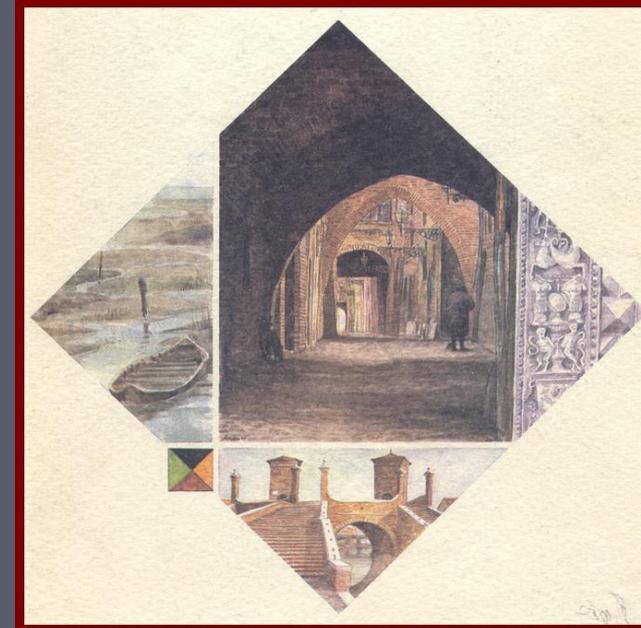


Miastenia e Sindromi Miasteniformi

- ▶ **Enrico Granieri**
- ▶ Direttore Clinica Neurologica
- ▶ Università degli Studi di Ferrara



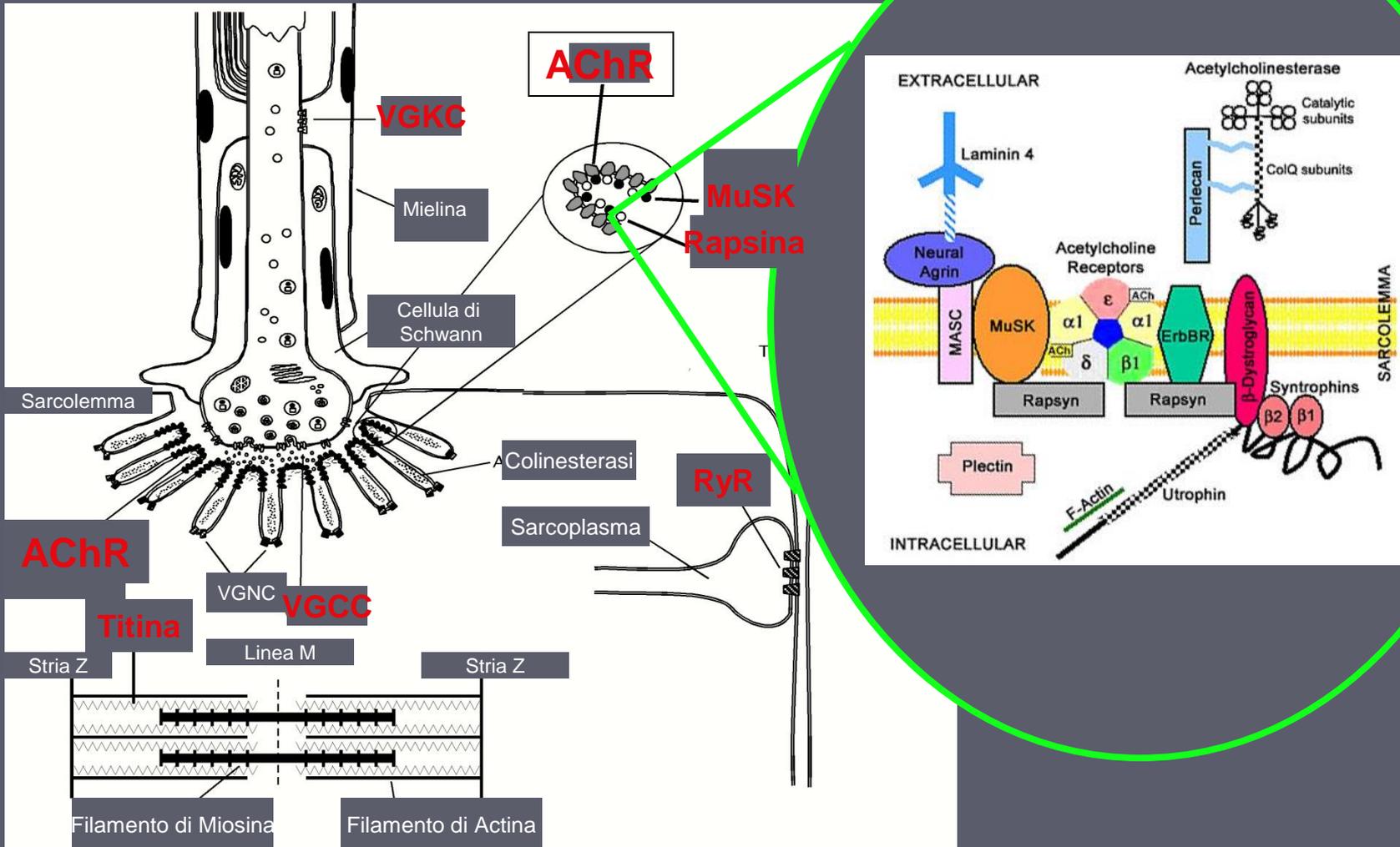
seconda parte



Immunopatologia 1.

- Ipotizzata l'esistenza di un fattore autoimmune rivolto contro la placca motoria (JA Simpson 1960; Nastuk 1960)
- Alta frequenza di associazione fra MG e malattie autoimmuni (JA Simpson 1960)
- Scoperta l'**alfa-bungarotossina**, possibilità di isolare e purificare il recettore della acetilcolina (**AChR**). *Veleno estratto dal serpente marino **Bungarus Multicinctus** che blocca i recettori post-sinaptici nicotinici, impedendo in tal modo la trasmissione colinergica.*

Proteine della Giunzione Neuromuscolare



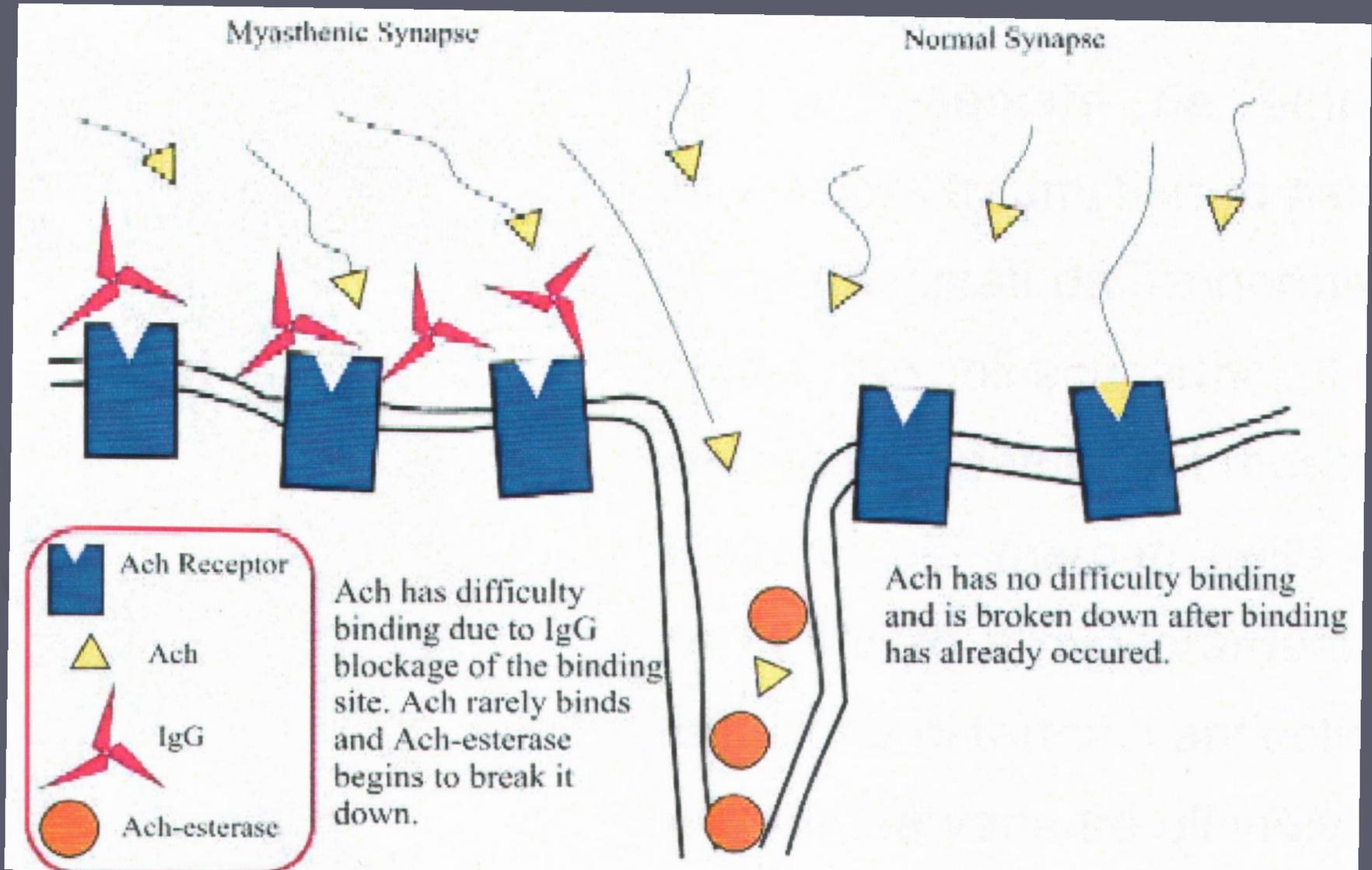
Immunopatologia 2.

- **Miastenia autoimmune sperimentale (EAMG): immunizzazione di conigli e ratti con AChR purificati (Patrick e Lindstrom 1973)**
- Identificazione degli Ab anti-AChR nel siero dei pazienti (Lindstrom 1976)
- Trasferimento passivo della malattia nei topi tramite inoculazione di IgG da soggetti MG
- Transitorio miglioramento della forza in un paziente dopo Plasmaferesi (Newsom Davis 1978)

Ab anti-AChR. Ruolo patogenetico

- Ab policlonali, di classe IgG, bivalenti, reagiscono sulla superficie della membrana post-sinaptica in modo crociato con gli AChR
- **Blocco del legame fra Recettore e mediatore**
- **Aumento della degradazione, internalizzazione, riduzione del Numero di AChR**
- **Lisi della membrana post-sinaptica complemento-mediata**
- **Scomparsa delle pieghe, semplificazione della membrana post-sinaptica**

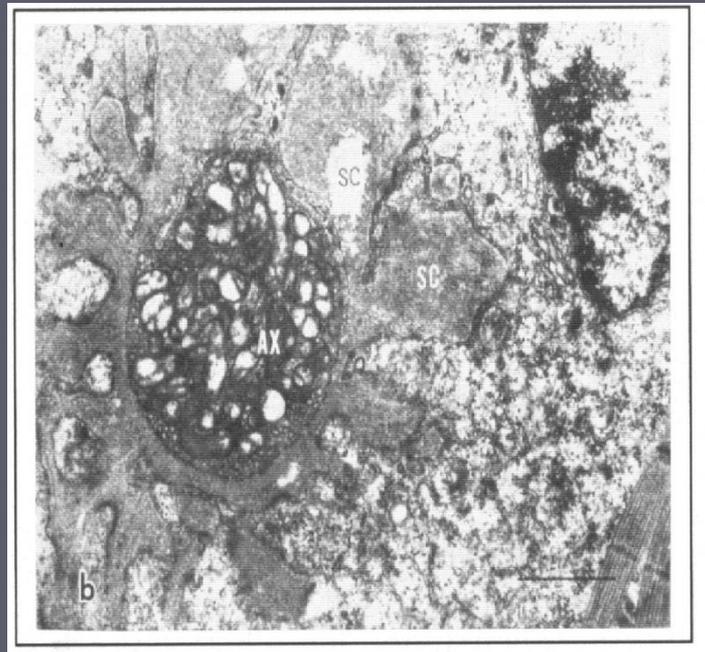
Antibody Mediated Mechanism: Blockade of Ach



