

Laboratorní biomarkery – antineurální protilátky u autoimunitních onemocnění CNS

MUDr. Hana Mojžišová, MUDr. Martin Eliáš, Ph.D., prof. MUDr. Petr Marusič, Ph.D.

Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha

Antineurální protilátky patří mezi biomarkery autoimunitních onemocnění CNS. Řadíme mezi ně protilátky proti intracelulárním a povrchovým neurálním antigenům, samostatně lze vyčlenit protilátky proti gliálním antigenům. Možnosti jejich diagnostiky jsou široké, interpretace výsledku jejich vyšetření však není vždy jednoduchá. Vzhledem k možnosti falešné positivity i negativity se doporučuje používat pro každou protilátku dvě metody detekce a protilátky vyšetřovat jak v séru, tak v likvoru. Diagnóza by se však vždy měla opírat o syntézu jednotlivých klinických i laboratorních nálezů. V případě nejasných nálezů (negativita protilátek při významném klinickém podezření nebo pozitivita protilátek s klinicky neobvyklými příznaky) je vhodné konzultovat referenční laboratoře.

Klíčová slova: autoimunitní encefalitida, antineurální protilátky cell-based assay, tkáňové řezy, line blot.

Laboratory biomarkers – neural antibodies in autoimmune diseases of the central nervous system

Neural antibodies belong to biomarkers of autoimmune disorders of CNS. They include antibodies against intracellular and surface neural antigens, with a separate category of glial antigens. Diagnostic possibilities are broad, interpretation of the results is, however, not always simple. As there is a possibility of false positive and negative results, the recommendation is to use two different methods of detection and examine both serum and cerebrospinal fluid samples. Diagnosis should always be based on a synthesis of clinical and laboratory findings. In case of inconclusive results (negative antibodies in a clear clinical suspicion or positive antibodies with atypical clinical findings), reference laboratory should be consulted.

Key words: autoimmune encephalitis, neural antibodies, cell-based assay, tissue-based assay, line blot.

Úvod

Antineurální protilátky jsou biomarkerem některých autoimunitních onemocnění CNS – zejména autoimunitních encefalitid (AIE), ale například i stiff-person syndromu, rychle progresujícího mozečkového syndromu, MOGAD (onemocnění asociovaných s protilátkami proti myelin-oligodendrocytárnímu glykoproteinu), neuromyelitis optica spectrum disorder a anti-GFAP (gliální fibrilární acidický protein) astrocytopatie. U části se předpokládá přímá patogenita, u části hrají patogenní roli jiné složky imunity. Pozitivita protilátek je důležitá jak pro diagnostiku, tak pro určení

prognózy, a to včetně asociace s tumorem. Byť antineurální protilátky představují užitečný biomarker, interpretace jejich positivity či negativity může být v některých případech obtížná. Nesprávná diagnostika může vést k poškození pacienta, ať už neposkytnutím adekvátní léčby v případech falešné negativních výsledků, nebo rizikem postižení pacienta nežádoucími účinky imunoterapie u falešné positivity. Cílem článku je upozornit na úskalí diagnostiky a správnou interpretaci výsledků provedených vyšetření. Vzhledem k rozsahu tématu se zaměříme na protilátky zaměřené selektivně proti epitopům v centrálním

nervovému systému, nebudeme pojednávat o protilátkách sdružených se systémovými autoimunitami (lupus, vaskulitida a další).

Historie

První antineurální protilátky byly nalezeny v roce 1965, ale až v roce 1986 byly popsány jako anti-Hu, podle příjmení prvního pacienta (Graus et al., 1986). Postupně byly popsány i další asociované s intracelulárními antigeny (Tab. 1). Důležitým mezníkem byla detekce prvních protilátek proti povrchovým antigenům – anti-VGKC (napěťově řízený draslíkový kanál) protilátek (Buckley et al., 2001). Dalším



MUDr. Hana Mojžišová
Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha
hana.mojzisova@fnmotol.cz

