

Využití stanovení volných láhkých řetězců imunoglobulinů v diagnostice sclerosis multiplex

Mgr. Ľubica Jesenská¹, MUDr. Daniel Čierny, PhD.¹, MUDr. Lenka Plíková¹, prof. MUDr. Dušan Dobrota, CSc.²

¹Ústav klinickej biochémie Univerzitnej nemocnice Martin a Jesseniovej LF UK, Martin

²Ústav lekárskej biochémie Jesseniovej LF UK, Martin

Práca sa zaoberá stručným prehľadom markerov používaných v laboratórnej diagnostike sclerosis multiplex. Zamerali sme sa na stanovenie volných láhkých reťazcov imunoglobulínov a jeho využitie v procese diagnostiky sclerosis multiplex.

Kľúčové slová: sclerosis multiplex, diagnostika, mozgovomiechový mok, voľné ľahké reťazce.

Application of determination of free light chains of immunoglobulins in the diagnosis of multiple sclerosis

This work gives a brief review of the markers used in the laboratory diagnosis of multiple sclerosis. We focus on the determination of free light chains of immunoglobulins and its possible application in the process of diagnosis of multiple sclerosis.

Key words: multiple sclerosis, diagnosis, cerebrospinal fluid, free light chains.

Úvod

Sclerosis multiplex (SM) je chronické, autoimunitné, zápalové a demyelinizačné ochorenie centrálneho nervového systému (CNS), v rozvoji ktorého majú dôležitú úlohu imunitné mechanizmy. Ochorenie má chronický priebeh a je charakterizované progresívnym nárastom neurologického deficitu. Patrí medzi najčastejšie neurologické ochorenia mladých dospelých, ktoré vedie k signifikantnej invalidizácii postihnutej osoby (Compton et Coles, 2008). Etiológia ochorenia nie je úplne presne objasnená, ale predstavuje kombináciu genetických faktorov, faktorov vonkajšieho prostredia a stavu imunitného systému jedinca (Klímová, 2006).

Včasná, správna a rýchla diagnostika je zásadným faktorom pre zahájenie liečby, ktorá môže významne ovplyvniť kvalitu života pacienta. Stanovenie volných ľahkých reťazcov imunoglobulínov by mohlo byť nápomocné v procese diagnostiky sclerosis multiplex.

Laboratórna diagnostika sclerosis multiplex

V roku 2001 boli vypracované diagnostické kritériá SM, známe ako McDonaldove (McDonald et al., 2001). McDonaldove kritériá boli revidované v roku 2005 a následne v roku 2010 (Polman et al., 2011).

Diagnostika SM je založená na dôkladnom anamnestickom rozboře, klinicko-neurologickom náleze, dôkaze demyelinizačných lézií typických pre SM pri vyšetrení mozgu alebo miechy magnetickou rezonanciou (MRI) a vyšetrení mozgovomiechového moku (CSF), fakultatívne na vyšetrení multimodálnych evokovaných potenciálov a ďalších vyšetreniach pri diferenciálno-diagnostických nejasnostiach (Piňha, 2013; Havrdová, 2013). Cieľom diagnostického procesu je objektívne dokázať disemináciu zápalového procesu v priestore a v čase, a to buď na základe klinických príznakov alebo v kombinácii s MRI nálezom. V CSF sa pozoruje zvýšený index imunoglobulínu G (IgG) a/alebo prítomnosť

oligoklonálnych pásov (OCB) IgG (Freedman et al., 2005).

Patologické reakcie organizmu a zmeny v CNS sa odrážajú aj v zložení CSF. Analýza CSF je jednou zo základných vyšetrovacích metód v neurológii a má oproti vyšetreniu krvi niektoré výhody. CSF sa nachádza v obmedzenom a presne definovanom priestore komorového systému mozgu a medzi obalmi mozgu a miechy. Výnimočná autonómia likvorového kompartmentu umožňuje sledovať príslušné imunitné a metabolické procesy v CNS bez výraznejšieho ovplyvnenia inými orgánmi (Kelbich et al., 2009).

