

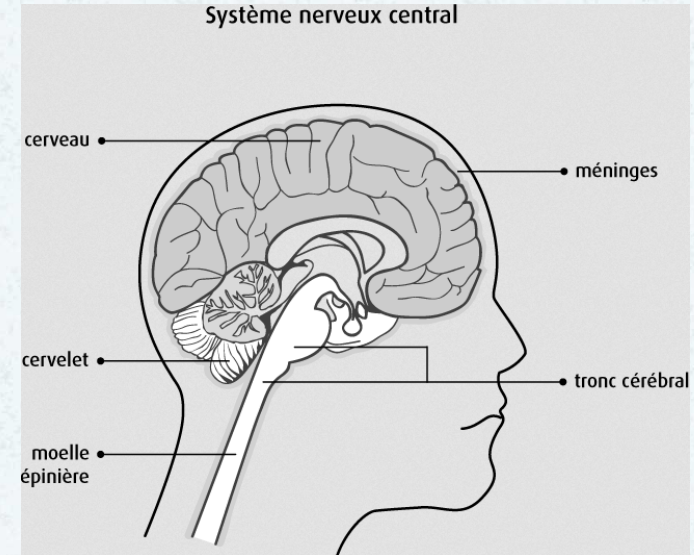
# Spécificité des dots onconeuronaux dans le diagnostic des syndromes neurologiques paranéoplasiques

## Diagnostic yield of commercial immunodots to diagnose paraneoplastic neurologic syndromes.

Déchelotte B, Muñiz-Castrillo S, Joubert B, Vogrig A, Picard G, Rogemond V, Pinto AL, Lombard C, Desestret V, Fabien N, Honnorat J  
J. Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm. 2020 Mar 13;7(3):e701.  
doi: 10.1212/NXI.0000000000000701. Print 2020 May.

# Syndromes neurologiques paranéoplasiques (SNP)

- Ensemble des manifestations neurologiques en lien avec le cancer mais non dues à la tumeur elle-même
- Rares !! 0,01% des cancers
- Origine auto-immune +++



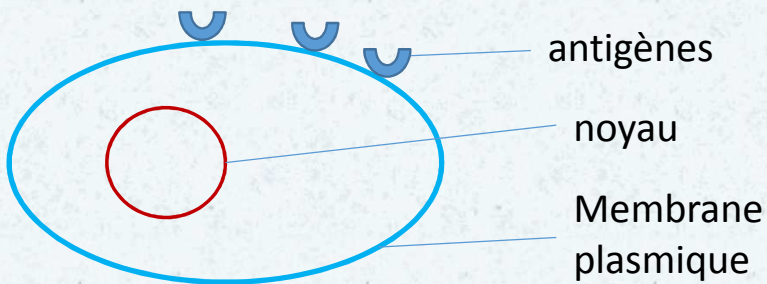
- Diversité:
  - Cibles antigéniques
  - Cancers associés
  - Signes cliniques

# Syndromes neurologiques paranéoplasiques (SNP)

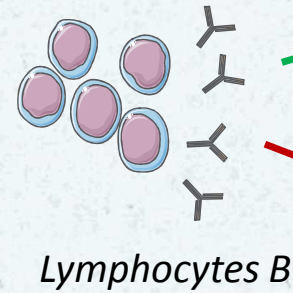
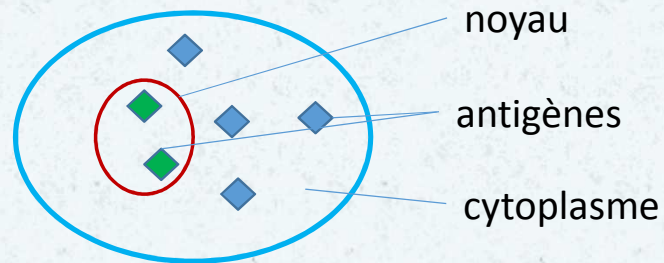
- Physiopathologie :
  - Expression ectopique/surexpression antigénique par la tumeur
  - « Débordement » de l'immunité anti-tumorale

**2 groupes**

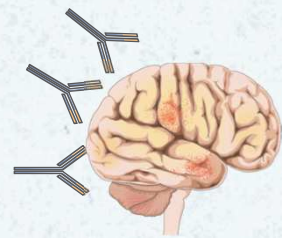
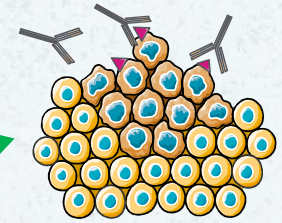
Cibles membranaires



