

Università degli Studi di Padova

Scuola di Medicina e Chirurgia

Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia

Dipartimento di Neuroscienze - DNS

TESI DI LAUREA

**Neuropatie con anticorpi anti-MAG: analisi del
profilo liquorale e correlazioni cliniche e genetiche**

Relatrice: Prof.ssa Chiara Briani

Correlatore: Dott. Marco Puthenparampil

Laureando: Alberto Manega

Anno Accademico 2023/24

INDICE

| | |
|--|-----------|
| RIASSUNTO | 1 |
| ABSTRACT | 3 |
| 1. INTRODUZIONE | 5 |
| 1.1 LA GUAINA MIELINICA | 5 |
| 1.1.1 Struttura della guaina mielinica | 5 |
| 1.1.2 Funzione della guaina mielinica | 8 |
| 1.1.3 Composizione della guaina mielinica | 9 |
| 1.1.3.1 Sistema nervoso centrale..... | 10 |
| 1.1.3.2 Sistema nervoso periferico..... | 12 |
| 1.2 MYELIN-ASSOCIATED GLYCOPROTEIN (MAG) | 13 |
| 1.2.1 Struttura..... | 13 |
| 1.2.2 Localizzazione..... | 16 |
| 1.2.3 Funzione di MAG | 17 |
| 1.3 NEUROPATIE PERIFERICHE | 20 |
| 1.3.1 Definizione, descrizione e terminologia | 20 |
| 1.3.2 Eziologia e patogenesi..... | 21 |
| 1.3.3 Approccio al paziente..... | 24 |
| 1.3.4 Trattamento | 26 |
| 1.4 NEUROPATIE PARAPROTEINEMICHE | 30 |
| 1.4.1 Cenni storici | 30 |
| 1.4.2 Condizioni associate a gammopatie monoclonali | 31 |
| 1.4.2.1 Gammopatia monoclonale di incerto significato (MGUS) | 31 |
| 1.4.2.2 Macroglobulinemia di Waldenström (WM)..... | 33 |
| 1.4.2.3 Mieloma multiplo (MM)..... | 34 |
| 1.4.2.4 Sindrome POEMS | 35 |
| 1.4.2.5 Amiloidosi AL (primaria)..... | 36 |
| 1.4.2.6 Crioglobulinemia mista..... | 37 |
| 1.5 NEUROPATIA DA ANTICORPI ANTI-MAG | 38 |
| 1.5.1 Epidemiologia e patogenesi | 38 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 1.5.2 | Presentazione clinica e decorso | 42 |
| 1.5.3 | Diagnosi..... | 42 |
| 1.5.4 | Trattamento..... | 43 |
| 1.5.5 | Nuove prospettive di trattamento | 45 |
| 1.5.6 | Ruolo dello studio liquorale | 46 |
| 2. | SCOPO DELLO STUDIO..... | 49 |
| 3. | MATERIALI E METODI | 50 |
| 3.1 | PAZIENTI | 50 |
| 3.2 | STUDIO LIQUORALE E SIERICO | 54 |
| 3.3 | STUDIO GENETICO | 55 |
| 3.4 | ANALISI STATISTICA..... | 55 |
| 4. | RISULTATI..... | 57 |
| 4.1 | DATI CLINICI..... | 57 |
| 4.1.1 | Alla diagnosi..... | 57 |
| 4.1.2 | All'ultimo follow-up | 59 |
| 4.2 | STUDIO LIQUORALE E SIERICO | 62 |
| 4.3 | STUDIO GENETICO | 67 |
| 5. | DISCUSSIONE E CONCLUSIONI | 68 |
| 6. | BIBLIOGRAFIA..... | 71 |

RIASSUNTO

Premessa. La neuropatia con anticorpi anti-MAG è una rara forma di neuropatia, solitamente associata a condizioni ematologiche paraproteinemiche quali la gammopatia monoclonale di incerto significato (MGUS) o la macroglobulinemia di Waldenström (WM), con produzione di anticorpi di tipo IgM diretti contro la myelin-associated glycoprotein (MAG), una componente della guaina mielinica coinvolta nel corretto mantenimento funzionamento nervoso periferico. La patologia colpisce prevalentemente i soggetti maschi nella sesta-settima decade di età. Si presenta come una polineuropatia prevalentemente sensitiva distale, demielinizzante, con decorso cronico e lentamente progressivo, caratterizzata da ipoestesia e parestesia agli arti, e più raramente difficoltà nella marcia e tremore. La diagnosi si basa sulla clinica, seguita da studi elettrodiagnostici ed esami di laboratorio volti alla ricerca della gammopatia monoclonale IgM e del titolo di anticorpi anti-MAG. Attualmente, lo studio liquorale non ha un ruolo nella diagnosi della patologia; tuttavia, i campioni di liquor dei pazienti affetti mostrano una dissociazione albumino-citologica, provocata verosimilmente da un danno di barriera.

Scopo dello studio. Lo scopo dello studio è la ricerca di correlazioni e associazioni, in pazienti affetti da neuropatia da anticorpi anti-MAG, tra i dati ottenuti con l'analisi liquorale, effettuata al momento della diagnosi, e il decorso clinico della patologia, valutato progressivamente durante le visite di follow-up. Nello specifico, viene indagato se un eventuale danno di barriera rilevato al prelievo liquorale sia associato ad una progressione clinica peggiore. In una sottopopolazione di pazienti questi dati vengono inoltre valutati in rapporto alla mutazione MYD88^{L265P}.

Materiali e metodi. Sono stati inclusi 47 pazienti consecutivi con diagnosi di neuropatia da anticorpi anti-MAG, valutati in due centri specializzati nella gestione delle neuropatie. Come gruppo di controllo sono stati inclusi 49 pazienti consecutivi con diagnosi di polineuropatia infiammatoria demielinizzante cronica (CIDP), valutati presso la Clinica Neurologica di Padova nello stesso periodo dei pazienti con neuropatia da anticorpi anti-MAG. Al momento della diagnosi entrambi i gruppi sono stati sottoposti a rachicentesi, con analisi sui campioni che includono conta degli elementi, proteinorrachia, concentrazione albumina e IgG, focusing

isoelettrico, oltre che analisi sieriche nel gruppo dei pazienti con neuropatia da anticorpi anti-MAG sulla componente monoclonale e il dosaggio degli anticorpi anti-MAG. Entrambi i gruppi sono stati valutati con esame neurologico alla diagnosi e al follow-up.

Risultati. I pazienti dello studio, affetti da neuropatia da anticorpi anti-MAG, presentano al follow-up un lieve ma significativo peggioramento clinico quantificato secondo score INCAT ($p=0,001$). Inoltre, la maggior parte di essi presenta all'analisi liquorale dissociazione albumino-citologica e concomitante danno di barriera; la severità del danno di barriera presenta una correlazione significativa con la differenza nello score INCAT rilevato al follow-up rispetto alla diagnosi ($p=0,015$), e con la rilevazione di alti titoli sierici di anticorpi anti-MAG alla diagnosi ($p=0,001$). Infine, non sono state osservate associazioni tra la mutazione MYD88^{L265P} e i dati clinici e liquorali.

Conclusioni. I pazienti affetti da neuropatia da anticorpi anti-MAG presentano caratteristiche liquorali comparabili ai pazienti affetti da CIDP. I dati ottenuti suggeriscono una progressione clinica peggiore nei pazienti che presentano alla diagnosi un danno di barriera più severo; quest'ultimo dato è inoltre più frequentemente riscontrato nei pazienti che presentano alla diagnosi un alto titolo di anticorpi anti-MAG. L'analisi della mutazione MYD88^{L265P} non è risultata essere di aiuto nel valutare la progressione clinica dei pazienti.

ABSTRACT

Background. Anti-MAG antibody neuropathy is a rare form of neuropathy, usually associated with paraproteinemic haematological conditions such as monoclonal gammopathy of uncertain significance (MGUS) or Waldenström's macroglobulinemia (WM), with production of IgM-type antibodies directed against myelin-associated glycoprotein (MAG), a component of the myelin sheath involved in the proper maintenance of peripheral nerve function. The disease predominantly affects males in their sixth to seventh decade of age. It presents as a distal sensory, demyelinating polyneuropathy, with a chronic and slowly progressive course, characterised mainly by hypoesthesia and paresthesia in the limbs, and more rarely gait imbalances and tremor. Diagnosis is based on clinical signs and symptoms, followed by electrodiagnostic studies and laboratory tests for IgM monoclonal gammopathy and anti-MAG antibody titre. At present, the CSF study does not play a role in the diagnosis of the disease, however CSF samples from affected patients show an albumin-cytological dissociation, most likely caused by barrier damage.

Aim of the study. The aim of the study is to search for correlations and associations, in patients with anti-MAG antibody neuropathy, between the data obtained from CSF analysis, carried out at the time of diagnosis, and the clinical course of the disease, assessed progressively during follow-up visits. Specifically, it is investigated whether any barrier damage detected at the CSF sampling is associated with a worse clinical progression. In a subpopulation of patients, these data are also evaluated in relation to the MYD88^{L265P} mutation.

Materials and methods. Forty-seven consecutive patients diagnosed with anti-MAG antibody neuropathy and evaluated in two centres specialising in the management of neuropathy were included. As a control group, 49 consecutive patients with a diagnosis of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP), evaluated at the Neurological Clinic of Padua during the same period as the patients with anti-MAG antibody neuropathy, were included. At the time of diagnosis, both groups underwent a spinal tap, with sample analyses including element count, protein, albumin and IgG concentration, isoelectric focusing, as well as serum analyses in the group of patients with anti-MAG antibody neuropathy on

the monoclonal component and the anti-MAG antibody assay. Both groups were evaluated with neurological examination at diagnosis and follow-up.

Results. The patients in the study, suffering from anti-MAG antibody neuropathy, presented at follow-up a slight but significant clinical worsening quantified by INCAT score ($p=0.001$). In addition, most of them presented with albumin-cytological dissociation and concomitant BBB damage on CSF analysis; the severity of BBB damage correlated significantly with the difference in INCAT score at follow-up compared to diagnosis ($p=0.015$), and with the detection of high serum anti-MAG antibody titres at diagnosis ($p=0.001$). Finally, no associations were observed between the MYD88^{L265P} mutation and clinical and CSF data.

Conclusions. Patients with anti-MAG antibody neuropathy have comparable CSF characteristics to patients with CIDP. The data obtained suggest a worse clinical progression in patients presenting with more severe barrier damage at diagnosis; the latter is also more frequently found in patients presenting with a high anti-MAG antibody titre at diagnosis. MYD88^{L265P} mutation analysis was not helpful in assessing the clinical progression of patients.

1. INTRODUZIONE

1.1 LA GUAINA MIELINICA

1.1.1 Struttura della guaina mielinica

La guaina mielinica è una membrana plasmatica modificata ed estesa che si avvolge attorno all'assone in maniera spiraliforme (in Figura 1 è rappresentata schematicamente la formazione mielinica nel sistema nervoso periferico). Essa ha origine ed è una componente stessa delle cellule di Schwann, nel sistema nervoso periferico, e degli oligodendrociti nel sistema nervoso centrale (1).

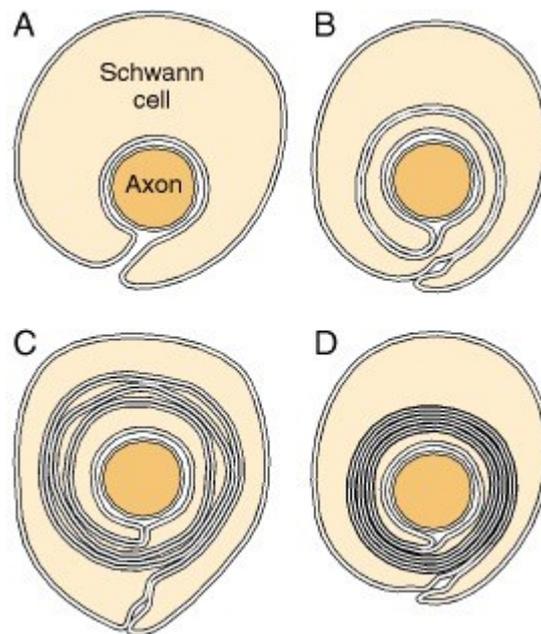


Figura 1. Formazione della mielina nel sistema nervoso periferico. A: la cellula di Schwann ha circondato l'assone, ma le superfici esterne della membrana plasmatica non si sono ancora fuse nel mesassone. B: il mesassone si è fuso in una struttura a cinque strati avvolgendosi a spirale attorno all'assone. C: si sono formati alcuni strati di mielina ma non sono completamente compattati. Si noti il citoplasma intrappolato in zone in cui le superfici della membrana citoplasmatica non si sono ancora fuse. D: mielina compatta. Si noti che il citoplasma delle cellule di Schwann forma un anello sia all'interno che all'esterno della guaina.

(1)

In particolare, nel sistema nervoso periferico le fibre amieliniche sono incluse in una singola cellula di Schwann che include più assoni, ognuno avvolto in una tasca similmente a quanto raffigurato nella Figura 1-A. Invece, le fibre mieliniche vengono avvolte lungo l'assone da più cellule di Schwann: le porzioni prive del

rivestimento mielinico vengono definite nodi di Ranvier, e più nel dettaglio, le porzioni del nodo dove le lamelle mieliniche terminano il contatto con l'assone vengono definite paranodo (Figura 2); le porzioni ricoperte da una singola cellula di Schwann vengono definite internodi. Tuttavia, queste regioni internodali non sono continue, ma intervallate da regioni definite incisure di Schmidt-Lanterman (Figura 3), che si suppone abbiano un ruolo metabolico e di facilitare il movimento del complesso mielina-assone senza generare danni (1,2).

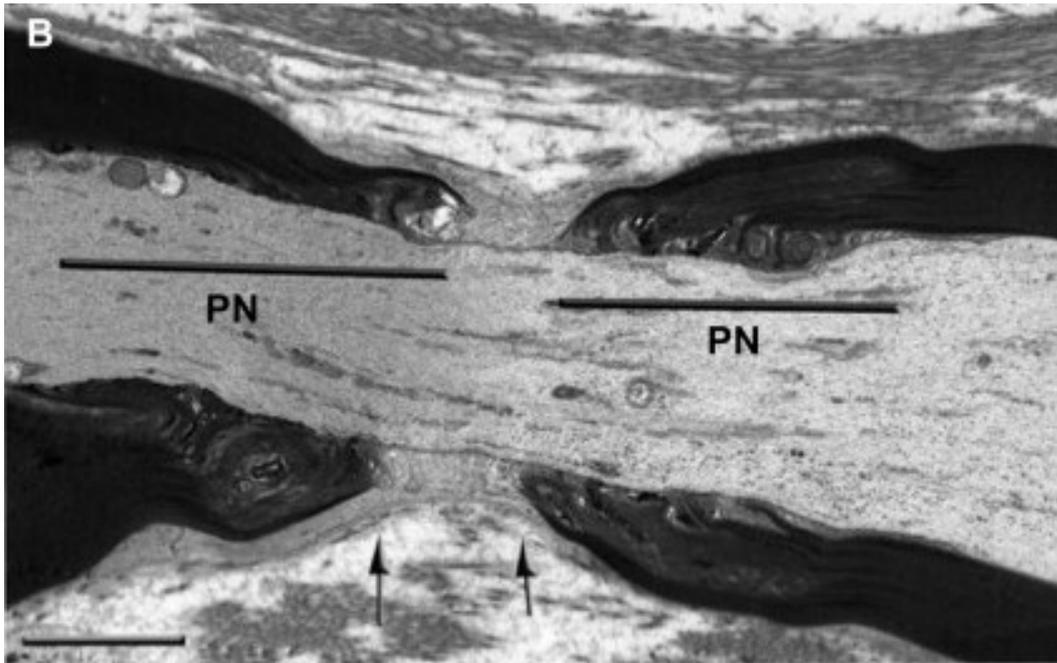


Figura 2. Sezione longitudinale di una fibra mielinica in microscopia elettronica. Il nodo di Ranvier è rappresentato dalle frecce, il paranodo dalle linee marcate come "PN". (2)

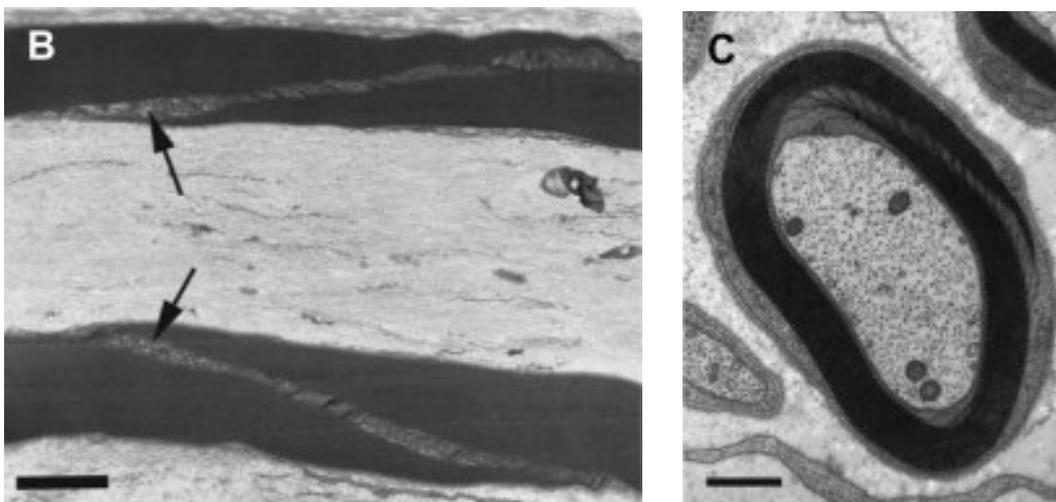


Figura 3. Sezioni longitudinale e trasversale, rispettivamente in figura B e C, di incisura di Schmidt-Lanterman in microscopia elettronica. (2)

La maggior parte di ciò che sappiamo sull'ultrastruttura della guaina mielinica si basa su studi di microscopia elettronica che illustrano la sua struttura multilamellare composta da strati elettrondensi e elettronchiari, definiti rispettivamente linea densa maggiore e linea intraperiodale. La linea densa maggiore rappresenta le superfici citoplasmatiche strettamente condensate, mentre la linea intraperiodale è costituita dalla giustapposizione delle membrane esterne (3).

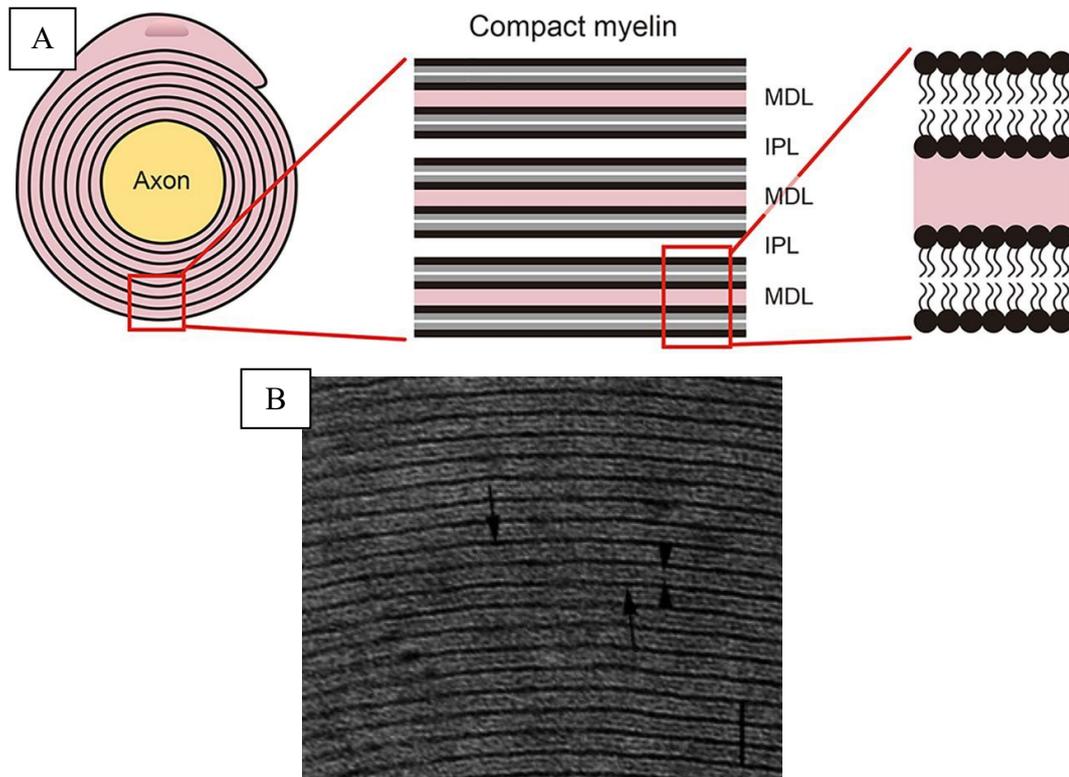


Figura 4. A: Rappresentazione grafica dell'ultrastruttura della guaina mielinica. MDL=linea densa maggiore, IPL=linea intraperiodale. Modificata da (4). B: Microscopia elettronica di guaina mielinica, la linea densa maggiore è rappresentata dalle frecce, la linea intraperiodale è rappresentata dalle punte di freccia. Modificata da (2).

La Figura 5 mostra come sarebbe una cellula di Schwann se la sua guaina mielinica fosse "srotolata" dall'assone che normalmente avvolge: le porzioni più laterali sono definite lateral loops e formano complessi di membrana con l'assone, a livello paranodale, in strutture definite bande trasverse; invece, a livello internodale la guaina mielinica e l'assone sono separati dallo spazio periaxonale, il quale si trova in comunicazione con lo spazio extracellulare (1).

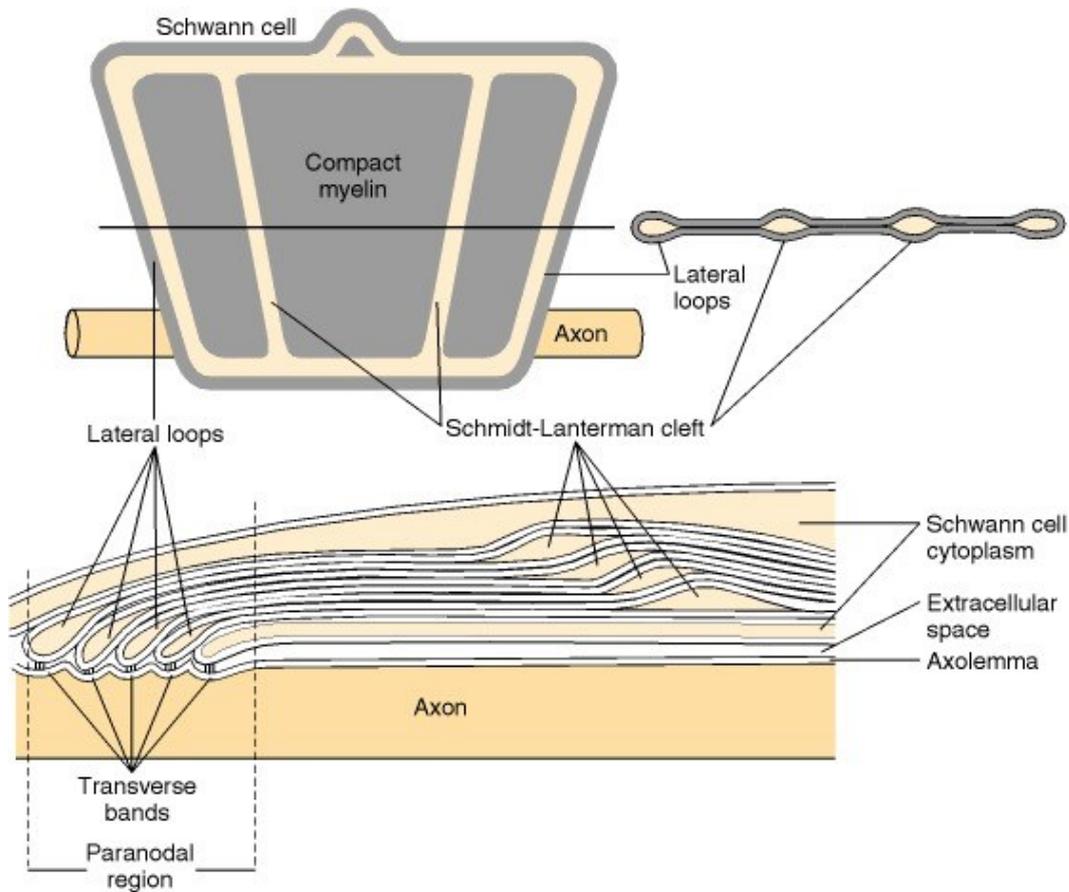


Figura 5. Rappresentazione grafica delle diverse strutture mieliniche in rapporto con l'ipotetica conformazione "srotolata" della guaina mielinica. (1)

1.1.2 Funzione della guaina mielinica

La guaina mielinica è un isolante elettrico e il suo ruolo è di facilitare la conduzione lungo l'asse neurale. Nelle fibre amieliniche la conduzione si propaga grazie a circuiti locali assionali, attraverso i quali le correnti ioniche fluiscono dalle porzioni dell'assone eccitabili verso le regioni adiacenti, generando una corrente di depolarizzazione. Invece, nelle fibre mieliniche le porzioni assionali eccitabili sono localizzate a livello dei nodi di Ranvier: la trasmissione delle correnti ioniche in queste fibre avviene in modalità "saltatoria" tra un nodo e l'altro, richiedendo una quantità di energia inferiore grazie alle regioni a bassa capacitance coperte dalla guaina mielinica tra i nodi, risultando così in una trasmissione elettrica a velocità aumentata.

Inoltre, la velocità di conduzione nelle fibre mieliniche è direttamente proporzionale al loro diametro, mentre nelle fibre amieliniche è proporzionale alla radice quadrata del diametro (1).