Cit. zkr: *Neurol. praxi.* 2023;24(3):200-205

Článek přijat redakcí: 15. 3. 2023

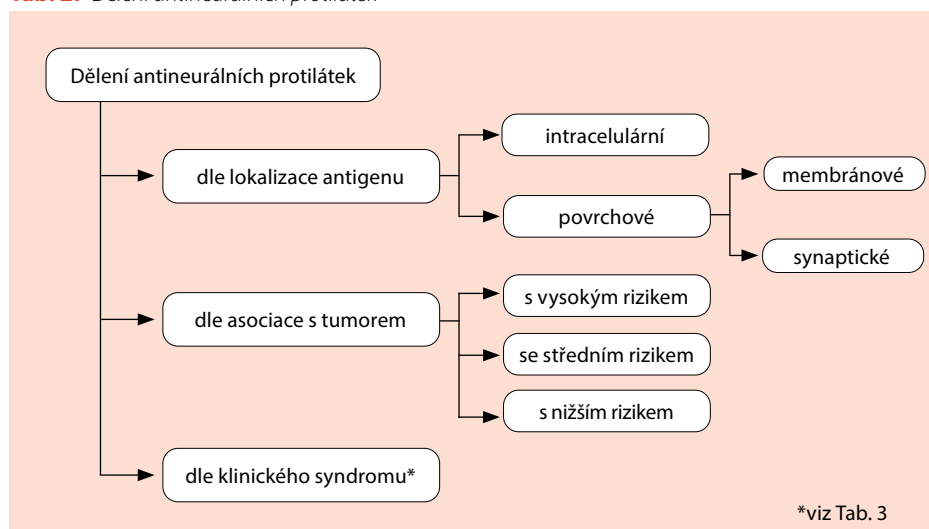
Článek přijat k publikaci: 19. 4. 2023

Tab. 1. Cílové antigeny antineurálních protilátek (Dalmau et Graus, 2022)

IC neuronální Ag	Membránový neuronální Ag	Synaptický neuronální Ag	Gliální Ag
Hu (ANNA1)	NMDAR	LGI1	MOG
CV2 (CRMP5)	AMPA	CASPR2	AQP4
SOX1	GluK2R	DPPX	GFAP
Yo (PCA1)	GABA _A R	Neurexin3α	
Ri (ANNA2)	GABAbR	IgLON5	
Amphiphysin	mGluR1	SEZ6L2	
Tr/DNER	mGluR2	VGCC	
Ma/Ma2	mGluR5		
KLHL11	DR2		
PCA2	GlyR		
GAD			
gephyrin			

Zkratky: IC – intracelulární, Ag – antigen, ANNA – antineurální nukleární protilátky, CRMP5 – collapsin response-mediator protein-5, SOX1 – sex determining region box protein, PCA – protilátky proti cytoplasmě Purkyňových buněk, DNER – Delta and Notch-Like epidermal Growth Factor-related Receptor, KLHL11 – kelch-like protein 11, GAD – dekarboxyláza kyseliny γ-amino máselné, AMPAR – α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol propionátový receptor, GluK2R – glutamát kainátový receptor podjednotky 2, GABAR – receptory γ-amino máselné kyseliny, mGluR – metabotropní glutamátový receptor, DR2 – dopaminový receptor 2, GlyR – glycinový receptor, LGI1 – leucine-rich glioma inactivated protein 1, CASPR2 – contactin associated protein-2, DPPX – Dipeptidyl-Peptidase-Like Protein-6, SEZ6L2 – seizure related 6 homolog like 2, VGCC – napětově řízený vápníkový kanál

Pozn. tučně zvýrazněné protilátky jsou v době vydání článku vyšetřitelné v ČR

Tab. 2. Dělení antineurálních protilátek

*viz Tab. 3

významným krokem byl popis anti-NMDAR (N-methyl-D-aspartát receptor) protilátek, který nastartoval intenzivní zájem vědecké komunity o problematiku AIE (Dalmau et al., 2006). První protilátky proti gliálním antigenům – anti-AQP4 (akvaporin-4) byly popsány v roce 2004 (Lennon et al., 2004), anti-MOG byly popsány v roce 2007 (O'Connor et al., 2007) a anti-GFAP až v roce 2016 (Fang et al., 2016). Pouze část z toho času známých protilátek je v současné době možné vyšetřit v ČR (Tab. 1).

Klasifikace protilátek

Anti-neurální protilátky lze dělit (Tab. 2): 1) dle lokalizace cílového antigenu na protilátky proti intracelulárním a povrchovým

antigenům. U většiny intracelulárních antigenů se předpokládá dominující patogenní role cytotoxických T buněk a protilátky se považují jen za epifenomén. Na druhé straně stojí protilátky proti povrchovým, tedy synaptickým a membránovým antigenům, kde je prokázána jejich přímá patogenní role (Dalmau et Graus, 2022). Další dělení protilátek je 2) dle jejich asociace s tumorem na vysoce rizikové, intermediálně rizikové a s nižším rizikem (Graus et al., 2021). Poslední dělení je 3) dle klinického syndromu, eg. jiné protilátky jsou asociovány se syndromem limbické encefalitidy než s rychle progredujícím mozečkovým syndromem (Abboud et al., 2021). Toto ilustruje jednu z problematik diagnostiky – klinicky

podobný syndrom může být sdružen s více odlišnými protilátkami, a naopak jednotlivá protilátka může způsobovat fenotypově odlišné syndromy (Tab. 3).

