen is het feit dat atypische neuronale antistoffen (ongeveer de helft van alle positieve IIF-testen) zich met een gelijkaardig patroon kunnen presenteren als de goed gekarakteriseerde antistoffen. Louter op basis van deze IIF-patronen kan men ze dus niet van elkaar onderscheiden.

Beide problemen kunnen enkel worden opgelost door elk staal dat positief is steeds te bevestigen aan de hand van een Western blot.

Verder kan men ook besluiten dat het rapporteren van atypische resultaten (zowel patroon als moleculair gewicht op Western blot) belangrijk is aangezien het kan gaan om nog ongekende maar klinisch belangrijke antineuronale antilichamen hetgeen enkel op termijn aangetoond kan worden.

Een tweede luik in de diagnose van deze antilichamen is het gebruik van Western blot voor de bepaling van de specificiteit van het antilichaam (tabel 6). Ook hier zijn enkele aandachtspunten van belang.

Een eerste punt is de keuze van gebruik van antigenen tussen enerzijds neuronale extracten en anderzijds recombinante antigenen. Zo weet men bijvoorbeeld dat sera van patiënten met het Sjögren's syndroom proteïnen kunnen herkennen met hetzelfde moleculair gewicht als Hu-antigenen op Western blot bij gebruik van neuronale extracten terwijl deze niet teruggevonden worden wanneer men gebruik maakt van recombinante antigenen³⁰. Ook bij anti-Yo antilichamen werd deze discordantie reeds waargenomen. Dit suggereert dat voor het besluiten van een positief resultaat best steeds gebruik wordt gemaakt van zowel neuronale extracten als recombinante antigenen.

Een tweede belangrijk punt is dat men steeds in het achterhoofd houdt, en dan voornamelijk bij de groep van de atypische antilichamen, dat Western blots soms vals negatieve resultaten kunnen opleveren. De verklaring hiervoor is het mogelijks verlies van enkele epitopen op de antigenen bij het overbrengen op de blots.

Anti-GAD antilichamen:

Voor de detectie van deze antilichamen bestaan er een heel aantal verschillende assays. Zo kan men anti-GAD antilichamen aantonen aan de hand van IIF, radioimmunoassay (RIA), immunoprecipitatie assays, radiobinding assays, enzym-linked immunosorbent assays (ELISA) en Western blotting. Uit studies is gebleken dat IIF en RIA de meest betrouwbare assays zijn voor de detectie van anti-GAD antilichamen^{31 32}.

Voor detectie van anti-GAD antilichamen bij patiënten met een vermoeden van een IDDM volstaat detectie met een RIA. Dit omdat andere assays vaak falen om bij deze groep van patiënten de antistoffen te detecteren. Zo werd in de studie van Vianello M. et al. geen enkele IIF positief bevonden bij de groep van patiënten met IDDM en een positieve RIA test.

Anders ligt het bij de patiënt met neurologische symptomen. Buiten de RIA is bij deze groep van patiënten ook de IIF zeer sensitief. Dit verschil verklaart men door het feit dat de antistoffen bij de neurologische patiënten GAD-epitopen in een andere conformatie zouden herkennen. De conformatie van de GAD-antigenen verschilt namelijk afhankelijk van welk assay gebruikt wordt^{31 32}.

Dit feit kan gebruikt worden voor de differentiatie tussen de twee pathologieën. Bij patiënten met neurologische symptomen zou men beide assays moeten gebruiken terwijl bij de diabetici RIA volstaat.

Anti-ganglioside antilichamen:

De voorgestelde gouden standaard voor detectie van deze antilichamen is dunne laag chromatografie gevolgd door immunodetectie³³. Omdat deze methode echter niet geschikt is voor gebruik in routine werd een ELISA ontwikkeld voor enkele van de meest voorkomende anti-ganglioside antilichamen (o.a. anti-GM1 en anti-GQ1b). Deze assays zijn echter niet kostenefficiënt. Men moet immers voor elk antilichaam een verschillend assay (als deze al beschikbaar is) gebruiken wanneer men naar anti-ganglioside antilichamen gaat screenen.