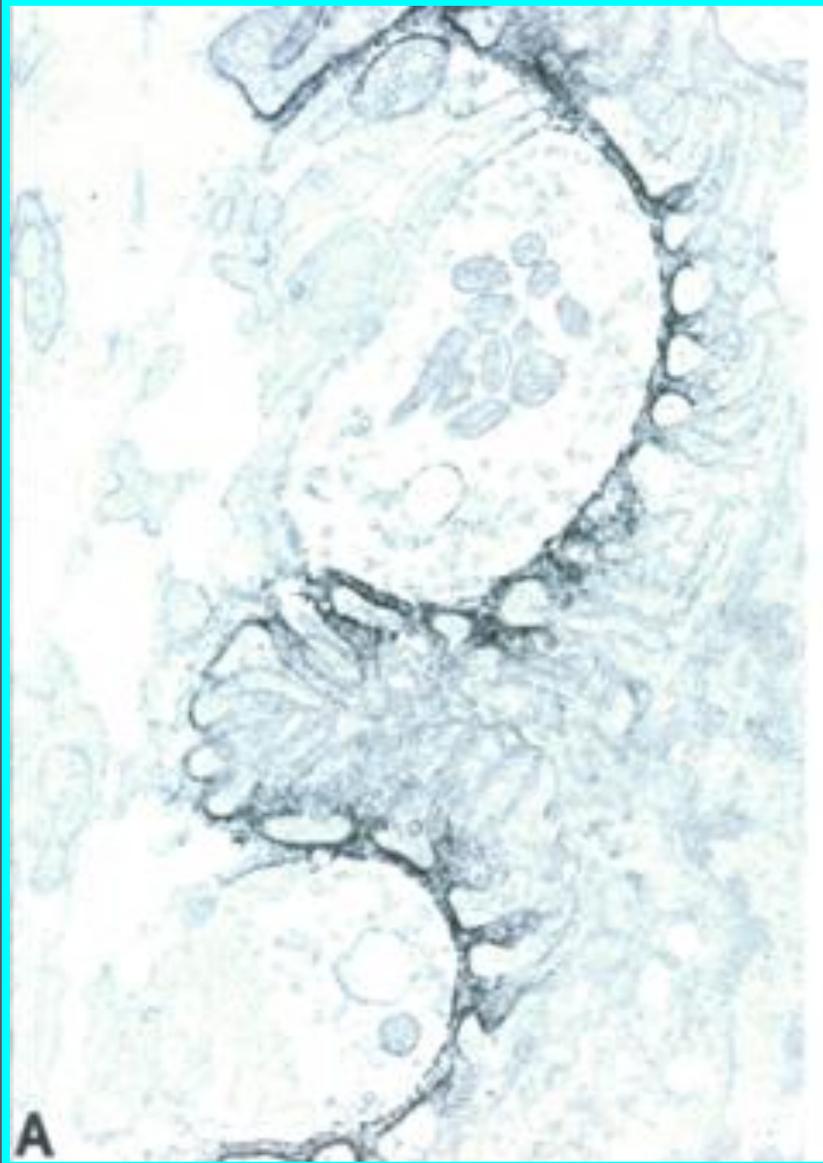
Giunzione
neuromuscolare
normale



Giunzione
neuromuscolare nella
MG in microscopia
elettronica

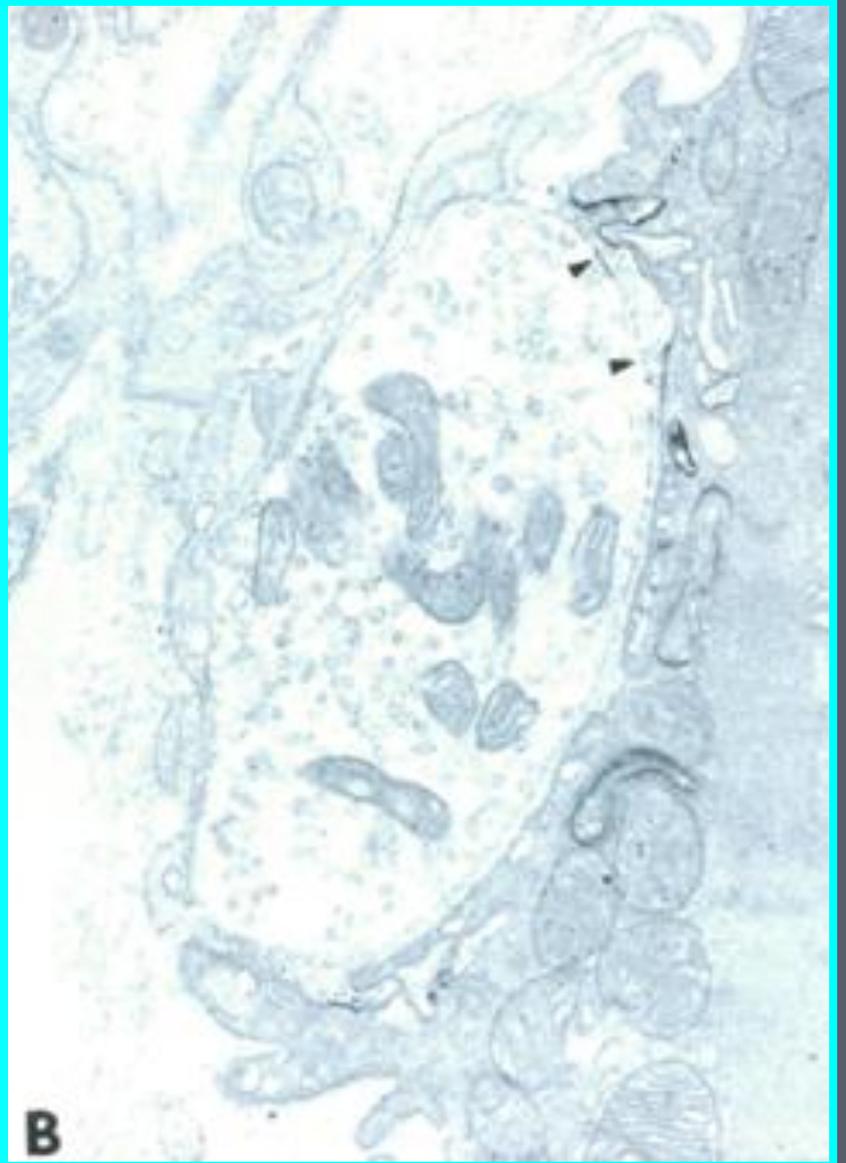


Giunzione neuromuscolare



A

Normale



B

Miastenia

Ab anti-AChR. Origine e significato

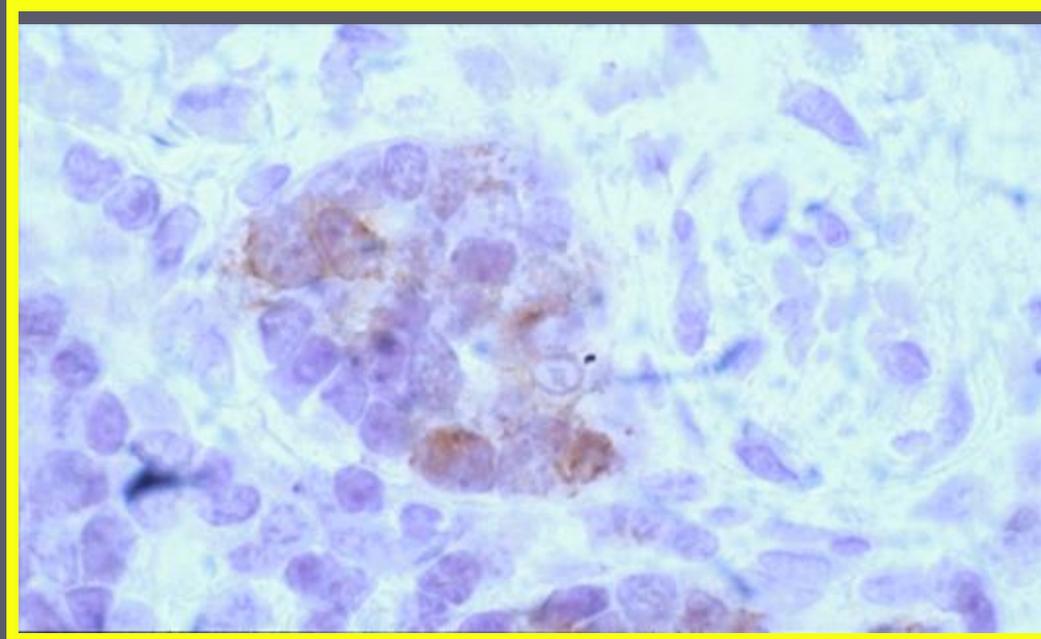
Espressione del recettore
AChR nel timo

► Fenomeno T linfocitario
AChR specifico

► Evento iniziale: rottura della
tolleranza immunologica
verso la MIR (*Main
Immunogenic Region*)

► Nel soggetto MG continua
sorgente di produzione Ab
anti-AChR, presenti nell'85-
90% delle forme
generalizzate

► Ruolo della ghiandola timica
nella patogenesi della MG



Patologia Timica e MG

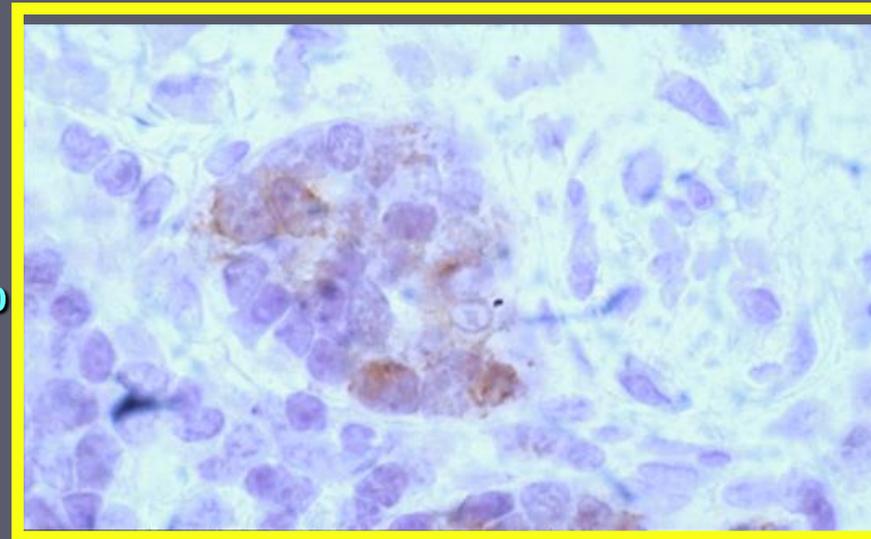
- Timo come luogo della immunizzazione verso AChR