Dôkaz prítomnosti intratekálnej syntézy imunoglobulínov je užitočný pre potvrdenie diagnózy SM. Za definitívny dôkaz intratekálnej syntézy príslušného imunoglobulínu sa považuje vyšetrenie CSF a séra izoelektrickou fokusáciou (IEF) (Freedman et al., 2005; Gaško, 2009; Sobek et al., 2012). Prítomnosť intratekálnej syntetizovaného IgG potvrdzuje prítomnosť zápalového procesu v CNS.

KORESPONDENČNÁ ADRESA AUTORA:

Mgr. Ľubica Jesenská, lujesenska@unm.sk

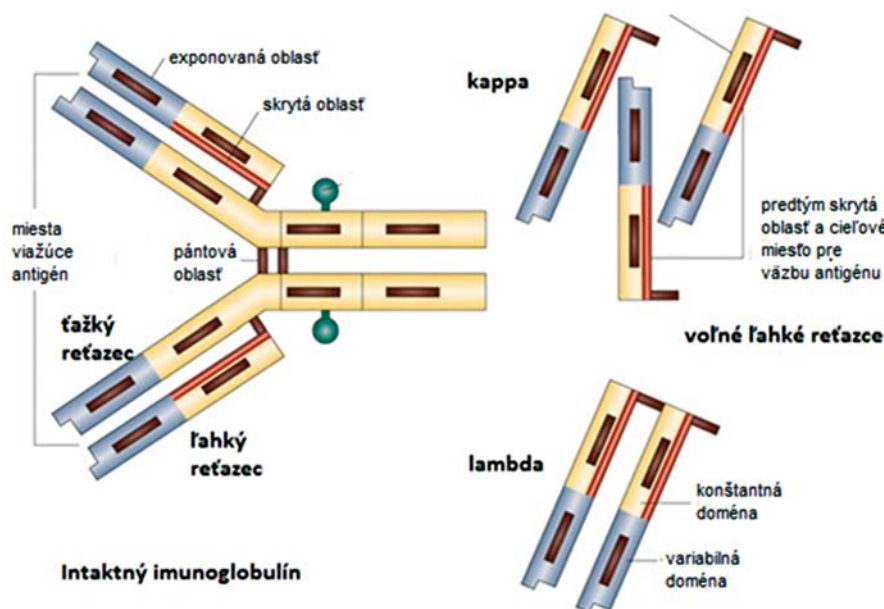
Ústav klinickej biochémie, Univerzitná nemocnica Martin, Kollárova 2, 036 59 Martin

Cit. zkr: Neurol. praxi 2018; 19(1): 53–58

Článok prijat redakci: 3. 5. 2016

Článok prijat k publikaci: 15. 8. 2016

Obr. 1. Štruktúra ťažkého a ľahkého reťazca intaktného imunoglobulínu a voľných ľahkých reťazcov kappa a lambda. Všetky triedy imunoglobulínov majú molekulu zloženú z dvoch ľahkých a dvoch ťažkých polypeptidových reťazcov, ktoré sú spojené v pántovej oblasti. Ľahké reťazce sú dvojakeho typu kappa a lambda a vyskytujú sa v molekulách všetkých tried imunoglobulínov. Ťažké reťazce sú špecifické pre každú triedu imunoglobulínov. Variabilná doména každého ľahkého reťazca a párového ťažkého reťazca vytvára väzobné miesto pre antigén. Voľné ľahké reťazce kappa existujú vo forme monomérov a voľné ľahké reťazce lambda vo forme kovalentne viazaného diméru (upravené podľa Bradwell, 2010)



Voľné ľahké reťazce kappa a lambda

Molekuly imunoglobulínov sú zložené z dvoch identických ťažkých reťazcov, ktoré určujú triedu imunoglobulínov (α , δ , ϵ , γ alebo μ) a z dvoch identických ľahkých reťazcov (κ alebo λ). Každý ľahký reťazec je kovalentne viazaný na ťažký reťazec a dva ťažké reťazce sú vždy kovalentne spojené v pántovej oblasti. U zdravých jedincov sa vyskytuje väčšina ľahkých reťazcov v sére vo viazanej forme. Nepatrná časť ľahkých reťazcov sa nachádza v sére zdravých jedincov ako voľné ľahké reťazce (FLC) (obrázok 1).