Cibles intracellulaires



Immunité anti-tumorale

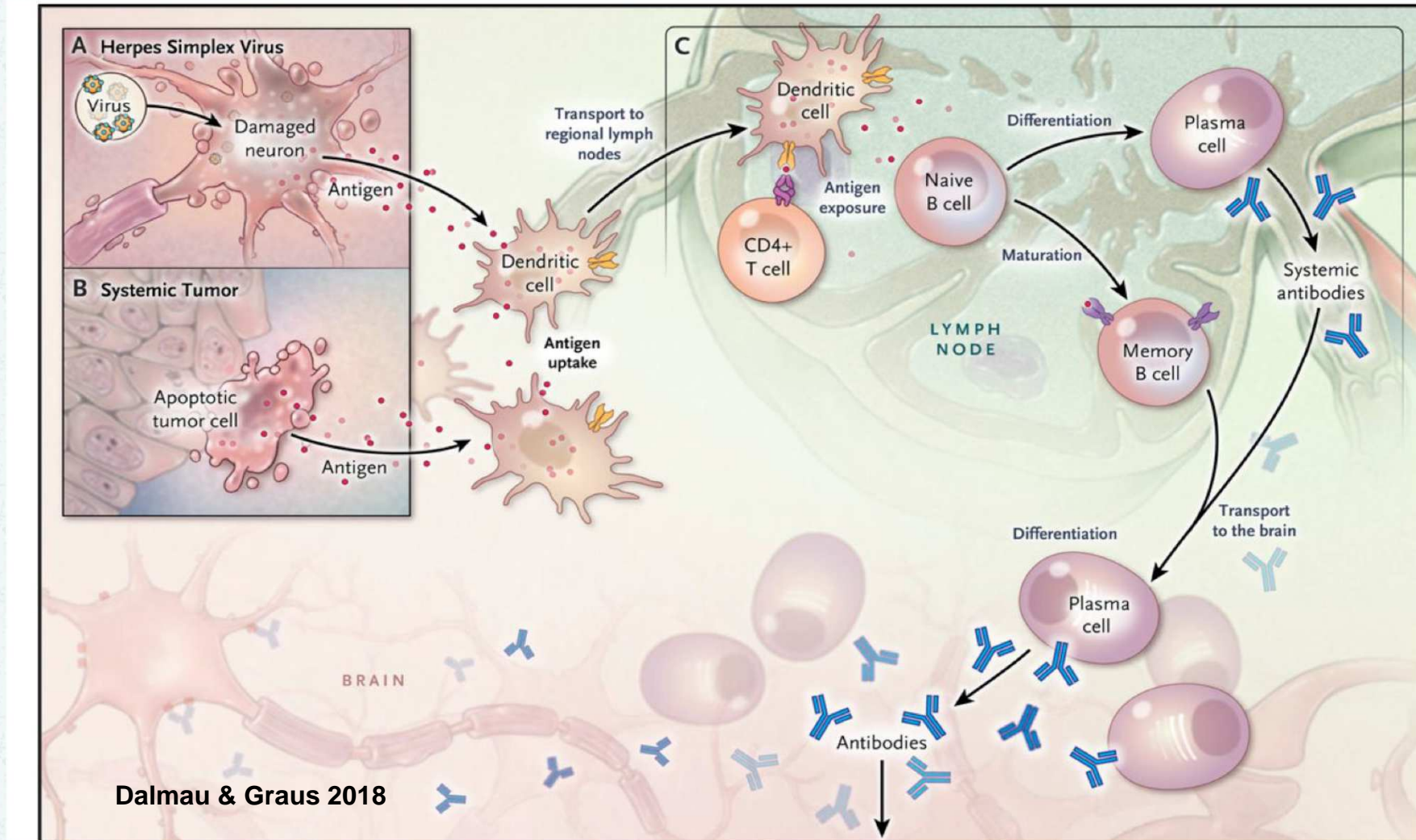


SNP

# Les encéphalites limbiques auto-immunes: origine des anticorps

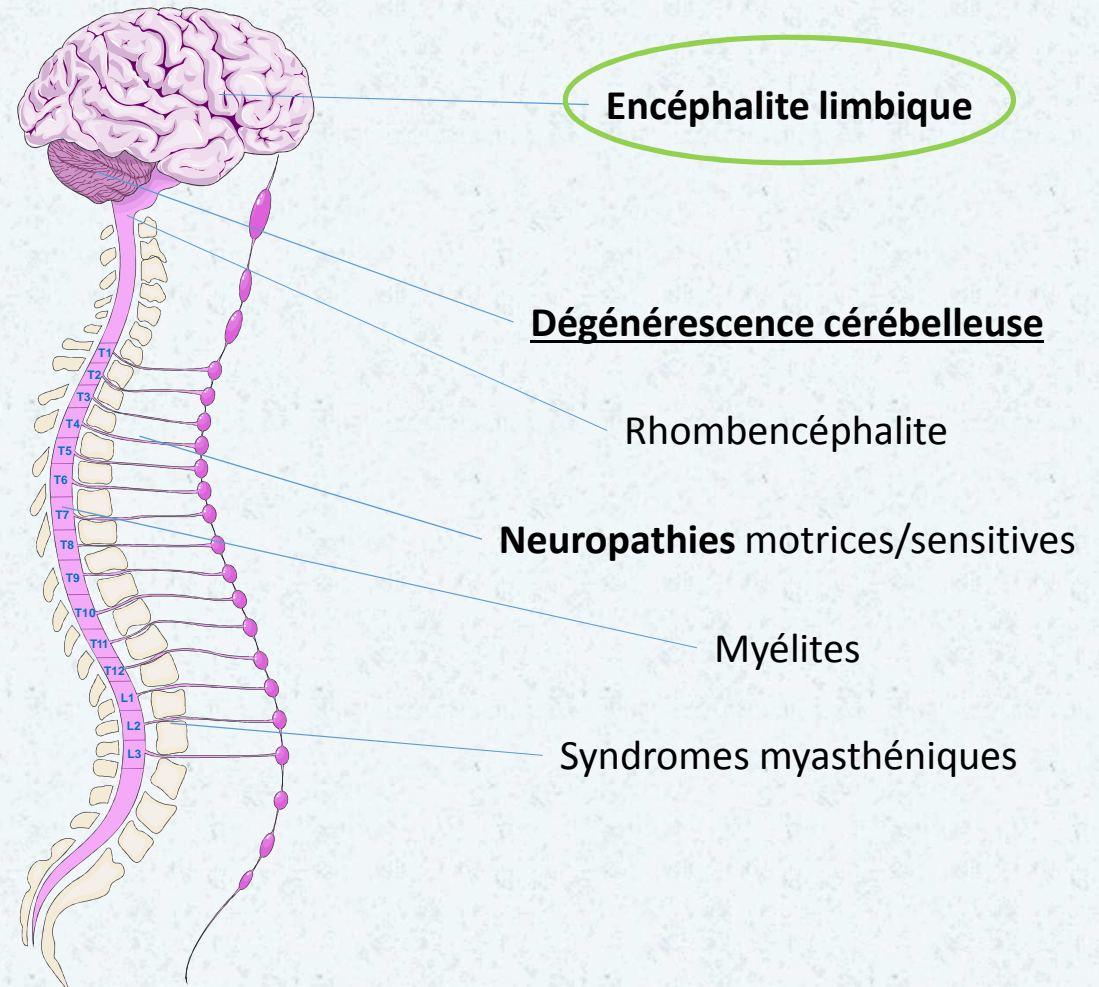
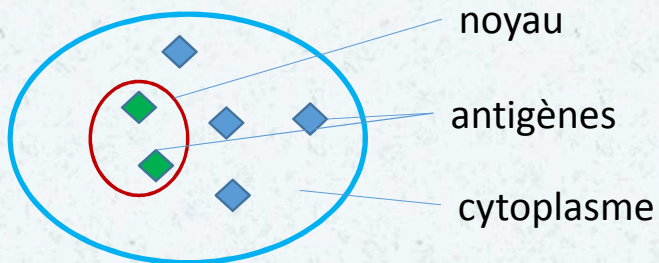
Post-infectieuse  
ou tumorale

Prédispositions  
génétiques



# SNP à cibles intracellulaires

- Presque toujours paranéoplasiques
- Rôle pathologique de l'anticorps = ?
- Médiation cellulaire > humorale
- Pronostic réservé à sombre
- Présence des antigènes dans le cervelet (cellules de Purkinje)