Recent beschreven Conrad K et al. een line immunoassay waarop 10 of meer autoantilichamen tegelijk geanalyseerd kunnen worden. De eenvoudige interpretatie en gemak van gebruik van deze assay zijn belangrijke voordelen. De studie van Conrad K et al. toont goede resultaten op vlak van performantie. De sensitiviteit van deze assay kwam uit op 97.4%. Specificiteit is afhankelijk van het type antilichaam en het feit of zowel IgG als IgM beiden positief zijn. Indien beide positief zijn bedraagt de specificiteit 100%, in het andere geval bedraagt de specificiteit 93.3% (voor anti-GM1 antilichamen) tot 97% (voor de anderen). Voor de screening naar anti-ganglioside antilichamen lijkt deze line immunoassay dan ook het meest geschikt. Indien men (semi-)kwantitatieve resultaten wil bekomen kan men dan nog steeds specifiek gebruik maken van een ELISA.

Anti-MAG antilichamen:

De gouden standaard voor de detectie van deze antilichamen is een Western blot met gebruik van humane 100kDa MAG-antigenen. Bij het evalueren van andere mogelijke assays moet de performantie dan ook steeds vergeleken worden met de Western blot met menselijke antigenen. Een recente studie wijst uit dat gebruik van een ELISA (enzym-linked immunosorbent assay) met MAG-antigenen en één met SGPG-antigenen de beste keuze is voor screening naar anti-MAG antilichamen³⁴. IIF en Western blot met antigenen bekomen uit apenweefsel zijn minder performant.

Vergeleken met de gouden standaard kwamen Jaskowski TD et al. uit op een sensitiviteit van 97.5% voor de ELISA met humane MAG-antigenen. De voordelen van een ELISA ten opzichte van Western blot zijn onder andere de objectiviteit en het semikwantitatief resultaat. Daarenboven lijkt het dat men met een ELISA lage titers van IgM kan terugvinden bij patiënten met een auto-immune neuropathie zonder demyelinisatie. Verdere studies zijn evenwel nodig om het klinisch nut van deze ELISA+/Western blot- resultaten te beoordelen.

Het in parallel testen van SGPG-antigenen met een ELISA lijkt ook nuttig, voornamelijk bij lage MAG-IgM concentraties. Aangezien anti-MAG antilichamen vaak kruisreageren met SGPG-antigenen kan een positief resultaat nog eens extra bevestigd worden. Daarenboven bestaat er ook een zeldzame groep patiënten met specifieke binding aan SGPG. Deze subgroep is echter nog niet goed gedefinieerd.

To do/ACTIONS

- 1) Detectie in eigen laboratorium?
- 2) Welke antilichamen bepalen?

Tabel1 Paraneoplastisch neurologische syndromen

<p>Syndromen van het centraal zenuwstelsel</p> <p><u>Encephalomyelitis (PEM)</u></p> <p><u>Limbische encephalitis (LE)</u></p> <p>Hersenstem encephalitis</p> <p><u>Subacute cerebellaire degeneratie (PCD)</u></p> <p><u>Opsoclonus-myoclonus (POM)</u></p> <p>Stiff-person syndroom (SPS)</p> <p>Optische neuritis</p> <p>Syndromen van het perifeer zenuwstelsel</p> <p><u>Subacute sensorische neuropathie</u></p> <p>Acute sensorimotorische neuropathie (Guillain-Barré syndroom, GBS)</p> <p>Subacute/chronische sensorimotorische neuropathie</p> <p>Autonome neuropathie</p> <p>Syndromen van de neuro-musculaire junctie</p> <p>Myasthenia gravis</p> <p><u>Lambert-Eaton myasteen syndroom (LEMS)</u></p> <p><u>Dermatomyositis</u></p>
--

Klassieke syndromen zijn onderlijnd

Tabel2 Diagnostische criteria voor paraneoplastisch neurologische syndromen

Zeker PNS
<ol style="list-style-type: none"> 1. Klassiek syndroom en een tumor die zich binnen de vijf jaar na diagnose van de neurologische problemen ontwikkelt. 2. Een niet-klassiek syndroom dat geneest of significant verbetert na therapie voor de tumor zonder gelijktijdige immuuntherapie op voorwaarde dat het syndroom niet spontaan kan genezen. 3. Een niet-klassiek syndroom met onconeuronale antistoffen (klassiek of niet) en een tumor die zich binnen de vijf jaar na diagnose van de neurologische problemen ontwikkelt. 4. Een neurologisch syndroom (klassiek of niet) met goed gekarakteriseerde onconeuronale antistoffen zonder tumor.
Mogelijke PNS
<ol style="list-style-type: none"> 1. Een klassiek syndroom, geen onconeuronale antistoffen, geen tumor, maar met hoog risico van een onderliggende tumor. 2. Een neurologisch syndroom (klassiek of niet) met partieel gekarakteriseerde onconeuronale antistoffen zonder tumor. 3. Een niet-klassiek syndroom, geen onconeuronale antistoffen, en een tumor aanwezig binnen de eerste twee jaar na diagnose.

