



Universiteit
Leiden

The Netherlands

Autoimmunity at the neuromuscular synapse: pathophysiology and disease course

Lipka, A.F.

Citation

Lipka, A. F. (2021, December 15). *Autoimmunity at the neuromuscular synapse: pathophysiology and disease course*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3246848>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/3246848>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).



ADDENDUM

Nederlandse samenvatting
en discussie

List of publications

Dankwoord

Curriculum vitae

Samenvatting en discussie

Lambert-Eaton myastheen syndroom (LEMS) en myasthenia gravis (MG) zijn auto-immuunziekten gepaard gaande met fluctuerende spierzwakte. Bij LEMS is daarnaast ook sprake van autonome dysfunctie en areflexie. Beide ziekten zijn antistof-gemedieerde auto-immuunziekten die de neuromusculaire synaps aantasten. Bij MG binden acetylcholinereceptor (AChR) en 'muscle-specific kinase' (MuSK) antistoffen aan het postsynaptische deel van de neuromusculaire synaps en zijn er antistoffen tegen verschillende andere antigenen beschreven, waarvan de pathogeniciteit en het pathofysiologische mechanisme nog niet volledig opgehelderd zijn. Bij LEMS zijn spanningsafhankelijke calciumkanalen (VGCC), gelokaliseerd in het presynaptische motorische zenuwuiteinde en in het autonome zenuwstelsel, het doelwit van antistoffen. De immunopathogenese van LEMS en AChR MG heeft verschillende overlappende kenmerken.¹ Bij beide auto-immuunziekten zijn IgG auto-antistoffen verantwoordelijk voor kruisverbinding en internalisatie van eiwitcomplexen op het celoppervlak. Beide ziekten zijn geassocieerd met het HLA 8.1 haplotype als immunogenetische achtergrond, maar kunnen ook optreden als paraneoplastisch fenomeen bij patiënten met een geassocieerd thymoom bij MG of kleincellig longcarcinoom (KCLC) bij LEMS.² In dit proefschrift wordt een overzicht gegeven van verschillende pathofysiologische en klinische aspecten van zowel LEMS als MG.

In **hoofdstuk 1** hebben we de huidige kennis samengevat betreffende klinische kenmerken, pathofysiologie, tumorassociatie en behandeling van LEMS. LEMS is een zeldzame auto-immuunziekte die waarschijnlijk onvoldoende wordt herkend, vooral bij patiënten met overwegend proximale beenzwakte. Wanneer de ziekte echter eenmaal wordt overwogen op basis van typische klinische manifestaties (proximale spierzwakte, lage of afwezige reflexen en autonome dysfunctie), wordt een diagnose meestal relatief eenvoudig gesteld.^{3,4} Pathogene antistoffen tegen P / Q-type VGCC worden gevonden bij ongeveer 90% van de patiënten en de aanwezigheid van decrement en increment bij repetitieve zenuwstimulatie is een zeer gevoelige diagnostische test. Een snelle diagnose is ook van belang vanwege de associatie met KCLC bij 50-60% van de patiënten. Zowel behandeling van de tumor als symptomatische behandeling (3,4-diaminopyridine of 3,4-DAP) en immunosuppressiva kunnen de symptomen effectief bestrijden bij een meerderheid van patiënten.

Pathofysiologie

Naast pathogene antistoffen tegen VGCC zijn er verschillende immuunresponsen tegen andere antigenen beschreven bij LEMS patiënten, vooral bij patiënten met een geassocieerd KCLC. Dit betreft met name andere presynaptische eiwitten die betrokken zijn bij de afgifte van acetylcholine, zoals synaptotagmine I, laminine $\beta 2$ en de presynaptische muscarinerge acetylcholinereceptor.^{4,5} Deze antistoffen hoeven niet pathogeen te zijn en kunnen het gevolg zijn van epitoopterspreiding in de loop van de ziekte. Antistoffen tegen het intracellulair nucleair SOX1-eiwit worden specifiek gevonden bij KCLC-LEMS-patiënten als teken dat het immuunsysteem een reactie initieert tegen meerdere tumorantigenen tegelijkertijd. SOX-antilichamen kunnen derhalve worden gebruikt als serologische marker voor KCLC-geassocieerde LEMS.^{6,7}

In **hoofdstuk 2** zijn we op zoek gegaan naar nieuwe antistoffen tegen LEMS-geassocieerde KCLC-antigenen, door middel van immunoprecipitatie met een KCLC cellijn. Hierbij vonden we een sterke immunoreactiviteit tegen het ERC1-eiwit (ook bekend als ELKS) bij een VGCC-positieve LEMS-patiënt zonder tumor. Een recombinante ELISA en een cellulaire test met expressie van GFP-gelabeld ERC1 bevestigden de aanwezigheid van auto-antistoffen tegen ERC1 bij deze patiënt. De pathogene relevantie van deze antistoffen is nog onzeker.