Molekulová hmotnosť obidvoch ľahkých reťazcov je okolo 22,5 kD. Voľné ľahké reťazce kappa (κ -FLC) existujú prevažne vo forme monomérov a voľné ľahké reťazce lambda (λ -FLC) vo forme kovalentne viazaného diméru s molekulovou hmotnosťou asi 45 kD. Táto skutočnosť je príčinou odlišnej rýchlosti glomerulárnej filtrácie κ -FLC a λ -FLC a môže objasniť rozdiely v pomere κ -FLC/ λ -FLC v sére, ktorý je 0,625. U viazaných ľahkých reťazcov je tento pomer rovný hodnote 2,0. Ľahké reťazce sú syntetizované bunkami B lymfocytov a začlenené do molekuly imunoglobulínu počas vývoja B lymfocytov. Oproti ťažkým reťazcom sú produkované v približne 40 % nadbytku a nie všetky ľahké reťazce sú pri

vzniku molekuly imunoglobulínu spárované s ťažkými reťazcami. Časť sa vyskytuje v sére ako voľná frakcia (Bradwell, 2010).

Stanovenie voľných ľahkých reťazcov imunoglobulínov a jeho význam

V posledných rokoch sa intenzívne študuje úloha stanovenia voľných ľahkých reťazcov v CSF v procese diagnostiky SM, kde je známa vysoká korelácia s oligoklonálnou syntézou imunoglobulínov. Vyskytujú sa prípady, pri ktorých je prítomná intratekálna syntéza voľných ľahkých reťazcov u pacientov so sclerosis multiplex, u ktorých nebola dokázaná intratekálna syntéza oligoklonálnych IgG. Stanovenie FLC by malo byť v takýchto prípadoch súčasťou diagnostického procesu (Sobek et al., 2012). Preto sa odporúča zamerať sa na vyšetrovanie intratekálnej syntézy voľných ľahkých reťazcov a stanovenie koncentrácií κ -FLC a λ -FLC u pacientov s podozrením na SM, hlavne pri negativite oligoklonálnych IgG protilátok (Kaplan et al., 2010).

Význam voľných ľahkých reťazcov imunoglobulínov v diagnostike sclerosis multiplex bol prvýkrát opísaný koncom 70. rokov. Na stanovenie FLC sa používali rozličné imunochemické metódy, z ktorých väčšina bola založená na

elektroforetických technikách, ako imunoelktroforéza, SDS-PAGE, agarózová elektroforéza, izoelektrofokúsacia. Tieto metódy sú v podstate kvalitatívne a ich špecificita a senzitivita nie je často štandardizovaná. Ich použitie v rutinej analýze je limitované technickou náročnosťou a je tak často obmedzené na vysoko špecializované laboratória. Na kvantitatívne stanovenie FLC boli neskôr vyvinuté rádioimunoanalýza a nefelometria (Kaplan et al., 2010). V súčasnosti sa na kvantitatívne stanovenie FLC v diagnostike sclerosis multiplex využívajú nefelometrické a imunoturbidimetrické metódy. Hoci je senzitivita nefelometrického stanovenia FLC vysoká (97 %), jeho špecificita je nižšia v porovnaní s komerčnými OCB testami (Presslauer et al., 2014; Katsavos et al., 2013). Senzitivita stanovenia oligoklonálnych pásov izoelektrickou fokusáciou v CSF je u pacientov so SM viac ako 95 % (Freedman et al., 2005).

V súčasnosti sa stanovujú voľné ľahké reťazce imunochemickou analýzou, pri ktorej sa využíva špecifická protilátka. Vhodným výberom antigénu bola postupne pripravená unikátna protilátka proti vnútornému epitopu molekúl ľahkého reťazca, ktorá umožňuje kvantitatívne, vysoko špecifické stanovenie s využitím nefelometrie alebo turbidimetrie. Špecifická väzba na vnútorný epitop molekúl ľahkých reťazcov, ktorý je v celkovej molekule neprístupný, vylučuje skříženú reaktivitu s ľahkými reťazcami viazanými v molekule intaktného imunoglobulínu. Dokáže tak spoľahlivo odlíšiť skutočne voľné ľahké reťazce (Bradwell, 2010).