# SNP - Anticorps

## SNP à cibles membranaires

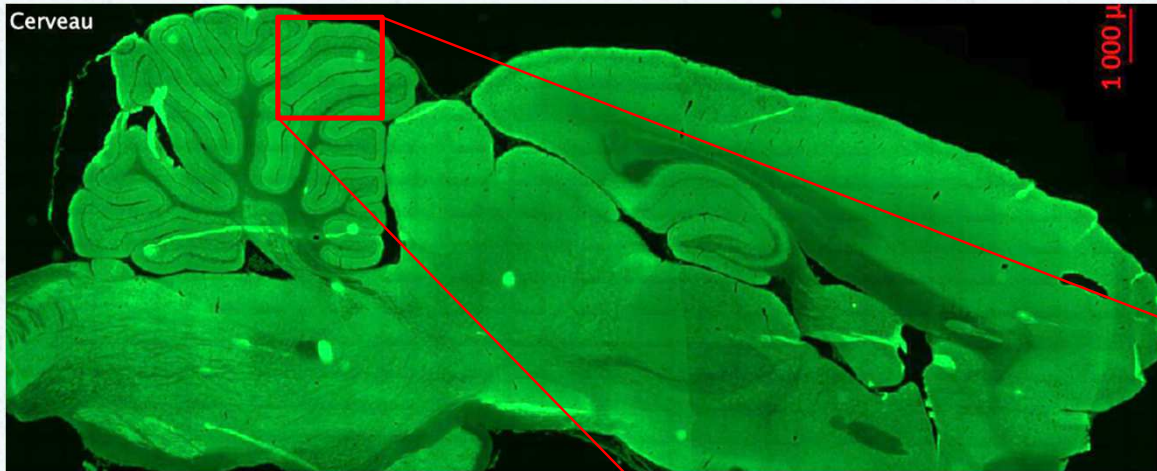
- NMDAr
- Caspr2
- LGI1
- DPPX
- GABAr (A et B)
- GFAP
- mGluR1, mGluR5
- Homer 3
- DOPAr
- AK5

## SNP à cibles intracellulaires

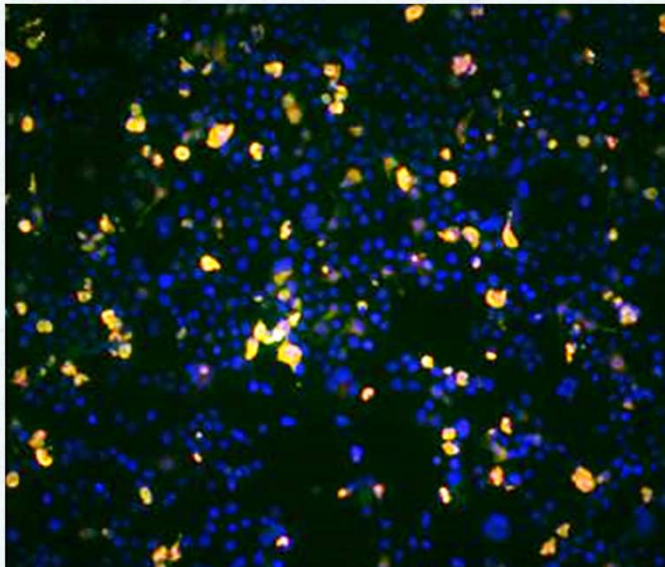
- Yo
- Hu
- Ri
- MA2
- CV2
- DNER
- SOX1
- Amphiphysin
- GAD65
- Zic4

 « anti-onconeuroaux »