Detekční metody

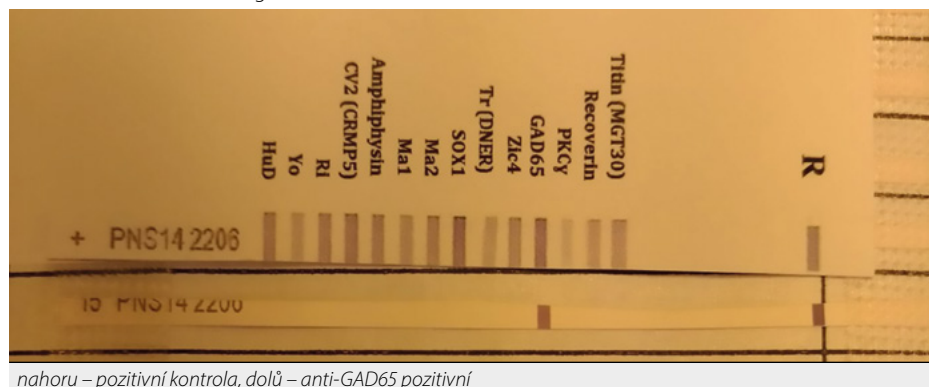
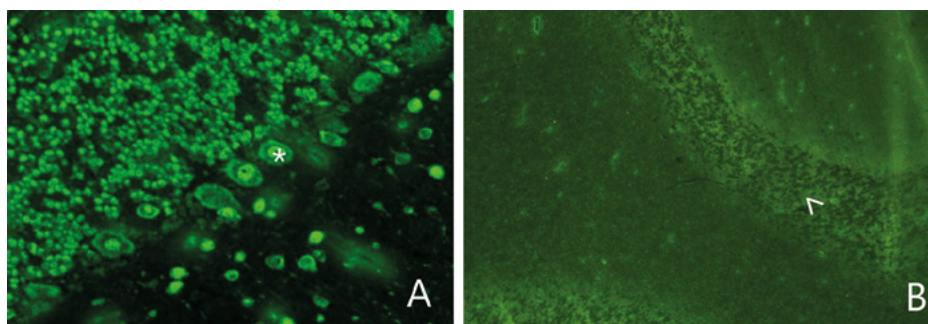
Metody detekce se liší dle typu protilátky. První skupinou jsou protilátky proti intracelulárním antigenům. Výhodou těchto protilátek je, že se vážou i na lineární epitopy. Tím pádem pro vazbu protilátky nemusí být jejich antigeny v nativní konformaci (tj. 3D struktura) a je možné využít jejich linearizovanou (2D) formu, což je významně jednodušší (Ricken et al., 2018). Pro tento účel se používají imunoblotty (Western blot anebo line blot) (Obr. 1), pro detekci anti-GAD protilátek také enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), radioimmunoassay (RIA) či cell-based assay (CBA) (Muñoz-Lopetegi, 2020). Při imunoblotových technikách se používají kity ve formě diagnostických proužků obsahující purifikované proteiny, které jsou inkubovány se vzorkem séra nebo likvoru (Déchelotte et al., 2020). Slouží k detekci protilátek proti konkrétním antigenům, tedy v případě přítomnosti protilátky vůči danému antigenu je zabarven příslušný proužek (Ricken et al., 2018).

Další metodou pro detekci protilátek proti intracelulárním antigenům jsou paraformaldehydem fixované tkáňové řezy (tissue-based assay, tTBA) (Ances et al., 2005). Jedná se o velmi tenké řezy tkání (hipokampů, mozečků ale i extraneurální tkáně) laboratorních zvířat (např. potkan), které jsou permeabilizovány, a je tedy umožněn průnik protilátek dovnitř buněk (Ricken et al., 2018). Vzorek pacienta je inkubován s tkání a v případě přítomnosti antineurálních protilátek se tyto naváží v příslušných oblastech. Poté se vzorek promyje, aplikuje se protilátka proti lidskému imunoglobulinu G a aplikují se látky, které barevně vizualizují tyto protilátky. U pacienta s přítomností antineurálních protilátek tedy dochází ke „specifickému“ barvení tkáňového řezu, u negativy dochází k nevýraznému nespecifickému barvení pozadí (Obr. 2). Tímto vyšetřením nelze prokázat konkrétní protilátku, k tomu slouží výše