Na trhu je dostupných niekoľko testov na kvantitatívne stanovenie FLC v sére – turbidimetrický test Freelite Kappa SPA PLUS kit a Freelite lambda SPA PLUS kit (The Binding Site), nefelometrický test na BN ProSpec s N Latex FLC kit (Siemens), ELISA kit Human Immunoglobulin Free Light Chains Kappa and Lambda (BioVendor). V súčasnosti je jediným kvantitatívnym testom na stanovenie koncentrácie FLC v CSF s označením IVD je v súčasnej dobe test Freelite Kappa SPA PLUS kit a Freelite Lambda SPA PLUS kit na analyzátoroch SPA Plus (Binding Site) a BN ProSpec (Siemens).

Viacere štúdie dokázali súvislosť len medzi κ -FLC a SM a nepotvrdili túto súvislosť pri λ -FLC. My odporúčame stanovovať a naďalej študovať ako κ -FLC tak aj λ -FLC. Tiež z informácií uvedených v literatúre vyplýva dôležitosť stanovenia

a ďalšieho študovania obidvoch analytov, pretože boli zaznamenané rozdiely v koncentráciách FLC a tiež v pomere κ -FLC/ λ -FLC v jednotlivých skupinách pacientov (Kaplan et al., 2010; Jacob et al., 2010; Zeman et al., 2016; Hassan-Smith et al., 2014).

Prehľad jednotlivých experimentálnych štúdií

Viacere práce študovali využitie výlučne κ -FLC ako diagnostický nástroj pri SM alebo rozvoji SM u pacientov s klinicky izolovaným syndrómom (CIS). Nezamerali sa na štúdium λ -FLC (Fischer et al., 2004; Villar et al., 2012; Senel et al., 2014; Presslauer a kol., 2014).

Práca Fishera et al. sa zaoberá stanovením κ -FLC v CSF a v sére, ktoré slúži na posúdenie intratekálnej syntézy imunoglobulínov. κ -FLC v CSF a v sére boli stanovované nefelometricky súpravou Freelite na analyzátore BN II. Koncentrácia κ -FLC v CSF, ako aj kvocient κ -FLC (CSF/sérum) boli významne vyššie v skupine SM. S vysokou senzitivitou a špecificitou identifikujú pacientov, u ktorých boli izoelektrickou fokusáciou stanovené oligoklonálne pásy. Avšak významne zvýšené koncentrácie κ -FLC v CSF v porovnaní s kontrolnou skupinou boli zaznamenané nielen v skupine pacientov s SM, ale zároveň v skupine s inými neurologickými ochoreniami. Zobrazenie kvocientu κ -FLC v závislosti od albumínového kvocientu jednoznačne oddeľuje dve skupiny pacientov s intratekálnou syntézou a bez nej (Fischer et al., 2004).

V experimentálnej štúdii Villara et al. potvrdili vzťah medzi hladinami κ -FLC v CSF a rizikom vývoja SM z klinicky izolovaného syndrómu. U pacientov s CIS bola stanovená koncentrácia κ -FLC v CSF nefelometrickou metódou (súprava Freelite, analyzátor BNII) a pacienti boli sledovaní v priemere po dobu 50 mesiacov. U pacientov s koncentráciou κ -FLC v CSF vyššou ako 0,53 mg/l bola zistená štatisticky významná pravdepodobnosť vzniku SM z CIS v porovnaní so skupinou pacientov s koncentráciou κ -FLC v likvore nižšou ako 0,53 mg/l ($p < 0,0001$). Oligoklonálne pásy boli prítomné v skupine s koncentráciou κ -FLC $> 0,53$ mg/l u 45 z 49 pacientov, v skupine κ -FLC $< 0,53$ mg/l u 4 z 25 pacientov ($p < 0,0001$) (Villar et al., 2012).