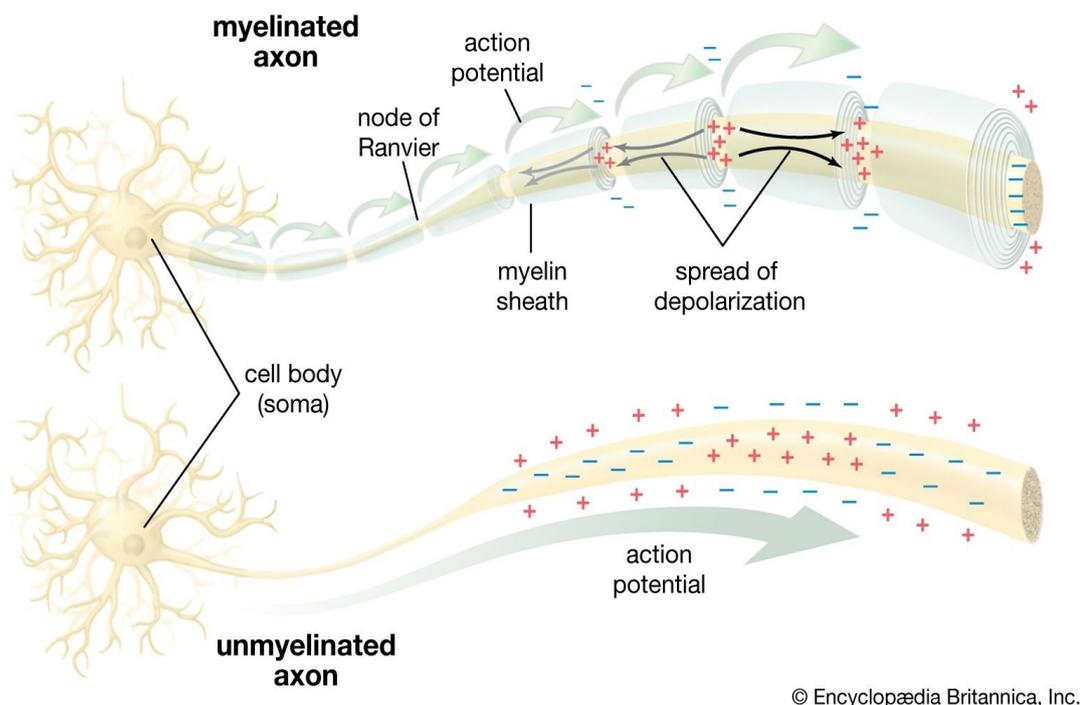


Figura 6. Differenza di conduzione del potenziale d'azione in fibra mielinica e amielinica. (5)

1.1.3 Composizione della guaina mielinica

La mielina presenta un contenuto di acqua pari al 40% circa del totale. La restante massa totale è composta da un alto contenuto di lipidi (70-85%) e un basso contenuto di proteine (15-30%).

Il contenuto lipidico della sostanza bianca è costituito per la maggior parte dalla mielina; in essa, i lipidi più rappresentati sono il colesterolo e il galattocerebroside, un particolare galattolipide la cui concentrazione nel sistema nervoso è direttamente proporzionale alla quantità di mielina presente, il quale gioca un ruolo importante nella capacità isolante della guaina mielinica.

Vi sono solo piccole differenze quantitative nella composizione lipidica mielinica tra sistema nervoso periferico e sistema nervoso centrale; al contrario, la composizione proteica nelle due regioni a livello qualitativo è estremamente

diversa, nonostante alcune proteine (ad esempio MBP e MAG) siano comuni in entrambi i sistemi, come è possibile apprezzare in Figura 7 (6).

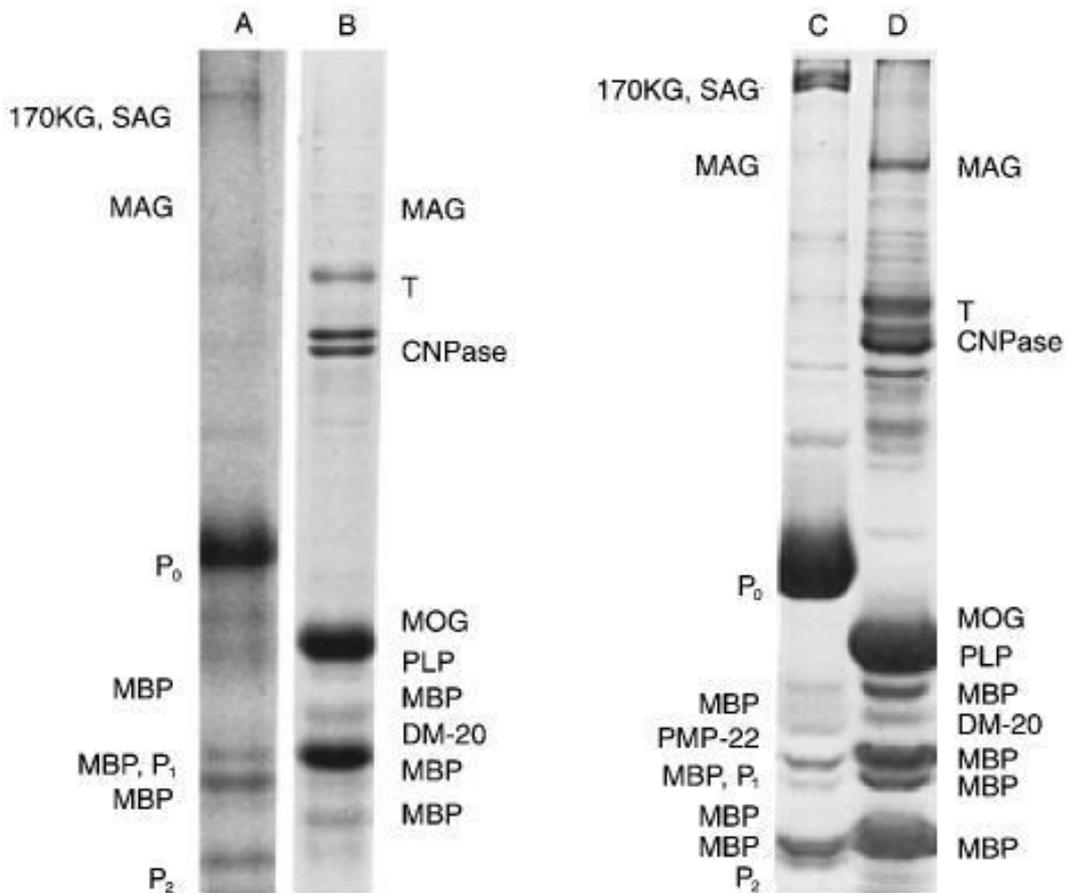


Figura 7. Elettroforesi su gel di poliacrilammide delle proteine mieliniche in presenza di sodio dodecil solfato (SDS). Le proteine di A: mielina del SNP umano, B: mielina del SNC centrale umano, C: mielina del SNP di ratto e D: mielina del SNC di ratto sono state solubilizzate con il detergente SDS, sottoposte a elettroforesi e colorate con blu brillante Coomassie. Il sistema elettroforetico separa le proteine principalmente in base alla loro dimensione molecolare, con le proteine più piccole che migrano più lontano verso il fondo del gel. (6)

1.1.3.1 Sistema nervoso centrale

Nel sistema nervoso centrale, le proteine più rappresentate sono la proteina proteolipidica, o lipofilina (PLP) e la proteina basica della mielina (MBP), le quali costituiscono il 60-80% delle proteine mieliniche nella maggior parte delle specie.

La lipofilina (PLP) è una proteina idrofobica di 30 kDa, ricca di domini transmembrana e altamente conservata con un ruolo nella stabilizzazione e nel mantenimento della guaina mielinica (6). Mutazioni di PLP causano due forme di leucodistrofia legate all'X: la malattia di Pelizaeus-Merzbacher classica, con ritardo

dello sviluppo, nistagmo, ipotonia, spasticità e deficit cognitivo di gravità variabile, causata da duplicazioni del gene; mutazioni missenso causano invece la malattia di Pelizaeus-Merzbacher congenita e la paraplegia spastica tipo 2, caratterizzata prevalentemente da andatura spastica e disfunzione del sistema autonomo (7,8).

La proteina basilica della mielina (MBP) è una proteina di circa 18 kDa, classificata come una proteina intrinsecamente disorganizzata, senza cioè una struttura terziaria fissa, ed è implicata nell'adesione tra le superfici citoplasmatiche della mielina compatta e nella loro interazione con il citoscheletro. Presenta varie isoforme con pesi molecolari diversi a seconda della specie (di 21, 17 e 14 kDa, visualizzabili in Figura 7), risultato di splicing alternativi a partire da un mRNA comune. Inoltre, è essenziale nella formazione e nello sviluppo della guaina mielinica ed è un bersaglio della risposta immunitaria nei pazienti con sclerosi multipla (9).

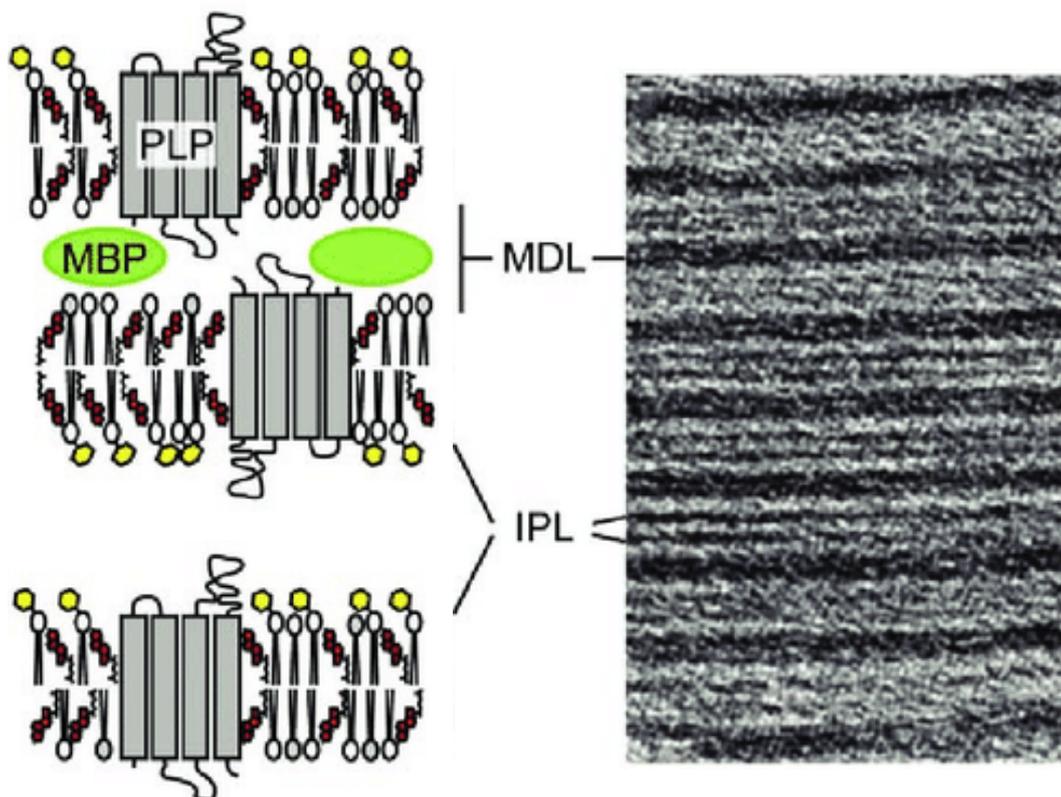


Figura 8. Rappresentazione grafica delle principali proteine della guaina mielinica del SNC, con adiacente immagine analoga in microscopia elettronica. IPL = linee intraperiodiche, MDL = linea densa maggiore. Modificata da (10)

Vi sono infine diverse glicoproteine, in particolare nel sistema nervoso centrale la myelin-oligodendrocyte glycoprotein (MOG), una glicoproteina transmembrana con un dominio Ig-like localizzata sulla superficie della guaina mielinica degli

oligodendrociti, con un ruolo nella trasmissione delle informazioni extracellulari all'oligodendrocita (6). È inoltre l'antigene target di una patologia autoimmune demielinizzante, la MOG antibody-associated disease (MOGAD), la quale presenta overlap nel fenotipo clinico con la sclerosi multipla e i disordini dello spettro della neuromielite ottica (NMOSD) (11).

1.1.3.2 Sistema nervoso periferico

Nel sistema nervoso periferico, la proteina zero della mielina (MPZ o P₀) costituisce più del 50% della composizione proteica totale. Si tratta di una proteina di 30 kDa, membro della superfamiglia delle immunoglobuline. È una proteina transmembrana implicata nella formazione e nello sviluppo della guaina mielinica e si ritiene sia responsabile della compattazione delle superfici esterne della membrana plasmatica delle cellule di Schwann, similmente a quanto avviene nel SNC per la PLP. Mutazioni nel gene codificante questa proteina sono responsabili della malattia di Charcot-Marie-Tooth 1B.

Il contenuto di proteina basica della mielina (MBP) nel SNP varia tra il 5 e il 18% del totale, al contrario del SNC dove costituisce il 30% circa; analogamente al SNC, sono presenti varie isoforme, come apprezzabile in Figura 7, tuttavia la componente più abbondante nel SNP è l'isoforma di 17 kDa, mentre centralmente l'isoforma di 18 kDa (definita P₁ a livello di SNP) è la più rappresentata.

Inoltre, il 5% delle proteine totali è costituito da un'ulteriore proteina carica positivamente, definita P₂, di circa 15 kDa. Essa non presenta analogie strutturali con MBP, ma è simile ad alcune proteine citoplasmatiche che legano i lipidi, suggerendo un suo ruolo nell'assemblaggio e nel turnover lipidico a livello della guaina mielinica (6).

Una proteina con quattro domini transmembrana con peso molecolare di 22 kDa, definita peripheral myelin protein 22 (PMP22), costituisce il 5% circa delle proteine totali ed è essenziale nella formazione della guaina mielinica periferica. Mutazioni nel gene codificante questa proteina sono responsabili di diverse patologie neuropatiche: duplicazioni sono causa della malattia di Charcot-Marie-Tooth 1A,

mentre la perdita di un allele è causa della neuropatia ereditaria motoria con suscettibilità alle paralisi da pressione (HNPP) (2).

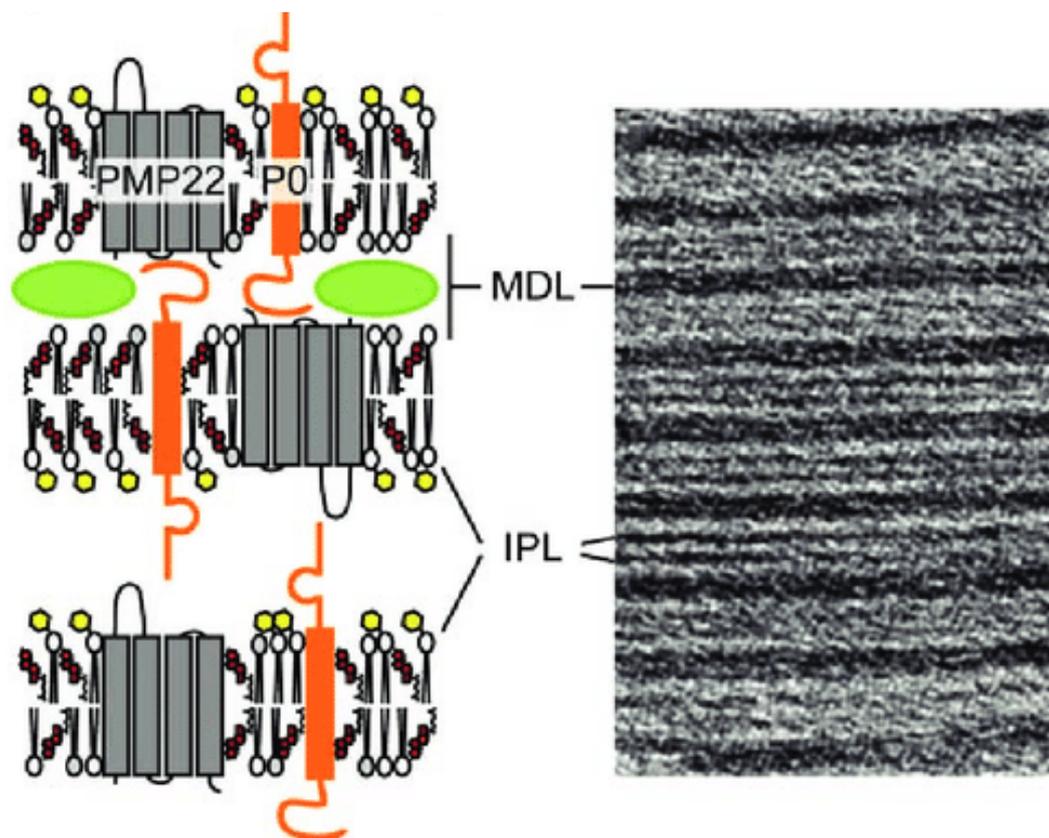


Figura 9. Rappresentazione grafica delle principali proteine della guaina mielinica del SNP, con adiacente immagine analoga in microscopia elettronica. IPL = linee intraperiodiche, MDL = linea densa maggiore. Modificata da (10)

Infine, una glicoproteina presente sia nel SNP che nel SNC definita MAG, associata alla neuropatia oggetto della presente tesi, è descritta in seguito in maggior dettaglio.

1.2 MYELIN-ASSOCIATED GLYCOPROTEIN (MAG)

1.2.1 Struttura

MAG è una glicoproteina di 100 kDa che compone meno dell'1% delle proteine presenti a livello della membrana mielinica, sia a livello del SNP che del SNC.

Venne isolata nei primi anni '70 dalla mielina dei ratti attraverso studi elettroforetici, previa iniezione intracerebrale di fucosio radioattivo per marcare specificatamente le componenti glicoproteiche (12,13). L'associazione diretta con la mielina venne confermata da uno studio su topi mutanti mielina-deficitari (14).

Questo componente venne definito “myelin-associated glycoprotein”, da cui l’acronimo MAG. In seguito, una glicoproteina con mobilità elettroforetica comparabile alla controparte murina venne identificata anche nella mielina umana (15).

Uno studio del 1984 indagò la traduzione dell’ mRNA murino di MAG: *in vitro*, vennero ottenute due differenti isoforme polipeptidiche di 72 kDa (large isoform, L-MAG) e 67 kDa (small isoform, S-MAG), entrambe con un peso molecolare inferiore rispetto alla glicoproteina finale di 100 kDa, coerentemente con la mancata glicosilazione post-traduzionale durante l’esperimento. Invece, *in vivo* l’espressione di L-MAG dimostrò un andamento parallelo al tasso di maturazione mielinica, aumentando durante le prime fasi di maturazione e diminuendo con il progredire del processo, mentre S-MAG apparì più tardi durante la maturazione, aumentando progressivamente e mantenendosi elevato durante l’età adulta. Al contrario, l’espressione dell’ mRNA non fu rilevata in campioni murini fetali, confermando ulteriormente come l’espressione di MAG sia strettamente correlata alla maturazione mielinica post-natale. La presenza di due differenti prodotti traduzionali venne ipotizzata derivare da un meccanismo di splicing alternativo (16).

Pur essendo stata studiata più estesamente nei roditori, l’espressione delle due isoforme è stata descritta anche nella specie umana, rilevando in questo caso una maggior concentrazione di L-MAG nel sistema nervoso centrale e di S-MAG nel sistema nervoso periferico (17).

In seguito, tre lavori studiarono la struttura di MAG, isolando un clone di cDNA di MAG nel ratto da cui dedussero la sequenza amminoacidica, per un totale rispettivamente di 626 e 582 amminoacidi in L-MAG e S-MAG. Descrissero la presenza di un lungo dominio extracellulare N-terminale, un piccolo segmento transmembrana di 21 amminoacidi e un dominio C-terminale intracellulare rispettivamente di 92 e 48 amminoacidi in L-MAG ed S-MAG, oltre alla presenza di 8 siti di glicosilazione, diversi siti di fosforilazione nella porzione intracellulare e cinque regioni Ig-like nel dominio extracellulare analoghe a sequenze di N-CAM (neural cell adhesion protein), proteina responsabile di interazioni neurone-neurone, indicando un meccanismo di adesione simile in queste due diverse

molecole. La presenza di domini Ig-like definisce MAG come membro della superfamiglia delle immunoglobuline (18–20). Nel 1989 venne isolato un clone di cDNA di MAG umano, dimostrando un'elevata omologia (95% nella sequenza amminoacidica, 89% nella sequenza nucleotidica) con l'isoforma L-MAG del ratto, ad eccezione di un sito di glicosilazione aggiuntivo. Il gene codificante per MAG venne inoltre localizzato sul cromosoma 19q13.1 (21).

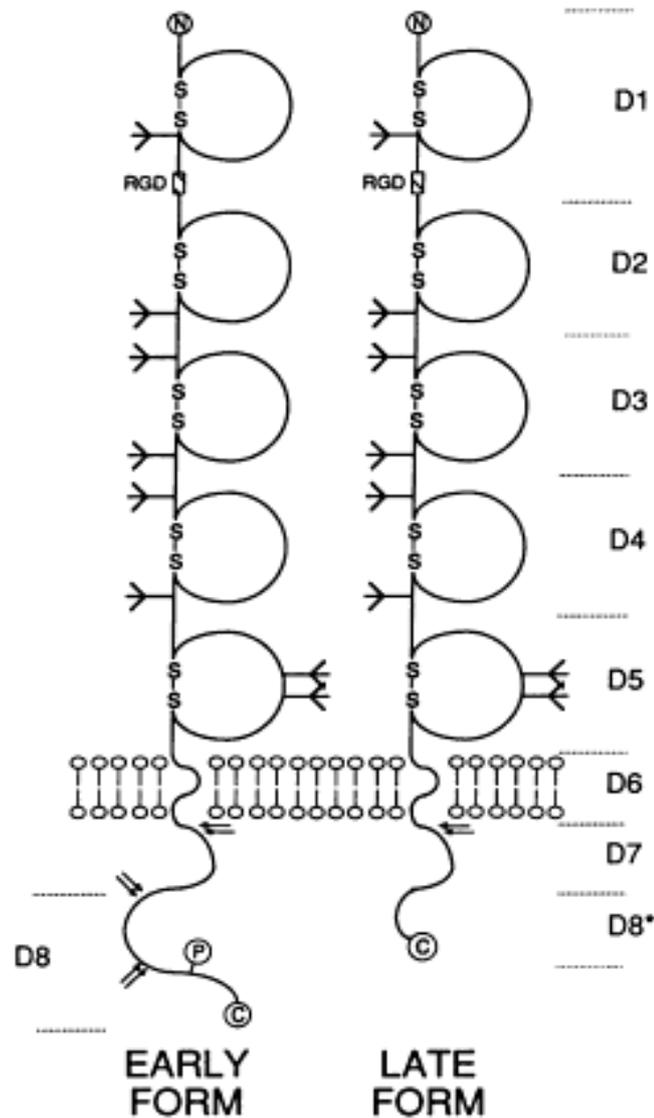


Figura 10. Rappresentazione grafica delle due isoforme MAG (L-MAG raffigurata come early form e S-MAG come late form), differenti a livello del dominio C-terminale. I domini Ig-like sono rappresentati come loop separati da ponti disolfuro, mentre i siti di glicosilazione dai simboli a tridente. Le frecce nei domini intracellulari indicano potenziali siti di clivaggio proteolitico. (20)

MAG è composto per il 30% circa da carboidrati, di cui 34% N-acetilglucosamina, 23% mannosio, 20% galattosio, 18% acido N-

acetilneuraminico e 5% fucosio (22). Esprime inoltre l'epitopo dell'anticorpo HNK-1, un anticorpo monoclonale murino diretto contro i linfociti natural killer, dimostrando una condivisione di questo antigene tra il sistema nervoso e il sistema immunitario (23). L'epitopo HNK-1 è uno dei principali antigeni nella neuropatia da anticorpi anti-MAG (24), pertanto il suo studio è interessante sia a scopo diagnostico che a scopo terapeutico, come descritto in seguito nei Paragrafi 1.5.3 e 1.5.5.

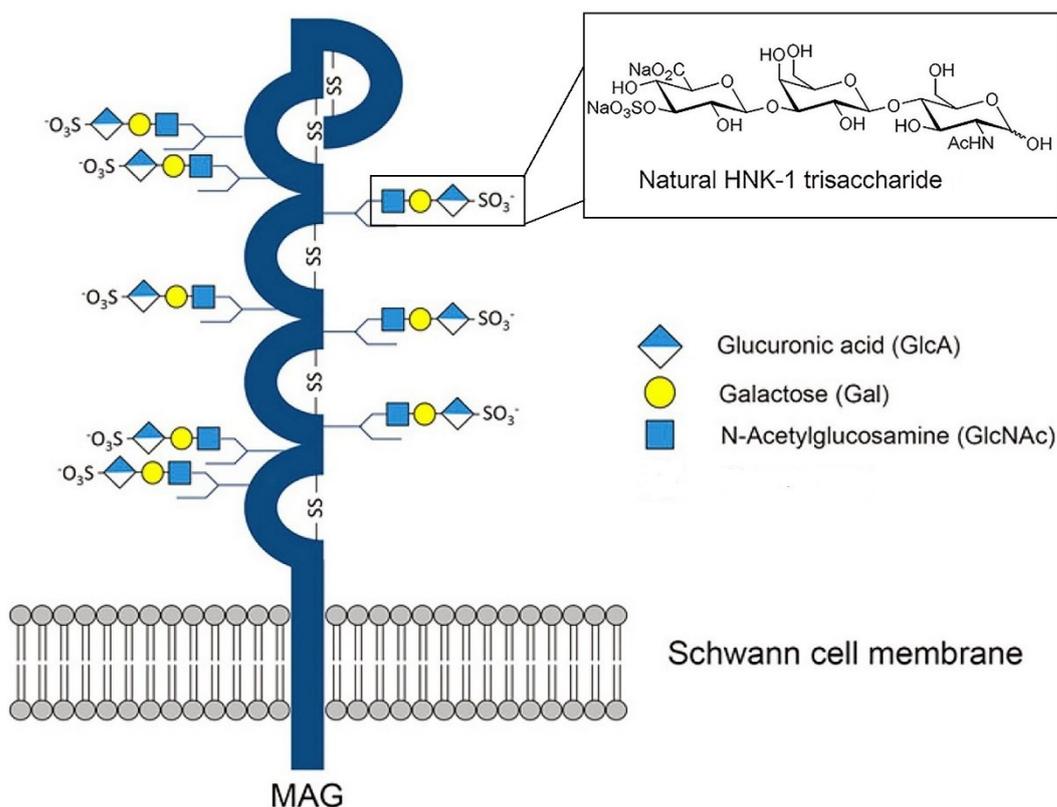


Figura 11. Rappresentazione grafica di MAG e dell'epitopo HNK-1, con ingrandimento il quale mostra la sua struttura trisaccaridica solfonata. Modificata da (25)

1.2.2 Localizzazione

Gli studi eseguiti sulle subfrazioni mieliniche, ottenute attraverso ultracentrifugazione, dimostravano come MAG non fosse uniformemente localizzata a livello mielinico, ma concentrata nelle subfrazioni costituite da singole membrane piuttosto che nelle subfrazioni rappresentate da porzioni di mielina multilamellare con larghi strati concentrici (26,27). Questi risultati suggerirono che MAG fosse maggiormente presente a livello paranodale, ipotizzando un ruolo nell'interazione oligodendroglia-assone durante la maturazione mielinica (28). A ulteriore sostegno di questa tesi venne dimostrato come i livelli di MAG aumentino

nelle prime fasi dello sviluppo del sistema nervoso murino (29), per poi calare durante le fasi di deposito attivo di mielina compatta multilamellare, coerentemente con il fatto che quest'ultima contenga piccole quantità di MAG, al contrario di regioni più specializzate a livello paranodale (30).