## SNP – Diagnostic

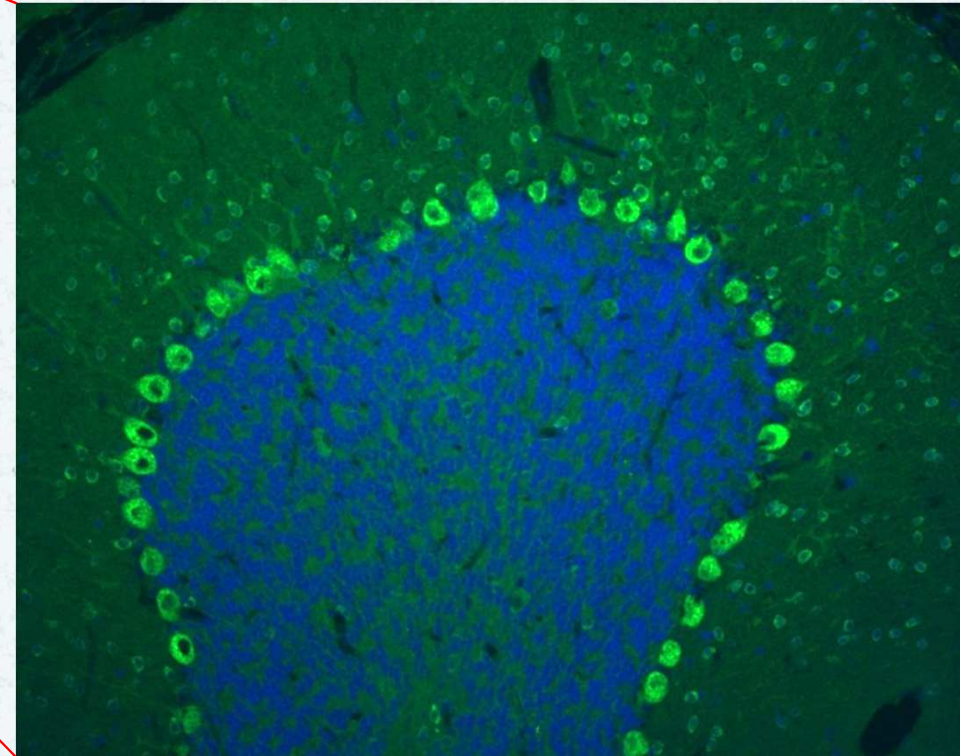


- Immunofluorescence indirecte (IFI) sur cerveau de rat
- Tests spécifiques (Cell Based Assay (CBA) ou western blot (WB))



Cell based assay

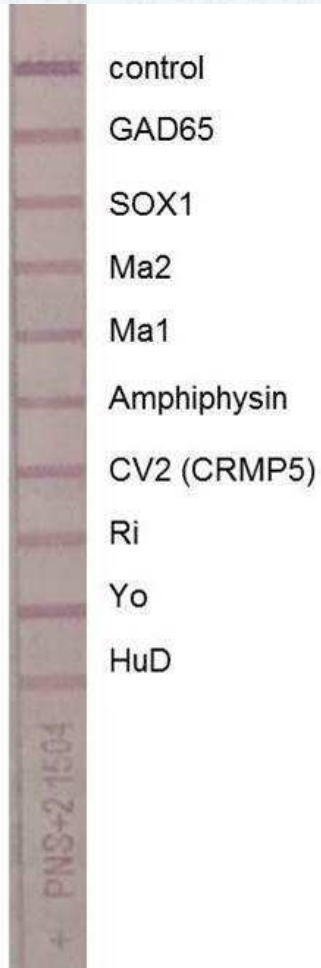
Anti-Yo



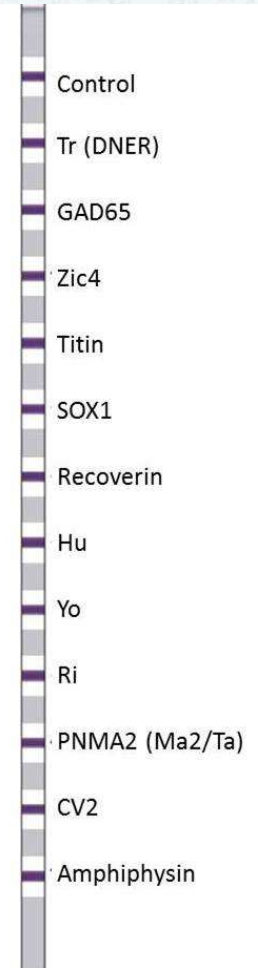
## SNP à cibles intracellulaires - Immunodot

# Immunodot

- Bandelettes coâtées avec les antigènes recombinants
- Incubation avec sérum patient → révélation → scan
- Rapidité, diversité, facilité
- 2 fabricants :
  - Ravo Diagnostika
  - Euroimmun



RAVO PNS+2 Immunodot



Euroline Paraneoplastic Neurological Syndromes 12 Ag



## Démarche diagnostique et Etude

- Suspicion SNP à cible intracellulaire :
  - Screening par immunodot: RAVO/ EUROIMMUN
  - Confirmation des positifs en IFI sur cerveau de rat
  - 3<sup>ème</sup> test si discordance (CBA, WB)