Senel et al. zverejnili štúdiu týkajúcu sa využitia stanovenia κ -FLC v CSF u pacientov so SM a CIS. Koncentrácie κ -FLC v sére a CSF boli sta-

novované metódou ELISA (BioVendor). Pacienti boli sledovaní po dobu 2 rokov. V skupine pacientov s MS a CIS boli namerané významne zvýšené hodnoty κ -FLC v CSF v porovnaní so skupinou pacientov s nezápalovými neurologickými ochoreniami ($p < 0,001$). Kvocient κ -FLC (CSF/sérum) bol významne zvýšený u pacientov s CIS s prítomnými oligoklonálnymi IgG pásmi ($p < 0,001$). Kvocient κ -FLC bol zvýšený u všetkých pacientov v skupine SM, u 86,8 % pacientov zo skupiny CIS-MS (u pacientov bola rozvinutá SM v priebehu 2 rokov) a u 61,5 % pacientov zo skupiny CIS-CIS (pacienti ostali CIS počas 2 rokov). U pacientov s OCB typu 2, 3, ale aj 4 boli zistené štatisticky významne zvýšené hladiny kvocientu κ -FLC (CSF/sérum) v porovnaní so skupinou s OCB typu 1 (Senel et al., 2014).

V práci Presslauera et al. študovali κ -FLC ako diagnostický a prognostický nástroj pri SM a CIS. Štúdia zahŕňala 861 pacientov a prebiehala po dobu 55 mesiacov. Na základe nameraných hodnôt v kontrolnej skupine bola stanovená hraničná línia (threshold line) indexu κ -FLC, ktorá predstavovala závislosť kvocientu κ -FLC od albumínového kvocientu. Následne boli nefelometricky stanovené koncentrácie κ -FLC v jednotlivých skupinách pacientov vyhodnotené pomocou stanovenej hraničnej línie. Senzitivita stanovenia indexu κ -FLC hraničnej línie v skupine pacientov s pozitívnym OCB nálezom (SM a CIS) bola 98 %, pričom na základe indexu IgG bola intratekálna syntéza potvrdená u 78 % pacientov tejto skupiny. V skupine pacientov s SM ako aj v skupine s CIS bola senzitivita indexu κ -FLC hraničnej línie 97 %, pričom na základe indexu IgG bola intratekálna syntéza potvrdená u 85 % pacientov zo skupiny SM a 74 % v skupine s CIS. Priemerná hodnota indexu κ -FLC v skupine SM bola významne vyššia ako v skupine CIS. Priemerné hodnoty indexu κ -FLC v skupine SM, ako aj v skupine CIS boli významne vyššie ako v kontrolnej skupine (Presslauer a kol., 2014).

V ďalších publikovaných prácach autori študovali využitie aj κ -FLC aj λ -FLC ako nástroje k diagnostike SM alebo k odhadu pravdepodobnosti rozvoja SM z CIS (Jacob et al., 2010; Hassan-Smith et al., 2014; Zeman et al., 2016).

Jacob et al. sledovali hladiny voľných ľahkých reťazcov v CSF v procese diferenciálnej diagnostiky SM. Priemerná koncentrácia κ -FLC v CSF bola významne nižšia v kontrolnej skupine ($0,13 \pm 0,03$ mg/l) oproti skupine pacientov so

SM ($8,01 \pm 1,33$ mg/l) ($p < 0,001$). Pri sledovaní pomeru κ -FLC/ λ -FLC boli zaznamenané štatisticky významne vyššie hodnoty u skupiny pacientov s SM v porovnaní s pacientmi s inými ochoreniami CNS. Medzi jednotlivými subtypmi SM však nebol zistený štatisticky významný rozdiel v hladinách FLC (Jacob et al., 2010).

V práci Hassana-Smitha et al. boli stanovované voľné ľahké reťazce kappa a lambda nefelometrickou metódou u pacientov so suspektou SM. Koncentrácie κ -FLC v CSF boli významne vyššie v skupinách pacientov s CIS, primárne progresívnou SM (PP-SM) a relaps remitujúcou SM (RR-SM) v porovnaní so skupinou pacientov s inými neurologickými ochoreniami. Koncentrácie λ -FLC v CSF boli vyššie v skupinách CIS a PP-SM, ale nedosiahli štatistickú významnosť. Významne vyššie koncentrácie λ -FLC v CSF boli len v skupine RR-SM. Čo sa týka porovnania prítomnosti OCB a hodnôt κ -FLC v CSF, hodnoty κ -FLC v CSF boli významne vyššie v skupine OCB pozitívnej v porovnaní s OCB negatívnou skupinou. Autori konštatujú, že meranie κ -FLC v likvore je vysoko senzitívna a špecifická metódou u pacientov s CIS, PP-SM a RR-SM. Podľa autorov je samotné meranie koncentrácie κ -FLC v CSF postačujúce s vysokým stupňom senzitivity a špecifity v prípade suspektnej SM (Hassan-Smith et al., 2014).