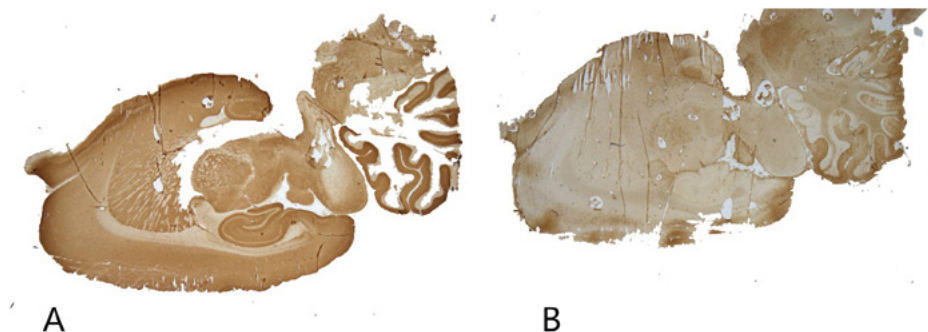
Tab. 3. Klinické syndromy postihující CNS a s nimi sdružené antineurální protilátky (volně dle Graus et al., 2016; Graus et al., 2021; Abboud et al., 2021)

Syndrom	Obvyklé příznaky	Sdružené protilátky	Riziko tumoru	Asociované tumory	Další specifika
NMDAR encefalitida	změna chování až psychóza poruchy řeči epileptické záchvaty dyskineze (typické cirkumorální) kvalitativní porucha vědomí dysautonomie	NMDAR	38 %	teratom u mladých žen, u mužů či dětí < 12 let i jiné	poměrně častá izolovaná pozitivita v likvoru normální/nеспецифický nález na MR extreme delta brushes na EEG
difuzní kortikální encefalitida	změna chování, epileptické záchvaty, multifokální neurologické příznaky	GFAP GABAAR MOG mGluR1	24 % 50 % raritní 50 %	různé (popsáno málo pacientů) maligní thymom teratom Hodgkinský lymfom	
limbická encefalitida	epileptické záchvaty, změny chování, porucha paměti	Hu (ANNA-1) Ma2 GAD65 AMPA GABABR LGI1 CASPR2 GlyR DPPX	85 % > 75 % < 15 % > 50 % > 50 % < 10 % < 30 % < 10 % < 10 %	SCLC, NSCLC a další neuroendokrinní karcinom testes, NSCLC SCLC, neuroendokrinní, maligní thymom SCLC, neuroendokrinní, maligní thymom SCLC neuroendokrinní, maligní thymom maligní thymom maligní thymom, Hodgkinský lymfom B lymfomy	možné další příznaky z postižení dalších částí nervového systému dle typu protilátek T2 hyperintenzita na MR meziotemporálně (bilat. či unilater.)
kmenová encefalitida	okohybné poruchy, bulbární příznaky, diencefalické postižení (spavost, hyperfagie, hypertermie, endokrinní poruchy)	Ma2 Hu Ri	> 75 % 85 %	NSCLC, nádory varlat SCLC, NSCLC a další neuroendokrinní	
rychle progredující mozečkový syndrom	těžký oboustranný mozečkový syndrom rozvinutý za méně než 3 měsíce (vzácně unilaterální, akutní či naopak chronický průběh)	Yo (PCA-1) SOX1 Ri (ANNA-2) Tr (DNER) mGluR1 GAD65	> 90 % > 90 % > 70 % > 90 % 50 % < 15 %	karcinom prsu, karcinom vaječníku SCLC karcinom prsu, karcinom plic Hodgkinův lymfom Hodgkinův lymfom	
stiff person syndrom	bolestivé svalové křeče (spontánní nebo vyvolané činností či vnějšími smyslovými podněty) ve spojení s trvalou ztuhlostí v důsledku koaktivace agonistických a antagonistických svalů	GAD65 amphiphysin GlyR	< 15 % 80 %	SCLC, neuroendokrinní, maligní thymom SCLC, karcinom prsu	možné varianty stiff limb, další sdružené syndromy s GAD (temporální epilepsie, mozečkové...)
Morvanův syndrom	encefalopatie (hl. změny chování, halucinace, dysautonomie a poruchy spánku) s hyperexcitabilitou periferních nervů	CASPR2 LGI1	< 30 % < 10 %	maligní thymom neuroendokrinní, maligní thymom	častá porucha spánku agrypnia excitata
izolovaná myelopatie	paraparéza, hranice citlivosti, sfinkterová porucha	CV2 amphiphysin	> 80 % 80 %	SCLC, maligní thymom SCLC, karcinom prsu	MR míchy longitudinálně rozsáhlé, symetrické abnormality bílé nebo šedé hmoty často seronegativní
neuromyelitis optica spectrum disorder	myelitida, optická neuritida, syndrom area postrema, akutní kmenový syndrom, narkolepsie a diencefalické syndromy	APQ4	< 5 %	adenokarcinomy	MR léze postihující oblasti s expresí AQP4 (viz Doporučené postupy pro diagnostiku NMOSD)
MOG asociovaná onemocnění	monofázická nebo recidivující akutní optická neuritida, myelitida, kmenová, difuzní/kortikální encefalitida	MOG	raritní	teratom	
IgLON5 asociované onemocnění	kombinace příznaků – porucha spánku (parasomnie v REM i non-REM fázi, insomnie), porucha stability chůze, kmenové symptomy, extrapyramidové poruchy, kognitivní deficit, centrální hypoventilace, dysautonomie, hyperexcitabilita periferních nervů	IgLON5	?	?	starší věk oproti jiným autoimunitním postižením (kolem 60 let věku) možný chronický, progredientní i relaps remitentní průběh