- **Il timo contiene**

- cellule che esprimono diversi epitopi delle subunità AChR
- cellule "presentanti" l'Ag
- cellule T immunocompetenti

- Iperplasia timica follicolare nel 70%

- Timoma di origine epiteliale o misto nel 15%



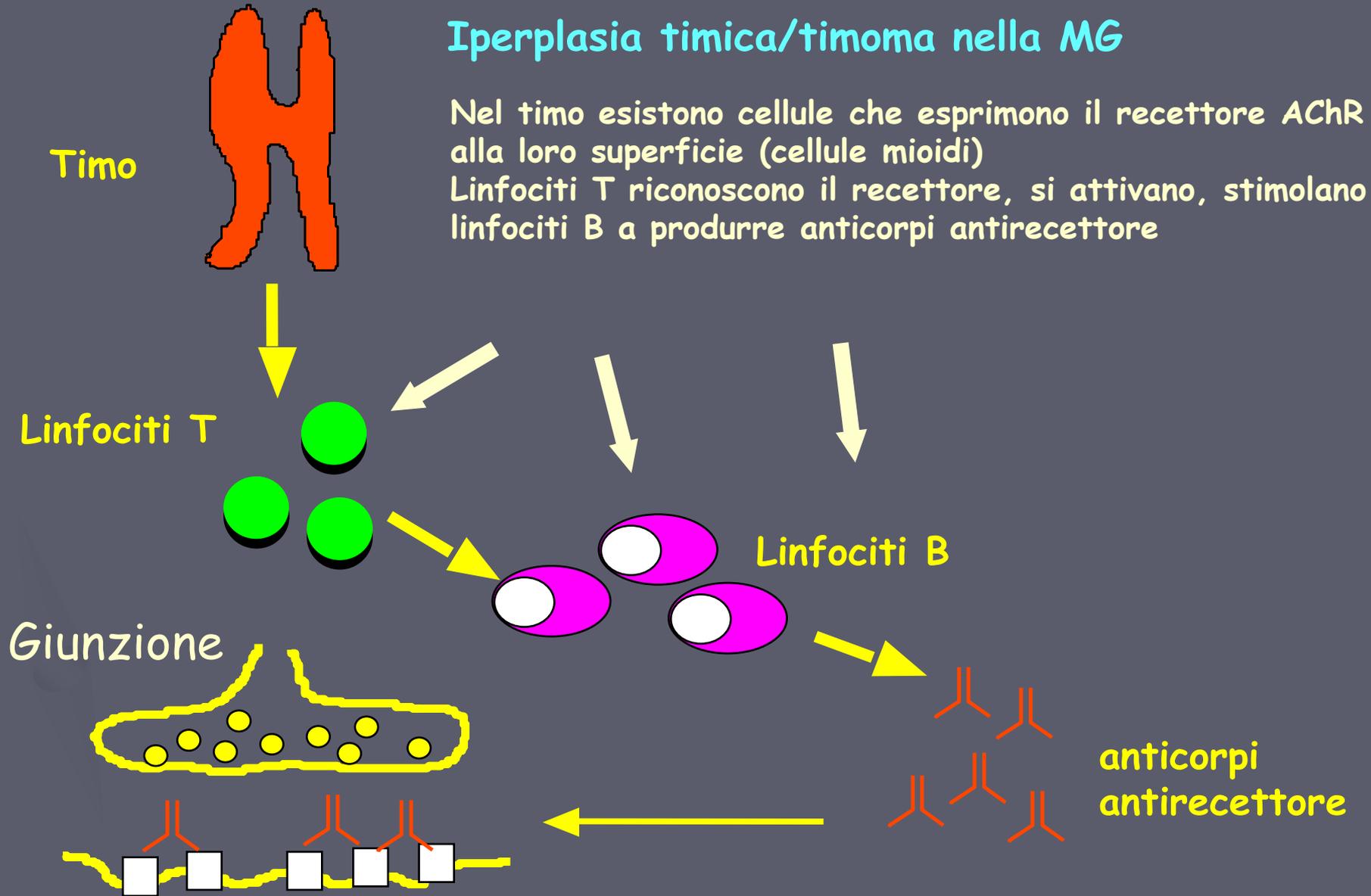
- *Relazione fra timoma e MG non del tutto chiarita*

- *Epitopi dell'AChR sono espressi dall'epitelio neoplastico*

MG: patogenesi della malattia

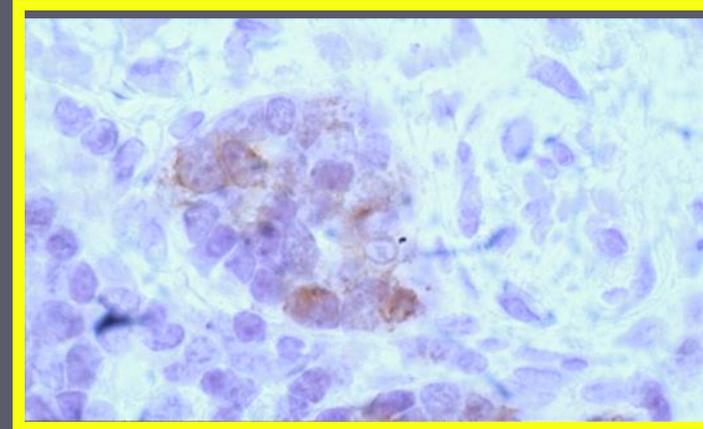
Iperplasia timica/timoma nella MG

Nel timo esistono cellule che esprimono il recettore AChR alla loro superficie (cellule mioidi)
Linfociti T riconoscono il recettore, si attivano, stimolano linfociti B a produrre anticorpi antirecettore



MIASTENIA GRAVIS ipotesi

- ▶ Cellule mioidi timiche esprimenti Ag recettoriali possono indurre formazione di anticorpi
- ▶ PATOLOGIA TIMICA SPESSO CORRELATA ALLA MG
 - 10% TIMOMA (30% dei timomi hanno MG)
 - circa 70% IPERPLASIA TIMICA (dei follicoli linfatici con centri germinativi attivi)



EZIOPATOGENESI DELLA MIASTENIA GRAVIS

1. Nella quasi totalità dei miastenici si trovano nel siero anticorpi antirecettori dell'acetilcolina
2. **Nelle placche motrici dei muscoli miastenici c'è una diminuzione dell'80% del numero dei recettori dell'acetilcolina e una perturbazione della loro distribuzione spaziale**
3. **Nel 90% dei miastenici esistono anomalie del timo: timoma (15%) o iperplasia semplice (75%).**

Nel timo si trovano cellule dotate di recettori per l'acetilcolina e cellule staminali che, in coltura, possono differenziarsi in cellule muscolari.

I linfociti timici sono capaci di produrre anticorpi antirecettori dell'acetilcolina.

Myasthenia Gravis

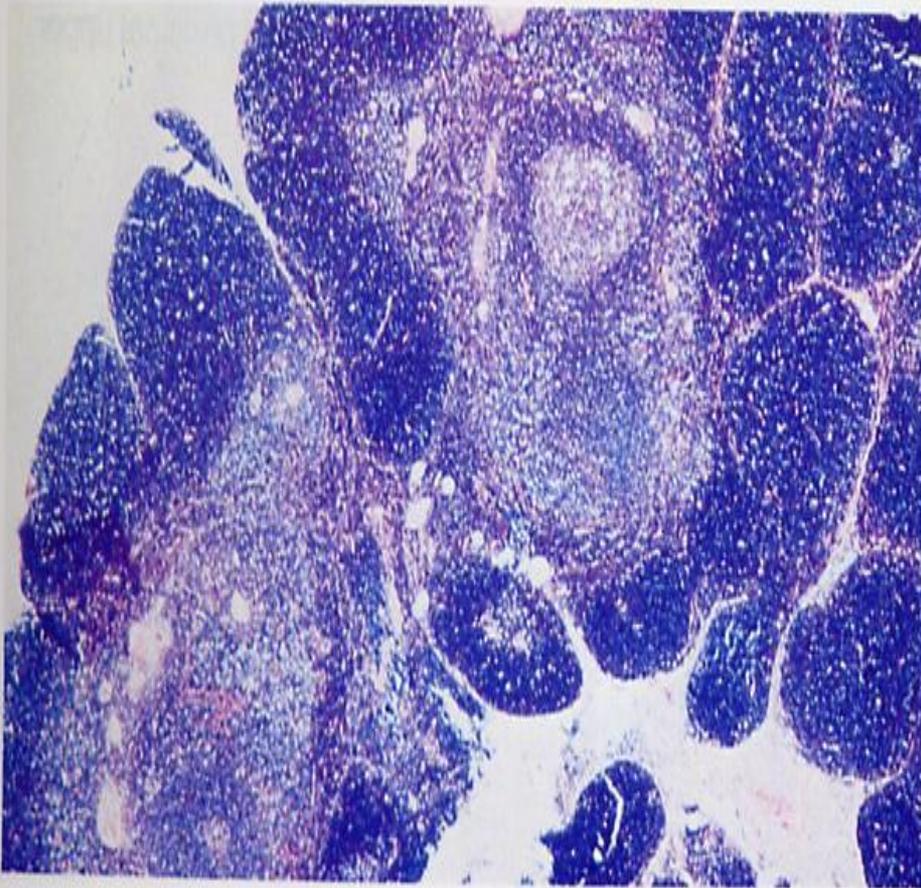
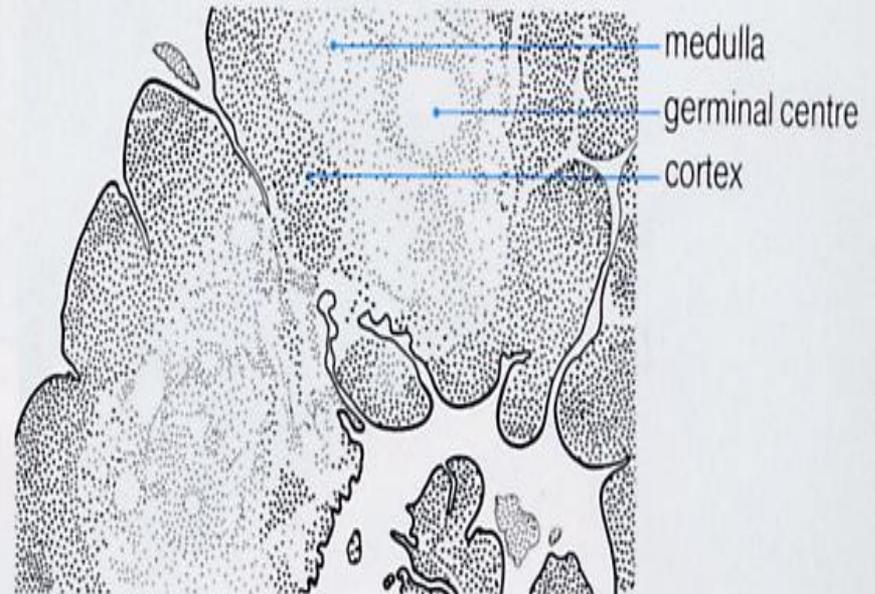
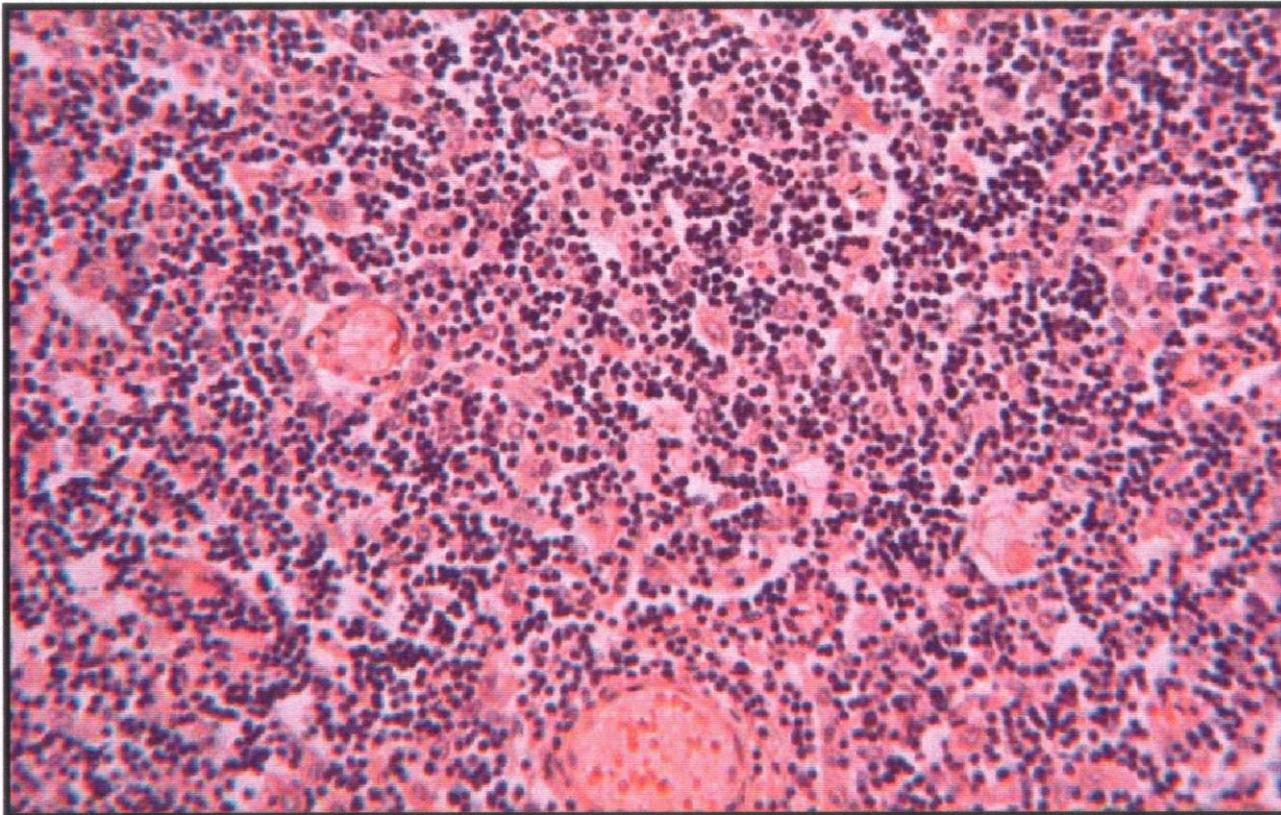