ERC1 is betrokken bij verschillende cellulaire functies, waaronder de vorming van presynaptische actieve zones en een ondersteunende rol bij synaptische transmissie, zoals door calciumafhankelijke acetylcholine exocytose.⁸ ERC1 komt ook samen voor met de $\beta 4$ -subeenheid van VGCC in het cerebellum van muizen.⁹ Antistoffen tegen het intracellulaire eiwit ERC1 kunnen een gevolg zijn van desintegratie van het presynaptische axon als gevolg van de immunorespons tegen de spanningsafhankelijke calciumkanalen. Structurele schade aan het presynaptische axon zou in tegenspraak zijn met de huidige kennis over het pathofysiologische mechanisme. Aangenomen wordt dat LEMS IgG functioneel verlies van VGCC induceert, zonder betrokkenheid van complement of membraanschade.¹⁰ We hebben sera gescreend van seropositieve en seronegatieve LEMS en MG patiënten op immunoreactiviteit tegen ERC1, maar vonden geen andere sera met reactiviteit. ERC1 is daarom een nieuw, zeldzaam antigeen bij LEMS, maar geen relevante marker voor seronegatieve LEMS. Rondom publicatie is een andere casus beschreven van ERC1-activiteit bij een KCLC-patiënt zonder LEMS, maar met paraneoplastische cerebellaire degeneratie.¹¹ Deze paraneoplastische ziekte is ook geassocieerd met VGCC-antilichamen, gericht op Purkinje-vezels in het cerebellum. Ontstaan van ERC1-antilichamen zou in beide patiënten het gevolg kunnen zijn van epitoopterspreiding.

Bij LEMS patiënten met een geassocieerd KCLC wordt de tumor meestal pas gevonden na de LEMS diagnose. In **hoofdstuk 3** hebben we klinische en serologische markers samengevat welke de aanwezigheid van KCLC bij LEMS-patiënten kunnen voorspellen. KCLC is een zeer immunogene tumor, wat vaak leidt tot antistoffen tegen tumorantigenen.¹² Vanwege de neuro-endocriene oorsprong van KCLC, worden verschillende van deze antigenen ook tot expressie gebracht in het zenuwstelsel, alwaar ze een doelwit vormen voor een immunorespons zowel intracellulair als op het celoppervlak.¹³ Binnen de groep van gerelateerde auto-antistoffen bij KCLC-patiënten zijn SOX1- en SOX2-antistoffen zeer specifiek voor KCLC-LEMS.¹⁴ Deze SOX-antilichamen zijn echter niet sensitief genoeg voor gebruik in de klinische praktijk en hebben geen relatie met specifieke symptomen of tumoroverleving. Verschillende klinische kenmerken kunnen onderscheid maken tussen LEMS met geassocieerde KCLC en zonder tumor. LEMS patiënten met een geassocieerd KCLC vertonen een sneller progressief ziektebeloop gedurende de eerste maanden.^{15,16} Door combinatie van klinische risicofactoren, werd de DELTA-P-score ontwikkeld om het risico op KCLC na de diagnose LEMS te bepalen. Deze voorspellende score combineert bulbair symptomen, erectiestoornissen, leeftijd, roken, gewichtsverlies en de Karnofsky performance status, allen binnen 3 maanden na het begin van de ziekte met een hoge sensitiviteit en specificiteit.¹⁷ De DELTA-P-score kan worden gebruikt om de intensiteit van tumorscreening bij individuele patiënten te bepalen.^{4,17} Recent heeft onze groep in een

prospectieve cohortstudie de DELTA-P-score bevestigd als een effectief hulpmiddel voor het voorspellen van KCLC, hoewel de score iets minder effectief bleek in vergelijking met voorgaande cohorten.¹⁸

Klinische verschijnselen

Verschillende onderzoeken hebben klinische verschijnselen en de overleving gerapporteerd bij patiënten met LEMS.^{3,15,16,19-23} Er zijn echter zeer beperkte gegevens beschikbaar over het lange termijn beloop, beperkingen in het dagelijks leven en kwaliteit van leven. In **hoofdstuk 4** bestudeerden we de overleving, functionele beperkingen op lange termijn en gezondheidsgerelateerde kwaliteit van leven (HRQOL) van 150 patiënten met LEMS.