La presenza di MAG non era ancora stata dimostrata a livello del nervo periferico, nonostante fosse già stata evidenziata la presenza di una glicoproteina nella mielina periferica (31): essa venne chiaramente definita in uno studio sul nervo sciatico di ratto, dove venne riscontrata l'identica glicoproteina presente nel sistema nervoso centrale, seppur in minore quantità (32). Al contrario della localizzazione nel sistema nervoso centrale, MAG a livello periferico venne riscontrato, oltre che nelle regioni paranodali, nelle incisure di Schmidt-Lanterman e nella membrana esterna del mesassone (33).

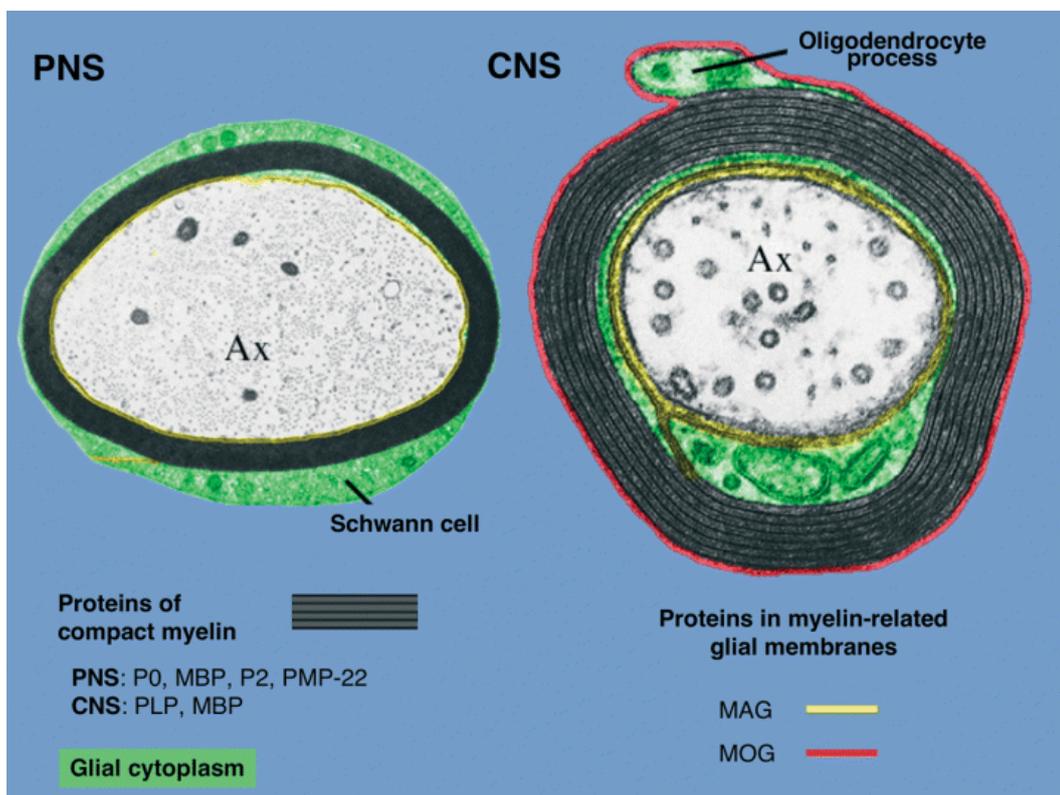


Figura 12. Localizzazione in microscopia elettronica di MAG (in giallo) a livello periaassonale, sia a livello del SNC che del SNP. È possibile anche apprezzare la localizzazione di MOG (in rosso). (34)

1.2.3 Funzione di MAG

Il ruolo di MAG è stato studiato nel corso degli anni perlopiù attraverso numerosi modelli animali, in particolare topi knockout.

I primi indizi riguardarono un modello murino “quaking”, affetto da una mutazione naturale recessiva demielinizzante (35), nel quale vennero riscontrate regioni MAG-assenti con riduzioni del normale spazio di 12-14 nm tra la membrana assonale e la membrana delle cellule di Schwann (36).

In due studi su modelli murini MAG-knockout furono rilevati svariati difetti nella formazione della mielina, tuttavia non severi e perlopiù a livello del sistema nervoso centrale: ad esempio, la formazione della mielina era ritardata a livello centrale ma non a livello periferico, e il processo di maturazione mielinica comportava la formazione di un maggior numero di segmenti assonali (dalle 2 alle 50 volte maggiore) con guaine mieliniche multiple, suggerendo un ruolo regolatorio di MAG (37,38).

Altre analisi su topi knockout rilevarono difetti nel mantenimento mielinico a livello del sistema nervoso periferico in animali più anziani (>9 mesi di età), in particolare la presenza di lesioni indice di un danno mielinico “a bulbo di cipolla”, associate a danni assonali (39). Oltre al danno, gli assoni dei nervi mielinizzati (ma non dei nervi amielinici) di questi modelli presentavano un calibro ridotto, neurofilamenti più densamente addossati e con fosforilazione ridotta (40), oltre che velocità di conduzione ridotte (41).

Ulteriori studi analizzarono modelli knockout per geni multipli, ipotizzando una possibile compensazione da parte di altre molecole con funzioni simili nei modelli MAG-knockout.

Ad esempio, nei topi con singolo knockout l'espressione di MBP (Myelin basic protein) è aumentata (37). In modelli PLP (myelin proteolipid protein)/MAG knockout vennero riscontrati tremori degli arti posteriori, difetti motori e di apprendimento associati a degenerazione assonale precoce, mentre in modelli PLP/MBP/MAG knockout vennero riscontrati tremori ad alta frequenza e una ridotta aspettativa di vita (7-9 mesi rispetto a 2 anni dei double knockout) (42).

Un altro studio su topi P0/MAG knockout mostrò simili anomalie nel compattamento mielinico del nervo periferico rispetto ai soli P0 knockout, ma un maggior numero di unità assone-cellula di Schwann prive di mielina nei double knockout, indicando come la formazione dei loop nelle cellule di Schwann nei modelli P0 privi sia sostenuta da MAG (43).

In modelli MAG/CGT knockout (con deficit di galattolipidi) venne rilevato come MAG e galattolipidi mielinici agiscano sinergicamente nel mantenimento del paranodo, oltre che nel mantenimento dell'adesione cellulare tra assoni mielinici, interagendo con molecole della famiglia delle tenascine (44).

Un aspetto interessante di MAG riguarda il suo ruolo nella crescita assonale. In diversi studi MAG dimostrò di promuovere la crescita assonale nelle cellule embrionali e postnatali precoci: espresso in forma chimerica anticorpale e da cellule ricombinanti, MAG promuoveva la crescita assonale rispettivamente in neuroni cerebellari in ratti neonati e in neuroni di midollo spinale embrionale (45,46). In particolare, è l'isoforma L-MAG ad essere responsabile del ruolo positivo sulla crescita nelle cellule neuronali in fase di sviluppo (47).

L'aspetto più interessante, tuttavia, è la scoperta del ruolo inibitorio di MAG sulla crescita assonale nel sistema nervoso adulto (48,49). Vari studi hanno confermato questa caratteristica, dove la crescita neuronale era inibita in seguito all'espressione di MAG, senza differenze quando presentato come estratto mielinico purificato (48), espresso da cellule con tecnologia ricombinante (49) o in forma solubile costituita solo dal dominio extracellulare (50). Il ruolo inibitorio di MAG poteva essere sovvertito nelle colture cellulari in presenza di diverse molecole, come ad esempio la laminina, un componente fondamentale della lamina basale espresso dalle cellule di Schwann (51), Tenascina-R, una glicoproteina della matrice extracellulare a cui MAG peraltro si lega (52), e le neurotrofine BDNF e GDNF (53).

A ulteriore conferma del ruolo inibitorio sulla crescita assonale, a seguito di un danno al sistema nervoso periferico l'espressione di MAG viene downregolata e i macrofagi si occupano di rimuovere le glicoproteine rimaste, permettendo così all'assone periferico di rigenerarsi correttamente. Ciò tuttavia non avviene nel sistema nervoso centrale, dove due proteine aggiuntive contribuiscono assieme a MAG al blocco della crescita assonale, Nogo-A (chiamata così per il suo ruolo) e OMgp (oligodendrocyte-myelin glycoprotein) (54). In particolare, tutte e tre le molecole condividono un recettore funzionale attraverso il quale esplicano la loro attività inibitoria, NgR (Nogo receptor) (55,56), aprendo le porte al possibile utilizzo di una molecola che vada a bloccare l'attività di tutte queste quattro

componenti in maniera transiente per evitare la crescita eccessiva e possibili difetti di mielinizzazione successiva, con un ruolo nel migliorare la crescita assonale a livello centrale in seguito ad un danno (54).

1.3 NEUROPATIE PERIFERICHE

1.3.1 Definizione, descrizione e terminologia

Il termine neuropatie periferiche si riferisce a tutte quelle condizioni che arrecano un danno al sistema nervoso periferico (57). Esso è costituito da fibre sensitive, motorie e autonome. La maggior parte dei nervi periferici sono di tipo misto, comprendendo spesso tutti e tre i tipi diversi di fibre.

Esistono tre principali classi di suddivisione dei nervi riguardo la struttura delle loro fibre:

- Fibre mieliniche di grandi dimensioni
- Fibre mieliniche di piccole dimensioni
- Fibre amieliniche di piccole dimensioni

I nervi motori sono tipicamente mielinici di grandi dimensioni, i nervi autonomici di piccole dimensioni mentre i nervi sensitivi possono essere di tutte e tre le tipologie: le fibre di grandi dimensioni trasportano informazioni propriocettive e vibratorie, mentre le fibre di piccole dimensioni trasportano informazioni nocicettive e termiche. Le neuropatie possono colpire le componenti motorie, sensitive e autonome dei nervi singolarmente o in combinazione.

Inoltre, le neuropatie possono essere suddivise in base alla porzione neuronale colpita:

- Se colpiscono prevalentemente il soma vengono definite neuronopatie o ganglionopatie
- Neuropatie demielinizzanti o mielinopatie se colpiscono prevalentemente la guaina mielinica
- Neuropatie assonali o assonopatie se colpiscono principalmente l'assone (58)

Le neuropatie possono essere ulteriormente suddivise, in base al numero di fibre nervose colpite, in:

- Mononeuropatie, quando un singolo nervo è colpito, solitamente a causa di traumi, compressioni o intrappolamento (es. sindrome del tunnel carpale). In questo caso la diagnosi è clinica e i sintomi riflettono la distribuzione anatomica del nervo affetto
- Mononeuropatie multiple, nel caso in cui più fibre nervose non contigue vengano colpite, solitamente a causa di processi ischemici dovuti a vasculiti dei vasa nervorum
- Polineuropatie, dove più nervi periferici sono omogeneamente colpiti
- Radicolopatie, nelle quali la radice nervosa viene colpita provocando segni e sintomi nel dermatomero corrispondente. Tipicamente i sintomi sono di tipo doloroso e più raramente sensitivi e sono dovuti ad artrosi ed ernie discali (59)
- Plessopatie, dove i plessi brachiali e/o lombosacrale vengono coinvolti. Esistono molte possibili cause, alcune di queste includono traumi, neoplasie e radiazioni (60)

1.3.2 Eziologia e patogenesi

Le possibili cause che possono portare ad un interessamento neuropatico sono innumerevoli, spaziando da patologie di natura tossica o infiammatoria fino a patologie di natura genetica.

Le più comuni cause di neuropatia periferica comprendono:

- Diabete, la più comune causa di polineuropatia nei paesi industrializzati. Esso è associato a diverse forme di neuropatia: la polineuropatia sensitiva/sensorimotoria simmetrica distale (la più comune), la neuropatia diabetica autonoma, la radicolopatia diabetica e la mononeurite/mononeurite multipla diabetica. Un buon compenso glicemico è necessario per tenere sotto controllo la sintomatologia, che solitamente peggiora in funzione della cronicità della condizione
- Paraproteinemie, associate a condizioni quali MGUS, mieloma multiplo, sindrome POEMS o macroglobulinemia di Waldenström
- Abuso di alcol ed esposizione a sostanze tossiche, tra cui la maggior parte dei metalli pesanti (es. piombo, mercurio, arsenico, tallio, oro), molti chemioterapici (es. alcaloidi della vinca, derivati del platino, taxani,

bortezomib) e farmaci, tra cui antimicrobici (es. fluorochinoloni, metronidazolo, nitrofurantoina), antiaritmici (es. amiodarone, fenitoina)

- Insufficienza renale, condizione definita neuropatia uremica. Circa il 60% dei pazienti con insufficienza renale sviluppa una forma di neuropatia, tipicamente una polineuropatia sensorimotoria assonale caratterizzata da parestesie, allodinia e debolezza distale, la quale vede un miglioramento con l'emodialisi o il trapianto di rene
- Deficit di vitamina B₁₂, che può dipendere da abitudini dietetiche (es. dieta vegetariana/vegana) o condizioni malassorbitive come anemia perniciosa, interventi di chirurgia gastrica (bypass/gastrectomia), uso di inibitori di pompa protonica, malattie infiammatorie croniche intestinali. Inoltre, spesso negli anziani è possibile riscontrare malassorbimenti in assenza di una patologia organica sottostante. La presentazione più comune è una perdita di propriocezione e pallestesia la quale risulta in un'atassia sensitiva, associata a volte a sintomi centrali che variano dall'irritabilità fino alla demenza e alla psicosi
- Infezione da HIV. Il 20% circa dei pazienti con HIV sviluppa una forma neuropatica, sia a causa dell'infezione stessa o di infezioni concomitanti (es. CMV) sia a causa delle terapie antiretrovirali (es. Zalcitabina, causa di una neuropatia simmetrica dolorosa). La forma più comune è una polineuropatia sensitiva simmetrica distale con intorpidimento e parestesie dolorose; tuttavia, sono frequenti anche forme demielinizzanti infiammatorie, mononeuriti e ganglionopatie
- Neuropatie genetiche, tra cui la più frequente è la malattia di Charcot-Marie-Tooth (CMT), una sindrome riconducibile a diversi difetti distinti in decine di sottotipi sulla base del tipo di neuropatia predominante (assonale o demielinizzante) e sulla genetica. Le due principali forme sono la CMT1, forma demielinizzante, e la CMT2, forma assonale, a loro volta suddivise in base al gene coinvolto e che si presentano solitamente in giovane età. Le manifestazioni cliniche sono variabili, tipicamente si presentano con debolezza distale agli arti inferiori e deficit sensitivi, nonostante i pazienti in alcuni casi possano rimanere asintomatici fino ad età avanzata.

È interessante notare che il gene, solitamente duplicato nella CMT1A (PMP-22), se presente in una sola copia (e quindi delecto) è associato ad una patologia definita neuropatia ereditaria con predisposizione alle paralisi da pressione (HNPP), caratterizzata da intorpidimenti e debolezza in nervi singoli, specialmente dopo compressione, che possono perdurare per settimane/mesi. Inoltre, alcuni individui nell'evoluzione della malattia possono presentare una neuropatia sensorimotoria simile ai pazienti con CMT

- Polineuropatia idiopatica, tipicamente sensitiva, una diagnosi di esclusione che coinvolge il 50% circa dei pazienti. In questo caso i sintomi iniziano a partire dalla sesta/settima decade di età e comprendono ipoestesia distale, parestesia e dolore urente, solitamente a livello dei piedi ma con possibile evoluzione anche alle mani. Solitamente la propriocezione viene mantenuta, nonostante alcuni pazienti riferiscano instabilità nella marcia. La prognosi è buona, con una progressione assente o minima a livello prossimale che tuttavia non porta ad una disabilità motoria (58)

| Patologia | Prevalenza |
|----------------------------------|---|
| Diabete | 11-41% (a seconda di durata, tipo e controllo della malattia) |
| Paraproteinemia | 9-10% |
| Abuso alcolico | 7% |
| Insufficienza renale | 4% |
| Deficit vitamina B ₁₂ | 3,6% |
| Infezione da HIV | 16%, ma dipende dalla popolazione studiata ed è solitamente molto più bassa |
| Neuropatia idiopatica | Fino al 50% |

Tabella I. Cause più frequenti di neuropatia periferica. Modificata da (61)

1.3.3 Approccio al paziente

Nell'approccio ad un paziente affetto da neuropatia è necessario identificare la sede della lesione, identificare l'eventuale causa e determinare lo specifico trattamento. Questi interrogativi trovano risposta nella raccolta dell'anamnesi e nell'esame obiettivo, oltre che negli studi di laboratorio ed elettrofisiologici. Tuttavia, nonostante uno studio accurato, in metà circa dei pazienti una chiara eziologia non viene definita (neuropatia idiopatica).

Per quanto riguarda anamnesi ed esame obiettivo, è utile nello specifico indagare:

- *Quale sistema è coinvolto (motorio, sensitivo, autonomico o combinazioni di essi)*

La maggior parte delle neuropatie sono perlopiù sensitive. Il solo coinvolgimento motorio dovrebbe far considerare una neuropatia motoria, una patologia della giunzione neuromuscolare o una miopatia. La disfunzione puramente autonoma è tipica del diabete mellito, in assenza di quest'ultimo dovrebbe essere indagata un'eventuale polineuropatia amiloidotica

- *Com'è distribuita l'eventuale debolezza motoria (distale/proximale, simmetrica/asimmetrica)*

La debolezza simmetrica distale e proximale è la presentazione caratteristica di polineuropatie immunomediate acquisite demielinizzanti come la sindrome di Guillain-Barré e la polineuropatia demielinizzante infiammatoria cronica (CIDP). Una debolezza asimmetrica, in assenza di sintomi sensitivi, dovrebbe invece porre in allarme di una possibile patologia del motoneurone (es. SLA), mentre in concomitanza di sintomi sensitivi potrebbero essere prese in considerazione radicolopatie, neuropatie compressive, mononeuropatie multiple o plessopatie

- *Qual è la natura del coinvolgimento sensitivo (propriocettivo/vibrotattile, doloroso/termico)*

Il coinvolgimento sensitivo doloroso/termico è indice di una neuropatia a piccole fibre, solitamente in associazione al diabete mellito ma spesso idiopatiche. La perdita di proprioccezione e pallestesia è invece indicativa di

una ganglionopatia, tipicamente a causa di sindrome di Sjögren o paraneoplastica

- *Eventuali segni di coinvolgimento del motoneurone superiore*

La più comune causa di coinvolgimento del motoneurone superiore associato a sintomi sensitivi simmetrici distali è la carenza di vitamina B₁₂. Altre cause meno frequenti includono deficit di rame, infezione da HIV, epatopatia grave e paraplegia spastica ereditaria

- *La durata e l'evoluzione temporale*

La maggior parte delle neuropatie sono croniche (>8 settimane) e lentamente progressive. La durata e l'evoluzione acuta (<4 settimane) e subacuta (4-8 settimane) è tipica di sindrome di Guillain-Barré, vasculiti e radicolopatia legate a diabete o malattia di Lyme

- *Eventuale storia familiare positiva*

Nei pazienti con debolezza distale progressiva e significativi deficit sensitivi all'esame obiettivo, oltre che segni caratteristici come il piede cavo, dovrebbe essere presa in considerazione una neuropatia ereditaria (es. Charcot-Marie-Tooth). Nei casi sospetti, anche i familiari dovrebbero essere esaminati

- *Condizioni mediche/farmaci/tossici concomitanti*

È particolarmente importante indagare condizioni come diabete, patologie autoimmuni, infezioni recenti o attuali (es. infezione da *C. jejuni* per sindrome di Guillain-Barré), operazioni chirurgiche (es. bypass gastrici per eventuali deficit nutrizionali), farmaci ed esposizioni a tossici, alcool, abitudini dietetiche

In questo modo è possibile inquadrare più correttamente la patologia, che verrà poi definita più in dettaglio tramite gli esami elettrofisiologici e di laboratorio. Questi ultimi in particolare consentono di identificare le più comuni cause di neuropatia: gli esami di laboratorio standard in questi pazienti dovrebbero includere emocromo, ionemia, funzione epatica e renale, glicemia, emoglobina glicata, esami tiroidei, livelli di vitamina B₁₂, folati, VES, fattore reumatoide, ANA, protidogramma ed esame delle urine.

Invece, attraverso gli studi elettrofisiologici è possibile confermare il numero di fibre coinvolte (mononeuropatia, polineuropatia etc.), nonché distinguere una

neuropatia demielinizzante da una assonale: generalmente, gli studi di conduzione nervosa con bassi potenziali d'azione e conservate velocità di conduzione, latenze distali, potenziali tardivi e fibrillazioni all'EMG suggeriscono una neuropatia assonale; al contrario, velocità di conduzione ridotte, prolungate latenze distali e potenziali tardivi, normali ampiezze e assenza di fibrillazioni all'EMG sono più suggestivi di una neuropatia demielinizzante. Inoltre, la presenza di ridotte velocità di conduzione non uniformi, blocchi di conduzione o dispersione temporale fanno più propendere verso una neuropatia demielinizzante acquisita (es. CIDP o Guillain-Barré). Nei pazienti con neuropatie autonome gli studi elettrofisiologici sono tipicamente normali, ma possono essere eseguiti studi sulla risposta cardiaca a respirazioni profonde o manovre di Valsalva e tilt-table test.

La biopsia di nervo (tipicamente al nervo surale, in quanto puramente sensitivo) è un esame che in passato aveva una certa rilevanza, ma ad oggi è raramente effettuato se non in sospetti casi di neuropatia amiloide o vasculitica (58).

1.3.4 Trattamento

La gestione terapeutica del paziente con neuropatia comprende due aspetti:

- Il trattamento dell'eventuale condizione sottostante, il quale dipende specificamente dal processo in questione, ad esempio la rimozione della tossina in caso di neuropatie da tossici o farmaci, o lo stretto controllo glicemico nel paziente con neuropatia diabetica
- Il trattamento della sintomatologia dolorosa neuropatica, attuabile in prima linea con:
 - farmaci antiepilettici gabapentinoidi (es. pregabalin, gabapentin), i quali agiscono modulando i canali del calcio voltaggio-dipendenti
 - antidepressivi inibitori del reuptake di serotonina-norepinefrina (SNRI) (es. duloxetina, venlafaxina)
 - antidepressivi triciclici (es. amitriptilina, nortriptilina), che inibiscono anch'essi il reuptake di serotonina e norepinefrina, oltre che ad avere alta affinità per i recettori istaminergici H1 e muscarinici M1 (soprattutto l'amitriptilina)

Il trattamento in seconda e terza linea prevede l'utilizzo di:

- tramadolo, un farmaco oppioide che agisce anche sul reuptake di serotonina e norepinefrina
- Anestetici locali, come lidocaina o capsaicina
- Oppioidi forti
- Tossina botulinica A (62,63)

| Farmaco | Dosaggio | Commenti |
|---------------------------|--------------------------------------|---|
| Prima linea | | |
| Antiepilettici | | <ul style="list-style-type: none"> • Possono provocare vertigini e sedazioni, minimizzabili con titolazioni lente • Usare dosaggi bassi per pazienti anziani • Evitare uso concomitante di oppioidi per depressione respiratoria |
| Gabapentin | 300-1200 mg per os, tre volte/giorno | <ul style="list-style-type: none"> • Iniziare a dose minima, aumentando gradualmente fino alla risoluzione del dolore o alla comparsa di effetti collaterali |
| Pregabalin | 150-300 mg per os, due volte/giorno | |
| SNRI | | <ul style="list-style-type: none"> • I principali effetti collaterali includono vertigini, insonnia, nausea, aumento di peso e disfunzioni sessuali |
| Duloxetina | 60-120 mg per os, una volta/giorno | |
| Venlafaxina | 75-225 mg per os, una volta/giorno | |
| Antidepressivi triciclici | | <ul style="list-style-type: none"> • I principali effetti collaterali includono effetti anticolinergici, vertigini, ipotensione ortostatica, aumento di peso e disfunzioni sessuali |

| | | |
|--------------------------|--|---|
| | | <ul style="list-style-type: none"> • Iniziare a dose minima, incrementando lentamente a intervalli settimanali • L'effetto può richiedere 6-8 settimane |
| Nortriptilina | 25-75 mg per os, una volta/giorno | <ul style="list-style-type: none"> • Minor effetto sedativo e minori effetti anticolinergici |
| Amitriptilina | 25-125 mg per os, una volta/giorno | <ul style="list-style-type: none"> • Maggiormente sedativo |
| Seconda linea | | |
| Cerotto di capsaicina 8% | Da 1 a 4 cerotti sull'area dolorosa per 30-60 minuti ogni 3 mesi | <ul style="list-style-type: none"> • Per il dolore periferico • Sicurezza a lungo termine non stabilita |
| Cerotto di lidocaina | Da 1 a 3 cerotti sull'area dolorosa per ≤ 12 ore durante un periodo di 24 ore | <ul style="list-style-type: none"> • Per il dolore periferico |
| Tramadolo | 100-200 mg per os, tre volte/giorno | |
| Terza linea | | |
| Oppioidi forti | 50-200 unità subcutanee ogni 3 mesi | <ul style="list-style-type: none"> • Ad uso specialistico, per il dolore periferico |
| Tossina botulinica A | A titolazione individualizzata | |

Tabella II. Classi di farmaci raccomandate nel trattamento del dolore neuropatico. Modificata da (64)

La scelta di un agente specifico va ponderata sulla base delle eventuali comorbidità, interazioni tra farmaci ed effetti collaterali nel singolo paziente (64).

| Classe di farmaco | Comorbidità favorenti l'utilizzo | Comorbidità favorenti il non utilizzo |
|--|---|--|
| Inibitori del reuptake di serotonina-norepinefrina (duloxetina, venlafaxina) | <ul style="list-style-type: none"> • Depressione • Ansia | <ul style="list-style-type: none"> • Sindrome delle gambe senza riposo • Disfunzioni sessuali • Glaucoma ad angolo chiuso • Insufficienza epatica o renale |
| Antidepressivi triciclici (amitriptilina, nortriptilina) | <ul style="list-style-type: none"> • Depressione • Ansia • Insonnia | <ul style="list-style-type: none"> • Patologie cardiache (es. QT prolungato) • Ipotensione ortostatica • Disfunzioni sessuali • Ritenzione urinaria • Glaucoma ad angolo chiuso |
| Farmaci antiepilettici gabapentinoidi (gabapentin, pregabalin) | <ul style="list-style-type: none"> • Sindrome delle gambe senza riposo • Tremore essenziale • Insonnia | <ul style="list-style-type: none"> • Abuso di sostanze • Edema periferico • Insufficienza renale severa |

Tabella III. Farmacoterapia nel dolore neuropatico: comorbidità rilevanti nella scelta del farmaco. Modificata da (64)

1.4 NEUROPATIE PARAPROTEINEMICHE

Il termine neuropatie paraproteinemiche definisce un gruppo eterogeneo di neuropatie demielinizzanti associate alla presenza di una componente monoclonale (definita anche gammopatia monoclonale, M-protein o, appunto, paraproteina), prodotta da un'anomala proliferazione clonale di linfociti B o plasmacellule nel contesto di una patologia ematologica che può essere in taluni casi maligna (3).