Fig. 3.30 Myasthenia gravis: thymic pathology. H&E stain, $\times 60$.

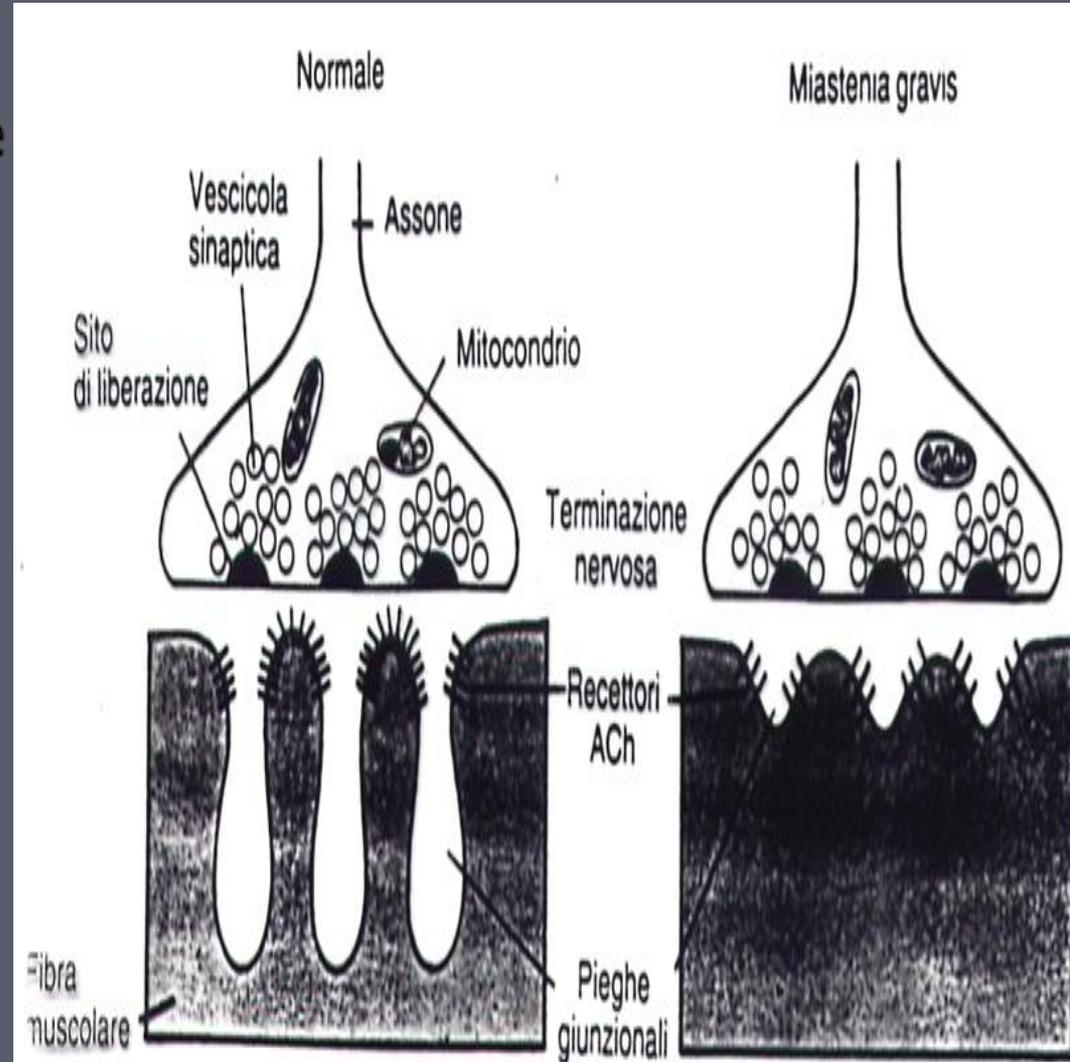


Alterazione più caratteristica del timo miastenico:
presenza di elevato numero di centri germinativi,
aree ricche di T e B cellule simili a quelle presenti
nei linfonodi



MIASTENIA GRAVIS: PATOGENESI

- ▶ Riduzione dei recettori post-sinaptici
- ▶ Alterazioni della giunzione neuromuscolare (riduzione ed appiattimento delle pieghe giunzionali, allargamento dello spazio sinaptico)
- ▶ Dimostrazione di anticorpi antirecettore nonché di C (complemento) nello spazio sinaptico
- ▶ Induzione sperimentale della malattia (immunizzazione con recettore, infusione di IgG di miastenici)

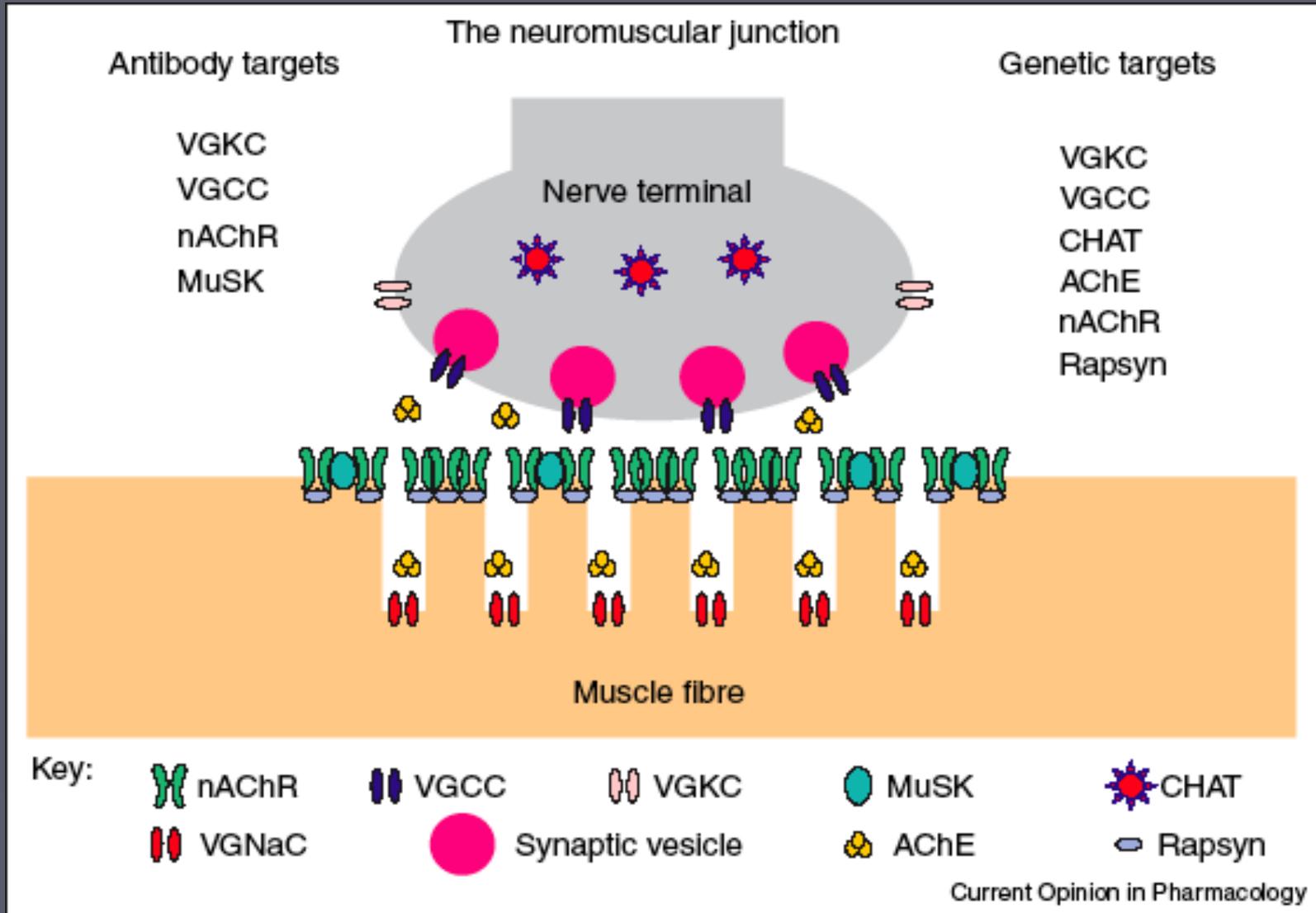


- ▶ Ab anti-AchR assenti nei soggetti sani;
- ▶ Presenti nell' 80% di MG generalizzata
- ▶ “ “ 70% di MG oculare
- ▶ Correlazioni tra titolo Ab e severità di malattia
- ▶ Occasionali riscontri di titoli alti in pazienti esenti da sintomatologia ma affetti da timoma
- ▶ Nel 10% di MG non si hanno Ab anti Ach, seppure è dimostrabile la natura autoimmune: **si parla di MG “siero negativa”.**