V práci Zemana et al. sa zamerali na porovnanie výsledkov kvalitatívneho a kvantitatívneho stanovenia FLC. Do štúdie bolo zaradených 75 párových vzoriek séra a CSF, u ktorých boli stanovené koncentrácie κ -FLC, λ -FLC. Bol použitý turbidimetrický test Freelite na analyzátore SPA Plus. Vzorky boli vopred analyzované na oligoklonálne IgG (o-IgG), oligoklonálne κ -FLC (o- κ -FLC) a oligoklonálne λ -FLC (o- λ -FLC). V o- κ -FLC negatívnej skupine bola koncentrácia κ -FLC v CSF v rozmedzí $< 0,1$ – $1,33$ mg/l (priemer: 0,20, interkvartilové rozpätie 0,11–0,27), v o- κ -FLC pozitívnej skupine bola koncentrácia κ -FLC v CSF v rozmedzí 0,80–16,90 mg/l (6,62; 2,71–11,61). Koncentrácia λ -FLC v CSF bola v rozmedzí $< 0,1$ – $1,44$ mg/l (0,22; 0,17–0,29) v o- λ -FLC negatívnej skupine a 0,24–12,03 mg/l (1,55; 0,56–3,08) v o- λ -FLC pozitívnej skupine. Pomer κ -FLC/ λ -FLC v CSF, nie však v sére, bol významne vyšší v skupine vzoriek o-IgG pozitívnej v porovnaní s negatívnou skupinou. Nezaznamenali štatisticky významné rozdiely pri porovnaní koncentrácie FLC v CSF, kvocientu FLC a indexu FLC pri pred-

povedaní intratekálnej syntézy FLC. Z výsledkov vyplýva, že kvantifikácia FLC v CSF spoľahlivo predpovedá intratekálnu syntézu FLC (Zeman et al., 2016).

Záver

Výšetrenie oligoklonálnej syntézy IgG izoelektrickou fokusáciou CSF a séra doplnené o vyšetrenie voľných ľahkých reťazcov imunoglobulínov by mohlo poskytnúť vyššiu citlivosť a presnosť v diagnostickom procese.

Stanovenie FLC je jednoduchšie a rýchlejšie na posúdenie intratekálnej syntézy imunoglobulínov v porovnaní so stanovením oligoklonálnych IgG pásov. Automatizované stanovenie FLC v je významnou metódou, ktorá by mohla poskytnúť doplňujúce diagnostické informácie a rozšíriť paletu zavedených vyšetrovacích metód uskutočňovaných v procese diagnostiky SM. Imunochemické stanovenie FLC v sére aj v mozgovomiechovom moku je kvantitatívne, rýchle, jednoznačné a ľahko integrovateľné do

rutinnej diagnostiky. Na kvantitatívne stanovenie FLC v CSF doporučujeme Freelite Kappa SPA PLUS kit a Freelite Lambda SPA PLUS kit firmy Binding Site. Je dôležité stanovovať, a naďalej pokračovať v štúdiu ako κ -FLC tak aj λ -FLC. Dôkaz oligoklonálnych IgG pásov v sére a v likvore izoelektrickou fokusáciou s následnou imunofixáciou je základnou diagnostickou dostatočne senzitivnou a špecifickou metódou v procese diagnostiky SM. Stanovenie FLC by malo slúžiť ako pomocné a spresňujúce vyšetrenie.