1.4.1 Cenni storici

Le prime descrizioni di neuropatie associate a neoplasie ematologiche risalgono alla prima metà del '900, in articoli dove venivano descritte neuropatie associate a mieloma multiplo principalmente come sindromi di tipo compressivo come, ad esempio, quella che veniva definita "paraplegia mielomatosa", dovuta alla compressione del midollo spinale da depositi extradurali di mieloma o collassi vertebrali (65,66).

Tuttavia, il primo case report in cui si fa cenno a polineuropatie non direttamente associate a compressioni risale al 1958, dove venne evidenziata necroscopicamente una degenerazione neuronale senza schiacciamento in cinque pazienti con mieloma multiplo, senza tuttavia giungere ad un'ipotesi eziologica (67).

Negli anni '60 vennero per la prima volta riscontrate le componenti monoclonali nei pazienti con mieloma e macroglobulinemia (68,69), e vari studi vennero pubblicati riguardo alle comorbidity associate a queste condizioni, tra cui nello specifico le neuropatie periferiche (70–73). Un case report in particolare descrisse la polineuropatia associata al mieloma osteosclerotico, suggerendo la possibilità di un link patogenetico tra le due condizioni (74): in uno studio successivo si ipotizzò che questo link potesse essere la produzione da parte della lesione osteosclerotica di un anticorpo specifico verso i componenti del nervo periferico (75).

Ulteriori studi negli anni '70 confermarono tramite microscopia a immunofluorescenza la presenza di una componente IgM monoclonale a livello della guaina mielinica, con aumento di permeabilità della stessa associato ad edema e danno, in pazienti affetti da macroglobulinemia di Waldenström, ipotizzando inoltre possibili meccanismi fisiopatologici: una reazione fisico-chimica (iperviscosità, un'attrazione delle globuline per specifiche proteine di membrana),

un assorbimento dell'anticorpo da parte di un nervo già danneggiato da condizioni come alcolismo o diabete, o un meccanismo immunologico (76,77), senza tuttavia una correlazione chiaramente stabilita (78).

Nel 1980 Latov e collaboratori descrissero il primo caso di neuropatia paraproteinematica IgM associata ad attività anticorpale specifica; attraverso indagini di fissazione del complemento e immunoassorbimento, fu dimostrata l'attività della componente IgM monoclonale contro la guaina mielinica in un paziente affetto da una neuropatia demielinizzante (79). Lo stesso gruppo l'anno successivo identificò come bersaglio una proteina a livello della guaina mielinica di 100 kDa (80): l'antigene venne infine identificato, attraverso studi elettroforetici, in uno specifico componente definito MAG (Myelin-associated glycoprotein) (81,82). La neuropatia da anticorpi anti-MAG resta a tutt'oggi la neuropatia paraproteinematica IgM più comune e meglio caratterizzata.

1.4.2 Condizioni associate a gammopatie monoclonali

Diverse condizioni ematologiche possono essere associate alla presenza di diversi tipi di neuropatia, tra cui la gammopatia monoclonale di incerto significato (MGUS), la macroglobulinemia di Waldenström, il mieloma multiplo, la sindrome POEMS, l'amiloidosi primaria e la crioglobulinemia mista (83).

1.4.2.1 Gammopatia monoclonale di incerto significato (MGUS)

La gammopatia monoclonale di incerto significato (MGUS) è una condizione proliferativa premaligna, che entra in diagnosi differenziale con il mieloma multiplo, caratterizzata dalla presenza di:

- Una componente monoclonale sierica <3 g/dL
- Una componente di plasmacellule monoclonali <10% a livello midollare
- Assenza di danni d'organo mieloma-correlati (lesioni ossee litiche, anemia, ipercalcemia, insufficienza renale, iperviscosità) imputabili alla condizione proliferativa (84)

Si tratta di una condizione molto comune, nonché la più frequentemente associata nei casi di neuropatia paraproteinematica; infatti, >4% della popolazione >50 anni ne è affetta, con percentuali variabili tra l'1% a 50 anni e il 10% nei soggetti >75 anni, e una maggior prevalenza nei soggetti maschi e nei soggetti africani/afroamericani.

Nonostante tutti i casi di mieloma multiplo derivino da una condizione precedente di MGUS, solo l'1% circa dei casi di MGUS presenta una progressione verso lo stesso. I fattori di rischio che determinano un rischio di progressione del 60% a 20 anni, se presenti tutti, sono:

- Sottotipo monoclonale non IgG
- Rapporto FLC kappa/lambda alterato
- Componente monoclonale sierica >1,5 g/dL

In caso invece i tre fattori fossero assenti, il rischio di progressione è stimato del 5% a 20 anni (85).

Esistono tre forme cliniche di MGUS, ognuna con diversi rischi di progressione verso differenti patologie:

- MGUS non IgM, la forma più comune, di cui sono affetti circa l'80% dei pazienti. Le componenti monoclonali più frequenti in questo sottotipo sono composte da immunoglobuline G o A, e il rischio di progressione maligna è dell'1% annuo, con una tendenza a progredire in mieloma multiplo
- MGUS IgM, comprendente il 20% circa dei casi. In questo sottotipo il rischio di progressione annuo varia tra l'1-2%, con una maggiore tendenza a progredire in macroglobulinemia di Waldenström, leucemia linfatica cronica e amiloidosi AL (86,87)
- MGUS a catene leggere, nella quale la componente monoclonale manca della catena pesante immunoglobulinica, con una prevalenza stimata nella popolazione <1%. Il rischio di progressione stimato in mieloma a catene leggere, amiloidosi AL e malattia da deposito di catene leggere è dello 0,3% annuo (88)

Recentemente, è stato introdotto il concetto di gammopatia monoclonale con significatività clinica (MGCS) per indicare le condizioni di gammopatia monoclonale associate a sintomatologia e differenziarle dalle condizioni asintomatiche (MGUS) (89). La percentuale di pazienti con MGCS affetti da neuropatia varia in letteratura tra il 5 e il 17% (90–92), e in questi la componente monoclonale più frequente è costituita da IgM (nel 48% dei casi), seguita da IgG (37% dei casi) e IgA (15% dei casi) (93). La maggior parte dei pazienti con

componente monoclonale IgM presenta una compromissione prevalentemente distale, cronica (con durata >6 mesi), lentamente progressiva, simmetrica, prevalentemente sensoriale, con atassia, debolezza lieve o assente e tremore. Circa il 50% di questi presenta anticorpi anti-MAG ad alto titolo, più frequentemente associati a catene leggere kappa; pertanto, in tutti i pazienti con neuropatia e componente monoclonale IgM il titolo anticorpale anti-MAG andrebbe testato. Al contrario, i pazienti con componente IgG o IgA solitamente presentano debolezza sia prossimale che distale, con compromissione motoria e sensoriale, indistinguibile clinicamente ed elettrofisiologicamente dalla polineuropatia infiammatoria demielinizzante cronica (CIDP) e una progressione più rapida rispetto ai pazienti con componente IgM. Inoltre, in questi pazienti nessun anticorpo specifico è stato associato alla neuropatia (94).

1.4.2.2 Macroglobulinemia di Waldenström (WM)

La macroglobulinemia di Waldenström descrive la condizione di un linfoma linfoplasmocitico a crescita lenta associato alla produzione di proteine monoclonali IgM.

Per diagnosticarla, i seguenti criteri devono essere rispettati:

- Presenza di una gammopatia monoclonale IgM
- Una componente infiltrativa cellulare con differenziazione plasmocitoide $\geq 10\%$ a livello midollare
- L'infiltrato deve esprimere un immunofenotipo tipico (IgM+, CD5-/+ , CD10-, CD11c-, CD19+, CD20+, CD22+, CD23-, CD25+, CD27+, FMC7+, CD103-, CD138-) (95)

Nonostante fino a un quarto dei pazienti possa essere asintomatico, durante il corso della patologia solitamente si presentano sintomi correlati all'infiltrazione dei tessuti emopoietici (ad esempio, anemia, linfadenopatia, epatosplenomegalia) e/o sintomi correlati all'elevata concentrazione di proteina monoclonale IgM nel sangue come neuropatie periferiche e sindrome da iperviscosità, una condizione rara ma che richiede un intervento urgente, caratterizzata da epistassi, sintomi neurologici come visione offuscata, cefalea, confusione, sordità improvvisa, atassia e insufficienza cardiaca (96,97).

Circa il 25% dei pazienti affetti da WM presenta sintomi di neuropatia al momento della diagnosi: più frequentemente si rileva una neuropatia periferica sensomotoria distale, simmetrica e lentamente progressiva che causa dolore, parestesia e debolezza. Gli arti inferiori sono solitamente più coinvolti rispetto agli arti superiori. Ulteriori ma meno comuni manifestazioni neurologiche della WM comprendono paralisi dei nervi cranici, mononeuropatia, mononeurite multipla, MMN o sindromi simili ai motoneuroni, leucoencefalopatia multifocale e sordità improvvisa (98). L'attività anti-MAG è riscontrata in circa il 50% dei pazienti con neuropatia associata alla WM, ma non esiste alcuna correlazione tra la presenza o il titolo di questi anticorpi e la gravità dei sintomi (99).

La variante genetica MYD88^{L265P} è presente in oltre il 90% dei pazienti con WM e (100).

1.4.2.3 Mieloma multiplo (MM)

Il mieloma multiplo è una neoplasia proliferativa delle plasmacellule, le quali proliferano nel midollo osseo provocando un'estesa distruzione ossea che può portare a lesioni osteolitiche, osteopenia e fratture patologiche. La proliferazione di un clone plasmacellulare è correlata alla produzione di immunoglobuline monoclonali. Colpisce con maggior incidenza individui di sesso maschile e individui di etnia afroamericana (101).

I criteri diagnostici del mieloma multiplo richiedono:

- Plasmacellule clonali a livello midollare $\geq 10\%$ o plasmocitoma osseo/dei tessuti molli accertato tramite biopsia
- Uno dei seguenti:
 - Presenza di un danno d'organo MM specifico (C.R.A.B. - ipercalcemia, insufficienza renale, anemia, lesioni ossee)
 - Presenza di un biomarker associato ad una progressione inevitabile verso un danno d'organo:
 - Plasmacellule clonali a livello midollare $\geq 60\%$
 - Rapporto catene leggere libere coinvolte/non coinvolte ≥ 100
 - >1 lesione focale ossea/midollare alla RM (84)

La presentazione clinica è solitamente subacuta e i segni e sintomi più frequenti alla diagnosi sono: anemia (73% dei pazienti), dolore osseo (58%), creatinina elevata (48%), astenia (32%), ipercalcemia (28%) e perdita di peso (24%) (102). Seppur rare, le manifestazioni neurologiche spesso richiedono interventi in urgenza per compressioni midollari o sindrome da iperviscosità. La neuropatia periferica è solitamente poco comune alla diagnosi, e quando presente è tipicamente data da un'amiloidosi AL concomitante, o iatrogena; fanno eccezione i pazienti con sindrome POEMS (101).

1.4.2.4 Sindrome POEMS

La sindrome POEMS (polineuropatia, organomegalia, endocrinopatia, gammopatia monoclonale, modificazioni cutanee) è una rara condizione, da alcuni considerata paraneoplastica, per la cui diagnosi sono necessari:

- Entrambi i criteri obbligatori:
 - Polineuropatia
 - Gammopatia monoclonale (tipicamente a catene leggere lambda)
- Un criterio maggiore:
 - Lesione osteosclerotica/mista sclerotico-litica
 - Malattia di Castleman
 - Elevati livelli di Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) sierici o plasmatici
- Un criterio minore:
 - Organomegalia (splenomegalia, epatomegalia, linfadenopatia)
 - Aumentato volume extracellulare (edema, ascite, effusione pleurica)
 - Endocrinopatia (più comune dell'asse gonadico; per la sua frequenza nella popolazione generale viene escluso il diabete mellito)
 - Cambiamenti cutanei (ipertricosi, iperpigmentazione, pletora, unghie bianche, acrocianosi, eritema)
 - Papilledema
 - Trombocitosi o policitemia (84)

La polineuropatia solitamente domina il quadro clinico, con sintomi che evolvono in settimane/mesi. La neuropatia è tipicamente simmetrica, sensitivo-motoria,

inizialmente distale (a livello dei piedi, con parestesie e sensazioni di freddo e anche deficit motorio) con un graduale coinvolgimento prossimale. Allo studio neurofisiologico/EMG risulta un rallentamento della conduzione nervosa, latenze distali prolungate e un'attenuazione importante del potenziale d'azione muscolare composto CMAP (103).

1.4.2.5 Amiloidosi AL (primaria)

Amiloidosi è un termine che indica la deposizione a livello extracellulare di fibrille insolubili composte principalmente da proteine disaggregate con configurazione a foglietto β (più di 30 proteine sono state riconosciute in grado di formare fibrille amiloidi), le quali possono essere identificate attraverso la birifrangenza color mela verde al microscopio a luce polarizzata dopo colorazione con rosso Congo. Questi depositi possono risultare in manifestazioni cliniche eterogenee in base al loro tipo, la quantità e la localizzazione.

In particolare, nell'amiloidosi AL (da iperproduzione di catene leggere, un tempo definita primaria) le fibrille sono costituite da frammenti di catene leggere monoclonali, le derivano da condizioni come MGUS, mieloma multiplo o macroglobulinemia di Waldenström.

Sintomi aspecifici comprendono astenia e perdita di peso, mentre presentazioni specifiche in base alla localizzazione dei depositi comprendono sindrome nefrotica, cardiomiopatia restrittiva, neuropatia periferica e autonoma, epatomegalia, macroglossia, porpora, diatesi emorragica (104).

I criteri diagnostici per effettuare diagnosi comprendono:

- Presenza di una sindrome sistemica correlata alla deposizione amiloide (coinvolgimento renale, epatico, cardiaco, del tratto gastrointestinale o dei nervi periferici)
- Colorazione positiva dell'amiloide con il rosso Congo in qualsiasi tessuto
- Prova che l'amiloide è formata da catene leggere mediante analisi con spettrometria di massa o immunomicroscopia elettronica
- Evidenza di un disturbo proliferativo delle plasmacellule monoclonali (84)

Circa il 17% dei pazienti è colpito da neuropatia, e la presentazione più comune è una polineuropatia sensitivo-motoria, con parestesie dolorose distali seguite da

progressione prossimale con debolezza motoria. Sono inoltre possibili compressioni dei nervi periferici, in particolare il mediano, e neuropatie autonome con disfunzione intestinale, vescicale e ipotensione ortostatica (105).

1.4.2.6 Crioglobulinemia mista

Le crioglobuline sono particolari immunoglobuline che precipitano reversibilmente a temperature $<37^{\circ}\text{C}$, e sono divise in tre tipi:

- crioglobuline monoclonali (tipo I), solitamente IgM o IgG
- crioglobuline miste policlonali con una componente monoclonale con attività fattore reumatoide (tipo II), rilevate tipicamente in infezioni virali croniche (HCV), patologie autoimmuni, disordini linfoproliferativi e idiopatiche nel 10% dei casi (“essenziali”)
- crioglobuline miste policlonali (tipo III), tipicamente rilevate in patologie autoimmuni (106)

La sindrome da crioglobulinemia mista è una condizione associata alla presenza di crioglobuline miste (tipo II nel 62% dei casi e tipo III nel 38%) provocata dalla deposizione di immunocomplessi nelle piccole e medie arterie. Le principali manifestazioni cliniche includono porpora palpabile (81% dei pazienti), astenia (80%), artralgie (72%), danno epatico (77%), neuropatia periferica (58%), fenomeno di Raynaud (36%), danno renale (30%), sindrome secca (29%). La maggior parte dei pazienti presenta ipocomplementemia, specialmente ai danni di C4, e il 92% presenta infezione di HCV (107).

I sintomi neurologici solitamente corrispondono a polineuropatie sensitivo-motorie distali lentamente progressive e mononeuriti multiple (108). Inoltre, studi elettrofisiologici mostrano come in oltre l'80% dei pazienti sia presente un coinvolgimento nervoso (109).

1.5 NEUROPATIA DA ANTICORPI ANTI-MAG

1.5.1 Epidemiologia e patogenesi

La neuropatia con anticorpi anti-MAG è la forma di neuropatia paraproteinemica più comune (3), con una prevalenza stimata tra i 0,45 e 1,2 casi per 100.000 abitanti (87,110). L'età media di esordio è di 63 anni, e la patologia colpisce più frequentemente il sesso maschile, con rapporto M:F di 1,9:1 (111).

Nei pazienti affetti, le biopsie di nervo surale mostrano una perdita di fibre mieliniche, oltre che un assottigliamento delle guaine mieliniche e un numero variabile di fibre con lamelle allargate (82,112–114), specialmente a livello degli strati più esterni (come visualizzabile in Figura 13), che prosegue sino alle regioni paranodali (come visualizzabile in Figura 14) (115).

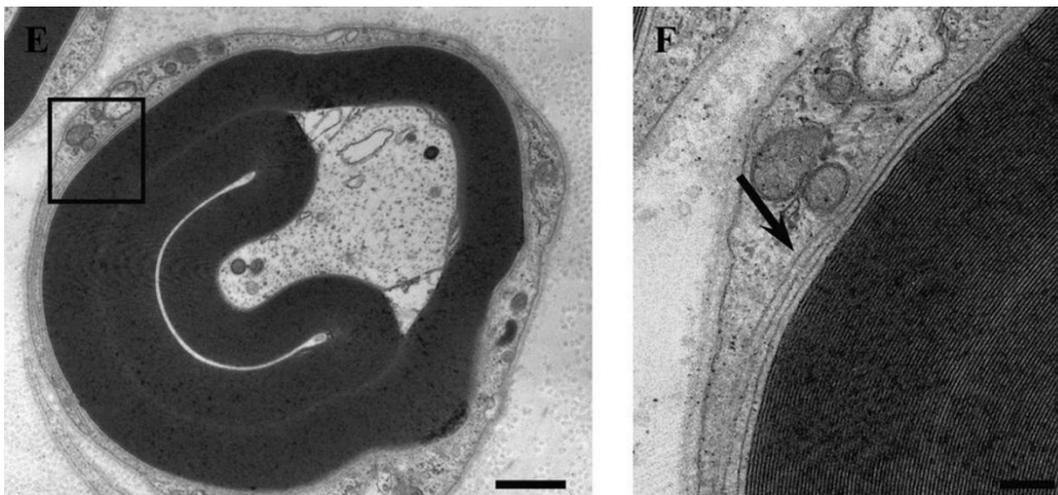


Figura 13. Microscopia elettronica di una sezione trasversa di fibra nervosa, con ingrandimento nell'immagine a destra sull'allargamento lamellare nello strato più esterno. (115)

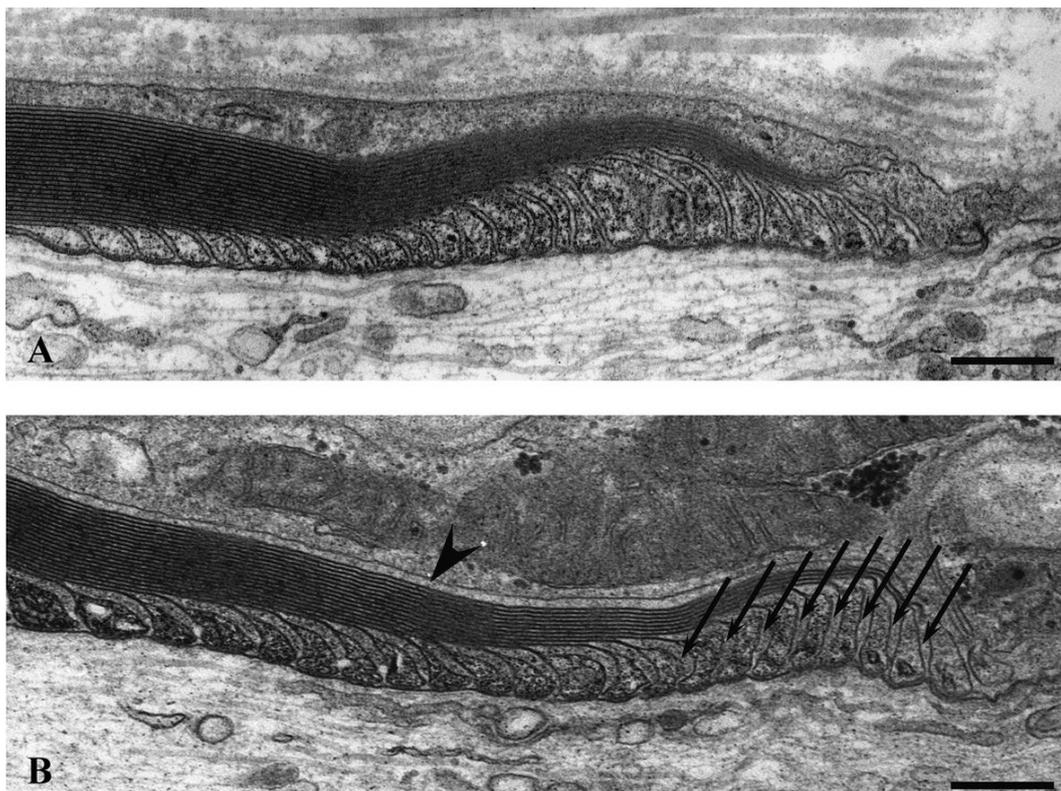


Figura 14. Microscopia elettronica in controllo sano (A) e in paziente con neuropatia da anticorpi anti-MAG (B). Si può notare l'allargamento lamellare nello strato più esterno (testa di freccia) e l'allargamento nei loop mielinici terminali che prosegue sino alle regioni paranodali (freccie). (115)

Inoltre, studi di immunofluorescenza dimostrano depositi di IgM diretti contro MAG nelle regioni paranodali e nelle incisure di Schmidt-Lanterman (visualizzabili in Figura 15), oltre che di fattori del complemento come C3d.

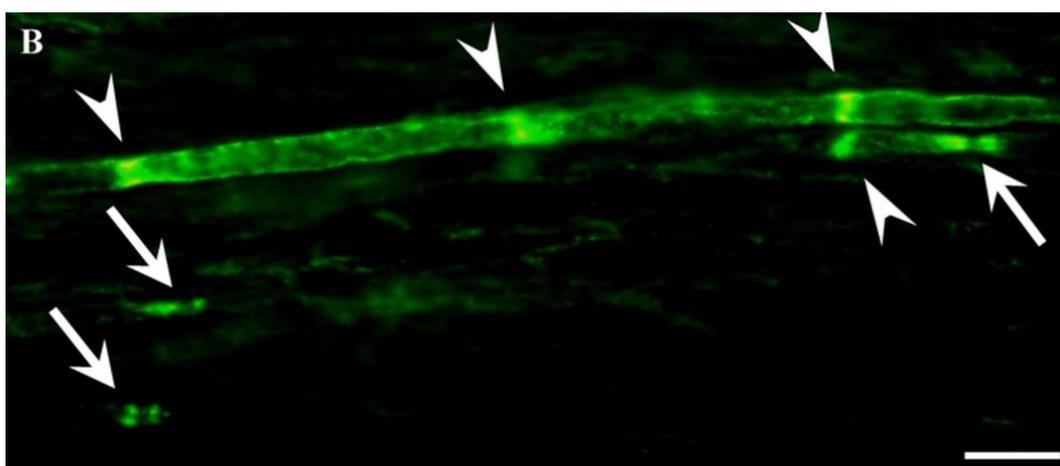


Figura 15. Immunofluorescenza con anticorpi anti-IgM (in verde) su sezioni longitudinali in pazienti con neuropatia da anticorpi anti-MAG. La reazione è concentrata sia nelle regioni paranodali (freccie) che nelle incisure di Schmidt-Lanterman (punte di freccia). (115)

La presenza nelle regioni colpite da difetti di adesione e strutturali di depositi anticorpali diretti contro MAG è suggestiva di un ruolo di questi ultimi nella patogenesi della neuropatia, dove il distacco delle porzioni mieliniche nelle regioni paranodali, a cui consegue demielinizzazione e mancato signaling con l'assone, sembra essere la causa principale dell'atrofia assonale e del conseguente danno neuropatico (115).

Una rappresentazione schematica della progressiva demielinizzazione nelle neuropatie anti-MAG è visualizzabile in Figura 16 (115).

La conferma del ruolo anticorpale nella patogenesi della neuropatia si ebbe attraverso esperimenti su modelli animali, in particolare uno studio sui polli dimostrò come l'infusione di anticorpi monoclonali IgM estratti da un paziente con neuropatia da anticorpi anti-MAG porti ad una demielinizzazione nei modelli animali con caratteristiche simili alla patologia umana, con deposizione anticorpale a livello dei nodi di Ranvier e delle incisure di Schmidt-Lanterman con lesioni caratterizzate da demielinizzazione segmentale, rimielinizzazione con infiammazione minima e allargamento delle guaine mieliniche (116).