Autoanticorpi non anti-AChR

- 15% dei casi MG generalizzata è "siero-negativa"
- Il 40% presenta **Ab anti-Recettore Tirosin-Kinasi Muscolo-specifica (MuSK)**
 - ✓ *MUSK essenziale nello sviluppo della placca*
 - ✓ *Coinvolto nel "clustering" degli AChR*
 - ✓ *MuSK espresso anche a livello della giunzione matura*
- **MG con timoma :**
 - **evidenza di altri auto-Ab contro specifiche proteine del muscolo scheletrico** **Ab anti-Titina,**
 - **anti-Recettore alla Rianodina**

Molecular targets in disorders of the neuromuscular transmission



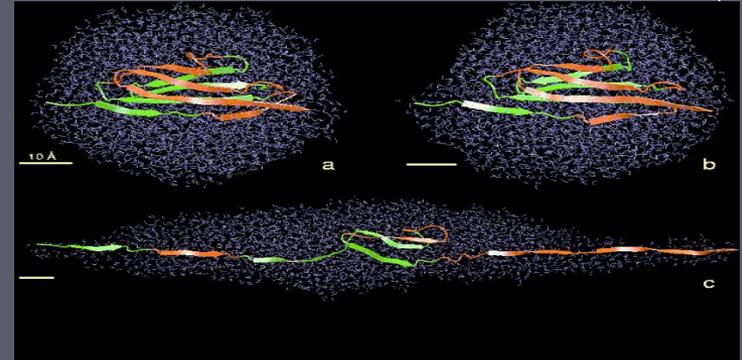
MG&AUTOANTICORPI NON ANTI AchR

► In alcune forme associate a Timoma, oltre Ab antiAchR: anti-proteine del muscolo:

► **Anti Titina**

► **Anti Miosina**

► **Anti Actina**



Titina:

la proteina più grande nel nostro organismo

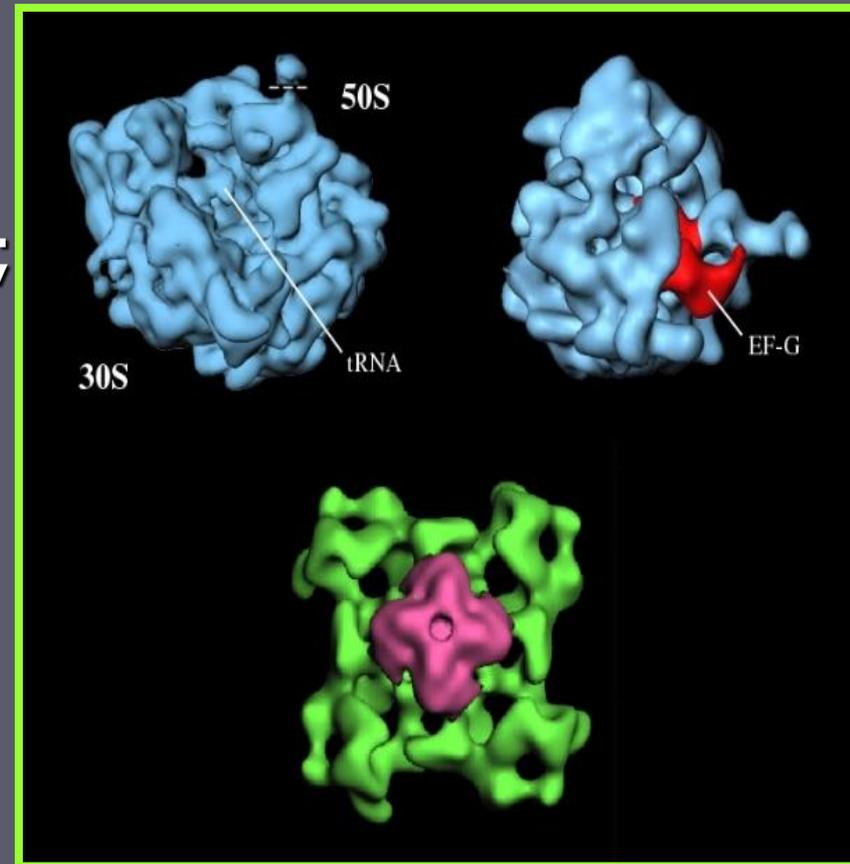
► **Anti componenti reticolo sarcoplasmatico**

► **Anti recettore della Rianodina**

► **Anti recettori Tirosin Chinasi
Muscolo-Specifici (MuSK)**

RECETTORE PER LA RIANODINA RY-R

- ▶ RY-R: recettore canale localizzato a livello del reticolo sarcoplasmatico:
4 sub-unità di 560 kd
associate a proteina di 12 Kd;
- ▶ Modulazione della fuoriuscita del Ca^{++} dal reticolo sarcoplasmatico;
- ▶ Ab-anti RY-R: nel 50% di MG con timoma
- ▶ Ab-anti RY-R: correla con forme molto severe di MG
- ▶ Indicatore di necessità di
- ▶ trattamenti più incisivi:
immunosoppressori,
- ▶ plasmateresi,..



Titina

- ▶ MG con timoma: 95% Ab anti Titina
 - ▶ MG ad esordio tardivo e atrofia timica: 50%
 - ▶ MG con iperplasia timica: assenti
 - ▶ MG con altre malattie autoimmuni: assenti
-
- ▶ MARCATORE SIEROLOGICO PER
INDIVIDUARE TIMOMA NEI MIASTENICI?
(ALTA SENSIBILITA', BASSA SPECIFICITA')

Anticorpi antiMuSK in pazienti MG sieronegativi

Complesso tirosina-kinasi

Assemblaggio dell'AChR

Interferenza con AChR

Alterata trasmissione

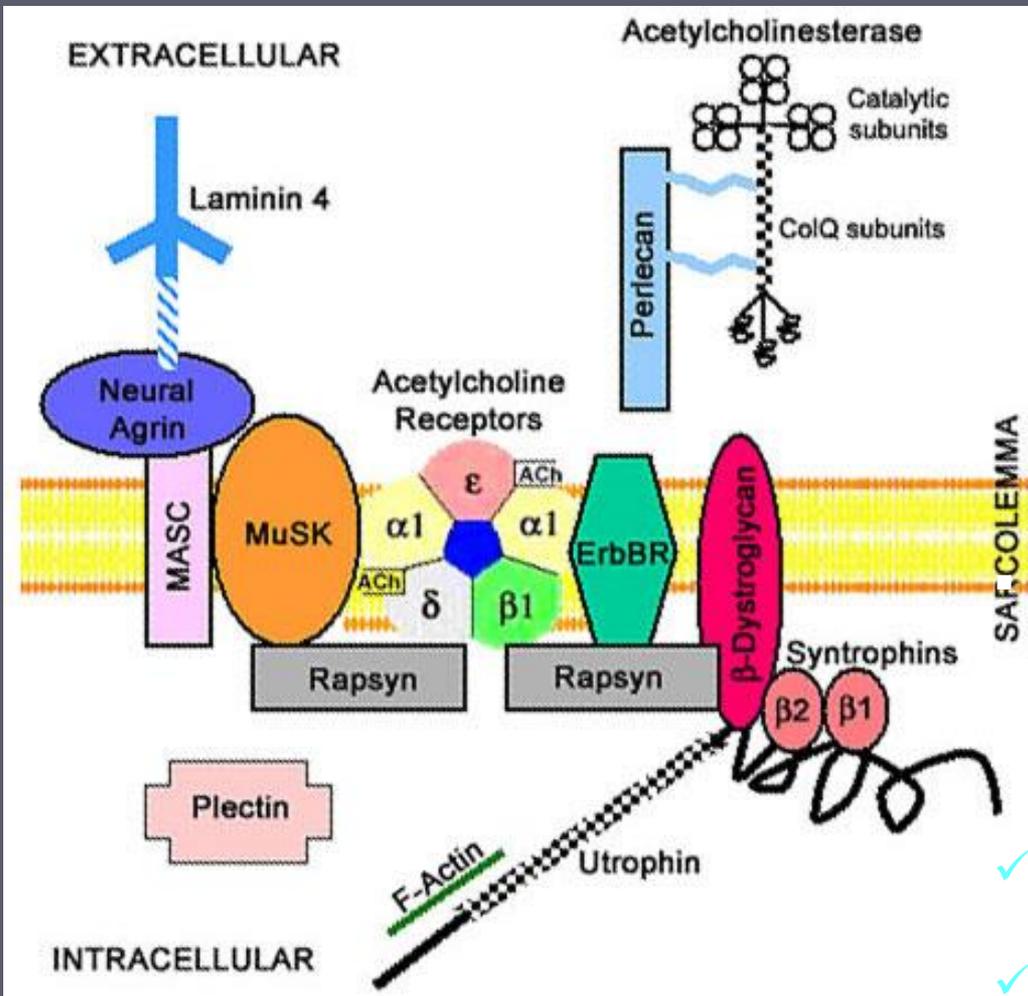
Hoch et al, Nat Med 2001

Il 40% dei casi MG generalizzata "siero-negativa" presenta **Ab anti-Recettore Tirosin-Kinasi Muscolo-specifica (MuSK)**

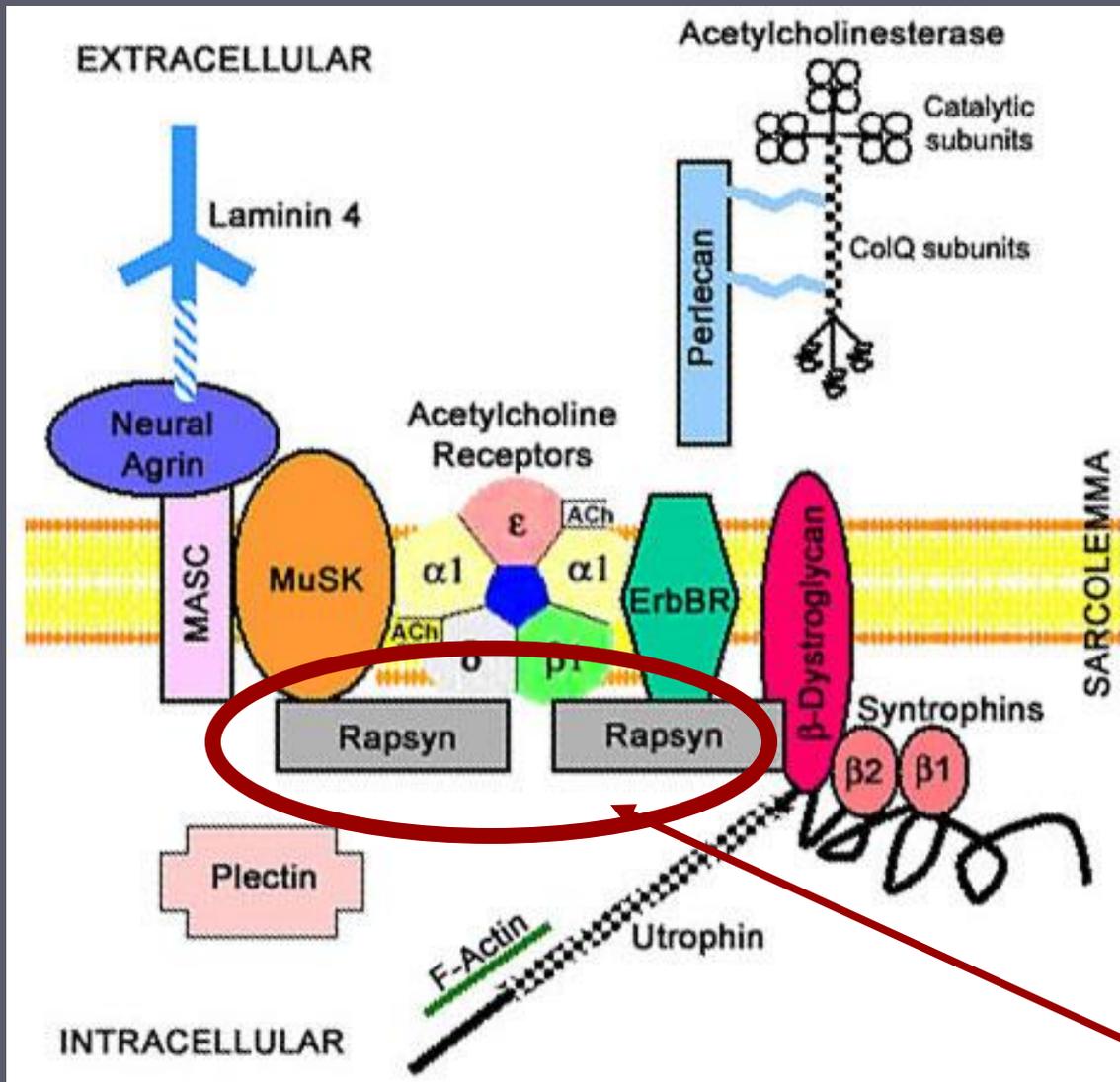
✓ **MUSK** essenziale nello sviluppo della placca