Zkratky: AQP4 – aquaporin 4; CASPR2 – contactin-associated protein-like 2; DPPX – dipeptidyl peptidase-like protein; GABAAR – gamma-aminobutyric acid-A receptor; GAD – dekarboxyláza kyseliny glutamové (glutamic acid decarboxylase); GFAP – glial fibrillary acidic protein; GlyR – glycine receptor; LE – limbic encephalitis; LGI1 – leucine-rich glioma-inactivated protein 1; mGluR1 – metabotropic glutamate receptor type 1; MOG – myelin oligodendrocyte glycoprotein; NMDAR – NMDA receptor; SCLC – malobuněčný karcinom (small-cell lung cancer); SPS – stiff-person syndrom

Obr. 1. Line-blot (ravo diagnostika, PNS14), sérum**Obr. 2.** Fixované tkáňové řezy (fTBA) (Euroimmun, Lübeck)

A – mozeček, pozitivní, anti-Hu, * – Purkyňova buňka, B – mozeček, negativní, sérum, ^ – granulární vrstva mozečku, fluoresceinem značené sekundární protilátky proti lidskému IgG, ředění 1 : 10, zvětšení 200×

Obr. 3. Nefixované tkáňové řezy (nTBA)

A – pozitivní anti-LGI1, B – negativní kontrola, sérum, ředění 1 : 200, sekundární protilátka goat anti-human IgG, značení avidin-biotin komplex, vizualizace diaminobenzidin

uvedený line blot. Výrazně ale zvyšuje senzitivitu (zachytí i vzácnější protilátky) a slouží k verifikaci výsledku na line blotu, vyšetření s možnou falešnou pozitivitou.

Druhou skupinou jsou protilátky proti povrchovým antigenům. Jejich detekce je komplikovanější vzhledem k nutnosti zachovat antigeny v jejich nativní konformaci. Standardně se v rutinní diagnostice využívají CBA. Jedná se o laboratorně kultivované buňky, do kterých je vložena DNA kódující daný protein, např. NMDAR (N-methyl-D-aspartát receptor), který pak tyto buňky vystavují na svém buněčném povrchu, a to v zachovalé třírozměrné struktuře. Vazba protilátky je také detekována barvením (fluorescenčně

značenou sekundární protilátkou). Další metodou, obdobně k protilátkám proti intracelulárním antigenům, jsou tkáňové řezy s nefixovanou tkání (nTBA) (Obr. 3) (Ances et al., 2005). Princip je obdobný, ale povrch buněk není narušen, a tak jsou tyto řezy optimalizovány k detekci protilátek proti povrchovým antigenům. Tyto nTBA nejsou komerčně dostupné a používají se jenom ve výzkumných laboratořích jako experimentální „research use only“ (RUO) metoda. Okrajově je nutné zmínit, že existují i další specializované metody detekce, např. neurální buněčné kultury, imunoprecipitace a hmotnostní spektrometrie (Ricken et al., 2018), tyto však jsou dostupné

jen v zahraničních laboratořích a jejich popis přesahuje rozsah článku.

Specifickou skupinou jsou protilátky proti MOG a AQP4 (obě patří mezi protilátky proti gliálním antigenům), jejich diagnostice již byl v české literatuře věnován dostatečný prostor, a proto čtenáře odkazujeme na vhodný zdroj (Nytrová et Král, 2020).