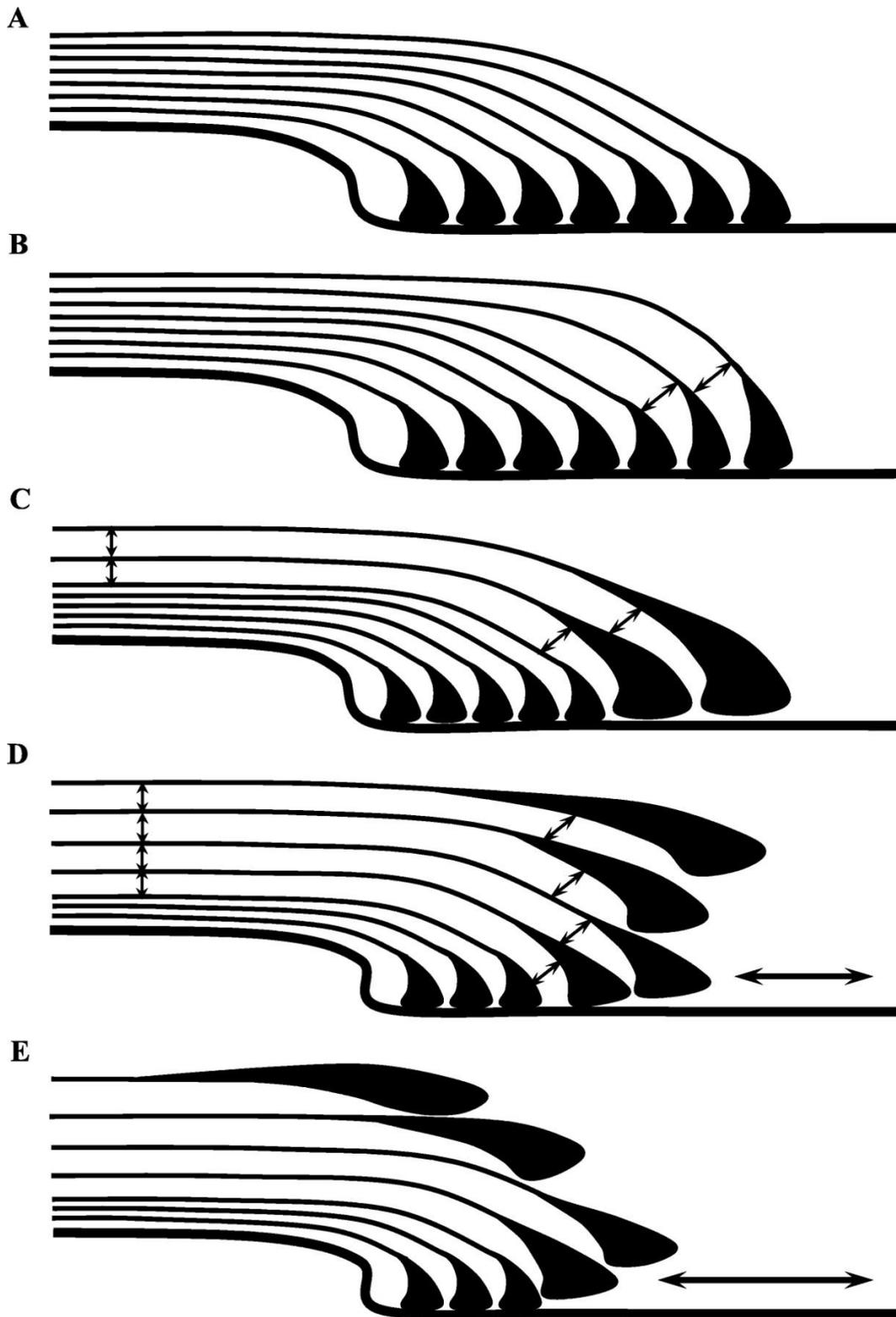


Figura 16. (A) Relazione tra terminale mielinico e assolemma paranodale in fibra mielinica sana. (B) Allargamento degli spazi tra terminali mielinici. (C) Progressione dell'allargamento tra terminali mielinici e strati esterni della guaina mielinica. (D) Alcuni loop terminali sono staccati dall'assolemma paranodale. (E) Il distacco può accentuarsi ulteriormente, portando ad un allargamento del nodo di Ranvier. (115)

1.5.2 Presentazione clinica e decorso

La maggior parte dei pazienti presenta una polineuropatia prevalentemente sensitiva, demielinizzante, a fibre larghe, cronica e lentamente progressiva, solitamente a partenza dalle estremità inferiori. È comune il riscontro di un'atassia di tipo sensitivo con instabilità nella marcia, e alcuni pazienti possono sviluppare tremore alle dita e alle mani (3). In un ampio studio di 202 pazienti l'83% presenta questo fenotipo, definito "tipico", di cui il 30% con neuropatia sensitiva distale atassica senza tremore, il 18% con tremore, il 31% con neuropatia sensitiva distale atassica con deficit motorio progressivo distale e il 19% con neuropatia sensitivo-motoria non atassica. Il 17% dei pazienti invece presenta un fenotipo definito "atipico", che può essere caratterizzato da una clinica Guillain-Barré-like, CIDP-like (definita clinicamente da areflessia agli arti inferiori, deficit sensorimotorio distale marcato e rapidamente progressivo o non lunghezza-dipendente ed evoluzione rispettivamente acuta e cronica), neuropatia a piccole fibre, neuropatia multifocale e pazienti con associata malattia del motoneurone. Di questi pazienti, il 65% presenta un fenotipo CIDP-simile, il 18% una neuropatia multifocale e il 12% un fenotipo Guillain-Barré-like (111).

Nonostante la neuropatia venga considerata a progressione lenta, il tasso di disabilità a 5, 10 e 15 anni dalla sintomatologia neuropatica è rispettivamente di 16, 24 e 50% (117).

Un consorzio di 11 istituzioni da 7 diversi stati ha avviato uno studio, definito IMAGiNe (IgM \pm anti-myelin associated glycoprotein [MAG] peripheral neuropathy), al fine di creare un registro internazionale, standardizzato e osservazionale dei pazienti affetti da neuropatia IgM correlata (sia anti-MAG che non) con lo scopo di descriverne il decorso clinico, il ruolo degli anticorpi anti-MAG, la presenza di sottotipi clinici e potenziali biomarker (118).

1.5.3 Diagnosi

La diagnosi, oltre alla clinica, si basa sulla presenza nel siero di un titolo anticorpale anti-MAG, rilevato tramite test ELISA con MAG umano purificato come antigene con un kit commerciale della Bühlmann Laboratories AG, superiore a 1000 BTU (Bühlmann Titre Units), con una sensibilità del 97% e una specificità dell'86%, quest'ultimo valore giustificato dal fatto che per titoli <10.000 BTU sono possibili

falsi positivi (119,120). Tuttavia, il titolo anti-MAG non è direttamente proporzionale alla gravità della patologia. Per questo motivo, un recente studio ha valutato l'analisi degli anticorpi anti-HNK1 (epitopo di MAG, descritto in precedenza), dimostrando una sensibilità e specificità maggiori (rispettivamente 98% e 99%), e una correlazione con la severità della neuropatia (valutata tramite score INCAT (121)) e della disabilità (valutata secondo la scala I-RODS (122)) (123).

Tipicamente, il titolo anti-MAG viene ricercato nei pazienti con neuropatia associata a gammopatia monoclonale, tuttavia la presenza di IgM anti-MAG è stata dimostrata in alcuni pazienti prima della comparsa della gammopatia stessa, suggerendo come gli anticorpi anti-MAG andrebbero testati in tutti i pazienti con neuropatia demielinizante distale sensorimotoria cronica, a dispetto della presenza o meno di una componente monoclonale sierica (124).

È inoltre da tenere in considerazione che la maggior parte dei pazienti soddisfa i criteri elettrodiagnostici per la diagnosi di CIDP (125), mostrando un prolungamento delle latenze distali sproporzionato rispetto alle velocità di conduzione prossimali e l'assenza di blocchi di conduzione o dispersione temporale (126). Inoltre, le caratteristiche cliniche della neuropatia da anticorpi anti-MAG sono simili alle varianti di CIDP distale e sensitiva, tuttavia la presenza di anticorpi anti-MAG nel siero rientra tra i criteri di esclusione per CIDP (125).

1.5.4 Trattamento

La terapia della neuropatia da anticorpi anti-MAG è finalizzata a ridurre le concentrazioni di anticorpi monoclonali IgM.

In passato venivano impiegati agenti chemioterapici come Clorambucile, Ciclofosfamide o Fludarabina, ad oggi non più utilizzati per via della loro tossicità (3). Attualmente, il trattamento più utilizzato prevede l'impiego del rituximab, un anticorpo monoclonale chimerico che si lega in modo specifico all'antigene CD20, che si trova sui linfociti pre-B e sui linfociti B maturi. Il CD20 si ritrova nelle cellule B normali e neoplastiche, ma non sulle cellule staminali emopoietiche, sulle cellule pro-B, sulle plasmacellule normali o su altri tessuti normali. Il dominio Fab del rituximab si lega all'antigene CD20 sui linfociti B e il dominio Fc può attivare le funzioni effettrici del sistema immunitario con lo scopo di provocare la lisi delle

cellule B. I meccanismi possibili della lisi cellulare mediata dall'effettore comprendono la citotossicità complemento-dipendente (CDC) attraverso il legame con il C1q e la citotossicità cellulare anticorpo-dipendente (ADCC) mediata da uno o più recettori Fc γ sulla superficie di granulociti, macrofagi e cellule NK. È stato anche dimostrato che il legame del rituximab all'antigene CD20 sui linfociti B induce la morte cellulare per apoptosi (127).

Dati ricavati da diversi studi non controllati riportano come rituximab sia efficace nel 30-50% dei 200 pazienti in totale trattati (128), nonostante due trials controllati non abbiano invece riscontrato benefici oggettivabili significativi negli score di disabilità (nonostante un miglioramento nel 30% dei pazienti) e nel test del cammino di 10 metri per il primo studio (129), e nelle scale di valutazione sensoriali nel secondo studio (130); tuttavia, la non significatività di questi studi controllati è giustificata da diversi fattori, tra cui l'impossibilità di oggettivare con gli score miglioramenti minimi, percepiti soggettivamente dai pazienti (es. cammino più stabile e veloce, maggior facilità nell'utilizzo di utensili), o l'eterogeneità clinica, per cui pazienti con deficit minimi risultano avere score bassi a priori (128).

Attualmente è in corso un trial controllato randomizzato in Francia (THERAMAG) con lo scopo principale di dimostrare l'efficacia di rituximab rispetto al placebo in un sottogruppo di pazienti anti-MAG nel migliorare la disabilità neurologica valutata mediante il punteggio I-RODS (122) tra il baseline e dopo 12 mesi (131).

Nonostante il decorso clinico della neuropatia da anticorpi anti-MAG sia solitamente lento e progressivo, in rari casi il deterioramento neurologico e la disabilità possono avere una progressione acuta nel giro di pochi giorni; in letteratura sono descritti alcuni casi nei quali questo rapido peggioramento segue il primo ciclo di rituximab (132,133), riflettendo un possibile innalzo di IgM monoclonali a seguito di una lisi tumorale indotta dal farmaco (134). In questi casi l'utilizzo del plasma exchange in 3-6 sedute si è dimostrato efficace come terapia di emergenza (135).

1.5.5 Nuove prospettive di trattamento

Considerata l'efficacia di rituximab in una quota consistente di pazienti, altri anticorpi anti-CD20 di nuova generazione, con un effetto sulla deplezione linfocitaria maggiore, potrebbero risultare promettenti. Obinutuzumab, un farmaco approvato per la leucemia linfatica cronica, è stato testato in uno studio su due pazienti non responsivi a rituximab, senza portare ad un beneficio o ad un peggioramento clinico a distanza di un anno dalla somministrazione, abbassando però i livelli di IgM e di anticorpi anti-MAG a valori normali in entrambi i pazienti (136).

La mutazione MYD88^{L265P} è riscontrata nel 90% dei pazienti affetti da macroglobulinemia di Waldenström e nel 10% dei pazienti affetti da MGUS (100), conferendo uno stimolo di sopravvivenza nelle cellule tumorali attraverso l'attivazione costitutiva delle Bruton tyrosine kinase (BTK). L'utilizzo nei pazienti affetti da macroglobulinemia di Waldenström di Ibrutinib, un inibitore di BTK, ha portato ad un miglioramento non solo della condizione ematologica in sé, ma anche della neuropatia da anticorpi anti-MAG associata alla patologia nel 25% dei casi (137,138).

Un recente studio in fase 1b riguardo l'impiego nei pazienti con neuropatia da anticorpi anti-MAG della Lenalidomide, un agente immunomodulatorio approvato come trattamento del mieloma multiplo e efficace nelle neuropatie in sindrome POEMS e amiloidosi, è terminato a causa di un rischio elevato di tromboembolismo venoso, senza dimostrare al contempo una significativa efficacia clinica (139).

Una prospettiva terapeutica interessante, che non si basa su una strategia immunosoppressiva aspecifica come tutte le precedenti, è l'impiego di ligandi decoy di HNK-1 con lo scopo di neutralizzare selettivamente gli autoanticorpi anti-MAG (Figura 16). In due studi, l'impiego del glicopolimero poli (fenildisodio 3-O-solfo- β -d-glucopiranoato)-(1 \rightarrow 3)- β -d-galattopiranoside (PPSGG), contenente multiple copie dell'epitopo HNK-1, ha dimostrato ridurre in maniera selettiva, rapida (nel giro di 5-10 minuti) e duratura (fino a 96 ore) i titoli anticorpali anti-MAG in modelli animali murini e in preparati di nervo sciatico ottenuti da primati incubati con siero di pazienti con neuropatia da anticorpi anti-MAG, bloccando di conseguenza l'interazione patologica tra autoanticorpi e strutture nervose (140).

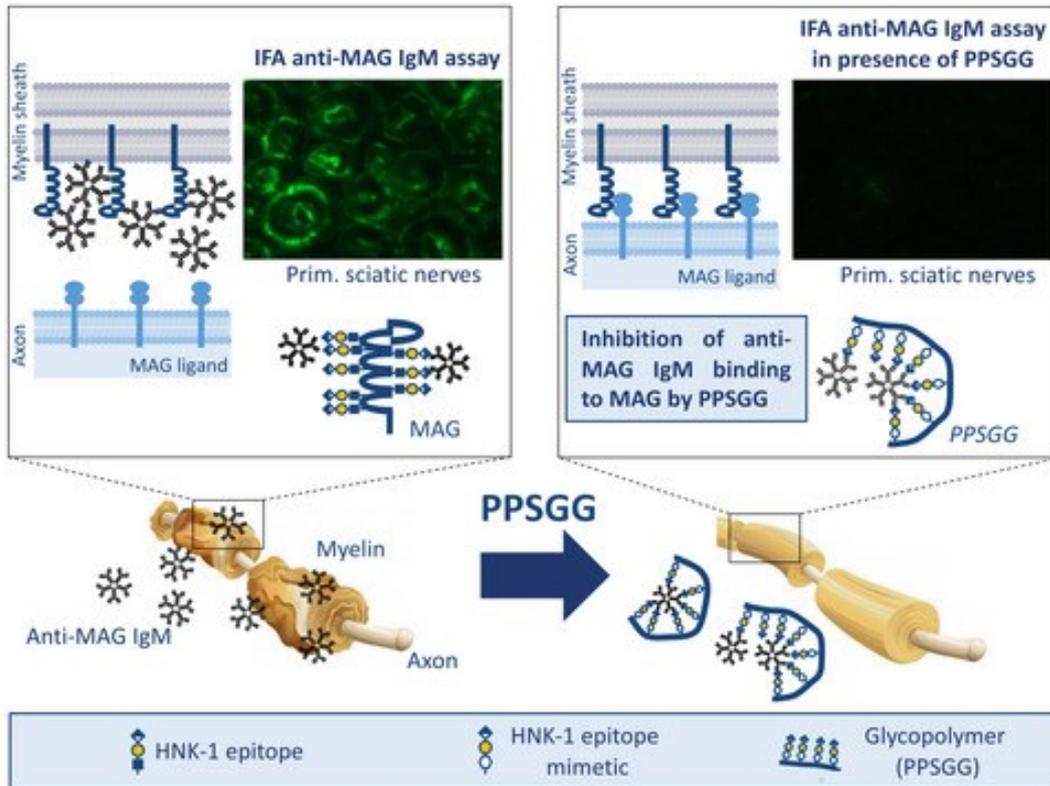


Figura 17. Rappresentazione grafica del meccanismo d'azione di PPSGG. (140)

Questi esperimenti aprono le porte ad un possibile uso di questa terapia mirata in futuri trials clinici, dove potrebbe essere utilizzata come terapia singola o in combinazione con la terapia anti-cellule B, in modo che i pazienti possano trarre beneficio sia dalla rimozione rapida che dalla soppressione a lungo termine della produzione di autoanticorpi IgM anti-MAG (25,140).

1.5.6 Ruolo dello studio liquorale

I dati ottenuti dallo studio liquorale non hanno un ruolo specifico nella diagnosi di neuropatia da anticorpi anti-MAG. Tuttavia, l'analisi del liquor nei pazienti affetti da polineuropatie mostra frequentemente un'elevata proteinorachia (>45 mg/L) associata ad una normale conta cellulare (<5 elementi/ mm^3). Questa condizione è definita come dissociazione albumino-citologica, ed è riscontrata frequentemente in polineuropatie infiammatorie come la sindrome di Guillain-Barré e la CIDP (per quest'ultima peraltro rientra nei criteri di supporto alla diagnosi) (125,141). Diversi meccanismi sono stati proposti come causa di questa dissociazione, tra cui la produzione intratecale di proteine (come le immunoglobuline) o il danno di barriera nelle condizioni infiammatorie (141).

Il danno della barriera emato-liquorale può essere valutato anche tramite il dosaggio dell'albumina, in quanto sintetizzata esclusivamente nel fegato: essendo la sua concentrazione nel liquor dipendente dalla concentrazione nel siero, il parametro in uso non è la sua concentrazione in assoluto ma il rapporto tra la sua concentrazione nel liquor e quella nel siero, definito quoziente albuminico ($Q_{Alb} = \frac{Alb_{liquor}}{Alb_{siero}} \times 10^3$); essendo un valore età-dipendente la sua interpretazione è variabile, tuttavia in soggetti >40 anni valori >6,5 sono considerati patologici, mentre valori >8 sono patologici in pazienti >60 anni (142,143).

Un altro parametro degno di nota nella neuropatia da anticorpi anti-MAG, rientrante nell'analisi liquorale di base, è il dosaggio delle immunoglobuline; nel liquido cefalorachidiano la loro provenienza è plasmatica, ma in alcune patologie possono essere prodotte a livello del SNC, condizione definita come sintesi intratecale, evidenziando un'attivazione immunologica del SNC stesso, come avviene tipicamente nella sclerosi multipla. Per tale motivo, analogamente all'albumina, il parametro in uso è dato dal rapporto tra la concentrazione di immunoglobuline nel liquor e quella nel siero, definito quoziente di immunoglobuline ($Q_{Ig} = \frac{Ig_{liquor}}{Ig_{siero}} \times 10^3$), con valori normali <2,5 (1/400) per le IgG, <1,25 (1/800) per le IgA e <0,29 (1/3400) per le IgM. Un aumento della concentrazione di immunoglobuline nel liquor può essere dovuto a ipergammaglobulinemia, danno di barriera, alterato flusso liquorale e/o sintesi intratecale (valutata tramite IgG index: Q_{IgG}/Q_{Alb} , patologico se >0,7) (143).

La rappresentazione grafica dei due quozienti e il loro rapporto è visualizzabile nel nomogramma di Reiber, apprezzabile in Figura 18. Incrociando i valori di Q_{Alb} e Q_{IgG} del paziente, i possibili risultati sono:

1. Reperto normale
2. Disfunzione di barriera isolata, ad esempio sindrome di Guillain-Barré o stenosi del canale midollare
3. Infiammazione isolata del SNC, ad esempio sclerosi multipla o encefalite infettiva passata
4. La combinazione di 2 e 3, ad esempio neuroborreliosi acuta o neurotubercolosi.

5. Reperto implausibile, ad esempio prelievo dopo infusione di immunoglobuline (144,145)

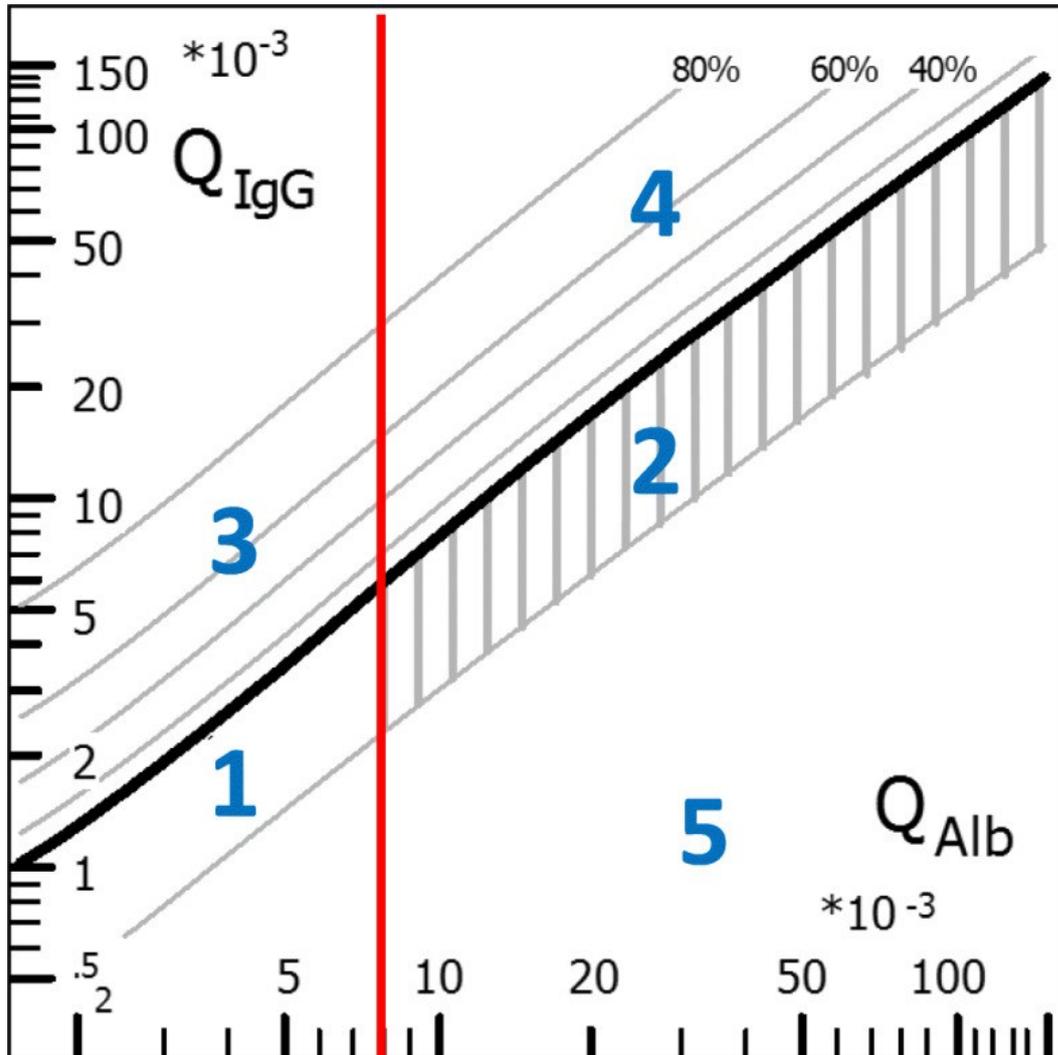


Figura 18. Nomogramma di Reiber. Q_{Alb} e Q_{IgG} sono rappresentate in funzione logaritmica. La linea diagonale spessa corrisponde al valore medio della concentrazione IgG prevista più 3 volte la deviazione standard: per i Q_{IgG} al di sopra di questa linea, si può quindi supporre una sintesi intratecale di IgG con una probabilità di un risultato falso positivo di $< 0,5\%$. La linea verticale rossa rappresenta il valore limite correlato all'età per la funzione di barriera (Q_{AlbLIM} , età/15+4). (145)

2. SCOPO DELLO STUDIO

Lo scopo dello studio è la ricerca di possibili correlazioni e associazioni, in pazienti affetti da neuropatia da anticorpi anti-MAG, tra i dati ottenuti dall'analisi liquorale effettuata al momento della diagnosi, e il decorso clinico della malattia valutato a successive visite di follow-up.

Nello specifico, viene indagato se un eventuale danno di barriera rilevato all'analisi liquorale sia associato a una progressione clinica peggiore.

In una sottopopolazione di pazienti questi dati vengono inoltre valutati in rapporto alla mutazione MYD88^{L265P}.

3. MATERIALI E METODI

3.1 PAZIENTI

Sono stati inclusi 47 pazienti consecutivi (31 uomini e 16 donne, rapporto M/F 1,94/1, età media $72,9 \pm 10$ anni, range 53-94 anni) valutati in due diversi centri specializzati nella gestione delle neuropatie (rispettivamente 21 pazienti a Padova e 26 a Genova). Tutti i pazienti sono stati diagnosticati affetti da neuropatia da anticorpi anti-MAG (da qui in avanti definiti come “pazienti”), con un’età media di esordio di $61,4 \pm 10,8$ anni, range 38-82 anni e una durata media di malattia di $11,4 \pm 5,6$ anni, range 2-24 anni. Nello studio sono stati inizialmente inclusi anche 20 pazienti provenienti dalla Neurologia di Verona; tuttavia, la mancanza di dati anagrafici e clinici associati al campione liquorale ne ha impedito l’analisi dei dati di correlazione.

Come gruppo di controllo sono stati considerati 49 pazienti consecutivi (35 uomini e 14 donne, rapporto M/F 2,5/1, età media $68,8 \pm 15,2$ anni, range 30-94 anni) con diagnosi di polineuropatia infiammatoria demielinizzante cronica (CIDP) (da qui in avanti definiti come “controlli”), con età media di esordio di $56,7 \pm 15,9$ anni, range 15-82 anni e una durata media di malattia di $12,1 \pm 5,8$ anni, range 6-35 anni, valutati presso la Clinica Neurologica di Padova nello stesso periodo dei pazienti con neuropatia da anticorpi anti-MAG. Le caratteristiche della popolazione in esame sono riassunte nella Tabella IV, e riflettono le caratteristiche epidemiologiche descritte in letteratura (111).

| | Totale anti-MAG | Padova | Genova | Controlli |
|---------------------------------|-----------------|--------------|--------------|--------------|
| Rapporto M/F | 31/16 | 11/10 | 20/6 | 35/14 |
| Età d’esordio in anni (range) | 61,4 (38-82) | 60,4 (38-81) | 62,2 (48-82) | 56,7 (15-82) |
| Durata malattia in anni (range) | 11,4 (2-24) | 13,5 (3-24) | 9,8 (2-24) | 12,1 (6-35) |

Tabella IV. Caratteristiche demografiche della popolazione dello studio, divise per centro.

Per quanto riguarda la malattia ematologica associata, 35/47 pazienti (74%) hanno una MGUS, 10/47 (21%) una macroglobulinemia di Waldenström e 1/47 (2%) una leucemia linfatica cronica (LLC); per un paziente del centro di Genova la patologia ematologica sottostante non è nota. Di 44/47 (94%) pazienti è nota la tipologia di componente monoclonale: 36/44 (82%) di tipo IgM-κ, 4/44 (9%) di tipo IgM-λ (di cui 1 con doppia componente), 2/44 (5%) con doppia componente IgM-κ e IgM-λ, 1/44 (2%) con componente IgM-κ e IgG-λ e 1/44 (2%) con componente IgG-κ. Il riassunto di queste caratteristiche è visibile nella Tabella V.

| | Totale | Padova | Genova |
|---------------|-------------|-------------|-------------|
| MGUS | 35/47 (74%) | 13/35 (37%) | 22/35 (63%) |
| Waldenström | 10/47 (21%) | 7/10 (70%) | 3/10 (30%) |
| LLC | 1/47 (2%) | 1 | 0 |
| Non nota | 1/47 (2%) | 0 | 1 |
| IgM-κ | 36/47 (77%) | 16/36 (44%) | 20/36 (66%) |
| IgM-λ | 4/47 (9%) | 2/4 | 2/4 |
| IgM-κ e IgM-λ | 2/47 (4%) | 2 | 0 |
| IgM-κ e IgG-λ | 1/47 (2%) | 1 | 0 |
| IgG-κ | 1/47 (2%) | 0 | 1 |
| Non nota | 3/47 (6%) | 0 | 3 |

Tabella V. Caratteristiche delle patologie associate a gammopatia della popolazione dello studio, divise per centro.