LITERATÚRA

1. Bradwell AR. Serum free light chain analysis. 6th edition. The Binding Site Ltd., Birmingham: UK 2010; ISBN: 9780704427969.
2. Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. Lancet 2008; 372(9648): 1502–1517.
3. Fischer Ch, Arneth B, Koehler J, Lotz J, Lackner KJ. Kappa free light chains in cerebrospinal fluid as markers of intrathecal immunoglobulin synthesis. Clinical Chemistry 2004; 50(10): 1809–1813.
4. Freedman MS, Thompson EJ, Deisenhammer F, Giovannoni G, Grimsley G, Keir G, Öhman S, Racke MK, Sharief M, Sindic CJM, Sellebjerg F, Tourtellotte WW. Recommended standard of cerebrospinal fluid analysis in the diagnosis of multiple sclerosis. Archives of neurology 2005; 62: 865–870.
5. Gaško R, Klímová E, Balla J. Biochemické vyšetrenie mozgovomiechového moku – doporučení pri diagnostike sclerosis multiplex, revízia 2008. Laboratórna diagnostika 2009; 1–2: 131–133.
6. Havrdová E. Roztroušená skleróza 2013; ISBN 978–80–204–3154–7.
7. Hassan-Smith G, Durant L, Tsentemidou A, Assi KL, Faint JM, Kalra S, Douglas MR, Cumow SJ. High sensitivity and specificity of elevated cerebrospinal fluid kappa free light chains in suspected multiple sclerosis. J Neuroimmunol 2014; 276: 175–179.
8. Jacob S, Karim A, Drayson M, Mitchell J. PATH58 Kappa and lambda free light chains in CSF in the differential diagnosis of multiple sclerosis and its correlation with clinical subtypes. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2010; 81: e23 doi:10.1136/jnnp.2010.226340.26.
9. Kaplan B, Aizenbud BM, Golderman S, Yaskeriev R, Sela BA. Free light chain monomers in the diagnosis of multiple sclerosis. J Neuroimmunol 2010; 229: 263–271.
10. Katsavos S, Anagnostouli M. Biomarkers in multiple sclerosis: An up-to-date Overview. Hindawi Publishing Corporation, Multiple sclerosis international 2013; ID340508.
11. Keblich P, Adam P, Sobek O, Koudelková M, Procházka J, Hanuljaková E, Tomaškovič M, Doležil D, Adam D, Hybelová M. Význam základního vyšetření likvoru pro diagnostiku postiznění. Labor Aktuell 2009; 1: 10–14.
12. Klímová E. Sclerosis multiplex – informácie pre prax 2006. Via practica 2006; 3(5): 249–255.
13. McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD, McFarland HF, Paty DW, Polman CH, Reingold SC, Sandberg-Wollheim M, Sibley W, Thompson A, Van den Noort S, Weinshenker BY, Wolinsky JS. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. Ann Neurol 2001; 50: 121–127.
14. Piřha J. Diagnostický algoritmus roztroušené sklerózy. Neurol. praxi 2013; 14: 6–8.
15. Polman CH, Reingold SC, Banwell B, Clanet M, Jeffrey AC, Filipi M, Fujihara K, Havrdova E, Hutchinson M, Kappos L, Lublin FD, Montalban X, O'Connor P, Sandberg M, Thomson AJ, Waubant E, Weinshenker B, Wolinsky JS. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald Criteria. Ann Neurology 2011; 69: 292–302.
16. Presslauer S, Milosavljević D, Huebl W, Parigger S, Schneider-Koch G, Bruecke T. Kappa free light chains: diagnostic and prognostic relevance in MS and CIS. PLoS ONE 2014; 9(2): e89945.
17. Senel M, Tuman H, Lauda F, Presslauer S, Mojib-Yezdani R, Otto M, Brettschneider J. Cerebrospinal fluid immunoglobulin kappa light chain in clinically isolated syndrome and multiple sclerosis. Plos One 2014; 9(4): e88680.
18. Sobek O, Adam P, Koudelková M, Štourač P, Mareš J. Algoritmus vyšetření likvoru v návaznosti na doporučení Sekce neuroimunologie a likvorologie České neurologické společnosti JEP. Cesk Slov neurol N 2012; 75/108(2): 159–163.
19. Villar LM, Espino M, Costa-Frossard L, Muriel A, Jimenez J, Alvarez-Cermeno JC. High levels of cerebrospinal fluid free kappa chains predict conversion to multiple sclerosis. Clinica Chimica Acta 2012; 413: 1813–1816.
20. Zeman D, Kušnierová P, Bartoš V, Hradílek P, Kurková B, Zápletalová O. Quantitation of free light chains in the cerebrospinal fluid reliably predicts their intrathecal synthesis. Ann Clin Biochem 2016; 53: 174–176.