Onze studie liet zien dat de overleving vergelijkbaar was met de algemene populatie bij 65 LEMS-patiënten zonder geassocieerde tumor. Tumoroverleving was significant langer bij 81 KCLC-LEMS patiënten vergeleken met KCLC-patiënten zonder LEMS (mediane overleving 17 vs. 7,0 maanden). Deze verbeterde overleving is reeds in verschillende eerdere, kleinere studies gerapporteerd, waaronder een recente prospectieve cohortstudie van patiënten met KCLC met en zonder LEMS.^{19-21,24} We toonden tevens aan dat de tumoroverleving is verbeterd bij KCLC-LEMS patiënten zowel met beperkte (limited disease) als met uitgebreide ziekte (extensive disease). Opvallend is dat de overleving bij KCLC patiënten met limited disease zonder LEMS zelfs vergelijkbaar is met KCLC-LEMS patiënten met extensive disease. Een eerdere diagnose van KCLC vanwege neuromusculaire symptomen zal onvermijdelijk tot een vertekening leiden, maar dit zal het overlevingsverschil waarschijnlijk niet volledig verklaren. Deze verbetering in tumoroverleving ook na correctie voor tumorstadium ondersteunt een biochemische of immunologische oorzaak, zoals een anti-tumor immuunrespons of een direct effect van ionkanaal-blokkerende antistoffen op tumorproliferatie.²⁵⁻²⁷

Een meerderheid van de patiënten in dit cohort was onafhankelijk voor activiteiten in het dagelijks leven bij diagnose en dit verbeterde tot 85% na 1 jaar follow-up. Patiënten met alleen symptomatische behandeling verbeterden sneller na diagnose dan degenen die werden behandeld met immunosuppressiva, maar beide groepen bereikten uiteindelijk ongeveer twee jaar na de diagnose een relatief stabiel niveau van beperkingen. De maximale ziekte-ernst was bij de meeste patiënten al bereikt vooraf aan diagnose en bij ongeveer 80% binnen de eerste twee jaar, vergelijkbaar met het verloop van myasthenia gravis.^{28,29} Patiënten met geassocieerde longkanker naast LEMS hadden meer functionele beperkingen over het gehele ziektebeloop. De fysieke HRQOL was significant lager dan in de algemene populatie en vergelijkbaar met myasthenia gravis, op mentaal vlak was dit normaal. Al met al kunnen deze gegevens over de prognose en beperkingen bij LEMS richtinggevend zijn voor de verwachtingen en behandelkeuzes van artsen en patiënten.

Elektrofysiologie

De diagnose LEMS is gebaseerd op fluctuerende spierzwakte, lage of afwezige peesreflexen en autonome symptomen, ondersteund door ofwel de aanwezigheid van

antistoffen tegen VGCC dan wel decrement en increment bij repetitieve zenuwstimulatie (RZS). RZS bij patiënten met LEMS vertoont meestal een drietal afwijkingen.^{30,31}

- Lage initiële amplitude van de motorische respons (compound muscle action potential; CMAP)
- Abnormaal decrement van de CMAP amplitude (> 10%) bij laagfrequente stimulatie
- Abnormaal increment van de CMAP amplitude (> 60-100%) bij hoogfrequente stimulatie of direct na vrijwillige contractie.