Inoltre, 37/47 pazienti (79%) sono stati sottoposti ad almeno un trattamento, di cui 33/37 (89%) con Rituximab, 1/37 (3%) a Obinutuzumab, 1/37 (3%) a plasmateresi, immunoglobuline endovena e Belimumab (un anticorpo diretto contro lo stimolatore dei linfociti B (BLyS), approvato per il lupus), 1/37 (3%) con solo

immunoglobuline endovena e 1/37 (3%) con steroide ed Azatioprina in quanto inizialmente considerato CIDP. Dei pazienti sottoposti a Rituximab, 9/33 (27%) sono stati sottoposti precedentemente ad altri trattamenti: 3/33 (9%) a plasmateresi, 3/33 (9%) a immunoglobuline endovena e plasmateresi, 2/33 (6%) a immunoglobuline endovena e 1/33 (3%) a Bendamustina. Il riassunto di queste caratteristiche è illustrato in Tabella VI.

| | Totale | Padova | Genova |
|--------------------------------|-------------|-------------|-------------|
| Non trattati | 10/47 (21%) | 4/10 (40%) | 6/10 (60%) |
| Trattati | 37/47 (79%) | 17/37 (46%) | 20/37 (54%) |
| Rituximab | 33/37 (89%) | 15/33 (45%) | 18/33 (55%) |
| + plasmateresi | 3/33 (9%) | 0 | 3 |
| + IgEV e plasmateresi | 3/33 (9%) | 1 | 2 |
| + IgEV | 2/33 (6%) | 2 | 0 |
| + Bendamustina | 1/33 (3%) | 0 | 1 |
| Obinutuzumab | 1/37 (3%) | 1 | 0 |
| Plasmateresi, IgEV e Belimumab | 1/37 (3%) | 0 | 1 |
| IgEV | 1/37 (3%) | 0 | 1 |
| Steroidi e azatioprina | 1/37 (3%) | 1 | 0 |

Tabella VI. Caratteristiche delle tipologie di trattamento somministrato alla popolazione dello studio, divise per centro.

La valutazione clinica e la disabilità sono state quantificate secondo la scala Inflammatory Neuropathy Cause and Treatment (INCAT), descritta in Tabella VII

(121), mentre la forza secondo la scala Medical Research Council (MRC), descritta in Tabella VIII (146), alla diagnosi (per i pazienti di entrambi i centri e per i controlli) e alle visite di follow-up (per i pazienti di Padova e per i controlli), nelle quali viene eseguito un esame obiettivo neurologico con cui si indagano inoltre marcia, riflessi osteotendinei, tremore e pallestesia ad alluci, malleoli e ginocchio (quantificata in ottavi). Nello studio verranno inclusi i dati dell'ultima visita di follow-up. Di 8/21 (38%) pazienti di Padova sottoposti ad analisi mutazionale e a terapia con Rituximab, sono state calcolate le modifiche della disabilità (calcolata con lo score INCAT) pre-terapia e post-terapia.

| Scala INCAT | | |
|-------------|--|--|
| Punteggio | Arti superiori | Arti inferiori |
| 0 | Nessun deficit | Nessun deficit nella deambulazione |
| 1 | Sintomi, in uno o entrambi gli arti, che non influiscono sulla capacità di: chiudere cerniere e bottoni; lavare o pettinare i capelli; usare posate; maneggiare monete | Deambulazione influenzata, ma autonoma all'aperto |
| 2 | Sintomi, in uno o entrambi gli arti, che influenzano ma non impediscono le funzioni precedentemente menzionate | Utilizzo di un supporto unilaterale (bastone, stampella singola, un braccio) per deambulare all'aperto |
| 3 | Sintomi, in uno o entrambi gli arti, che impediscono una o due delle funzioni precedentemente menzionate | Utilizzo di un supporto bilaterale (bastoni, stampelle, deambulatore) per deambulare all'aperto |
| 4 | Sintomi, in uno o entrambi gli arti, che impediscono tre o tutte le funzioni elencate, ma sono ancora possibili alcuni movimenti mirati | Utilizzo di sedia a rotelle per muoversi all'aperto, ma in grado di stare in piedi e fare alcuni passi con aiuto |
| 5 | Incapacità di utilizzare uno o entrambi gli arti per qualsiasi movimento mirato | Utilizzo di sedia a rotelle, non in grado di stare in piedi e di fare alcuni passi con aiuto |

Tabella VII. Scala INCAT. In base al livello di compromissione degli arti superiori e inferiori, a ciascuna parte viene assegnato un punteggio tra 0 e 5 punti,

risultando in un punteggio totale compreso tra 0 (nessun deficit funzionale) e 10 (massimo deficit funzionale).

| Scala MRC | |
|-----------|---|
| Punteggio | Comparti muscolari esaminati: abduttori arto superiore, flessori del gomito, estensori del polso, flessori dell'anca, estensori del ginocchio, flessori dorsali del piede |
| 0 | Paralisi |
| 1 | Accenno di contrazione |
| 2 | Movimento possibile in assenza di gravità |
| 3 | Movimento possibile contro gravità |
| 4 | Forza ridotta, ma movimento possibile contro resistenza |
| 5 | Forza normale |

Tabella VIII. Scala MRC. I comparti muscolari vengono esaminati bilateralmente. Calcolando la somma dei punteggi di ciascun muscolo, valutato individualmente, si ottiene uno score compreso tra 0 (paralisi totale) e 60 (nessun deficit di forza).

3.2 STUDIO LIQUORALE E SIERICO

Al momento della diagnosi e comunque prima di alcuna terapia i pazienti sono stati sottoposti a rachicentesi, previa acquisizione di consenso informato.

Le analisi effettuate su tutti i campioni di liquido cefalorachidiano (e di siero prelevato in concomitanza al liquor) includono: conta cellulare liquorale (espressa come elementi/mm³), normalmente <5 elementi/mm³; concentrazione liquorale delle proteine totali (in mg/dL), considerata patologica per valori >45 mg/dL; ricerca di bande oligoclonali, effettuata tramite focusing isoelettrico su agarosio seguito da trasferimento su membrana di nitrocellulosa, immunofissazione IgG specifica, amplificazione con avidina-biotina e colorazione con perossidasi (147). L'interpretazione dei pattern delle bande oligoclonali nel liquor e nel siero segue le linee guida per lo studio delle patologie neuroimmunomediatae (148). I campioni con normale conta cellulare e valori patologici di proteinorachia sono stati descritti come caratterizzati da dissociazione albumino-citologica (141).

Su 42/47 (89%) campioni sono state rilevate anche la concentrazione liquorale e sierica di albumina e IgG (in mg/dL). Su questi campioni è stato, inoltre, calcolato il quoziente albuminico liquor/siero (QAlb) e il quoziente di IgG liquor/siero (QIgG): il QAlb è stato rapportato al QAlbLIM (calcolato come $\text{età}/15+4$) per quantificare la permeabilità, e di conseguenza il danno, della barriera emato-nervosa: assenza di danno di barriera per valori $\text{QAlb}/\text{QAlbLIM} < 1$, danno lieve se $\text{QAlb}/\text{QAlbLIM} < 2$, danno moderato per $\text{QAlb}/\text{QAlbLIM}$ compreso tra 2 e 5, danno severo se > 5 (149,150); il QIgG è stato rapportato al quoziente albuminico liquor/siero (QAlb) ottenendo l'IgG Index, utilizzato per valutare un'eventuale sintesi intratecale di immunoglobuline (143).

Infine, per quanto riguarda i campioni sierici, oltre alle indagini analoghe effettuate anche sulla componente liquorale, in 41/47 (87%) dei campioni è stato quantificato il titolo di anticorpi anti-MAG (in BTU, ricordando che i valori normali sono < 1000 e valori > 10.000 sono considerati da diversi studi come “alto titolo” (111,151)), ponendo come valore massimo 70.000 BTU, in 38/47 (81%) campioni la concentrazione di IgM (in g/L, valori normali 0,4-2,4 g/L) e in 30/47 (64%) campioni la concentrazione di *free-light chains* κ e λ (in mg/L, valori normali rispettivamente 4,5-22,3 e 4,8-21,8 mg/L).

3.3 STUDIO GENETICO

Di 14/47 (30%) pazienti, tutti afferenti al centro di Padova, tra il 2009 e il 2021 è stata effettuata la ricerca della mutazione MYD88^{L265P} e di eventuali varianti del gene *CXCR4* su cellule da biopsia osteomidollare. 7/14 (50%) pazienti presentavano MGUS, 6/14 (43%) presentavano macroglobulinemia di Waldenström e uno (7%) leucemia linfatica cronica.

3.4 ANALISI STATISTICA

Le variabili quantitative sono state descritte utilizzando media, deviazione standard, mediana e range, mentre le variabili qualitative come rapporti e percentuali. Per il confronto tra variabili quantitative è stato utilizzato il test t di Student (Wilcoxon quando appropriato), mentre per il confronto tra variabili qualitative è stato impiegato il test del χ^2 (Fisher quando appropriato). Le ipotesi di correlazione sono state verificate con il coefficiente di Pearson per le variabili continue, con il

coefficiente di Spearman per variabili ordinali. I valori di $p < 0,05$ sono stati considerati statisticamente significativi. Le analisi sono state eseguite utilizzando il software jamovi (152).

4. RISULTATI

4.1 DATI CLINICI

4.1.1 Alla diagnosi

Alla diagnosi, i pazienti presentavano un punteggio mediano sulla scala INCAT di 1 (media 1,4, range 0-7), con un punteggio mediano per gli arti superiori e inferiori rispettivamente di 0 (media 0,4, range 0-3) e 1 (media 0,9, range 0-4). Invece, alla diagnosi, il punteggio mediano sulla scala MRC era di 60 (media 59, range 38-60), con un punteggio mediano per gli arti superiori e inferiori rispettivamente di 30 (media 29,7, range 20-30) e 30 (media 28,8, range 18-30).

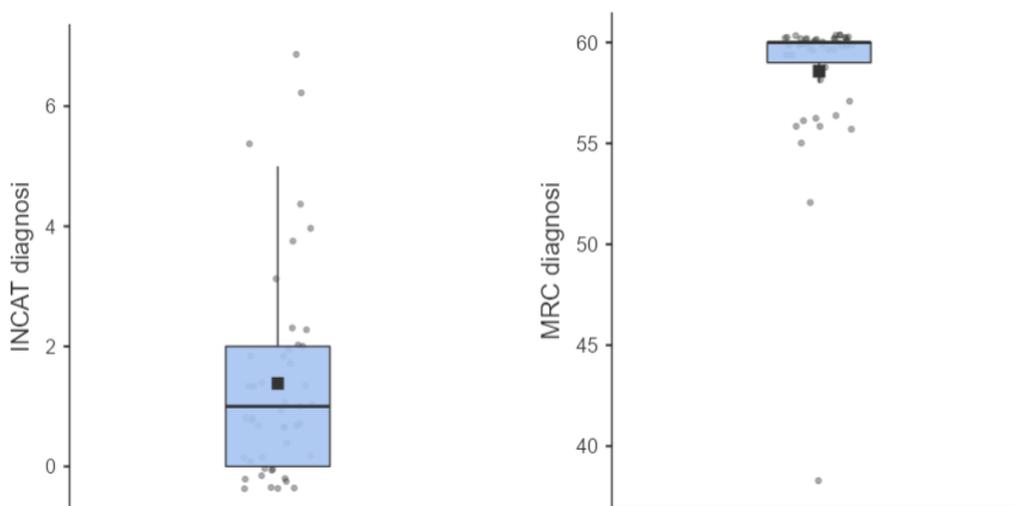


Figura 19. Box plot raffiguranti i punteggi INCAT (a sinistra) e MRC (a destra) dei pazienti alla diagnosi.

28/47 (60%) pazienti presentavano una marcia considerata patologica (score INCAT arti inferiori ≥ 1), di cui 8/47 (17%) con necessità di ausili per deambulare. Le tipologie di marcia rilevate e loro frequenze sono raffigurate nella Tabella IX.

La pallestesia, rilevata ad alluci, malleoli e ginocchia, presentava un valore mediano complessivo di 5/8 (media $4,4/8 \pm 2,2/8$, range 0-8/8), mentre allo studio dei riflessi osteotendinei sono stati riscontrati riflessi normovivaci in 35/47 (75%) pazienti agli arti superiori, mentre agli arti inferiori solo in 6/47 (13%) pazienti. La maggior parte dei pazienti presentava un'areflessia agli arti inferiori, in particolare 17/47 (36%)

ai riflessi achillei e 13/47 (28%) un'areflessia totale. Lo studio dei riflessi osteotendinei elicitati è raffigurato nelle Tabelle X e XI.

| Marcia alla diagnosi (INCAT score) | Frequenze | % Totale | % Cumulata |
|---|------------------|-----------------|-------------------|
| Normale (0) | 17 | 36.2 % | 36.2 % |
| Lievemente tallonante (0) | 2 | 4.3 % | 40.4 % |
| Tallonante (1) | 13 | 27.7 % | 68.1 % |
| Cauta (1) | 4 | 8.5 % | 76.6 % |
| Tallonante e steppante (1) | 2 | 4.3 % | 80.9 % |
| Steppante (1) | 1 | 2.1 % | 83.0 % |
| Atassica, necessità di singolo appoggio (2) | 1 | 2.1 % | 85.1 % |
| Steppante, necessità di singolo appoggio (2) | 1 | 2.1 % | 87.2 % |
| Atassica, necessità di doppio appoggio (3) | 4 | 8.5 % | 95.7 % |
| Carrozzina, pochi metri con doppio appoggio (4) | 2 | 4.3 % | 100.0 % |

Tabella IX. Frequenze delle tipologie di marcia nei pazienti alla diagnosi.

| Riflessi arti superiori alla diagnosi | Frequenze | % Totale | % Cumulata |
|--|------------------|-----------------|-------------------|
| Presenti | 35 | 74.5 % | 74.5 % |
| Ridotti | 6 | 12.8 % | 87.2 % |
| Ridotti brachioradiali, assenti bicipitali | 1 | 2.1 % | 89.4 % |
| Assenti | 5 | 10.6 % | 100.0 % |

Tabella X. Riflessi osteotendinei agli arti superiori e loro frequenze alla diagnosi.

| Riflessi arti inferiori alla diagnosi | Frequenze | % Totale | % Cumulata |
|---------------------------------------|-----------|----------|------------|
| Presenti | 6 | 12.8 % | 12.8 % |
| Ridotti patellari | 1 | 2.1 % | 14.9 % |
| Ridotti | 2 | 4.3 % | 19.1 % |
| Ridotti patellari, assenti achillei | 8 | 17.0 % | 36.2 % |
| Assenti achillei | 17 | 36.2 % | 72.3 % |
| Assenti | 13 | 27.7 % | 100.0 % |

Tabella XI. Riflessi osteotendinei agli arti inferiori e loro frequenze alla diagnosi.

Infine, 12/47 (25%) pazienti presentavano tremore alla diagnosi, tutti di tipo posturale, ad eccezione di 2/47 (4%) pazienti con tremore posturale e cinetico distale bilaterale (Tabella XII).

| Tremore alla diagnosi | Frequenze | % Totale | % Cumulata |
|---|-----------|----------|------------|
| No | 35 | 74.5 % | 74.5 % |
| Posturale I-II dito bilaterale | 1 | 2.1 % | 76.6 % |
| Posturale mano destra | 1 | 2.1 % | 78.7 % |
| Posturale AS sinistro | 1 | 2.1 % | 80.9 % |
| Posturale AS bilaterale | 2 | 4.3 % | 85.1 % |
| Posturale bilaterale | 5 | 10.6 % | 95.7 % |
| Posturale e cinetico distale bilaterale | 2 | 4.3 % | 100.0 % |

Tabella XII. Tipologie e frequenze di tremore nei pazienti alla diagnosi.

4.1.2 All'ultimo follow-up

All'ultima visita neurologica (follow-up medio $10,6 \pm 5,6$ anni, range 2-24), i pazienti del centro di Padova presentavano un punteggio mediano sulla scala INCAT di 1 (media 1,8, range 0-7), con un punteggio mediano per gli arti superiori e inferiori rispettivamente di 0 (media 0,8, range 0-3) e 1 (media 1,1, range 0-4). Il punteggio mediano sulla scala MRC rilevato al follow-up è di 60 (media 59, range 55-60), con un punteggio mediano per gli arti superiori e inferiori rispettivamente di 30 (media 30) e 30 (media 29, range 25-30).

Rispetto alla diagnosi, la differenza nello score ottenuto nella scala INCAT nei pazienti è significativa ($p=0,001$), così come lo score ottenuto nella scala MRC ($p=0,047$).

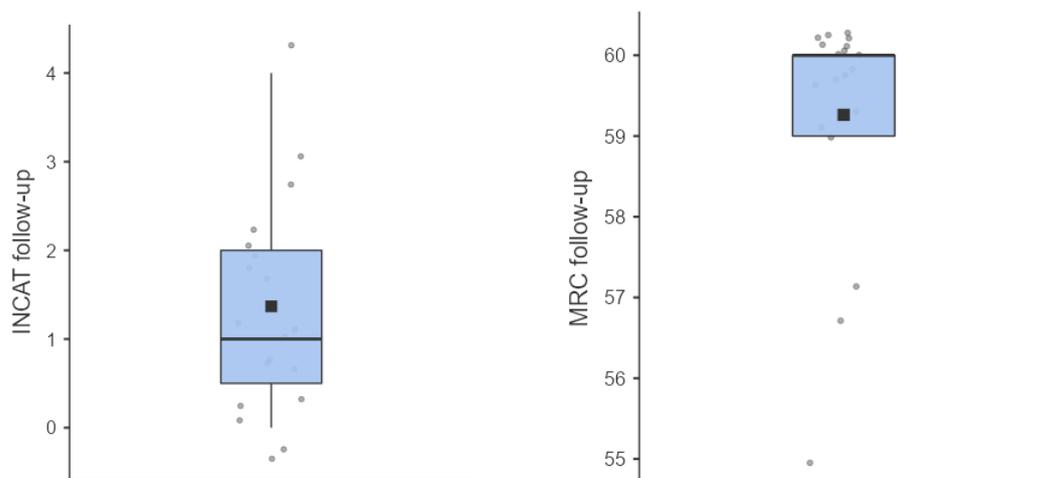


Figura 20. Box plot raffiguranti i punteggi INCAT (a sinistra) e MRC (a destra) dei pazienti al follow-up.

Al follow-up, 20/21 (95%) pazienti presentavano una marcia considerata patologica (score INCAT arti inferiori ≥ 1), di cui 2/21 (10%) con necessità di carrozzina. Le tipologie di marcia e loro frequenze sono raffigurate nella Tabella XIII.

| Marcia al follow-up (INCAT score) | Frequenze | % Totale | % Cumulata |
|---|------------------|-----------------|-------------------|
| Normale (0) | 1 | 4.8 % | 4.8 % |
| Lievemente tallonante (0) | 2 | 9.5 % | 14.3 % |
| Antalgica (1) | 1 | 4.8 % | 19.0 % |
| Tallonante (1) | 3 | 14.3 % | 33.3 % |
| Cauta (1) | 7 | 33.3 % | 66.7 % |
| Tallonante e steppante (1) | 1 | 4.8 % | 71.4 % |
| Steppante (1) | 3 | 14.3 % | 85.7 % |
| Atassica (1) | 1 | 4.8 % | 90.5 % |
| Carrozzina, pochi metri con doppio appoggio (4) | 2 | 9.5 % | 100.0 % |

Tabella XIII. Frequenze delle tipologie di marcia nei pazienti al follow-up.

I pazienti presentavano una pallestesia misurata con valore mediano complessivo di 3/8 (media $3,8/8 \pm 2,4/8$, range 0-8/8), senza differenze significative rispetto ai valori riscontrati alla diagnosi ($p=0,267$).

Analogamente all'esame neurologico alla diagnosi, riflessi normovivaci sono stati rilevati in 18/21 (86%) pazienti agli arti superiori, solo in 4/21 (19%) pazienti agli arti inferiori. Nelle Tabelle XIV e XV sono rappresentate le caratteristiche dei riflessi studiati nei pazienti.

| Riflessi arti superiori al follow-up | Frequenze | % Totale | % Cumulata |
|---|------------------|-----------------|-------------------|
| Presenti | 18 | 85.7 % | 85.7 % |
| Ridotti | 3 | 14.3 % | 100.0 % |

Tabella XIV. Riflessi osteotendinei agli arti superiori e loro frequenze al follow-up.

| Riflessi arti inferiori al follow-up | Frequenze | % Totale | % Cumulata |
|---|------------------|-----------------|-------------------|
| Presenti | 4 | 19.0 % | 19.0 % |
| Ridotti achillei | 1 | 4.8 % | 23.8 % |
| Ridotti | 1 | 4.8 % | 28.6 % |
| Assenti achillei | 7 | 33.3 % | 61.9 % |
| Ridotti patellari, assenti achillei | 5 | 23.8 % | 85.7 % |
| Assenti | 3 | 14.3 % | 100.0 % |

Tabella XV. Riflessi osteotendinei agli arti inferiori e loro frequenze al follow-up.

4/21 (19%) pazienti presentavano tremore all'ultima visita di follow-up, di cui 3/21 (14%) di tipo posturale e 1/21 (5%) di tipo esclusivamente cinetico alla mano sinistra. Le caratteristiche del tremore sono riassunte in Tabella XVI.

| Tremore al follow-up | Frequenze | % Totale | % Cumulata |
|-------------------------|-----------|----------|------------|
| No | 17 | 81.0 % | 81.0 % |
| Posturale AS bilaterale | 1 | 4.8 % | 85.7 % |
| Posturale bilaterale | 2 | 9.5 % | 95.2 % |
| Cinetico mano sinistra | 1 | 4.8 % | 100.0 % |

Tabella XVI. Tipologie e frequenze di tremore nei pazienti al follow-up.

4.2 STUDIO LIQUORALE E SIERICO

La durata media dall'esordio di malattia dei pazienti al momento dell'esame liquorale (e di siero concomitante) era di $2,5 \pm 2,9$ anni (range 0-15 anni). I dati liquorali sono raffigurati in Tabella XVII.

Il numero medio di elementi cellulari nel liquor è comparabile nel gruppo di pazienti e nei controlli ($2,2$ elementi/ mm^3 contro $1,7$ elementi/ mm^3 , $p=0,383$), così come la concentrazione liquorale media di proteine totali ($73,8 \pm 53,3$ mg/dL contro $63,7 \pm 57,6$ mg/dL, $p=0,853$). L'iperproteinorachia è stata riscontrata in 31/47 (66%, $p<0,001$) pazienti con neuropatia da anticorpi anti-MAG; invece, la dissociazione albumino-citologica è stata riscontrata in 24/47 (51%) pazienti.

La concentrazione media di albumina rilevata a livello liquorale è di $47,3 \pm 29,6$ mg/dL, con un QAlb medio comparabile al gruppo di controllo ($12,3 \pm 8$ contro $12,8 \pm 9,2$, $p=0,202$). Il danno di barriera è stato rilevato in 28/42 (67%) pazienti, di cui 18/28 (64%) con danno lieve e 9/28 (32%) con danno moderato e 1/28 (4%) con danno severo; nei controlli, il danno di barriera è stato rilevato in 30/49 (61%) pazienti, di cui 20/30 (67%) lieve, 8/30 (27%) moderato e 2/30 (7%) severo.

La concentrazione media di IgG rilevata nel liquor è di $5,9 \pm 4,7$ mg/dL, con un QIgG medio comparabile al gruppo di controllo ($7 \pm 4,9$ contro $6,6 \pm 6,1$, $p=0,647$). Valori patologici ($>2,5$) sono stati riscontrati in 38/42 (90%) pazienti. L'IgG index medio calcolato nei pazienti è maggiore rispetto al gruppo di controllo ($0,56 \pm 0,08$ contro $0,49 \pm 0,1$, $p<0,001$) e la sintesi intratecale di IgG è stata rilevata soltanto in un (2%) paziente con neuropatia da anticorpi anti-MAG e in un (2%) controllo con CIDP.

| | Pazienti (anti-MAG), n=47 | Controlli (CIDP), n=49 |
|--|------------------------------|---------------------------|
| Elementi cellulari (n./mm ³) | 2,2 ± 3,3 (0-20) | 1,7 (0-15) |
| Proteine totali (mg/dL) | 73,8 ± 53,3 (17-250) | 62,7 ± 57,8 (20-377) |
| Iperproteïnorrhachia | 31/47 (66%) | 26/49 (53%) |
| Dissociazione albumino- citologica | 24/47 (51%) | n.d. |
| Albumina (mg/dL) | 47,3 ± 29,6 (11,2-171) | 53 ± 39,4 (15,1-178) |
| QAlb | 12,3 ± 8 (2,9-49,6) | 12,7 ± 8,9 (3,5-46,6) |
| Danno di barriera | 28/42 (67%) | 30/49 (61%) |
| Danno lieve | 18/28 (64%) | 20/30 (67%) |
| Danno moderato | 9/28 (32%) | 8/30 (27%) |
| Danno severo | 1/28 (4%) | 2/30 (7%) |
| IgG (mg/dL) | 5,9 ± 4,7 (1,6-27,5) | 8,2 ± 17,3 (1-122) |
| QIgG | 7 ± 4,9 (1,2-28,2) | 6,6 ± 6,2 (1,2-33,5) |
| QIgG patologico >2,5 | 36/41 (88%) | 39/49 (80%) |
| IgG Index | 0,56 ± 0,09 (0,22-0,83) | 0,49 ± 0,1 (0,06-0,72) |
| Focusing isoelettrico | | |
| Tipo 1 | 35/47 (74%) | 36/49 (73%) |
| Tipo 4 | 12/47 (26%) | 9/49 (18%) |
| Tipo 5 | 0/64 | 3/49 (6%) |
| Tipo "2+5" | 0/64 | 1/49 (2%) |

Tabella XVII. Dati liquorali nei pazienti con neuropatia da anticorpi anti-MAG e nei pazienti di controllo (affetti da CIDP). Le variabili quantitative vengono rappresentate come media ± deviazione standard (range), mentre le variabili qualitative vengono rappresentate come rapporto (percentuale).

Per quanto riguarda il danno di barriera, nei pazienti con neuropatia da anticorpi anti-MAG è stata osservata un'associazione tra la dissociazione albumino-citologica e la presenza o meno del danno di barriera (χ^2 , $p=0,027$), ma non con

l'entità del danno di barriera stesso ($p=0,102$) (differenziato in assenza di danno di barriera, danno lieve, danno moderato e danno severo).