✓ Coinvolto nel "clustering" degli AChR

✓ **MuSK** espresso anche a livello della giunzione matura



Anticorpi antirapsina in pazienti MG sieronegativi



Complesso tirosina-kinasi

Assemblaggio dell'AChR

Interferenza con AChR

Alterata trasmissione

Hoch et al, Nat Med 2001

RAPSINA

Tenendo conto di questi dati, la patogenesi della miastenia potrebbe svolgersi secondo le tappe seguenti:

- a. **Multifattorialità ambiente-gene:** studi sul sistema HLA e studi epidemiologici indicano il ruolo di suscettibilità genetica e fattori a fattori ambientali.
- b. Un agente patogeno ignoto (**virus?**) colpisce il timo, determinando la differenziazione delle cellule staminali in cellule muscolari, aventi sulla membrana recettori per l'acetilcolina.

Tenendo conto di questi dati, la patogenesi della miastenia potrebbe svolgersi secondo le tappe seguenti:

- c. I linfociti timici producono anticorpi anti-recettori dell'acetilcolina, sia a livello focale, sia a livello delle placche motrici dei muscoli, migrando verso le fessure sinaptiche.
- d. Linfociti e/o anticorpi provocano la distruzione di recettori dell'acetilcolina, con conseguente blocco post-sinaptico della trasmissione neuromuscolare.

Miastenia: malattia autoimmune

Patofisiologia e patogenesi

- ▶ Ghiandola timica: probabilmente interessata nell'autoimmunità per la Miastenia Gravis:
- ▶ A) contiene cellule epiteliali (cellule mioidi) che esprimono AChR;
- ▶ B) il timo miastenico ospita linfonodi con centri germinativi che contengono B cells AChR-specifiche che secernono Anticorpi anti-AChR;
- ▶ C) la ghiandola è iperplasica nel 70% dei miastenici ed è virata in tumore (TIMOMA) nel 15% dei casi.
- ▶ **Questi dati suggeriscono che un'anomalia timica potrebbe risultare dall'erroneo riconoscimento dei componenti del self-AChR in realtà riconosciuto come non-self e di conseguenza "triggerare" la prima reazione della risposta disimmune.**

Patofisiologia e patogenesi

- ▶ L'altro braccio della risposta autoimmune è mediato dagli anticorpi anti-AChR che riducono il numero di AChR della membrana post-sinaptica (end plate, EP) a causa
- ▶ della lisi delle pieghe giunzionali mediata da complemento anticorpo-dipendente,
- ▶ internalizzazione accelerata e distruzione degli AChR (modulazione antigenica) e
- ▶ blocco dei legami dell'ACh ai suoi recettori.
- ▶ La deficienza dei recettori diminuisce l'ampiezza dei potenziali miniatura di membrana post-sinaptica (**MEPP**, **miniature end-plate potential**), e successivamente il Potenziale EP (**EPP**):
- ▶ Ciò riduce il margine di sicurezza della trasmissione neuro-muscolare.

Genetica

- ▶ Esiste verosimilmente una suscettibilità a sviluppare la MG che dipende dalla presentazione sull'epitopo AChR di particolari proteine del major HLA, la cui espressione sulle cellule immuni è geneticamente determinata.
- ▶ Infatti più elevata incidenza di determinanti **HLA-A1, -B8 e -DR3** tra i giovani caucasici malati di MG e differenti determinanti HLA in altre età e gruppi razziali.
- ▶ Ruolo di geni di subunità α dei AChR è stato proposto.
- ▶ Altri geni di suscettibilità includono quelli che codificano antigene citotossico linfocita-associato, interleukina- 1β , antagonista del recettore interleukina-1, $TNF\alpha$ e β .

Classificazione da Compston 1999, adattata

Esordio	Sesso	Timo	HLA	Auto-Ab
precoce < 40	> F	iperplasia timo	A1, B8, DRw3	medio titolo Ab -AChR
40-60	F = M	timoma	no HLA	alto titolo Ab -AChR, Ab-muscolo striato
tardivo > 40	> M	no timoma atrofia	A3, B7, DRw2	basso titolo Ab -AChR, alto titolo Ab -muscolo striato
< 40	F > M	timo normale		Ab anti-MuSK

MIASTENIA GRAVIS

DIAGNOSI

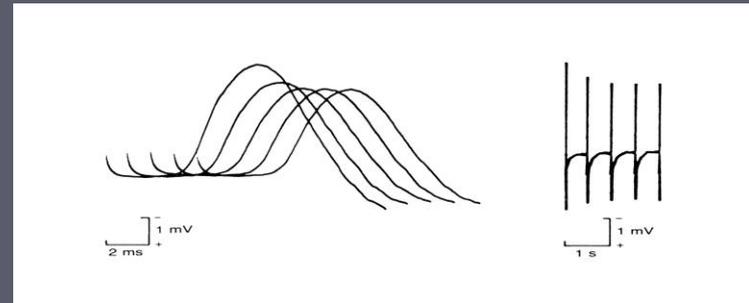
- ▶ Anamnesi
- ▶ Esame obiettivo con ricerca del fenomeno miastenico
- ▶ Test al Tensilon (cloruro di edrofonio): 2-4 mg ev
- ▶ Test neurofisiologici (stimolazione ripetitiva, esame di singola fibra)
- ▶ Ricerca di anticorpi antirecettore
- ▶ TAC/RM mediastino

La diagnosi di MG

Caratteristiche cliniche; fluttuazione

Risposta al Mestinon (Test al Tensilon)

Studio neurofisiologico



Dosaggio Anticorpi anti-recettore AChR

Dosaggio anticorpi antitina e rianodina (sospetto timoma)

Studio del mediastino (TAC-RMN)