Aanwezigheid van decrement is zeer sensitief voor LEMS bij klinisch aangedane patiënten, maar voor het onderscheid met myasthenia gravis is ook increment benodigd. Aangezien het stellen van de diagnose een uitdaging kan zijn, is een optimale afkapwaarde voor increment zeer relevant voor herkenning van deze zeldzame ziekte. Eerder onderzoek heeft laten zien dat verlaging van de afkapwaarde voor abnormaal increment van de eerdere standaard van 100% naar een afkap van 60% een hogere sensitiviteit en vergelijkbare specificiteit geeft ten opzichte van patiënten met MG.³⁰ Echter, sinds deze publicatie worden nog steeds wisselend afkapwaardes van zowel 60%^{32,33} als 100%^{21,34,35} als diagnostisch criterium gebruikt. In **hoofdstuk 5** wilden we deze bevinding bevestigen in een tweede, onafhankelijk cohort. Sensitiviteit en specificiteit van afkapwaarden van 60% en 100% werden bepaald bij alle opeenvolgende patiënten die van 1999 tot 2016 increment testen ondergingen in ons ziekenhuis. Bij 63 patiënten met LEMS en 93 zonder LEMS was de sensitiviteit van een afkapwaarde van 60% voor abnormaal increment 77,8% en 58,7% voor een afkapwaarde van 100%. Specificiteit was vergelijkbaar met 98,9% en 100% voor een afkapwaarde van respectievelijk 60% en 100%. Exclusie van behandelde LEMS patiënten resulteerde in een hogere sensitiviteit voor beide drempelwaarden, maar een vergelijkbaar absoluut verschil in sensitiviteit. Onze bevindingen bevestigen dat een afkapwaarde van 60% voor increment de sensitiviteit aanzienlijk verhoogt, terwijl de hoge specificiteit behouden blijft, bij een grote groep LEMS patiënten en ook t.o.v. een andere controlegroep. Gezien de resultaten van deze twee heterogene onderzoeken kan de afkapwaarde voor abnormaal increment worden gestandaardiseerd naar 60%, hetgeen het stellen van de diagnose bij deze zeldzame ziekte kan vereenvoudigen.

Bij myasthenia gravis is repetitieve zenuwstimulatie ook een standaardtest voor de diagnose. De initiële CMAP amplitude vooraf aan repetitieve stimulatie kan gebruikt worden als maat voor de effectieve opbrengst van adequaat geïnnerde spiervezels. In **hoofdstuk 6** hebben we retrospectief gekeken naar de relatie tussen de CMAP amplitude en de Myasthenia Gravis Foundation Association (MGFA) scores of Quantitative Myasthenia gravis (QMG)-scores als markers voor ziekte-ernst. We vonden dat een lagere initiële CMAP-amplitude een marker is voor ernstigere ziekte bij AChR MG, vooral in de nasalis- en trapezius-spiere. Gerelateerde maar niet-gepubliceerde gegevens van onze groep laten dezelfde relatie zien tussen de initiële CMAP-amplitude en de ziekte-ernst bij patiënten met LEMS. Deze relatie is eerder gepubliceerd en heeft geleid tot het gebruik van de CMAP amplitude als uitkomstmaat in medicatie trials bij LEMS.³⁶⁻³⁹

Ernstige zwakte bij MG zou goed gepaard kunnen gaan met een groter aantal constant niet-functionele neuromusculaire synapsen. Dit resulteert in een lage initiële CMAP amplitude, die niet verandert tijdens RZS en daarom niet bijdraagt aan een increment of decrement. Dit kan te wijten zijn aan een functionele stoornis van een structureel intacte synaps, of aan structurele schade die resulteert in denervatie van de spiervezel door complementactivatie of chronische acetylcholine depletie. Dysfunctie van de neuromusculaire overgang kan resulteren in een afname van het aantal spiervezels dat beschikbaar is voor contractie, wat resulteert in een vrij constante spierzwakte, hetgeen is beschreven bij patiënten met AChR MG.^{40,41} Dit zou een relevant mechanisme kunnen zijn om meer constante spierzwakte bij relatief ernstig aangedane MG patiënten te verklaren, naast vermoeibare zwakte gerelateerd aan het eerder beschreven mechanisme van toenemend decrement na inspanning.⁴² De aanwezigheid van constante of zelfs irreversibele spierzwakte bij AChR MG wordt ondersteund door de observatie dat deze patiënten ook risico lopen op het ontwikkelen van spieratrofie.^{43,44}