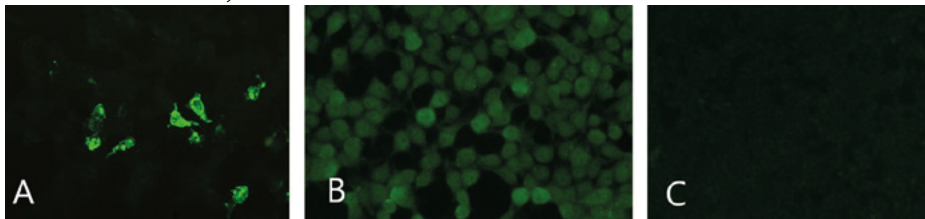
Výše uvedené metody mají však více úskalí. Jak již bylo uvedeno v tabulce 1, ne všechny protilátky je možné v ČR vyšetřit. Problémem tkáňových řezů je, že homologie neurálních proteinů mezi zvířaty a člověkem není stoprocentní – například anti-GlyR a anti-MOG protilátky nejsou na výše uvedených tkáňových řezech detekovatelné. Interpretace line blotu není náročná ve smyslu odlišení negativity a pozitivity, semikvantitativní hodnocení (+, ++, +++) je však velmi subjektivní. Na druhé straně u CBA hrozí nesprávná interpretace výsledků – zejména hodnocení nespecifického signálu tzv. „svítící pozadí“ séra (jiných protilátek přítomných v séru) jako pozitivita pro danou protilátku (Obr. 4) (Höftberger et al., 2012).

Proto je hlavně u izolované séropozitivity nutná obezřetnost. U tkáňových řezů je hodnocení také subjektivní a zejména hraniční séropozitivita by měla také být brána s opatrností. Navíc, je to metoda časově náročná a interpretace je mnohdy složitá – záleží od zkušeností daného hodnotitele s touto metodou.

Specifická

I když specifická metody detekce protilátek pomocí CBA v likvoru je velmi vysoká, u sérových protilátek tomu tak není. Například izolovaná séropozitivita anti-NMDAR protilátek IgG metodou CBA byla popsána např. u narkolepsie-kataplexie a Creutzfeldt-Jakobovy nemoci (Armangue, Santamaria et Dalmau, 2015; Mackay et al., 2012). Dále specifická stanovení některých protilátek významně záleží na jejich titru. Typickým příkladem jsou protilátky proti CASPR2, kde nízké titry (< 1 : 200) jsou považovány za klinicky nesignifikantní (Bien et al., 2017). Z našich zkušeností je nejčastěji jako mylně klinicky signifikantní hodnocena séro-

Obr. 4. Cell-based assay (CBA) (Euroimmun, Lübeck)



A – pozitivní anti-NMDAR sérum, B – negativní anti-NMDAR sérum („svítící pozadí“), C – negativní sérum, metoda CBA, fluoresceinem značené sekundární protilátky proti lidskému IgG, ředění 1 : 10, zvětšení 200×

Tab. 4. Zásady a časté chyby při vyšetření a interpretaci antineurálních protilátek (volně dle Flanagan et al., 2020 a Graus et al., 2021)

Zásady
✓ odebrat vzorky před zahájením imunoterapie
✓ testovat párově sérum a likvor (protilátky proti povrchovým antigenům mohou být pozitivní pouze v likvoru, pozitivita v likvoru zvyšuje specifitu)
✓ potvrdit pozitivitu protilátek pomocí dvou samostatných testovacích technik (zvláště důležité, pokud je k dispozici pouze sérum, titr protilátek je nízký a/nebo výsledek neodpovídá klinickému fenotypu)
✓ pokud je komerční testování negativní, zvážit odeslání do výzkumné laboratoře k testování protilátek, které nejsou komerčně dostupné nebo pro které nebyl cílový antigen ještě stanoven
Chyby
× negativita protilátek nevylučuje autoimunitní/paraneoplastické poškození nervového systému
× sérové testování protilátek a sledování titrů není příliš užitečné, rozhodnutí o následné léčbě se nejlépe činí na základě klinického stavu, nikoliv sérologického stavu

pozitivita anti-CASPR2 v nízkých titrech 1 : 10, přičemž většina laboratoří bohužel výsledek udává jen kvalitativně (bez titru). Tato pozitivita, zejména u neobvykle sdružených příznaků (epilepsie, izolovaný kognitivní deficit), sama o sobě nemůže sloužit jako potvrzení diagnózy autoimunitního onemocnění CNS. Poslední z protilátek proti povrchovým antigenům, které je nutno zmínit, jsou protilátky proti VGKC. Tyto byly později prokázány jako nespecifické – ukázalo se, že cílovými antigeny epitopy VGKC komplexu jsou asociované proteiny LGI1 a CASPR2 (Michael, Waters et Irani, 2020). Jejich pozitivita bez positivity LGI1 či CASPR2 není specifická.

U protilátek proti intracelulárním antigenům metodou line blot je specifita této metody nízká (Déchelotte et al., 2020; Graus et al., 2021). V případě jejich positivity je nutné pečlivě zvážit, zda je v souladu s klinickým obrazem (viz Graus et al., 2021). Pokud nikoliv, jedná se nejspíše o pozitivitu nespecifickou neboli klinicky irelevantní.