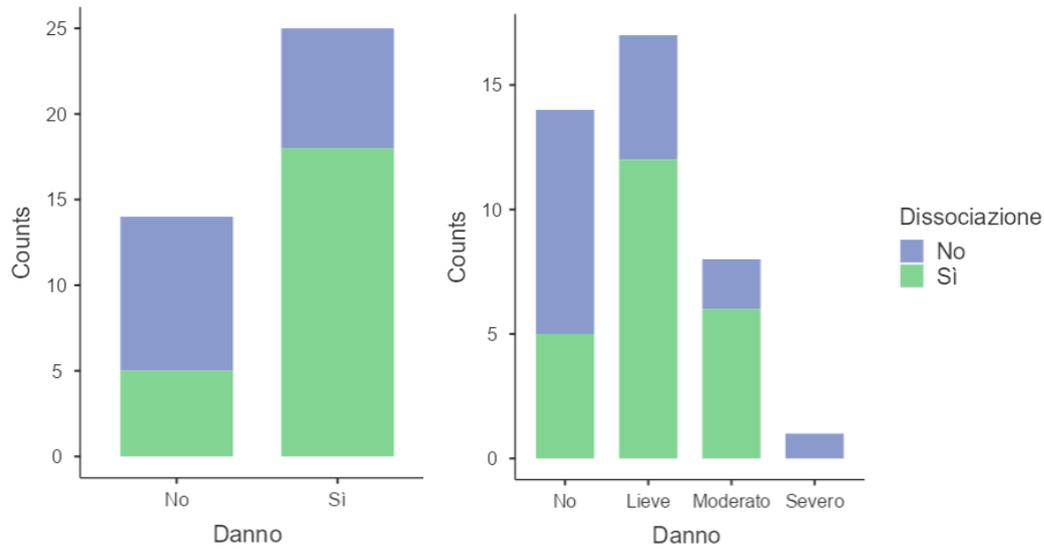


Figura 21. Comparazione tra la dissociazione albumino-citologica e la presenza del danno di barriera (a sinistra) e la sua entità (a destra) nei pazienti.

Inoltre, è stata osservata una forte correlazione tra il QIgG l'entità del danno di barriera sia nei pazienti ($r\ 0,934$, $p<0,001$) che nei controlli ($r\ 0,91$, $p<0,001$).

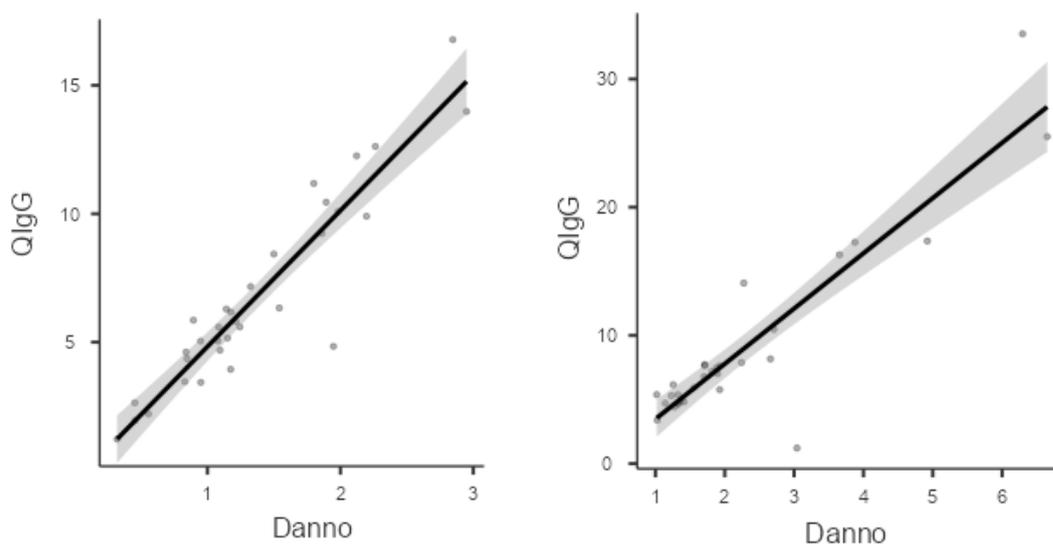


Figura 22. Correlazione tra i valori di QIgG e l'entità del danno di barriera, espresso in valori numerici, nei pazienti (a sinistra) e nei controlli (a destra).

Come rappresentato in Figura 23, nei pazienti è stata anche osservata una correlazione significativa tra l'entità del danno di barriera e la differenza di score INCAT all'ultima visita di follow-up ($\rho\ 0,499$, $p=0,015$); al contrario, tale correlazione non è significativa con lo score INCAT alla diagnosi ($\rho\ -0,044$,

$p=0,609$). Similmente, nessuna correlazione è stata osservata tra l'entità del danno di barriera e lo score MRC alla diagnosi ($\rho -0,167$, $p=0,855$) e all'ultima visita di follow-up ($\rho -0,421$, $p=0,964$).

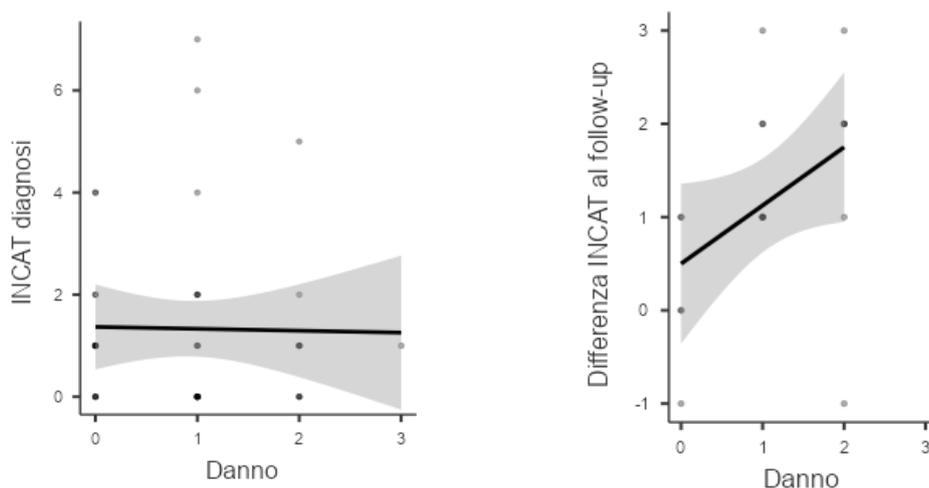


Figura 23. Correlazione tra l'entità del danno di barriera (0=nessun danno, 1=danno lieve, 2=moderato, 3=severo) e il punteggio dello score INCAT alla diagnosi (a sinistra) e differenza all'ultimo follow-up (a destra) nei pazienti.

Nel gruppo dei controlli invece, come apprezzabile in Figura 24, è stata trovata correlazione tra l'entità del danno di barriera e lo score INCAT alla diagnosi ($\rho 0,354$, $p=0,006$), ma non con la differenza nello score al follow-up ($\rho -0,411$, $p=0,998$).

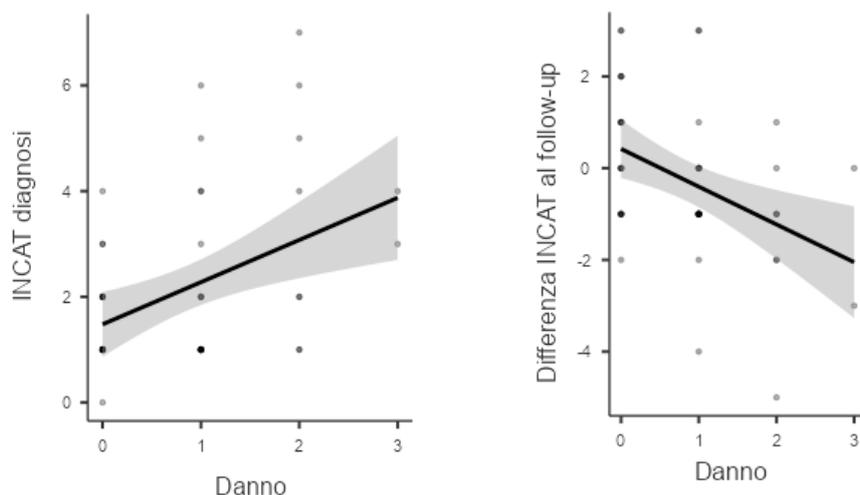


Figura 24. Correlazione tra l'entità del danno di barriera (0=nessun danno, 1=danno lieve, 2=moderato, 3=severo) e il punteggio dello score INCAT alla diagnosi (a sinistra) e differenza all'ultimo follow-up (a destra) nei controlli.

Non è stata osservata nessuna correlazione tra la durata di malattia al momento del prelievo liquorale e l'entità del danno di barriera ($r -0,091$, $p=0,567$); analogamente,

non è stata osservata associazione tra il danno di barriera e la malattia ematologica associata ($p=0,199$) e il tipo di catena leggere associata alla componente monoclonale IgM ($p=0,692$).

Nel sottogruppo di pazienti di cui era noto lo score INCAT pre- e post-terapia con Rituximab, 6/8 (75%) hanno mostrato un miglioramento clinico di almeno un punto nello score INCAT al follow-up. Non è stata rilevata nessuna associazione tra i soggetti che hanno mostrato beneficio clinico e l'entità del danno di barriera ($p=1$).

Passando allo studio del focusing isoelettrico, in 12/47 (26%) pazienti è stato osservato un pattern 4 (mirror pattern), con presenza di bande oligoclonali identiche in liquor e siero, non indicativo di sintesi intratecale. Nel gruppo di controllo, in 9/49 (18%) pazienti è stato osservato un pattern 4, in 3/49 (6%) è stato riscontrato un pattern 5 (2 pazienti con mieloma multiplo IgG- κ e 1 con MGUS IgG- κ), con presenza di bande monoclonali in liquor e siero, mentre in un paziente (2%), affetto da sindrome mielodisplastica, è stato osservato un pattern 5 associato ad alcune bande oligoclonali liquorali (pattern "2+5").

Infine, nei pazienti con neuropatia da anticorpi anti-MAG è stata riscontrata una concentrazione sierica media di anticorpi anti-MAG di 50259 ± 25538 BTU (range 1720-70000), IgM di $6,21 \pm 10,9$ g/L (range 0,13-69,1 g/L), e una concentrazione media di free-light chains κ e λ rispettivamente di $39,9 \pm 73$ mg/L (range 9,9-416 mg/L) e di $15,5 \pm 6$ mg/L (range 6-30,2 mg/L).

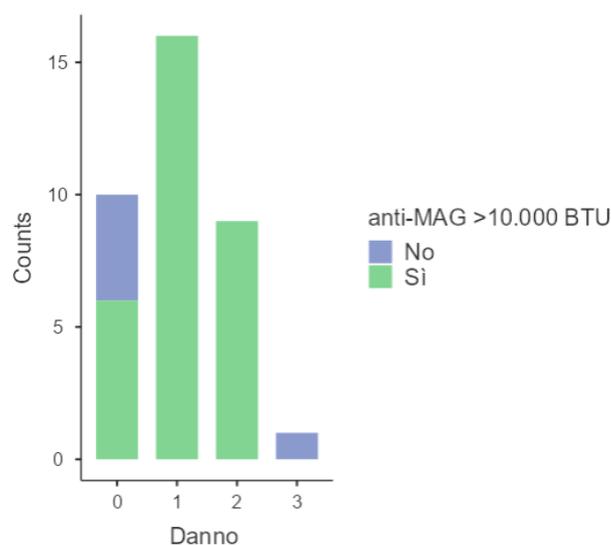


Figura 25. Associazione tra l'entità del danno di barriera (0=nessun danno, 1=danno lieve, 2=moderato, 3=severo) e titoli anticorpali anti-MAG >10.000 BTU.

Vi è un'associazione significativa tra l'entità del danno di barriera e titoli di anticorpi anti-MAG >10.000 BTU ($p=0,001$), come apprezzabile in Figura 25, mentre non sono state osservate correlazioni con le concentrazioni di IgM ($r -0,039$, $p=0,577$) e free-light chains κ e λ (rispettivamente $r 0,063$ e $-0,122$, $p=0,383$ e $0,72$).

4.3 STUDIO GENETICO

La mutazione MYD88^{L265P} nelle cellule midollari è stata riscontrata in 11/14 (79%) pazienti studiati, dei quali 6/11 (55%) affetti da macroglobulinemia di Waldenström (6/6 pazienti studiati, 100%), 4/11 (36%) da MGUS (4/7 pazienti studiati, 57%) e 1/11 (9%) da leucemia linfatica cronica. In nessun paziente sono state riscontrate varianti del gene *CXCR4*.

Non sono state riscontrate associazioni tra la componente mutata e la condizione ematologica associata ($p=0,25$), tra i pazienti con mutazione MYD88^{L265P} e lo score INCAT alla diagnosi ($p=0,231$) e la differenza dello score INCAT al follow-up ($p=0,388$). Infine, non è stata osservata associazione nei campioni mutati con la presenza o meno del danno di barriera ($p=1$), né con l'entità del danno di barriera stesso ($p=0,712$).

5. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

La neuropatia da anticorpi anti-MAG è una patologia ad evoluzione cronica e lentamente progressiva (3). In questo studio, tale caratteristica è stata confermata: la valutazione clinica alla diagnosi nei pazienti mostra un quadro clinico con autonomia conservata nella maggior parte dei casi, con un mantenimento della stessa nei pazienti anche alle visite di follow-up, nonostante un progressivo lento peggioramento. Tale andamento è stato riscontrato anche per quanto riguarda la forza nei vari segmenti muscolari, con un leggero peggioramento nei pazienti al follow-up, pur mantenendo livelli di forza segmentaria sostanzialmente normali nei vari distretti, rispecchiando la natura prevalentemente sensitiva della patologia.

La maggior parte dei pazienti (60%) presentava alterazioni nella marcia alla diagnosi, mentre al follow-up la quasi totalità degli stessi (95%). Tali alterazioni non sono tuttavia estremamente invalidanti, infatti la maggior parte dei pazienti mantiene una deambulazione autonoma, seppur instabile e cauta, eventualmente con necessità di ausili a singolo o doppio appoggio in una minoranza di essi. Inoltre, in linea con i dati rilevati in letteratura, circa 1 paziente su 5 presenta tremore, perlopiù di tipo posturale (3), senza particolari differenze alla diagnosi e al follow-up.

Nonostante l'analisi del liquor non rivesta attualmente un ruolo nel processo diagnostico della patologia, i dati ottenuti in questo studio sono peculiari: la metà circa dei pazienti presenta dissociazione albumino-citologica, con concentrazioni liquorali di proteine totali paragonabili ai controlli affetti da CIDP, una poliradicoloneuropatia di tipo infiammatorio in cui tale reperto è stato estesamente descritto (141). La dissociazione albumino-citologica può essere indicativa di un danno di barriera o di una produzione intratecale di immunoglobuline: nel gruppo di pazienti studiati, il danno di barriera è stato riscontrato nel 67% di essi, mentre la sintesi intratecale di immunoglobuline solo nel 2%, dimostrando come la dissociazione sia da imputare alla presenza di un danno a livello della barriera emato-liquorale, similmente a quanto avviene in polineuropatie infiammatorie come la sindrome di Guillain-Barré o la CIDP (141), come peraltro apprezzabile nel gruppo dei controlli con CIDP di questo studio. A ulteriore supporto di questa tesi vi è la forte correlazione riscontrata nei pazienti affetti da neuropatia da

anticorpi anti-MAG tra il QIgG e l'entità del danno di barriera, imputabile a un passaggio delle immunoglobuline a livello liquorale a causa di un'aumentata permeabilità della barriera stessa.

Questo studio ha inoltre dimostrato una significativa correlazione tra la severità della disfunzione di barriera al prelievo liquorale e la differenza nello score INCAT rilevato nei pazienti al follow-up, suggerendo una progressione clinica peggiore nei soggetti che alla diagnosi presentano un danno di barriera più elevato. Tale correlazione non è stata invece riscontrata nei controlli affetti da CIDP; tuttavia, questa minor significatività è probabilmente dovuta al fatto che la maggior parte di essi è stata sottoposta a trattamento, con beneficio, prima dell'ultima visita di follow-up. La correlazione osservata nei pazienti affetti da neuropatia da anticorpi anti-MAG, nonostante la maggior parte di essi sia stata trattata, potrebbe essere dovuto al fatto che l'efficacia del farmaco attualmente più utilizzato (Rituximab) non sia ancora stata chiaramente dimostrata attraverso trials clinici randomizzati e controllati, nonostante sia stato osservato un miglioramento, in studi non controllati, nel 30-50% dei pazienti trattati (128). La scarsa numerosità della coorte trattata e valutata prima e dopo con scala apposita non permette di trarre considerazioni conclusive. Analogamente, la scarsità della sottopopolazione esaminata non permette di trarre conclusioni tra la risposta alla terapia e il danno di barriera. Studi futuri potrebbero essere indirizzati a valutare l'efficacia del farmaco e la sua associazione con la severità del danno di barriera in coorti di pazienti più numerose e omogenee.

Un'associazione significativa è stata dimostrata tra la severità del danno di barriera e i titoli di anticorpi anti-MAG >10.000 BTU, mentre non è stata osservata alcuna correlazione con la concentrazione sierica di IgM: questo risultato suggerisce un ruolo diretto nella genesi della disfunzione di barriera da parte degli anticorpi specifici diretti contro la MAG (153,154), sebbene non ci sia una stretta correlazione tra il titolo anticorpale e la gravità della neuropatia. Inoltre, è noto che caratteristiche diverse dall'entità del titolo (per es. affinità dell'anticorpo) o la presenza di altri meccanismi effettori che possono influenzare la patogenicità possano giocare un ruolo.

Gli anticorpi IgM sono normalmente esclusi dall'endoneurio dalla barriera emato-nervosa; quindi, il loro legame in vivo può dipendere, in parte, da fattori regionali o sistemici che aumentano la permeabilità e consentono la penetrazione degli anticorpi nell'endoneurio. La demielinizzazione dipende anche dall'attività del complemento e dai macrofagi; quindi, fattori come la concentrazione di proteine o citochine del complemento o l'attivazione dei macrofagi potrebbero influenzarne l'attività. Tali considerazioni potrebbero spiegare le riacutizzazioni che talvolta si osservano in seguito ai trattamenti con rituximab, in assenza di un aumento delle concentrazioni di anticorpi.

Studi futuri potrebbero quantificare la concentrazione liquorale di IgM e ricercare la presenza di bande oligoclonali IgM nei pazienti con neuropatia da anticorpi anti-MAG, al fine di valutare, analogamente a quanto fatto in questo studio per le IgG, se un eventuale aumento delle concentrazioni di IgM liquorali sia da imputare all'aumentata permeabilità della barriera o ad una sintesi intratecale di IgM, quest'ultima condizione descritta in letteratura da un singolo studio del 1991 (155).

Infine, l'analisi della mutazione MYD88L265P non è risultata essere di aiuto nel valutare la progressione clinica dei pazienti, in linea con quanto rilevato da un precedente studio (156), così come la quantificazione della severità del danno di barriera; tuttavia, rimane comunque un'utile indagine al fine di indirizzare i pazienti a terapie specifiche come gli inibitori di BTK (137,138).

6. BIBLIOGRAFIA

1. Morell P, Quarles RH. The Myelin Sheath. In: Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RW, Fisher SK, Uhler MD, editors. *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1999.
2. King R. Microscopic anatomy: normal structure. In: Said G, Krarup C, editors. *Handbook of Clinical Neurology*. Elsevier; 2013. p. 7–27.
3. Steck AJ. Anti-MAG neuropathy: From biology to clinical management. *Journal of Neuroimmunology*. 2021 Dec 15;361.
4. Tsuge H. A myelin sheath protein forming its lattice. *Journal of Biological Chemistry*. 2020 Jun 26;295(26):8706–7.
5. The Editors of Encyclopaedia Britannica. Node of Ranvier [Internet]. *Encyclopedia Britannica*; 2018. Available from: <https://www.britannica.com/science/node-of-Ranvier>
6. Morell P, Quarles RH. Characteristic Composition of Myelin. In: Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RW, Fisher SK, Uhler MD, editors. *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1999.
7. Malattia di Pelizaeus-Merzbacher [Internet]. Available from: <https://www.orpha.net/it/disease/detail/702>
8. Paraplegia spastica, tipo 2 [Internet]. Available from: <https://www.orpha.net/it/disease/detail/99015>
9. Boggs JM. Myelin basic protein: a multifunctional protein. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*. 2006 Sep 1;63(17):1945–61.
10. Saher G, Quintes S, Nave KA. Cholesterol: A Novel Regulatory Role in Myelin Formation. *Neuroscientist*. 2011 Feb 1;17(1):79–93.
11. Marignier R, Hacoen Y, Cobo-Calvo A, Pröbstel AK, Aktas O, Alexopoulos H, et al. Myelin-oligodendrocyte glycoprotein antibody-associated disease. *The Lancet Neurology*. 2021 Sep 1;20(9):762–72.
12. Quarles RH, Everly JL, Brady RO. Demonstration of a glycoprotein which is associated with a purified myelin fraction from rat brain. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1972 Apr 28;47(2):491–7.
13. Quarles RH, Everly JL, Brady RO. Evidence for the close association of a glycoprotein with myelin in rat brain. *J Neurochem*. 1973 Nov;21(5):1177–91.
14. Matthieu JM, Brady RO, Quarles RH. Anomalies of myelin-associated glycoproteins in quaking mice. *Journal of Neurochemistry*. 1974 Feb 1;22(2):291–6.

15. Everly JL, Quarles RH, Brady RO. Proteins and glycoproteins in myelin purified from the developing bovine and human central nervous systems. *Journal of Neurochemistry*. 1977 Jan 1;28(1):95–101.
16. Frail DE, Braun PE. Two developmentally regulated messenger RNAs differing in their coding region may exist for the myelin-associated glycoprotein. *J Biol Chem*. 1984 Dec 10;259(23):14857–62.
17. Miescher GC, Lützelshwab R, Erne B, Ferracin F, Huber S, Steck AJ. Reciprocal expression of myelin-associated glycoprotein splice variants in the adult human peripheral and central nervous systems. *Molecular Brain Research*. 1997 Dec 15;52(2):299–306.
18. Arquint M, Roder J, Chia LS, Down J, Wilkinson D, Bayley H, et al. Molecular cloning and primary structure of myelin-associated glycoprotein. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1987 Jan 1;84(2):600–4.
19. Salzer J, Holmes W, Colman D. The amino acid sequences of the myelin-associated glycoproteins: homology to the immunoglobulin gene superfamily. *Journal of Cell Biology*. 1987 Apr 1;104(4):957–65.
20. Lai C, Brow MA, Nave KA, Noronha AB, Quarles RH, Bloom FE, et al. Two forms of 1B236/myelin-associated glycoprotein, a cell adhesion molecule for postnatal neural development, are produced by alternative splicing. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1987 Jun 1;84(12):4337–41.
21. Spagnol G, Williams M, Srinivasan J, Golier J, Bauer D, Lebo RV, et al. Molecular cloning of human myelin-associated glycoprotein. *Journal of Neuroscience Research*. 1989 Oct 1;24(2):137–42.
22. Quarles RH, Barbarash GR, Figlewicz DA, McIntyre LJ. Purification and partial characterization of the myelin-associated glycoprotein from adult rat brain. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 1983 May 4;757(1):140–3.
23. McGarry RC, Helfand SL, Quarles RH, Roder JC. Recognition of myelin-associated glycoprotein by the monoclonal antibody HNK-1. *Nature*. 1983 Nov 1;306(5941):376–8.
24. Steck AJ, Stalder AK, Renaud S. Anti-myelin-associated glycoprotein neuropathy. *Current Opinion in Neurology*. 2006;19(5).
25. Herrendorff R, Hänggi P, Pfister H, Yang F, Demeestere D, Hunziker F, et al. Selective in vivo removal of pathogenic anti-MAG autoantibodies, an antigen-specific treatment option for anti-MAG neuropathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2017 May 2;114(18):E3689–98.
26. Matthieu JM, Quarles RH, Brady RO, Webster H deF. Variation of proteins, enzyme markers and gangliosides in myelin subfractions. *BBA - General Subjects*. 1973;329(2):305–17.

27. Sternberger NH, Quarles RH, Itoyama Y, Webster HD. Myelin-associated glycoprotein demonstrated immunocytochemically in myelin and myelin-forming cells of developing rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1979 Mar 1;76(3):1510–4.
28. Matthieu JM. Glycoproteins associated with myelin in the central nervous system. *Neurochemistry International*. 1981 Jan 1;3(6):355–63.
29. Johnson D, Quarles RH, Brady RO. A Radioimmunoassay for the Myelin-Associated Glycoprotein. *Journal of Neurochemistry*. 1982 Nov 1;39(5):1356–62.
30. Danks DM, Matthieu JM. Hypotheses regarding myelination derived from comparisons of myelin subfractions. *Life Sciences*. 1979 Apr 16;24(16):1425–40.
31. Everly JL, Brady RO, Quarles RH. Evidence that the major protein in rat sciatic nerve myelin is a glycoprotein. *Journal of Neurochemistry*. 1973 Aug 1;21(2):329–34.
32. Figlewicz DA, Quarles RH, Johnson D, Barbarash GR, Sternberger NH. Biochemical Demonstration of the Myelin-Associated Glycoprotein in the Peripheral Nervous System. *Journal of Neurochemistry*. 1982 Sep 1;37(3):749–58.
33. Trapp BD, Quarles RH. Presence of the myelin-associated glycoprotein correlates with alterations in the periodicity of peripheral myelin. *Journal of Cell Biology*. 1982 Mar 1;92(3):877–82.
34. Quarles RH. Myelin-associated glycoprotein (MAG): past, present and beyond. *Journal of Neurochemistry*. 2007 Mar 1;100(6):1431–48.
35. Sidman RL, Dickie MM, Appel SH. Mutant Mice (Quaking and Jimpy) with Deficient Myelination in the Central Nervous System. *Science*. 1964 Apr 17;144(3616):309–11.
36. Trapp BD, Quarles RH, Suzuki K. Immunocytochemical studies of quaking mice support a role for the myelin-associated glycoprotein in forming and maintaining the periaxonal space and periaxonal cytoplasmic collar of myelinating Schwann cells. *Journal of Cell Biology*. 1984 Aug 1;99(2):594–606.
37. Li C, Tropak MB, Gerlai R, Clapoff S, Abramow-Newerly W, Trapp B, et al. Myelination in the absence of myelin-associated glycoprotein. *Nature*. 1994 Jun 1;369(6483):747–50.
38. Montag D, Giese KP, Bartsch U, Martini R, Lang Y, Blüthmann H, et al. Mice deficient for the glycoprotein show subtle abnormalities in myelin. *Neuron*. 1994 Jul 1;13(1):229–46.
39. Fruttiger M, Montag D, Schachner M, Martini R. Crucial Role for the Myelin-associated Glycoprotein in the Maintenance of Axon-Myelin Integrity. *European Journal of Neuroscience*. 1995 Mar 1;7(3):511–5.