Behandeling van myasthenia gravis

Naast pyridostigmine en immuunsuppressie zijn eerder in casusbeschrijvingen andere symptomatische behandelingen voor MG beschreven, waaronder 3,4-diaminopyridine^{45,46} (tevens de belangrijkste behandeling van LEMS) en efedrine⁴⁷. In **hoofdstuk 7** hebben we het effect en de veiligheid van efedrine bestudeerd als aanvullende behandeling voor patiënten met AChR MG. Vier patiënten met AChR MG en een matige ziekte-ernst werden geïnccludeerd in een placebo-gecontroleerde, dubbelblinde, gerandomiseerde, meervoudige cross-overreeks van $n = 1$ trials. Opeenvolgende behandelcycli van efedrine 50 mg per dag in 2 doses of placebo werden vergeleken. Ons onderzoek toonde aan dat aanvullende behandeling met efedrine t.o.v. placebo de QMG-score verbeterde met 1,0 punt, wat een significant behandelings-effect betrof voor zowel de studiepatiënten als voor de gehele populatie. Secundaire uitkomstmaten, waaronder de MG-Composite, MG-ADL en een VAS score voor spierkracht, lieten ook een significante verbetering zien met efedrine. Hoewel het effect consistent was, was de effectgrootte klein en daarom is de klinische relevantie beperkt en discutabel. Het gebruik van symptomatische medicatie met een beperkt risico bij patiënten met een matige ziekte-ernst kan echter nog steeds waardevol zijn bij het voorkomen of uitstellen van hoog-risico immunosuppressiva. Deze studie toonde ook aan dat een seriële $n = 1$ trial een zeer effectieve onderzoeksopzet kan zijn om zelfs een klein effect in een kleine patiëntenpopulatie te detecteren, door de grote variantie tussen patiënten in standaard gerandomiseerde gecontroleerde onderzoeken te vervangen door kleinere variantie binnen individuele patiënten. Dit is vooral van belang bij zeldzame ziekten, waarbij het mogelijk wordt om een kortwerkend behandelings-effect te detecteren tegen beperkte kosten en steekproefomvang. Een ander recent voorbeeld van een effectieve $n = 1$ trial bij een zeldzame ziekte toonde een relevante symptoomreductie bij gebruik van mexiletine bij patiënten met niet-dystrofische myotonie.⁴⁸ In deze studie werden resultaten van een eerdere gerandomiseerde studie met vergelijkbare uitkomstparameters gerepliceerd in een nieuw patiënten cohort, waarbij slechts de helft van de patiënten nodig waren in vergelijking met de voorgaande studie. Ondanks deze succesvolle voorbeelden, erkenning door regelgevende instanties⁴⁹, beschikbare richtlijnen voor onderzoeksprotocollen⁵⁰ en rapportage van klinische onderzoeken⁵¹, blijft de $n = 1$ onderzoeksopzet nog steeds relatief zeldzaam.

Toekomstperspectieven

Immunopathologie

Een van de meest fascinerende aspecten van deze model auto-immuunziekte is de verbeterde tumoroverleving bij patiënten met KCLC-LEMS (**hoofdstuk 4**).^{19-21,24} De ontwikkeling van behandelopties in de tumorimmunologie is de afgelopen jaren exponentieel toegenomen, waarbij checkpoint remmers (“immune checkpoint inhibitors”; ICI) een belangrijk aandeel hebben. Deze klasse geneesmiddelen is gericht op belangrijke regulatoren in de T-cel-immuunrespons, waardoor T-cellen de tumor effectief kunnen aanvallen. Deze behandeling resulteert frequent in auto-immuniteit, mogelijk nog vaker bij KCLC vanwege de immunogeniciteit van deze tumor.^{52,12} Er zijn twee gevallen van LEMS gemeld als mogelijke bijwerking, waarbij de symptomen maanden na de diagnose van de tumor en de start van de ICI-behandeling begonnen.^{53,54} De timing van het begin van symptomen was suggestief voor een oorzakelijke rol van deze behandeling, aangezien gebruikelijke, niet-behandeling gerelateerde paraneoplastische aandoeningen zich voordoen vóórdat de diagnose van KCLC gesteld wordt.

Paraneoplastische ziekten kunnen model staan voor een klinisch relevante anti-tumor immuunrespons indien deze, zoals in het geval van LEMS, naast de secundaire neuromusculaire auto-immuunziekte ook leidt tot een verbeterde overleving door een immunologische aanval op de tumor. Het overlevingsverschil van ongeveer 8 maanden bij KCLC-extensive disease patiënten met LEMS is langer dan het overlevingsvoordeel van 2-3 maanden door ICI-behandeling in deze groep.⁵⁵ Dit suggereert dat deze specifieke paraneoplastische immuunrespons effectiever is dan checkpoint remmers. Begrip van het onderliggende mechanisme van deze verbeterde overleving bij KCLC-LEMS kan bijdragen aan nieuwe behandelopties als immuuntherapie tegen kanker. Dit zou verder onderzoek vergen van een T-cel gemedieerde respons bij KCLC-LEMS en mogelijke macrofaagactivatie als reactie op de tumor. Gedetailleerde immunocytochemie van KCLC tumorbipten of onderzoek met uit patiënten opgekweekte KCLC tumorcellijnen zouden ook kunnen helpen om de anti-tumor immuunrespons in LEMS patiënten te karakteriseren.⁵⁶