Risultati negativi non escludono la diagnosi di MG autoimmune

Elettromiografia

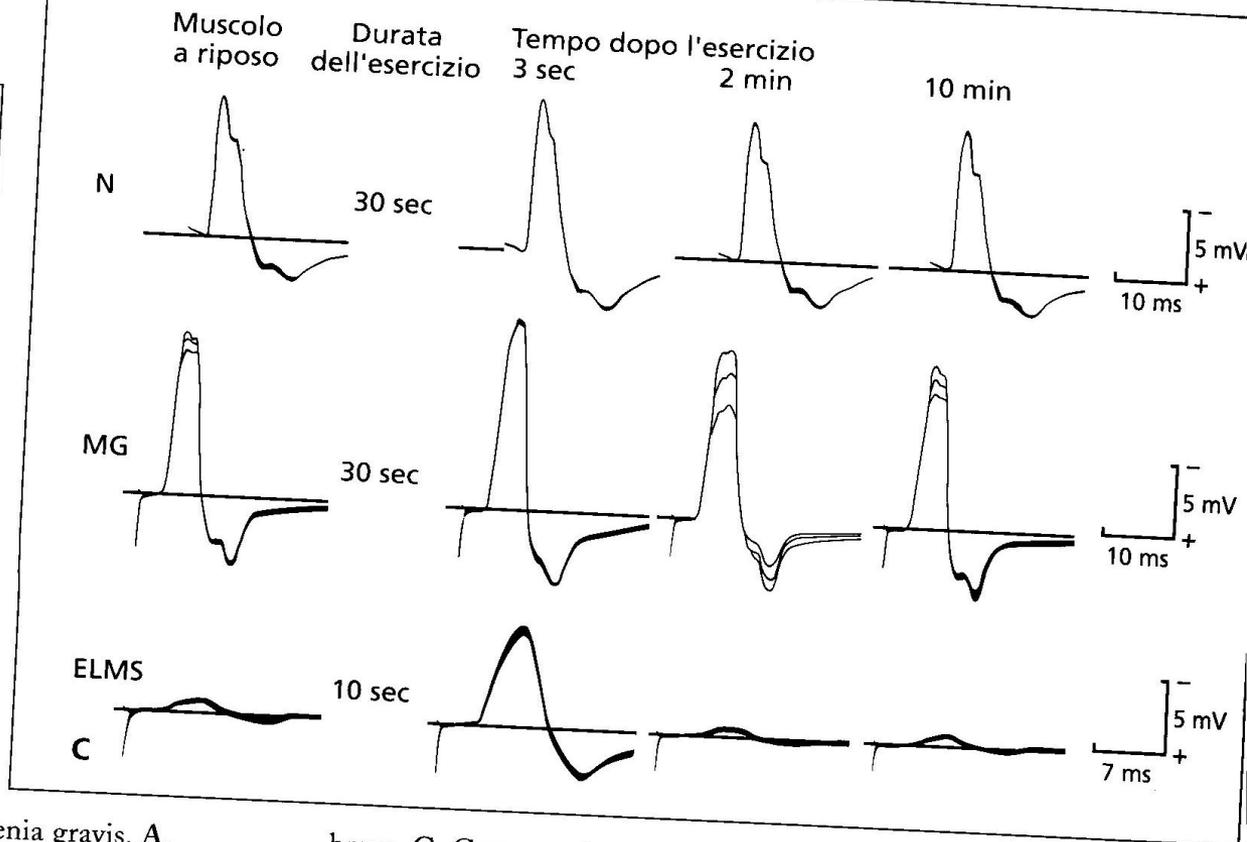
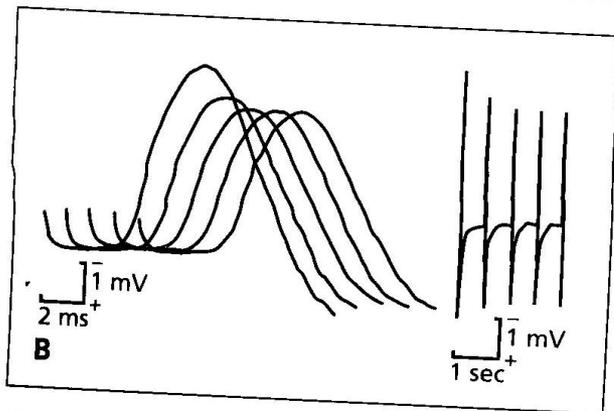
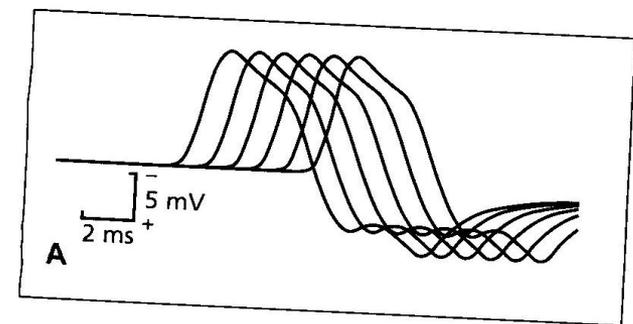
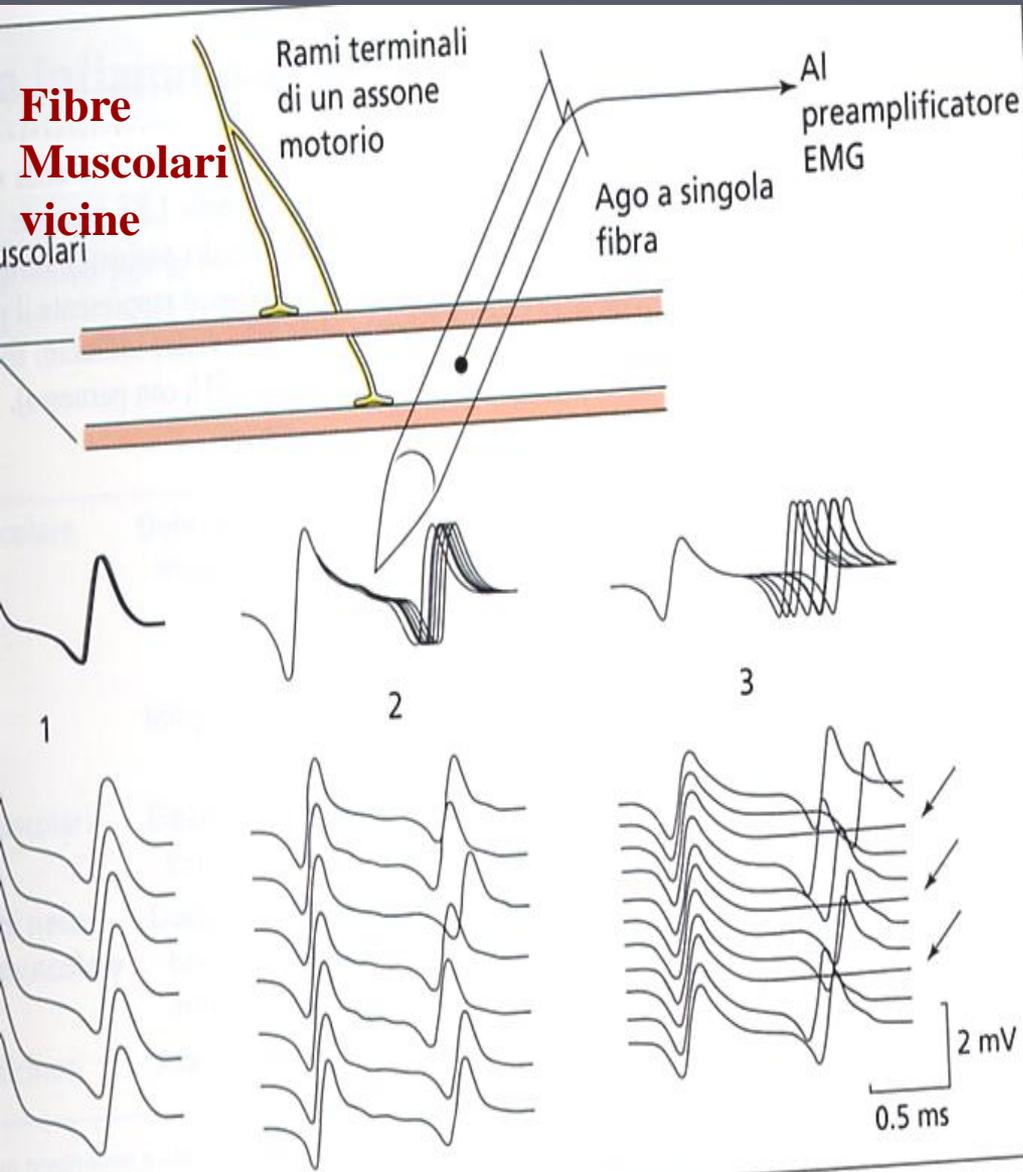


Figura 13-25. Esame neurofisiologico nella miastenia gravis. **A**, Stimolazione ripetitiva della conduzione nervosa in un soggetto normale: dimostra un'ampiezza costante del potenziale di azione motorio composto (CMAP) con la stimolazione ripetitiva del nervo a bassa e rapida velocità. **B**, In un paziente con miastenia gravis sintomatica, l'ampiezza del potenziale d'azione motorio composto diminuisce alle basse velocità di 2-5 Hz, mostrando una maggiore variazione tra la prima e la seconda risposta. Questo decremento può essere corretto con la somministrazione endovenosa di edrofonio, un inibitore dell'acetilcolinesterasi ad azione

breve. **C**, Comparazione di stimolazione nervosa ripetitiva in soggetti normali (N), pazienti con miastenia gravis (MG) e con sindromi miasteniche di Lambert-Eaton (ELMS). Il decremento osservato in pazienti con EMG sintomatica può essere annullato da 30' di esercizio, ma un ulteriore decremento interviene dopo circa due minuti. Nella ELMS, il CMAP iniziale è di ampiezza molto bassa aumentando più del 200% dopo un breve periodo (10') di esercizio. Dopo pochi minuti l'ampiezza ritorna bassa.

ELETTROMIOGRAFIA DA SINGOLA FIBRA



Ago speciale per singola fibra: registrazione di Potenziali d'Azione da singola fibra muscolare. Stimolando un potenziale d'azione su una cellula muscolare, si registra anche il potenziale di una fibra vicina della stessa Unità Motoria, e questo appare tempo correlato con il primo, come coppia. Il primo potenziale è mantenuto fisso sullo schermo dell'apparecchio; il secondo scarica con tempo variabile, generando un fenomeno chiamato jitter*: Lo jitter è aumentato nella Miastenia. Il blocco del secondo potenziale interviene quando viene meno la giunzione neuromuscolare.

*** Jitter: nervosismo, agitazione**

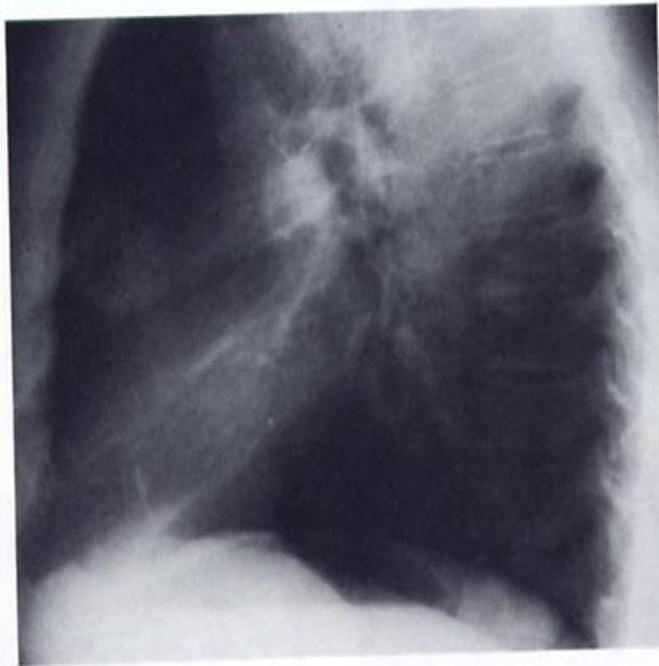
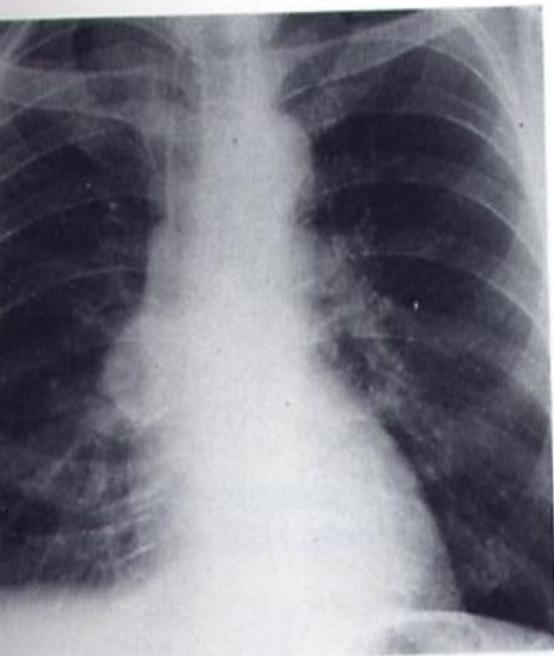


Fig. 3.32 Myasthenia gravis; radiological appearance of a thymoma; anteroposterior view (left), lateral view (right).