Graus F, Delattre JY, Antoine JC et al. Recommended diagnostic criteria for paraneoplastic neurological syndromes. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2004;75:1135-1140.

Tabel3 onconeuronale autoantistoffen

Antilichaam	Aantal gerapporteerde patiënten	% van positieve antilichamen in afwezigheid van tumor	Frequentie (%) bij kankerpatiënten zonder PNS
<i>Goed gekarakteriseerde antilichamen</i>			
Anti-Hu (ANNA1)	>600	2	16
Anti-Yo (PCA1)	>200	2	1
Anti-CV2 (CRMP5)	>100	4	9

Anti-Ri (ANNA2)	61	3	4
Anti-Ma2 (Ta)	55	4	0
Anti-amphiphysin	20	5	0
<i>Deels gekarakteriseerde antilichamen</i>			
Anti-Tr (PCA-Tr)	28	11	0
ANNA3	11	9	0
PCA2	9	0	2
Anti-Zic4	8	12	16
Anti-mGluR1	2	50	?

Graus F, Delattre JY, Antoine JC et al. Recommended diagnostic criteria for paraneoplastic neurological syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004;75:1135-1140.

Tabel4 Syndromen en klinische symptomen

Lambert-Eaton myasteen syndroom (LEMS):

Auto-immuun ziekte van de neuro-musculaire junctie met spierzwakte (beginnend proximaal in de benen) en autonome disfunctie (droge monde, droge ogen, wazig zicht, impotentie, constipatie, orthostatische hypotensie).

Paraneoplastisch opsoclonus-myoclonus syndroom (POMS):

Opsoclonus

Onwillekeurige bewegingen van het oog in alle richtingen. Intermittent of continu.

Myoclonus

Onwillekeurige samentrekken van spieren of spiergroepen.

Paraneoplastische encephalomyelitis (PEM):

Variabele kliniek afhankelijk van welk anatomisch gebied aangetast wordt (LE, autonome disfunctie, hersenstam syndromen, myelitis, SSN).

Paraneoplastisch cerebellaire degeneratie (PCD):

Cerebellaire ataxie, dysarthrie, dysphagie en diplopie.

Limbische encephalitis (LE):

Verwardheid, verminderd korttermijn geheugen, evt. epileptische aanvallen. Depressie of hallucinaties kunnen ook voorkomen.

Subacute sensorische neuropathie (SSN):

Multifocaal of asymmetrisch, pijn/paresthesieën, voornamelijk bovenste ledematen, sensorisch verlies, verlies van peesreflexen.

Paraneoplastische cerebellaire ataxie (PCA):

Pancerebellaire disfunctie.

Stiff-person syndroom (SPS):

Co-contractie van agonistische en antagonistische spiergroepen (vnl. axiaal), pijnlijke spasmen voorafgegaan door sensorische stimuli.

Multifocale motorische neuropathie (MMN):

Spierzwakte beginnend in handen, asymmetrisch, uitbreidend naar armen/benen, zeer milde sensorische stoornissen.

Motor neuron disease (MND):

Progressieve verzwakking van de spieren met verminderde mobiliteit van de ledematen, moeilijkheden bij spraak, slikken en ademen.

Tabel5 IIF patronen

Paraneoplastisch autoantilichaam	Indirect immuunfluorescentie-patroon
Anti-Hu	Nuclei + cytoplasma van centrale en perifere neuronen
Anti-Yo	Axonen en cytoplasma van Purkinje-cellen
Anti-CV2	Cytoplasma van oligodendrocyten
Anti-Ma2	Nucleoli van neuronen en Purkinje-cellen
Anti-Ri	Nuclei + cytoplasma van centrale neuronen met nucleolaire uitsparingen
Anti-amphiphysin	Presynaptische uiteinden in het centraal zenuwstelsel
Anti-Tr (!)	Cytoplasma van Purkinje-cellen met fijne granulaire aankleuring in de moleculaire laag
Anti-VGCC	Pre-synaptisch in de neuro-musculaire junctie
Anti-NMDAR	???
Anti-Zic4	Nuclei van granulaire neuronen, zwakker op nuclei van Purkinje-cellen.
Anti-PCA2	Cytoplasma van Purkinje-cellen en andere neuronen
Anti-mGluR1	Cytoplasma van Purkinje-cellen
Anti-Recoverin	Retinale fotoreceptor
Anti-VGKC	Perifere zenuwen
ANNA3	Nuclei van centrale neuronen (Purkinje-cellen, moleculaire laag, golgi)
Anti-GAD	Diffuus zenuwuiteinden in moleculaire en granulaire laag van cerebellum, axonen van Purkinje-cellen / eiland-cellen

Rees JH. Paraneoplastic syndromes: when to suspect, how to confirm, and how to manage. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004;75:43-50

Karim AR et al. Paraneoplastic Neurological Antibodies. *Ann NY Acad Sci.* 2005;1050:274-85.