40. Yin X, Crawford TO, Griffin JW, Tu P h, Lee VM, Li C, et al. Myelin-associated glycoprotein is a myelin signal that modulates the caliber of myelinated axons. *J Neurosci*. 1998 Mar 15;18(6):1953–62.
41. Weiss MD, Luciano CA, Quarles RH. Nerve conduction abnormalities in aging mice deficient for myelin-associated glycoprotein. *Muscle & Nerve*. 2001 Oct 1;24(10):1380–7.
42. Uschkureit T, Spörkel O, Stracke J, Büssow H, Stoffel W. Early Onset of Axonal Degeneration in Double (*plp*^{-/-}*mag*^{-/-}) and Hypomyelination in Triple (*plp*^{-/-}*mbp*^{-/-}*mag*^{-/-}) Mutant Mice. *J Neurosci*. 2000 Jul 15;20(14):5225.
43. Carenini S, Montag D, Schachner M, Martini R. Subtle roles of neural cell adhesion molecule and myelin-associated glycoprotein during Schwann cell spiralling in P0-deficient mice. *Glia*. 1999 Sep;27(3):203–12.
44. Marcus J, Dupree JL, Popko B. Myelin-associated glycoprotein and myelin galactolipids stabilize developing axo-glial interactions. *J Cell Biol*. 2002 Feb 4;156(3):567–77.
45. Matsuda Y, Okitsu A, Sato S, Koito H, Yamamoto H. Soluble myelin-associated glycoprotein-immunoglobulin G1 chimera protein promotes neurite outgrowth from mouse cerebellar neurons. *Neuroscience Letters*. 1996 Feb 23;205(2):87–90.
46. Turnley AM, Bartlett PF. MAG and MOG enhance neurite outgrowth of embryonic mouse spinal cord neurons. *Neuroreport*. 1998 Jun 22;9(9):1987–90.
47. Shimizu-Okabe C, Matsuda Y, Koito H, Yoshida S. L-isoform but not S-isoform of myelin associated glycoprotein promotes neurite outgrowth of mouse cerebellar neurons. *Neuroscience Letters*. 2001 Oct 5;311(3):203–5.
48. McKerracher L, David S, Jackson DL, Kottis V, Dunn RJ, Braun PE. Identification of myelin-associated glycoprotein as a major myelin-derived inhibitor of neurite growth. *Neuron*. 1994 Oct 1;13(4):805–11.
49. Mukhopadhyay G, Doherty P, Walsh FS, Crocker PR, Filbin MT. A novel role for myelin-associated glycoprotein as an inhibitor of axonal regeneration. *Neuron*. 1994 Sep 1;13(3):757–67.
50. Tang S, Woodhall RW, Shen YJ, deBellard ME, Saffell JL, Doherty P, et al. Soluble Myelin-Associated Glycoprotein (MAG) Foundin VivoInhibits Axonal Regeneration. *Molecular and Cellular Neuroscience*. 1997 Jan 1;9(5):333–46.
51. David S, Braun PE, Jackson DL, Kottis V, McKerracher L. Laminin overrides the inhibitory effects of peripheral nervous system and central nervous system myelin-derived inhibitors of neurite growth. *Journal of Neuroscience Research*. 1995 Nov 1;42(4):594–602.
52. Yang H, Xiao Z cheng, Becker B, Hillenbrand R, Rougon G, Schachner M. Role for myelin-associated glycoprotein as a functional tenascin-R receptor. *Journal of Neuroscience Research*. 1999 Mar 15;55(6):687–701.

53. Cai D, Shen Y, De Bellard M, Tang S, Filbin MT. Prior Exposure to Neurotrophins Blocks Inhibition of Axonal Regeneration by MAG and Myelin via a cAMP-Dependent Mechanism. *Neuron*. 1999 Jan 1;22(1):89–101.
54. Georgiou J, Tropak MB, Roder JC. Myelin-Associated Glycoprotein Gene. In: Lazzarini RA, Griffin JW, Lassman H, Nave KA, Miller R, Trapp BD, editors. *Myelin Biology and Disorders*. San Diego: Academic Press; 2004. p. 421–67.
55. Liu BP, Fournier A, GrandPré T, Strittmatter SM. Myelin-associated glycoprotein as a functional ligand for the Nogo-66 receptor. *Science*. 2002 Aug 16;297(5584):1190–3.
56. Wang KC, Koprivica V, Kim JA, Sivasankaran R, Guo Y, Neve RL, et al. Oligodendrocyte-myelin glycoprotein is a Nogo receptor ligand that inhibits neurite outgrowth. *Nature*. 2002 Jun 27;417(6892):941–4.
57. Peripheral Neuropathy [Internet]. 2024. Available from: <https://www.ninds.nih.gov/health-information/disorders/peripheral-neuropathy>
58. Amato AA, Barohn RJ. Peripheral Neuropathy. In: Loscalzo J, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Longo D, Jameson J, editors. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 21st ed. McGraw-Hill Education; 2022. p. 3480–501.
59. Briemberg HR, Amato AA. Approach to the patient with sensory loss. In: Connor RF, editor. *UpToDate*. Wolters Kluwer; 2024.
60. Rubin DI. Brachial and lumbosacral plexopathies: A review. *Clin Neurophysiol Pract*. 2020;5:173–93.
61. Hughes R. Investigation of peripheral neuropathy. *BMJ*. 2010 Nov 5;341:c6100.
62. Rutkove SB, Connor RF. Overview of polyneuropathy. In: *UpToDate*. Wolters Kluwer; 2024.
63. Finnerup NB, Attal N, Haroutounian S, McNicol E, Baron R, Dworkin RH, et al. Pharmacotherapy for neuropathic pain in adults: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Neurology*. 2015 Feb 1;14(2):162–73.
64. Tauben D, Stacey BR. Pharmacologic management of chronic non-cancer pain in adults. In: Connor RF, editor. *UpToDate*. Wolters Kluwer; 2024.
65. Shenkin HA, Horn RC Jr, Grant FC. Lesions of the spinal epidural space producing cord compression. *Archives of Surgery*. 1945 Oct 1;51(3):125–46.
66. Davison C, Balsler BH. Myeloma and its neural complications. *Archives of Surgery*. 1937 Nov 1;35(5):913–36.
67. Victor M, Banker BQ, Adams RD. The neuropathy of multiple myeloma. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1958 May 1;21(2):73.

68. Waldenstrom J. Studies on conditions associated with disturbed gamma globulin formation (gammopathies). Harvey Lect. 1960 1961;56:211–31.
69. Waldenstrom J, Winblad S, Hällén J, Liungman S. The Occurrence of Serological “Antibody” Reagents or Similar γ -Globulins in Conditions with Monoclonal Hypergammaglobulinemia, such as Myeloma, Macroglobulinemia etc. *Acta Medica Scandinavica*. 1964 Jan 12;176(5):619–31.
70. Isobe T, Osserman EF. Pathologic conditions associated with plasma cell dyscrasias: a study of 806 cases *. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1971 Dec 1;190(1):507–18.
71. McLeod J, Walsh J, Pollard J. Neuropathies associated with paraproteinemias and dysproteinemias. In: *Peripheral neuropathy*. WB Saunders Philadelphia, PA; 1984. p. 1847–65.
72. Read D, Warlow C. Peripheral neuropathy and solitary plasmacytoma. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1978 Feb;41(2):177–84.
73. Fitting JW, Bischoff A, Regli F, De Crousaz G. Neuropathy, amyloidosis, and monoclonal gammopathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1979 Mar;42(3):193–202.
74. Aguayo A, Thompson DW, Humphrey JG. Multiple myeloma with polyneuropathy and osteosclerotic lesions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1964 Dec 1;27(6):562.
75. Morley JB, Schwieger AC. The relation between chronic polyneuropathy and osteosclerotic myeloma. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1967 Oct 1;30(5):432.
76. Propp RP, Means E, Deibel R, Sherer G, Barron K. Waldenstrom’s macroglobulinemia and neuropathy. *Neurology*. 1975 Oct 1;25(10):980–980.
77. Julien J, Vital C, Jean-Michel Vallat, Lagueny A, Deminiere C, Darriet D. Polyneuropathy in Waldenström’s Macroglobulinemia: Deposition of M Component on Myelin Sheaths. *Archives of Neurology*. 1978 Jul 1;35(7):423–5.
78. Swash M, Perrin J, Schwartz MS. Significance of immunoglobulin deposition in peripheral nerve in neuropathies associated with paraproteinaemia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1979 Feb 1;42(2):179.
79. Latov N, Sherman WH, Nemni R, Galassi G, Shyong Joanna S., Penn AS, et al. Plasma-Cell Dyscrasia and Peripheral Neuropathy with a Monoclonal Antibody to Peripheral-Nerve Myelin. *New England Journal of Medicine*. 1980 Sep 11;303(11):618–21.
80. Latov N, Braun PE, Gross RB, Sherman WH, Penn AS, Chess L. Plasma cell dyscrasia and peripheral neuropathy: identification of the myelin antigens that react with human paraproteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1981 Nov 1;78(11):7139–42.

81. Braun PE, Frail DE, Latov N. Myelin-Associated Glycoprotein Is the Antigen for a Monoclonal IgM in Polyneuropathy. *Journal of Neurochemistry*. 1982 Nov 1;39(5):1261–5.
82. Steck AJ, Murray N, Meier C, Page N, Perruisseau G. Demyelinating neuropathy and monoclonal IgM antibody to myelin-associated glycoprotein. *Neurology*. 1983 Jan;33(1):19–23.
83. Lange DJ, Robinson-Papp J. Immune-mediated neuropathies. In: Connor RF, editor. *UpToDate*. Wolters Kluwer; 2024.
84. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, Blade J, Merlini G, Mateos MV, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol*. 2014 Nov;15(12):e538-548.
85. Munshi NC, Longo DL, Anderson KC. Plasma Cell Disorders. In: Loscalzo J, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Longo D, Jameson J, editors. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 21st ed. McGraw-Hill Education; 2022. p. 871–3.
86. Kyle Robert A., Therneau Terry M., Rajkumar S. Vincent, Offord Janice R., Larson Dirk R., Plevak Matthew F., et al. A Long-Term Study of Prognosis in Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance. *New England Journal of Medicine*. 2002;346(8):564–9.
87. Kyle Robert A., Larson Dirk R., Therneau Terry M., Dispenzieri Angela, Kumar Shaji, Cerhan James R., et al. Long-Term Follow-up of Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance. *New England Journal of Medicine*. 2018 Jan 18;378(3):241–9.
88. Dispenzieri A, Katzmann JA, Kyle RA, Larson DR, Melton LJ III, Colby CL, et al. Prevalence and risk of progression of light-chain monoclonal gammopathy of undetermined significance: a retrospective population-based cohort study. *The Lancet*. 2010 May 15;375(9727):1721–8.
89. Ferman JP, Bridoux F, Dispenzieri A, Jaccard A, Kyle RA, Leung N, et al. Monoclonal gammopathy of clinical significance: a novel concept with therapeutic implications. *Blood*. 2018 Oct 4;132(14):1478–85.
90. Kelly JJ, Kyle RA, O'Brien PC, Dyck PJ. Prevalence of monoclonal protein in peripheral neuropathy. *Neurology*. 1981 Nov 1;31(11):1480–1480.
91. Nobile-Orazio E. Neuropathy and monoclonal gammopathy. In: Said G, Krarup C, editors. *Handbook of Clinical Neurology*. Elsevier; 2013. p. 443–59.
92. Steiner N, Schwärzler A, Göbel G, Löscher W, Wanschitz J, Gunsilius E. Are neurological complications of monoclonal gammopathy of undetermined significance underestimated? *Oncotarget*; Vol 8, No 3. 2016;
93. Gosselin S, Kyle RA, Dyck PJ. Neuropathy associated with monoclonal gammopathies of undetermined significance. *Annals of Neurology*. 1991 Jul 1;30(1):54–61.

94. Joint Task Force of the EFNS and the PNS. European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society Guideline* on management of paraproteinemic demyelinating neuropathies. Report of a Joint Task Force of the European Federation of Neurological Societies and the Peripheral Nerve Society – first revision. *Journal of the Peripheral Nervous System*. 2010 Sep 1;15(3):185–95.
95. Owen RG, Treon SP, Al-Katib A, Fonseca R, Greipp PR, McMaster ML, et al. Clinicopathological definition of Waldenström's macroglobulinemia: consensus panel recommendations from the Second International Workshop on Waldenström's Macroglobulinemia. *Semin Oncol*. 2003 Apr;30(2):110–5.
96. Dimopoulos MA, Panayiotidis P, Moulopoulos LA, Sfikakis P, Dalakas M. Waldenström's Macroglobulinemia: Clinical Features, Complications, and Management. *JCO*. 2000 Jan 1;18(1):214–214.
97. García-Sanz R, Montoto S, Torrequibrada A, de Coca AG, Petit J, Sureda A, et al. Waldenström macroglobulinaemia: presenting features and outcome in a series with 217 cases. *Br J Haematol*. 2001 Dec;115(3):575–82.
98. Baehring JM, Hochberg EP, Raje N, Ulrickson M, Hochberg FH. Neurological manifestations of Waldenström macroglobulinemia. *Nat Clin Pract Neurol*. 2008 Oct;4(10):547–56.
99. Nobile-Orazio E, Marmiroli P, Baldini L, Spagnol G, Barbieri S, Moggio M, et al. Peripheral neuropathy in macroglobulinemia. *Neurology*. 1987 Sep 1;37(9):1506–1506.
100. Treon Steven P., Xu Lian, Yang Guang, Zhou Yangsheng, Liu Xia, Cao Yang, et al. MYD88 L265P Somatic Mutation in Waldenström's Macroglobulinemia. *New England Journal of Medicine*. 2012;367(9):826–33.
101. Laubach J. Multiple myeloma: Clinical features, laboratory manifestations, and diagnosis. In: Connor R, editor. *UpToDate*. Wolters Kluwer; 2024.
102. Kyle RA, Gertz MA, Witzig TE, Lust JA, Lacy MQ, Dispenzieri A, et al. Review of 1027 Patients With Newly Diagnosed Multiple Myeloma. *Mayo Clinic Proceedings*. 2003 Jan 1;78(1):21–33.
103. Dispenzieri A, Kyle RA, Lacy MQ, Rajkumar SV, Therneau TM, Larson DR, et al. POEMS syndrome: definitions and long-term outcome: Presented in abstract form at the 41st annual meeting of the American Society of Hematology, New Orleans, LA, December 3-7, 1999. *Blood*. 2003 Apr 1;101(7):2496–506.
104. Dispenzieri A. Clinical presentation, laboratory manifestations, and diagnosis of immunoglobulin light chain (AL) amyloidosis. In: Connor RF, editor. *UpToDate*. Wolters Kluwer; 2024.
105. Shin SC, Robinson-Papp J. Amyloid Neuropathies. *Mount Sinai Journal of Medicine: A Journal of Translational and Personalized Medicine*. 2012 Nov 1;79(6):733–48.

106. Brouet JC, Clauvel JP, Danon F, Klein M, Seligmann M. Biologic and clinical significance of cryoglobulins: A report of 86 cases. *The American Journal of Medicine*. 1974 Nov 1;57(5):775–88.
107. Ferri C, Sebastiani M, Giuggioli D, Cazzato M, Longombardo G, Antonelli A, et al. Mixed cryoglobulinemia: demographic, clinical, and serologic features and survival in 231 patients. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. 2004 Jun 1;33(6):355–74.
108. Garcia-Bragado F, Fernandez JM, Navarro C, Villar M, Bonaventura I. Peripheral Neuropathy in Essential Mixed Cryoglobulinemia. *Archives of Neurology*. 1988 Nov 1;45(11):1210–4.
109. Ferri C, La Civita L, Cirafisi C, Siciliano G, Longombardo G, Bombardieri S, et al. Peripheral neuropathy in mixed cryoglobulinemia: clinical and electrophysiologic investigations. *J Rheumatol*. 1992 Jun;19(6):889–95.
110. Mahdi-Rogers M, Hughes RAC. Epidemiology of chronic inflammatory neuropathies in southeast England. *European Journal of Neurology*. 2014 Jan 1;21(1):28–33.
111. Svahn J, Petiot P, Antoine JC, Vial C, Delmont E, Viala K, et al. Anti-MAG antibodies in 202 patients: clinicopathological and therapeutic features. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2018 May 1;89(5):499.
112. Vital A, Vital C, Julien J, Baquey A, Steck AJ. Polyneuropathy associated with IgM monoclonal gammopathy. *Acta Neuropathologica*. 1989 Nov 1;79(2):160–7.
113. Jacobs JM, Scadding JW. Morphological changes in IgM paraproteinaemic neuropathy. *Acta Neuropathologica*. 1990 May 1;80(1):77–84.
114. Ellie E, Vital A, Steck A, Boiron JM, Vital C, Julien J. Neuropathy associated with “benign” anti-myelin-associated glycoprotein IgM gammopathy: Clinical, immunological, neurophysiological pathological findings and response to treatment in 33 cases. *Journal of Neurology*. 1996 Jan 1;243(1):34–43.
115. Kawagashira Y, Koike H, Tomita M, Morozumi S, Iijima M, Nakamura T, et al. Morphological Progression of Myelin Abnormalities in IgM-Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance Anti-Myelin-Associated Glycoprotein Neuropathy. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. 2010 Nov 1;69(11):1143–57.
116. Tatum AH. Experimental paraprotein neuropathy, demyelination by passive transfer of human IgM anti-myelin-associated glycoprotein. *Annals of Neurology*. 1993 May 1;33(5):502–6.
117. Nobile-Orazio E, Meucci N, Baldini L, Di Troia A, Scarlato G. Long-term prognosis of neuropathy associated with anti-MAG IgM M-proteins and its relationship to immune therapies. *Brain*. 2000 Apr 1;123(4):710–7.

118. Hamadeh T, van Doormaal PTC, Pruppers MHJ, van de Mortel JPM, Hoeijmakers JGJ, Cornblath DR, et al. IgM anti-MAG \pm peripheral neuropathy (IMAGiNe) study protocol: An international, observational, prospective registry of patients with IgM M-protein peripheral neuropathies. *Journal of the Peripheral Nervous System*. 2023 Jun 1;28(2):269–75.
119. Caudie C, Kaygisiz F, Jaquet P, Petiot P, Gonnaud PM, Antoine JC, et al. [Diagnostic value of autoantibodies to MAG by ELISA Bühlmann in 117 immune-mediated peripheral neuropathies associated with monoclonal IgM to SGPG/SGLPG]. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2006;64(4):353–9.
120. Kuijf ML, Eurelings M, Tio-Gillen AP, van Doorn PA, van den Berg LH, Hooijkaas H, et al. Detection of anti-MAG antibodies in polyneuropathy associated with IgM monoclonal gammopathy. *Neurology*. 2009 Sep 1;73(9):688–95.
121. Merkies ISJ, Schmitz PIM. Getting closer to patients: the INCAT Overall Disability Sum Score relates better to patients' own clinical judgement in immune-mediated polyneuropathies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2006 Aug 1;77(8):970.
122. van Nes SI, Vanhoutte EK, van Doorn PA, Hermans M, Bakkers M, Kuitwaard K, et al. Rasch-built Overall Disability Scale (R-ODS) for immune-mediated peripheral neuropathies. *Neurology*. 2011 Jan 25;76(4):337–45.
123. Delmont E, Attarian S, Antoine JC, Paul S, Camdessanché JP, Grapperon AM, et al. Relevance of anti-HNK1 antibodies in the management of anti-MAG neuropathies. *Journal of Neurology*. 2019 Aug 1;266(8):1973–9.
124. Gabriel JM, Erne B, Bernasconi L, Tosi C, Probst A, Landmann L, et al. Confocal microscopic localization of anti-myelin-associated glycoprotein autoantibodies in a patient with peripheral neuropathy initially lacking a detectable IgM gammopathy. *Acta Neuropathologica*. 1998 Apr 1;95(5):540–6.
125. Van den Bergh PYK, van Doorn PA, Hadden RDM, Avau B, Vankrunkelsven P, Allen JA, et al. European Academy of Neurology/Peripheral Nerve Society guideline on diagnosis and treatment of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: Report of a joint Task Force—Second revision. *European Journal of Neurology*. 2021 Nov 1;28(11):3556–83.
126. Kaku DA, England JD, Sumner AJ. Distal accentuation of conduction slowing in polyneuropathy associated with antibodies to myelin-associated glycoprotein and sulphated glucuronyl paragloboside. *Brain*. 1994 Oct 1;117(5):941–7.
127. MabThera, INN-rituximab. Allegato I, riassunto delle caratteristiche del prodotto [Internet]. 2024. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/mabthera>

128. Dalakas MC. Advances in the diagnosis, immunopathogenesis and therapies of IgM-anti-MAG antibody-mediated neuropathies. *Ther Adv Neurol Disord*. 2018 Jan 1;11:1756285617746640.
129. Dalakas MC, Rakocevic G, Salajegheh M, Dambrosia JM, Hahn AF, Raju R, et al. Placebo-controlled trial of rituximab in IgM anti-myelin-associated glycoprotein antibody demyelinating neuropathy. *Annals of Neurology*. 2009 Mar 1;65(3):286–93.
130. Léger JM, Viala K, Nicolas G, Créange A, Vallat JM, Pouget J, et al. Placebo-controlled trial of rituximab in IgM anti-myelin-associated glycoprotein neuropathy. *Neurology*. 2013 Jun 11;80(24):2217–25.
131. Rituximab therapy in anti-MAG patients with characteristics of good responders: THERAMAG study. (EudraCT Number: 2021-000009-25) [Internet]. Available from: <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/trial/2021-000009-25/FR#summary>
132. Broglio L, Lauria G. Worsening after rituximab treatment in anti-mag neuropathy. *Muscle & Nerve*. 2005 Sep 1;32(3):378–9.
133. Sala E, Robert-Varvat F, Paul S, Camdessanché JP, Antoine JC. Acute neurological worsening after Rituximab treatment in patients with anti-MAG neuropathy. *Journal of the Neurological Sciences*. 2014 Oct 15;345(1):224–7.
134. Ghobrial IM, Fonseca R, Greipp PR, Blood E, Rue M, Vesole DH, et al. Initial immunoglobulin M ‘flare’ after rituximab therapy in patients diagnosed with Waldenstrom macroglobulinemia. *Cancer*. 2004 Dec 1;101(11):2593–8.
135. Baron M, Lozeron P, Harel S, Bengoufa D, Vignon M, Asli B, et al. Plasma exchanges for severe acute neurological deterioration in patients with IgM anti-myelin-associated glycoprotein (anti-MAG) neuropathy. *Journal of Neurology*. 2017 Jun 1;264(6):1132–5.
136. Rakocevic G, Martinez-Outschoorn U, Dalakas MC. Obinutuzumab, a potent anti-B-cell agent, for rituximab-unresponsive IgM anti-MAG neuropathy. *Neurology Neuroimmunology & Neuroinflammation*. 5(4):e460.
137. Treon Steven P., Tripsas Christina K., Meid Kirsten, Warren Diane, Varma Gaurav, Green Rebecca, et al. Ibrutinib in Previously Treated Waldenström’s Macroglobulinemia. *New England Journal of Medicine*. 2015;372(15):1430–40.
138. Castellani F, Visentin A, Campagnolo M, Salvalaggio A, Cacciavillani M, Candiotti C, et al. The Bruton tyrosine kinase inhibitor ibrutinib improves anti-MAG antibody polyneuropathy. *Neurology Neuroimmunology & Neuroinflammation*. 2020;7(4):e720.
139. Stino AM, Bumma N, Smith R, Davalos L, Allen J, Ye JC, et al. Lenalidomide in the treatment of anti-myelin-associated glycoprotein neuropathy: A phase 1 study to identify the maximum tolerated dose. *European Journal of Neurology*. 2024 Mar 1;31(3):e16164.

140. Aliu B, Demeestere D, Seydoux E, Boucraut J, Delmont E, Brodovitch A, et al. Selective inhibition of anti-MAG IgM autoantibody binding to myelin by an antigen-specific glycopolymer. *Journal of Neurochemistry*. 2020 Sep 1;154(5):486–501.
141. Brooks JA, McCudden C, Breiner A, Bourque PR. Causes of albuminocytological dissociation and the impact of age-adjusted cerebrospinal fluid protein reference intervals: a retrospective chart review of 2627 samples collected at tertiary care centre. *BMJ Open*. 2019 Feb 13;9(2):e025348.
142. Bernardi G, Corsini E, Ciusani E. 031 - L'interpretazione quantitativa dei dati liquorali. *Riv Med Lab - JLM (SIRSE Srl ed)*. 2002;3(2-S1).
143. Bernardi G, Brunati P, Biagioli T, Buoro S, Cataldo I, Ciusani E, et al. L'analisi del liquido cefalorachidiano. *Biochim Clin*. 2014;38(3):238–54.
144. Reiber H. Flow rate of cerebrospinal fluid (CSF) — A concept common to normal blood-CSF barrier function and to dysfunction in neurological diseases. *Journal of the Neurological Sciences*. 1994 Apr 1;122(2):189–203.
145. Tumani H, Petereit H, Gerritzen A, Gross C, Huss A, Isenmann S, et al. S1 guidelines “lumbar puncture and cerebrospinal fluid analysis” (abridged and translated version). *Neurological Research and Practice*. 2020 Dec 1;2.
146. O'Brien M, editor. Motor testing. In: *Aids to the Examination of the Peripheral Nervous System*. 6th ed. Elsevier; 2022.
147. Olsson T, Kostulas V, Link H. Improved detection of oligoclonal IgG in cerebrospinal fluid by isoelectric focusing in agarose, double-antibody peroxidase labeling, and avidin-biotin amplification. *Clinical Chemistry*. 1984 Jul 1;30(7):1246–9.
148. Andersson M, Alvarez-Cermeño J, Bernardi G, Cogato I, Fredman P, Frederiksen J, et al. Cerebrospinal fluid in the diagnosis of multiple sclerosis: a consensus report. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1994 Aug 1;57(8):897.
149. Reiber H, Peter JB. Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs. *Journal of the Neurological Sciences*. 2001 Mar 1;184(2):101–22.
150. Ruiz M, Puthenparampil M, Campagnolo M, Castellani F, Salvalaggio A, Ruggero S, et al. Oligoclonal IgG bands in chronic inflammatory polyradiculoneuropathies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2021 Sep 1;92(9):969.
151. Matà S, Ambrosini S, Saccomanno D, Biagioli T, Carpo M, Amantini A, et al. Anti-MAG IgM: differences in antibody tests and correlation with clinical findings. *Neurological Sciences*. 2020 Feb 1;41(2):365–72.
152. jamovi [Internet]. The jamovi project; 2024. Available from: <https://www.jamovi.org>