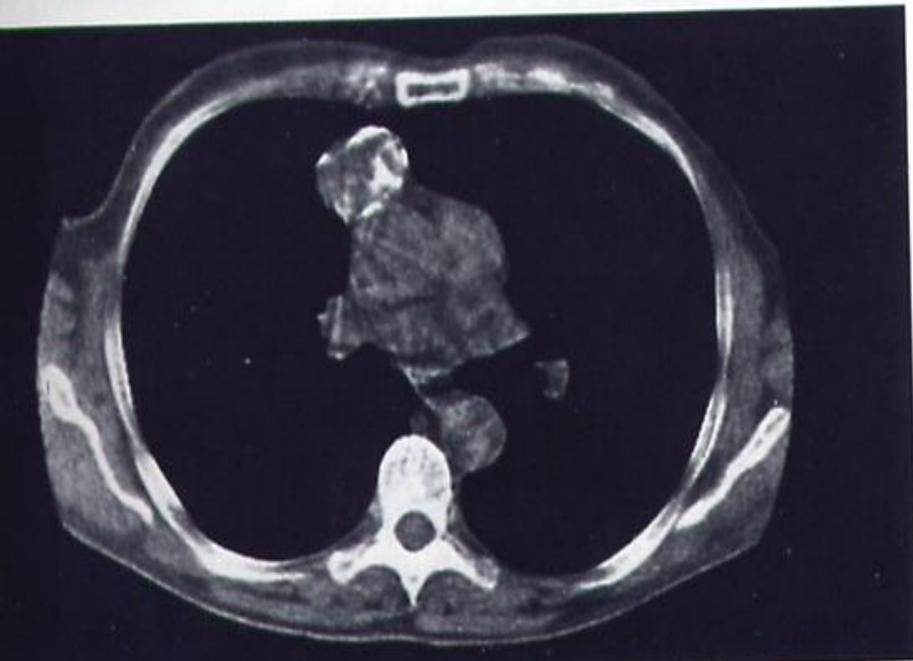
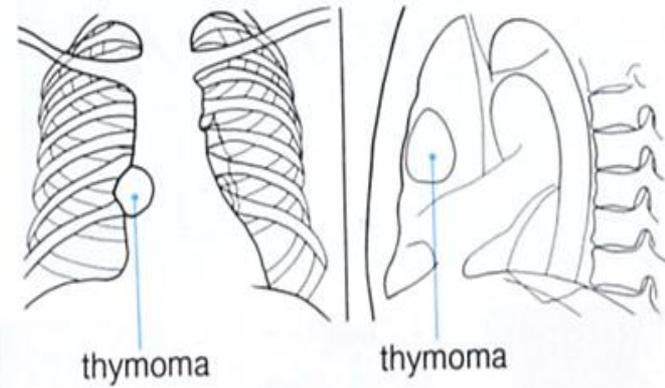
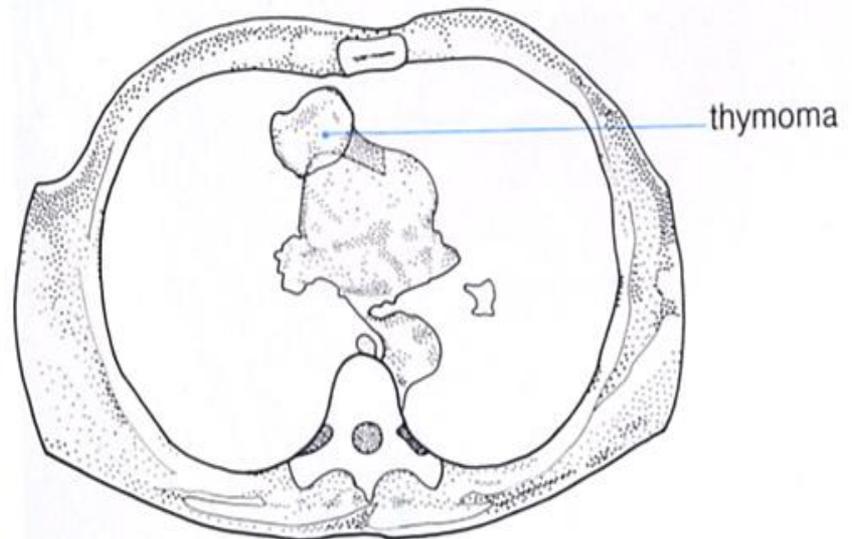
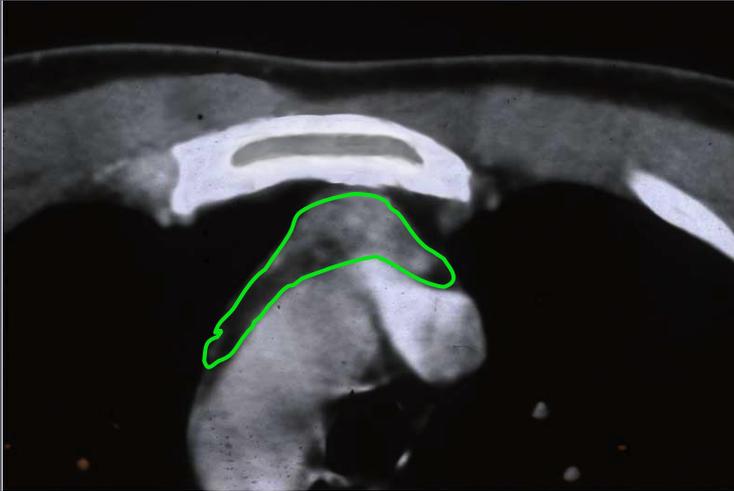


Fig. 3.33 Myasthenia gravis: CT scan of the mediastinum demonstrating a thymoma.

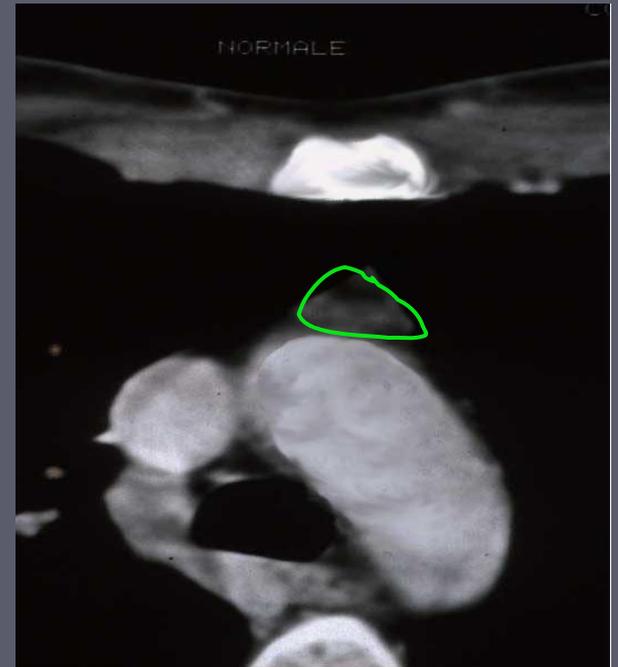


MG: imaging del timo

Iperplasia timica



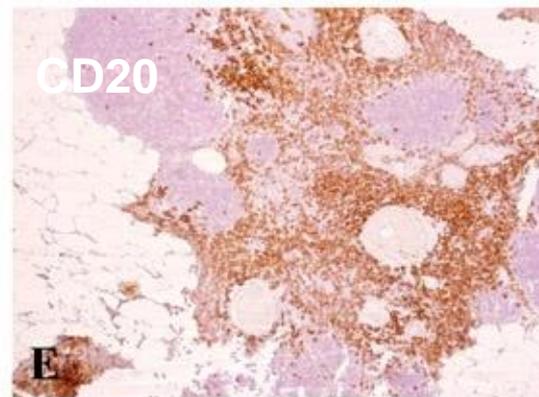
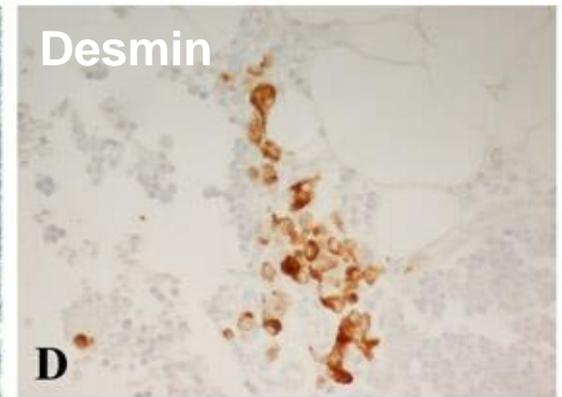
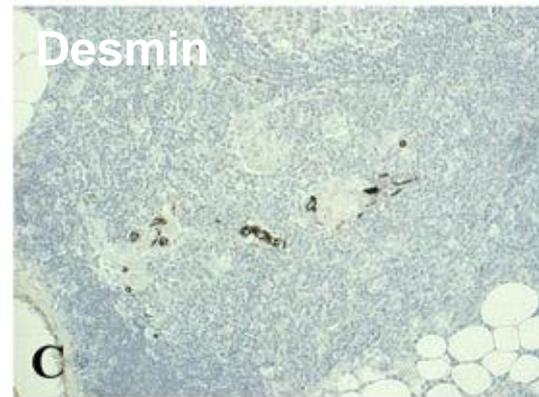
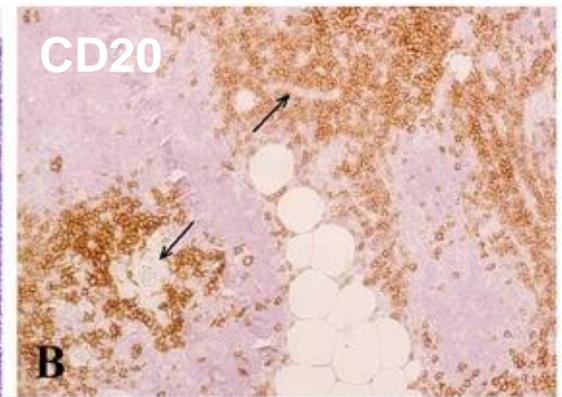
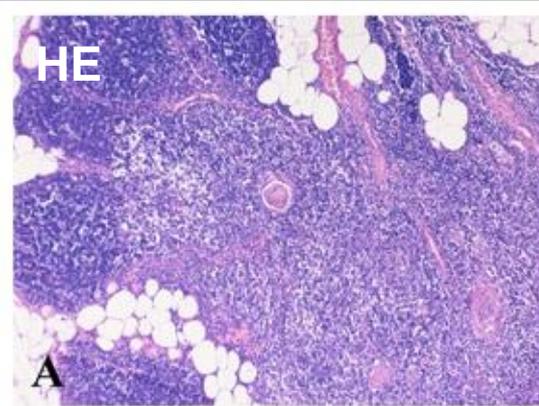
Timoma



Timo involuto

Timo e MG (3) Caratterizzazione istopatologica della timite

Cellule B (CD20+) infiltrano gli spazi perivascolari (freccia) e circondano i corpuscoli di Hassall, a loro volta circondati da cellule mioidi (desmina positive)



Miastenia gravis

Suddivisione clinica per gruppi della miastenia gravis

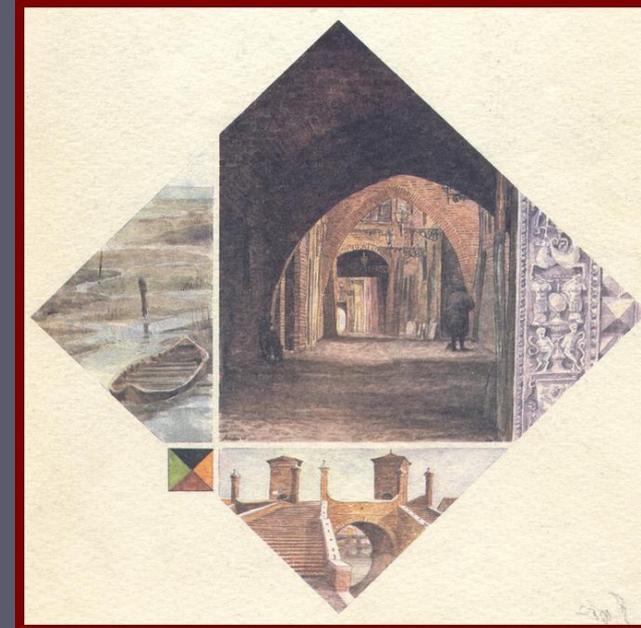
	Esordio precoce (55%)	Timoma (10%)	Esordio tardivo (20%)	Sieronegatività
Debolezza	Generalizzata	Generalizzata	Generalizzata o oculare	Oculare o generalizzata
Età di esordio	<40 anni di età	Qualsiasi	>40 anni di età	Qualsiasi
Incidenza nel sesso	M<F	M=F	M>F	M>F
Recettori anti-acetilcolina	Alti	Intermedi	Bassi	Assenti
Timo	Iperplasia	Timoma	Normale	Normale
Associazione HLA (bianchi)	B8, DR3		B7, DR2	

Figura 13-23. Suddivisione clinica della miastenia gravis per gruppi. I pazienti affetti da miastenia gravis possono essere suddivisi in quattro gruppi a seconda dell'età di esordio, della presenza del timoma, della presenza o assenza di anticorpi. In generale la miastenia gravis può essere definita come una malattia delle giovani donne e degli uomini anziani, ma casi con timoma possono presentarsi a qualsiasi età senza predilezione di

sesso. I pazienti siero negativi presentano generalmente quadri clinici meno severi, tuttavia una debolezza generalizzata ed importante può avere anche in assenza di anticorpi. Il trasferimento passivo della malattia ai topi suggerisce che gli anticorpi in questi casi non vengono riscontrati dalle metodiche correnti [67, 68]. HLA-antigene dei linfociti umani (*Da Newsom-Davis [69]*).

Miastenia e Sindromi Miasteniformi

- ▶ **Enrico Granieri**
- ▶ Direttore Clinica Neurologica
- ▶ Università degli Studi di Ferrara



Segue terza parte