Naast een effect van het immuunsysteem zelf op de tumor, is ook een direct effect van ionkanaal (VGCC) blokkerende antistoffen op tumorproliferatie mogelijk. Van LEMS serum is beschreven dat het de calciuminstroom in KCLC-cellijnen via VGCC's verlaagt.^{57,58} In een mechanisme vergelijkbaar met de VGCC-afhankelijke afgifte van acetylcholine op de neuromusculaire overgang, is aangetoond dat VGCC's en calciuminstroom nodig zijn voor exocytose van serotonine uit KCLC cellen. Van serotonine⁵⁹ en calciuminstroom⁶⁰ is aangetoond dat ze de proliferatie van KCLC-cellen *in vitro* beïnvloeden. Al met al zou een direct blokkerend effect van VGCC-antilichamen op calciuminstroom, en dus op exocytose van neuropeptiden die betrokken zijn bij KCLC proliferatie, de verhoogde tumoroverleving bij KCLC-LEMS patiënten kunnen verklaren. Verschillende testen zijn beschikbaar om de proliferatie van tumorcellen *in vitro* te testen. Het toevoegen van serum, gezuiverd IgG of antigeen-specifieke antilichamen van KCLC-LEMS patiënten zou de tumorgroei kunnen remmen door (direct) VGCC's te blokkeren of (langzamer) het aantal en de organisatie van VGCC's op de longtumorcellen te verminderen.

Het patroon van tumorgroei bij KCLC patiënten met en zonder LEMS zou ook kunnen bijdragen aan het ontrafelen van het mechanisme onderliggend aan de verhoogde tumoroverleving. Herhaalde beeldvorming zou een langzamere groeisnelheid van de primaire tumor, een afname van metastasering of beide aan het licht kunnen brengen. Een synergistisch effect van klassieke antitumor behandeling (chemoradiatie), checkpoint remmers en de immuunrespons is ook mogelijk, maar zou wellicht lastiger zijn om aan te tonen.

Klinische verschijnselen

Tijdens interviews met patiënten omtrent het ziekteverloop viel op dat verschillende patiënten met LEMS kortademigheid rapporteerden, soms zelfs chronisch van aard. Tot nu toe is respiratoire spierzwakte bij LEMS vooral gemeld bij acute exacerbaties of bij snelle progressie ten tijde van eerste presentatie. Longfunctieonderzoek zou kunnen helpen bij het screenen op onopgemerkte respiratoire spierzwakte, met name vergelijking van spirometrie in rugligging en zittende/staande positie, evenals maximale snuif-, in- en expiratoire druk.⁶¹ Vanwege frequente co-morbiditeit, met name bij LEMS-patiënten met geassocieerde KCLC of patiënten met een verhoogd risico op luchtweginfecties, zouden waarschijnlijk andere onderzoeken nodig zijn om andere oorzaken van dyspneu te onderscheiden. Echografisch onderzoek van het diafragma kan ook nuttig zijn bij het opsporen van respiratoire spierzwakte, hoewel deze test mogelijk niet gevoelig genoeg is om milde zwakte te detecteren.⁶² Bij patiënten met KCLC kan een losstaande cachectische myopathie daarnaast bijdragen aan deze respiratoire spierzwakte. Hoewel vaak herkend door longartsen (persoonlijke communicatie), is er weinig klinisch onderzoek verricht naar deze ziekte-entiteit, die verder zou kunnen worden bestudeerd door middel van beeldvorming of biopsie van de spieren.