Tabel6 Moleculaire gewichten Western blot

Paraneoplastisch autoantilichaam	Neuronaal autoantigeen (Moleculair gewicht (kDa))
Anti-Hu	34-40
Anti-Yo	34, 52, 62
Anti-CV2	66
Anti-Ma2	41.5
Anti-Ri	55, 80
Anti-amphiphysin	128
Anti-Tr (!)	/
Anti-VGCC	64
Anti-NMDAR	???
Anti-Zic4	37
Anti-PCA2	280
Anti-mGluR1	140
Anti-Recoverin	23, 65
Anti-VGKC	/
ANNA3	170
Anti-GAD	65, 67
Anti-MAG	100

Rees JH. Paraneoplastic syndromes: when to suspect, how to confirm, and how to manage. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004;75:43-50
Karim AR et al. Paraneoplastic Neurological Antibodies. *Ann NY Acad Sci.* 2005;1050:274-85.

-
- ¹ Dalmau J, Rosenfeld MR. Paraneoplastic syndromes of the CNS. *Lancet Neurol.* 2008;7:327-40.
 - ² Honnorat J, Antoine JC. Paraneoplastic neurological syndromes. *Orphanet J of rare diseases.* 2007;2:22-30
 - ³ Bataller L, Dalmau J. Paraneoplastic neurologic syndromes: Approaches to diagnosis and treatment. *Neuroimmunotherapy.* 2003;23,2:215-24.
 - ⁴ Vedeler Ch, Antoine JC, Giometto B, Graus F, Grisold W., Hart IK, Honnorat J, Sillevs Smitt PAE, Verschuuren JJGM, Voltz R. Management of paraneoplastic neurological syndromes: report of an EFNS Task Force. *Eur J neurol.* 2006;13(7):682-90.
 - ⁵ Graus F, Delattre JY, Antoine JC, Dalmau J, Giometto B, Grisold W, Honnorat J, Sillevs Smitt P, Vedeler Ch, Verschuuren JJGM, Vincent A, Voltz R. Recommended diagnostic criteria for paraneoplastic neurological syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2004;75:1135-40.
 - ⁶ Honnorat J, Onconeurological antibodies are essential to diagnose paraneoplastic neurological syndromes. *Acta Neurol Scand.* 2006;113:64-68.
 - ⁷ Graus F, Keime-Guibert F, Rene R et al. Anti-Hu-associated paraneoplastic encephalomyelitis: analysis of 200 patients. *Brain.* 2001;124:1138-48.
 - ⁸ Rojas I, Graus F, Keime-Guibert F, Rene R, Delattre JY, Ramon JM et al. Long-term clinical outcome of paraneoplastic cerebellar degeneration and anti-Yo antibodies. *Neurology.* 2000; 55:713-15.
 - ⁹ Rogemond V, Honnorat J. Anti-CV2 autoantibodies and paraneoplastic syndromes. *Clin Rev All Immunol.* 2000;19:48-57.
 - ¹⁰ Hoffmann LA, Jarius S, Pellkofer HL et al. Anti-Ma and anti-Ta associated paraneoplastic Neurological syndromes: 22 newly diagnosed patients and review of previous cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2008;79:767-73.
 - ¹¹ Bernal F, Shams' Ili S, Rojas I, Sanchez Valle R, Saiz A, Dalmau J et al. Anti-Tr antibodies as marker of paraneoplastic cerebellar degeneration and Hodgkin's disease. *Neurology.* 2003;60:230-4.
 - ¹² Graus F, Dalmau J. Paraneoplastic neurological syndromes: diagnosis and treatment. *Curr Opin Neurol.* 2007;20:732-37.
 - ¹³ Graus F, Lang B, Pozo-Rosich P et al. P/Q type calcium-channel antibodies in paraneoplastic cerebellar degeneration with lung cancer. *Neurology.* 2002;59:764-6.
 - ¹⁴ Shiraga S, Adamus G. Mechanism of CAR syndrome: anti-recoverin antibodies are the inducers of retinal cell apoptotic death via the caspase 9- and caspase 3-dependent pathway. *J Neuroimmunol.* 2002;132(1-2):72-82.
 - ¹⁵ Chan KH, Vernino S, Lennon VA. ANNA-3 anti-neuronal nuclear antibody: Marker of lung cancer-related autoimmunity. *Ann Neurol.* 2001;50:301-11.