Nombre de demandes : 1660 de janvier 2016 à mai 2017 et 3640 de juillet 2017 à novembre 2018

Analyse rétrospective de tous les immunodots positifs: 5300 sérums testés en immunodot

Immunodot PNS+2 (Ravo): 1660 demandes 2016 -2017

130 positifs (7,8%)

Immunodot EUROLINE PNS 12 Ag (Euroimmun) : 3640 demandes 2017 -2018

200 positifs (5,5%)

Calcul des taux de confirmation pour chaque antigène: dot vs IFI/CBA/WB

Analyse des intensités de positivité

Recueil des données cliniques (immunodot Euroimmun)

## Résultats – Taux de confirmation

<b>PNS+2 blot (Ravo Diagnostika)</b>	Positive results	Confirmed (%)	<b>EUROLINE PNS12 (Euroimmun)</b>	Positive results	Confirmed (%)
Yo	55	<b>4 (7.2)</b>	Yo	51	<b>3 (5.8)</b>
SOX1	47	22 (46.8)	SOX1	72	28 (38.8)
Hu	17	<b>15 (88.2)</b>	Hu	20	<b>13 (65.0)</b>
CV2/CRMP5	9	5 (55.5)	CV2/CRMP5	17	4 (23.5)
Ma2	8	5 (62.5)	Ma2	24	4 (16.6)
Amphiphysin	5	0 (0.0)	Amphiphysin	16	1 (6.2)
Ri	2	1 (50.0)	Ri	6	3 (50.0)
GAD65	3	1 (33.3)	GAD65	1	0 (0.0)
Ma1	6	0 (0.0)	Tr/DNER	4	0 (0.0)
			Zic4	10	2 (20.0)
<b>Total</b>	<b>152</b>	<b>53 (34.8)</b>	<b>Total</b>	<b>221</b>	<b>58 (26.2)</b>

**Variabilité des confirmations selon l'anticorps**

## Résultats – Seuils d'intensité

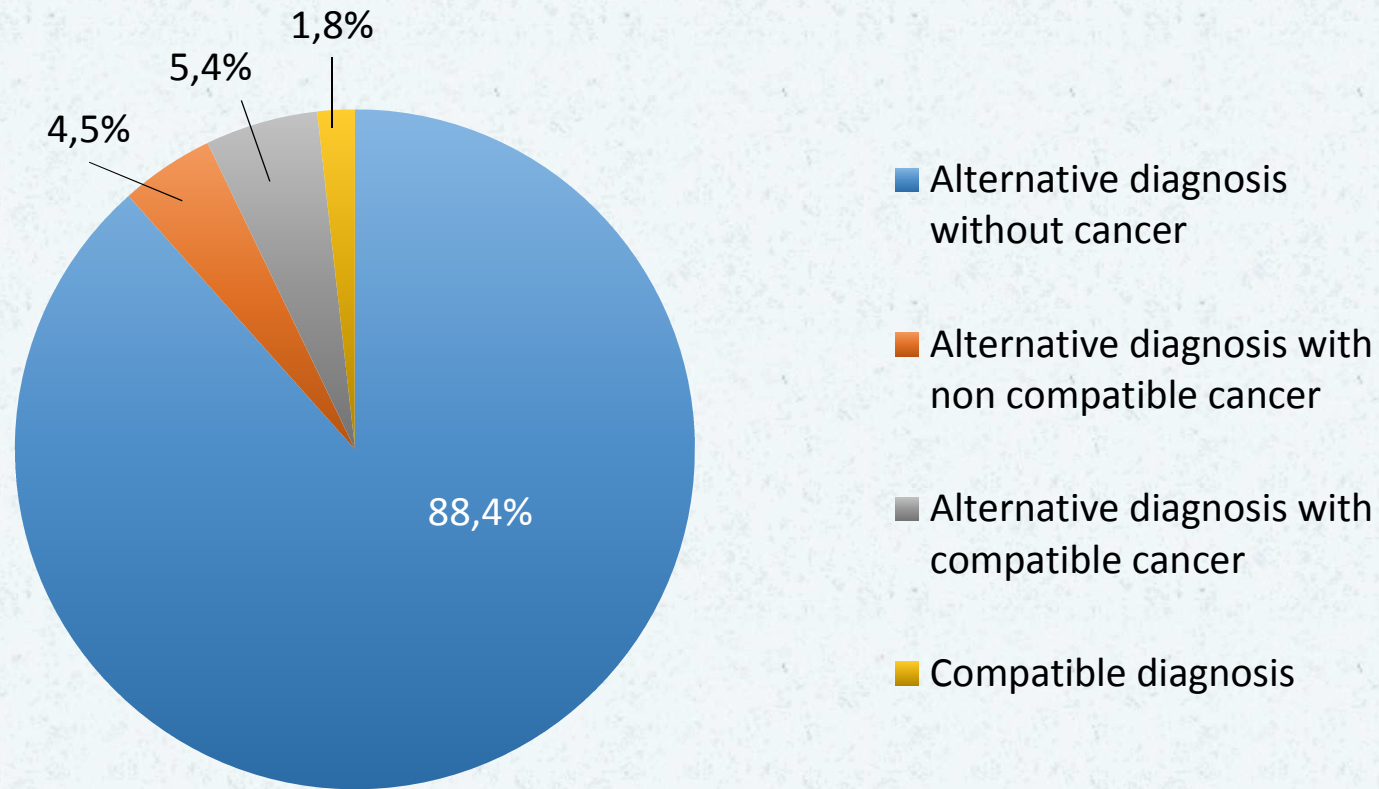
PNS+2 blot (ravo Diagnostika), positivity (confirmed)					
Band intensity	[0-9]	[10-19]	[20-29]	[30-49]	≥50
Yo	4 (0)	3 (0)	12 (0)	14 (0)	21 (4)
SOX1	5 (1)	3 (2)	9 (1)	7 (2)	16 (10)
Hu	0	0	0	3 (2)	10 (10)
CV2/CRMP5	2 (2)	0	0	2 (1)	2 (1)
Ma2	1 (1)	0	0	1 (1)	3 (2)
Amphiphysin	0	2 (0)	1 (0)	2 (0)	0
GAD65	0	0	0	1 (0)	2 (1)
Ri	0	0	0	1 (0)	1 (1)
Ma1	0	0	1 (0)	3 (0)	0