Diagnose

Verbetering van detectie van VGCC antistoffen zou van grote klinische waarde zijn. De huidige radio-immunologische test heeft nog steeds een beperkte gevoeligheid en vereist radioactieve isotopen, gebruik makend van een extract van konijnenhersenen. De test detecteert hiermee alle antistoffen tegen epitopen binnen het complexe VGCC molecuul en kan daarom geen onderscheid maken tussen antistoffen tegen onderdelen van VGCC's met en zonder klinische relevantie.⁶³ Dit is van groot belang gebleken voor patiënten met antistoffen tegen het spanningsafhankelijke kaliumkanaal (VGKC)-complex, bij wie alleen patiënten met daarnaast meer specifieke antistoffen tegen LGI1 of Caspr2 gerelateerde symptomen hadden.⁶⁴ In de afgelopen jaren zijn er meerdere vorderingen gemaakt in celgebaseerde testen voor andere auto-immuunziekten en myasthene syndromen.^{65,66} Deze technieken zouden ook kunnen worden toegepast ter verbetering van een VGCC test. Met behulp van een verfijnde en meer specifieke test zouden VGCC antistoftiters mogelijk nauwer verband kunnen houden met de ziekte-ernst.

Daarnaast zou het nuttig zijn om de diagnostische opbrengst van abnormaal decrement en increment te vergelijken tussen een praktische benadering (pinkmuis en mogelijk toevoeging van de nasalis) en een uitgebreidere benadering (verschillende spieren, zowel na actief aanspannen als bij hoogfrequente stimulatie). Verschillende eerdere studies hebben uitgebreide protocollen beschreven voor het detecteren van increment die nuttig

zijn voor onderzoek, maar wellicht minder realistisch zijn in de dagelijkse praktijk.^{67,68} De sensitiviteit bij onbehandelde patiënten met LEMS beschreven in **hoofdstuk 5** suggereert dat een beperkte benadering, afgestemd op individuele symptomen, een vergelijkbare opbrengst zou kunnen hebben.

Behandeling

Verschillende vragen zijn nog onbeantwoord met betrekking tot symptomatische therapie bij zowel LEMS als MG, waarvoor een seriële n = 1 trial zoals beschreven in dit proefschrift, zeer nuttig zou kunnen zijn. Een eerdere gerandomiseerde gecontroleerde studie bij patiënten met LEMS, uitgevoerd door onze groep, toonde een significant effect van 3,4-diaminopyridine (3,4-DAP) op isometrische spierkracht en CMAP amplitude, maar niet voor pyridostigmine.³⁹ In tegenstelling tot deze bevindingen rapporteren we in dit proefschrift dat 67% van de patiënten subjectief baat heeft bij aanvullende symptomatische behandeling met pyridostigmine (**hoofdstuk 4**). Afgezien van de relatief lage dosis pyridostigmine in deze eerdere studie, zou deze discrepantie gedeeltelijk kunnen worden verklaard door de noodzaak van 3,4-DAP als co-medicatie voor pyridostigmine om een relevant effect te hebben. Pyridostigmine is mogelijk alleen effectief nadat 3,4-DAP voor voldoende afgifte van acetylcholine in de neuromusculaire overgang heeft gezorgd, waarna pyridostigmine de klaring van acetylcholine kan verminderen. Interindividuele variabiliteit van het behandelingseffect met pyridostigmine kan ook verband houden met verschillen in compensatiemechanismen ter optimalisatie van de synaptische transmissie, secundair aan de immuunrespons. Als alternatief kan verder onderzoek naar een mogelijk effect van pyridostigmine een meer functionele uitkomstparameter vergen, gericht op beperkingen die overeenkomen met dagelijkse symptomen, in plaats van een directe parameter zoals spierkracht.

Een bruikbare functionele uitkomstmaat voor het testen van vermoedbare beenspierzwakte bij LEMS-patiënten zou de 'triple timed-up-and-go test' (3TUG) kunnen zijn, zoals onlangs is toegepast in een onderzoek wat (opnieuw) de werkzaamheid van 3,4-DAP heeft aangetoond.⁶⁹ Aanvullende analyse van deze studie toonde aan dat de 3TUG reproduceerbaar en betrouwbaar is als specifieke uitkomstmaat voor patiënten met LEMS en responsief is voor verandering in ziekte-ernst.⁷⁰ Alternatieve functionele uitkomstmaten zijn de zes minuten looptest⁷¹⁻⁷³ of de 'Timed Up and Down Stairs test'⁷⁴ (TUDS). In ons centrum zijn reeds data verkregen die deze functionele uitkomstmaten vergelijken met andere algemene of myasthenie-specifieke uitkomsten (niet-gepubliceerde gegevens), die kunnen worden gebruikt voor een berekening van steekproefomvang. Dit proefschrift rapporteert ook patiënt-gerapporteerde uitkomstmaten (bekend als 'patient reported outcome measures' of PROMs, **hoofdstuk 4**) voor het beschrijven van langdurige functionele beperkingen, zoals de gemodificeerde Rankin Scale. Deze uitkomstmaten kunnen zeer relevant zijn voor ziektefluctuaties op lange termijn, maar lijken niet gevoelig genoeg voor de korte termijn of relatief kleine fluctuaties in ziekte-ernst. Dit zou het gebruik van deze PROMs in medicatie trials bemoeilijken, behalve bij lange termijn studies zoals naar het effect van immunosuppressiva. Verdere exploratie van onze gegevens kan wellicht vaststellen welke korte termijn ziektemarkers verband houden met PROMs op de lange termijn en daarmee het meest nuttig zouden zijn als surrogaatmarker voor ziektefluctuaties.