U anti-GAD protilátek je z hlediska diagnostiky poškození CNS klinicky významný až jejich vyšší titr. Za klinicky signifikantní se považuje titr > 10 000 IU/ml v séru či > 100 IU/ml v likvoru metodou ELISA a metodou RIA > 20 nmol/l v séru (Muñoz-Lopetegi et al., 2020; Pittock et al., 2006). Nižší titry se totiž vyskytují u 1 % zdravých kontrol a u až

80 % pacientů s diabetes mellitus 1. typu (Saiz et al., 2008).

Poslední problematikou, kterou je nutno zmínit, je, že protilátky jiných tříd – IgA, IgM, nejsou považovány za specifické (Hara et al., 2018). V ČR ale jejich diagnostika není dostupná, a tedy klinický dopad je toho času minimální.

Senzitivita

U některých protilátek má vyšší diagnostickou senzitivitu stanovení v séru, u části v likvoru (Dalmau, Geis et Graus, 2017). U protilátek proti intracelulárním antigenům, kdy jejich produkce je předpokládána v periférii na základě stimulace imunity nádorem, je typickou pozitivita v séru, a naopak izolovaná pozitivita v likvoru je extrémně vzácná. Z protilátek proti povrchovým antigenům je typicky u anti-NMDAR až u 13 % izolována pozitivita v likvoru, naopak u protilátek proti LGI1 je až polovina pacientů izolovaně séropozitivní (Gresa-Arribas et al., 2014; Sonderer A van et al., 2016). Anti-AQP4 je doporučeno stanovovat jen v séru, anti-MOG v séru a při negativitě ale silném klinickém podezření i v likvoru (Nytróvá et Král, 2020). Právě pro zvýšení senzitivity slouží detekce protilátek pomocí TBA (Ricken et al., 2018). Další možnosti zvýšení senzitivity je využití in-house neboli research use only CBA (McCracken et al., 2017).

V ČR toto vyšetření výzkumného charakteru jako doplněk schválených metod pro in vitro diagnostiku není v současné době dostupné.

Význam sledování titrů protilátek v průběhu onemocnění

Antineurální protilátky dle současných znalostí slouží jako diagnostický biomarker, ale ve většině případů nejsou vhodným markerem sledování vývoje onemocnění či efektu léčby. U anti-NMDAR encefalitidy se nedoporučuje řídit léčbu na podkladě titrů v séru či v likvoru (Dalmau et Graus, 2022). Můžeme se setkat s přetrvávající pozitivitou anti-NMDAR i několik let po proděláním onemocnění jako „antigenní jizvy“ – cílem léčby tedy rozhodně není navození séronegativity. Odlišná situace se zdá být ale například u anti-MOG, kde titry protilátek v době remise určují riziko relapsu (Gastaldi et al., 2022).

Současná doporučení pro vyšetření neurálních protilátek

U diagnostiky autoimunitních onemocnění CNS mimo klinický obraz typický pro MOGAD a NMOSD (kdy využíváme jen specifické kity pro MOG a AQP4) je doporučováno u protilátek jak proti intracelulárním, tak proti membránovým a synaptickým antigenům používat dvojí metody detekce ke zvýšení senzitivity i specifity (Storstein et al., 2011; Déchelotte et al., 2020). Tedy u protilátek proti intracelulárním antigenům line-blot/ELISA/RIA v kombinaci s fTBA, u protilátek proti povrchovým antigenům CBA s nTBA. V praxi však v době diagnostiky nevíme, kde se antigen nachází a je doporučeno využívat co nejširší dostupné spektrum metod (Tab. 4).

Z naší praxe lze uvést několik příkladů. Například u jednoho pacienta byl nalezen hraniční titr protilátek proti NMDA v likvoru metodou CBA, vyšetření likvoru pomocí TBA však bylo negativní. Kombinace positivity jedné a negativy druhé metody vede k závěru, že se jedná o klinicky nesignifikantní nález vyšetření CBA. U tohoto pacienta byly ve spolupráci se zahraniční laboratoří stanoveny anti-GFAP protilátky. Lze tedy předpokládat, že pozitivita anti-NMDAR byla buď zkřížená (částečnou reaktivitou anti-GFAP protilátek na CBA pro NMDAR), nebo byly sice přítom-

ny anti-NMDAR protilátky, které ale neměly patogenní roli. Opačným příkladem z praxe může být „seronegativní“ autoimunitní encefalitida, u které jsme až vyšetřením nTBA nově zavedeným do praxe našli pozitivitu dosud neznámých protilátek v likvoru i séru.