EUROLINE PNS 12 Ag (Euroimmun), positivity (confirmed)				
Band intensity	[8-14]	[15-35]	[36-70]	≥71
Yo	3 (0)	21 (0)	22 (0)	5 (3)
SOX1	7 (0)	36 (9)	21 (10)	10 (9)
Hu	0	5 (0)	1 (0)	12 (11)
CV2/CRMP5	4 (0)	7 (1)	1 (0)	5 (3)
Ma2	5 (0)	14 (1)	2 (0)	3 (3)
Amphiphysin	5 (0)	6 (0)	3 (0)	2 (1)
GAD65	0	0	1 (0)	0
Ri	3 (0)	1 (1)	1 (1)	1 (1)
Tr/DNER	0	3 (0)	0	1 (0)
Zic4	0	2 (0)	3 (2)	5 (0)

Variabilité des intensités selon l'anticorps

## Résultats – Données cliniques

Recueil des données des patients avec immunodot Euroimmun non confirmé (n=112)



**Diagnostic alternatif majoritaire**

Non-confirmed staining (n)	Clinical presentation (n, %)	Cancer* (n)	Final diagnosis (n)
Yo (41)	Cerebellar syndrome (5; 12.2%)	No	Creutzfeldt-Jakob disease (1) Post-infectious cerebellitis (1) Cerebellar multisystem atrophy (1) Alcoholic cerebellar degeneration (1) Barbiturates overuse (1)
	Various phenotypes (36; 87.8%)	Lung adenocarcinoma (1) No (35)	Stroke Polyneuropathies (7) Other neuromuscular disorders (3) Stroke (2) Epilepsy (3) Infectious meningoencephalitis (3) Degenerative dementia/parkinsonism (3) ALS (3) Metabolic-toxic CNS disorders (3) Brain primary tumors (2) MS (1) Acute transverse myelitis (1) Bickerstaff's encephalitis (1) Anti-NMDAR encephalitis (1) Others (2)
SOX (36)	LEMS (1; 3%)	No	Non-paraneoplastic LEMS
	Cerebellar syndrome (5; 13%)	No	Post-infectious cerebellitis (1) Cerebellar multisystem atrophy (2) Hereditary ataxia (1) Idiopathic late-onset cerebellar ataxia (1)
	Various phenotypes (30; 84%)	Lung adenocarcinoma (2)	Brain Metastasis Polyneuropathy due to chemotherapy
		Prostate (1)	Acute transverse myelitis
		SCLC (2)	Leukoencephalopathy after radiotherapy (1) Anti-GABAB-R encephalitis (1)
Thymoma (1)		Morvan's syndrome	
No (25)	Polyneuropathies (6) ALS (4) Infectious meningoencephalitis (2) Stroke (2) Metabolic-toxic CNS disorders (1) Degenerative dementia/parkinsonism (1) Epilepsy (1) Brain primary tumors (1) ADEM (1) Neurosarcoidosis (1) Anti-GFAP meningoencephalitis (1) Others (3)		