Gerandomiseerde gecontroleerde onderzoeken gericht op het aantonen van een symptomatisch effect van kortwerkende medicatie zijn moeilijk uitvoerbaar bij zeldzame ziekten zoals LEMS. Zoals we echter hebben aangetoond bij patiënten met MG in **hoofdstuk 7**, kan een seriële n = 1 trial zeer effectief zijn in het aantonen van een significant effect van een kortwerkende symptomatische behandeling bij slechts een beperkt aantal patiënten. Een seriële n = 1 trial bij patiënten met LEMS waarin pyridostigmine wordt vergeleken met placebo, zou een goed passende studieopzet kunnen zijn om deze aanvullende behandeling verder te bestuderen. Ook kan met deze opzet de werkzaamheid van 3,4-diaminopyridine bij patiënten met MG onderzocht worden, wat ook anekdotisch is beschreven.^{45,46}

Behandeling van patiënten met congenitale myasthenie met efedrine laat een geleidelijk toenemend effect zien van dit medicijn gedurende maanden, in plaats van een direct effect zoals aangetoond in onze seriële n-of-1 trial in AChR MG (**hoofdstuk 7**).⁷⁵ Voor de beoordeling van het langetermijneffect van behandeling met efedrine bij patiënten met auto-immuun MG zou een langere follow-up nodig zijn, maar er zouden ook meer patiënten nodig zijn dan in onze trial. Een toename van de steekproefomvang in vergelijking met onze seriële n = 1 trial is ook nodig vanwege variatie van spierzwakte gedurende maanden, als onderdeel van het natuurlijke ziekteverloop. Lange termijn gegevens zouden kunnen verduidelijken of het volledige effect van efedrine direct symptomatisch is (bijvoorbeeld gerelateerd aan vermoeidheid), of langduriger van aard, zoals bijvoorbeeld gerelateerd aan een rol bij innervatie of stabilisatie van de neuromusculaire overgang.^{76,77}

Slotopmerkingen

Een auto-immuun respons tegen antigenen op de neuromusculaire overgang kan leiden tot zeldzame neuromusculaire ziekten, gepaard gaande met klinisch goed gedefinieerde ziektegroepen, bij al deze ziekten resulterend in fluctuerende spierzwakte. De anti-tumor immuunrespons in patiënten met een KCLC, en de specifieke immunogenetische achtergrond in patiënten zonder tumor, lijken beiden een auto-immuunrespons uit te kunnen lokken die leidt tot de ziekte LEMS. Hierbij treedt hetzelfde spectrum van klinische verschijnselen op. Deze zeldzame maar goed gedefinieerde klinische entiteit kan ons nog veel leren over auto-immuniteit en paraneoplastische ziektemechanismen. De verhoogde tumoroverleving bij KCLC-LEMS patiënten beschreven in dit proefschrift, zou de basis kunnen vormen voor een ander model in het snel ontwikkelend veld van kankerimmunotherapie. Inzicht in de triggers voor het opwekken van deze krachtige immuunrespons en in hoe we de onderliggende mechanismen kunnen manipuleren, zou onze kennis over auto-immuniteit en tumorimmunologie enorm kunnen vergroten. Gedetailleerd klinisch onderzoek zal zeer belangrijk blijven voor een correcte diagnose en typering van subgroepen, aangezien dit een noodzakelijke voorwaarde blijft voor het bestuderen van de pathofysiologie en de anti-tumor immuunrespons binnen deze zeldzame, maar anderszins zeer informatieve, auto-immuunziekten van de neuromusculaire overgang.