 - ¹⁶ Kono S, Miyajima H, Sugimoto M, Suzuki Y et al. Stiff-person Syndrome Associated with cerebellar ataxia and high glutamic acid decarboxylase antibody titer. *Int Med.* 2001;40:968-71.
 - ¹⁷ Rakocevic C, Raju R, Dalakas MC. Anti-glutamic acid decarboxylase antibodies in the serum and cerebrospinal fluid of patients with Stiff-Person syndrome. *Arch Neurol.* 2004;61:902-4.
 - ¹⁸ Van Sorge NM, van der Pol WL, Jansen MD, van den berg LH. Pathogenicity of anti-ganglioside antibodies in the Guillain-Barré syndrome. *Autoimmunity Reviews.* 2004;3:61-68.
 - ¹⁹ Nobile-Orazio E, Gallia F, Terenghi F, Allaria S, Gianotta C, Carpo M. How useful are anti-neural IgM antibodies in the diagnosis of chronic immune-mediated neuropathies? *J. of the Neur. Sciences.* 2008;266:156-63.
 - ²⁰ Joint Task Force of the EFNS and the PNS. European Federation of Neurological Societies/peripheral Nerve Society Guideline on management of multifocal neuropathy. Report of a joint task force of the European Federation of Neurological Societies and the Peripheral Nerve Society. *JPNS.* 2006;11:1-8.
 - ²¹ Willison HJ, Plomp JJ. Anti-ganglioside antibodies and the presynaptic motor nerve terminal. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2008;1132:114-23.
 - ²² Lo YL. Clinical and immunological spectrum of the Miller Fisher syndrome. *Muscle Nerve.* 2007;36:615-27.
 - ²³ Pritchard J. What's new in Guillain-Barré syndrome. *Postgrad. Med. J.* 2008;84:532-38.
 - ²⁴ Odaka M, Yuki N, Hirata K. Anti-GQ1b IgG antibody syndrome: clinical and immunological range.
 - ²⁵ Eurlings M, Ang CW, Notermans PA, Van Doorn B, Jacobs C, Van den Berg LH. Antiganglioside antibodies in polyneuropathy associated with monoclonal gammopathy. *Neurology.* 2001;57:1909-12.
 - ²⁶ Steck JA, Stalder AK, Rebaud S. Anti-myelin-associated glycoprotein neuropathy. *Curr Opin Neurol.* 2006;19:458-63.
 - ²⁷ Mol JWB, Antoine JC, Brashear HR et al. Guidelines on the detection of paraneoplastic anti-neuronal-specific antibodies. *Neurology.* 1994;45:1937-1941.
 - ²⁸ Dalmau J. The use of paraffin-embedded tissue for detection of antineuronal antibodies. *Acta Neuropathol.* 1997;94:300-301.
 - ²⁹ Vianello M, Vitaliani R, Pezzani R, Nicolao P et al. The spectrum of antineuronal antibodies in a series of Neurological patients. *J Neurol Sci.* 2004;220:29-36.
 - ³⁰ Karim AR, Hughes RG, Winer JB, Williams AC, Bradwell AR. Paraneoplastic Neurological antibodies: A laboratory experience.

-
- ³¹ Vianello M, Tavolato B, Giometto B. Glutamic acid decarboxylase autoantibodies and neurological disorders. *Neurol Sci.* 2002;23:145-51.
- ³² Vianello M et al. Antigenic differences between neurological and diabetic patients with anti-glutamic acid decarboxylase antibodies. *Eur J Neurol.* 2005;12:294-99.
- ³³ Conrad K, Schneider H, Ziemssen Tjalf et al. A new line immunoassay for the multiparametric detection of antiganglioside autoantibodies in patients with autoimmune peripheral neuropathies. *Ann NY Acad Sci.* 2007;1109:256-64.
- ³⁴ Jaskowski TD, Prince HE, Greer RW, Litwin CM, Hill HR. Further comparison of assays for detecting MAG IgM autoantibodies. *J Neuroimmunol.* 2007;187:175-78.