Non-confirmed staining (n)	Clinical presentation (n, %)	Cancer* (n)	Final diagnosis (n)
<b>Ma2 (17)</b>	Encephalitis with brainstem, diencephalic and limbic involvement (0)		
	Various phenotypes (17, 100%)	Lung adenocarcinoma (1)	Meningeal carcinomatosis
		SCLC (1)	Attention deficit
		No (15)	Polyneuropathies (4) Autoimmune CNS disorder (2) Degenerative dementia/parkinsonism (2) Psychiatric disorders (2) ALS (1) Metabolic-toxic CNS disorders (1) Idiopathic late-onset cerebellar ataxia (1) Others (2)
<b>Amphiphysin (10)</b>	Stiff-person syndrome (0)		
	Cerebellar syndrome (2; 20%)	No	Cerebellar multisystem atrophy (1) Barbiturates overuse (1)
	Neuropathy (4; 40%)	No	Metabolic-toxic polyneuropathies (2) CIDP (2)
	Various phenotypes (4; 40%)	No	MS (1) CNS vasculitis (1) Amyloid angiopathy (1) Psychotic depression (1)
<b>CV2/CRMP5 (10)</b>	Encephalomyelitis, sensory neuronopathy (0)		
	Limbic encephalitis (1; 10%)	No	Anti-LGI1 encephalitis (1)
	Various phenotypes (9; 90%)	Uterine cancer (1)	ALS
		Thymoma (1)	Morvan's syndrome
	No (5)	ALS (2) Anti-NMDAR encephalitis (1) Stroke (1) MS (1) Degenerative dementia/parkinsonism (1) Diabetic polyneuropathy (1)	
<b>Hu (6)</b>	Encephalomyelitis, sensory neuronopathy (0)		
	Limbic encephalitis (1; 17%)	No	Anti-LGI1 encephalitis
	Cerebellar syndrome (1; 17%)	No	Anti-GAD cerebellar ataxia
	Various phenotypes (4; 66%)	SCLC (1)	Leukoencephalopathy after radiotherapy
No (3)		Stroke (1) ALS (1) MS (1)	

<b>Non-confirmed staining (n)</b>	<b>Clinical presentation (n, %)</b>	<b>Cancer* (n)</b>	<b>Final diagnosis (n)</b>
<b>Tr/DNER (4)</b>	Cerebellar syndrome (0)		
	Various phenotypes (4; 100%)	No	Polyneuropathy (1) Metabolic-toxic CNS disorders (1) Other (2)
<b>Ri (2)</b>	Opsoclonus-myoclonus, brainstem encephalitis, cerebellar syndrome (0)		
	Various phenotypes (2; 100%)	No	CIDP (2)
<b>Zic4 (2)</b>	Cerebellar syndrome (0)		
	Various phenotypes (2; 100%)	SCLC (1) Lung cancer without histology (1)	Anti-GABAB-R encephalitis (1) Paraneoplastic limbic encephalitis
<b>GAD (1)</b>	Cerebellar syndrome (1)	No	Anti-GAD cerebellar ataxia

## Discussion/ Conclusion

- **Taux de confirmation dot positifs/ technique d'identification faibles :**
  - **Conformation des protéines et épitopes**
  - **Nature de la protéine? CDR2L pour les anti-Yo (Kråkenes et al., 2019)**
- **Immunodots et Intensité des réactions:**
  - **Faibles intensités fréquentes chez des patients dysimmunitaires (Picard et al., 2016)**
  - **Combiné aux techniques plus spécifiques**
  - **Choix des témoins**
  - **Choix des seuils fabricants à adapter**
- **Clinique :**
  - **Evaluation clinique pour pertinence des demandes**