Dále je nutné zdůraznit, že výsledky je nezbytné hodnotit v klinickém kontextu. Izolovaná pozitivita protilátky (zejména v séru) detekovaná jednou metodou při absenci typických klinických příznaků by neměla vést k terapeutickému zásahu, pravděpodobně se jedná o falešnou pozitivitu (Armangue, Santamaria et Dalmu, 2015). Ke zhodnocení korelace nálezu protilátky

s klinickým obrazem slouží diagnostická kritéria. V roce 2016 byl vypracován konsenzus pro diagnostiku autoimunitních encefalitid (zejména s protilátkami proti povrchovým antigenům) (Graus et al., 2016). Výhodou těchto kritérií je, že přesně definují i možnou a pravděpodobnou autoimunitní encefalitidu s negativitou protilátek. Opět tedy zdůrazňujeme, že negativita protilátek nevylučuje AIE. V roce 2021 byla také aktualizována doporučení pro diagnostiku paraneoplastických neurologických syndromů, kdy jsou nově protilátky rozděleny na vysoce rizikové (> 70% asociace s tumorem), intermediál-

ně rizikové (30–70% asociace s tumorem) a s nižším rizikem, konkrétní protilátky najdou zájemci v uvedeném literárním zdroji (Graus et al., 2021).

Závěr

V našem článku jsme se zabývali detekcí antineurálních protilátek. Jak je patrné, možnosti diagnostiky jsou široké. Diagnostická doporučení zahrnují jak pro neurální intracelulární i povrchové antigeny používat dvě metody, aby se zamezilo falešné pozitivitě či negativitě. Taktéž je důležité vyšetřit vzorek séra i likvoru ke zvýšení senzitivity.

LITERATURA

- Abboud H, Probasco JC, Irani S, et al. Autoimmune encephalitis: proposed best practice recommendations for diagnosis and acute management. *J Neurology Neurosurg Psychiatry*. 2021;92(7):757-768. doi:10.1136/jnnp-2020-325300.
- Ances BM, Vitaliani R, Taylor RA, et al. Treatment-responsive limbic encephalitis identified by neuropil antibodies: MRI and PET correlates. *Brain*. 2005;128(8):1764-1777. doi:10.1093/brain/awh526.
- Armangue T, Santamaria J, Dalmu J. When a serum test overrides the clinical assessment. *Neurology*. 2015;84(13):1379-1381. doi:10.1212/wnl.0000000000001425.
- Bien CG, Mirzajanova Z, Baumgartner C, et al. Anti-contactin-associated protein-2 encephalitis: relevance of antibody titres, presentation and outcome. *Eur J Neurol*. 2017;24(1):175-186. doi:10.1111/ene.13180.
- Buckley C, Oger J, Clover L, et al. Potassium channel antibodies in two patients with reversible limbic encephalitis. *Ann Neurol*. 2001;50(1):73-78. doi:10.1002/ana.1097.
- Dalmu J, Geis C, Graus F. Autoantibodies to Synaptic Receptors and Neuronal Cell Surface Proteins in Autoimmune Diseases of the Central Nervous System. *Physiol Rev*. 2017;97(2):839-887. doi:10.1152/physrev.00010.2016.
- Dalmu J, Graus F. Autoimmune Encephalitis and Related Disorders of the Nervous System. Cambridge University Press. 2022, 676 s. ISBN 978-1108583510.
- Dalmu J, Tüzün E, Wu H, et al. Paraneoplastic anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis associated with ovarian teratoma. *Ann Neurol*. 2007;61(1):25-36. doi:10.1002/ana.21050.
- Déhelotte B, Muñoz-Castrillo S, Joubert B, et al. Diagnostic yield of commercial immunodots to diagnose paraneoplastic neurologic syndromes. *Neurology – Neuroimmunol Neuroinflammation*. 2020;7(3):e701. doi:10.1212/nxi.0000000000000701.
- Fang B, McKeon A, Hinson SR, et al. Autoimmune Glial Fibrillary Acidic Protein Astrocytopathy: A Novel Meningoencephalomyelitis. *Jama Neurol*. 2016;73(11):1297. doi:10.1001/jamaneurol.2016.2549.
- Gastaldi M, Foadelli T, Greco G, et al. Prognostic relevance of quantitative and longitudinal MOG antibody testing in patients with MOGAD: a multicentre retrospective study. *J Neurology Neurosurg Psychiatry*. Published online 2022;jnnp-2022-330237. doi:10.1136/jnnp-2022-330237.
- Graus F, Elkon KB, Cordon-Cardo C, et al. Sensory neuropathy and small cell lung cancer Antineuronal antibody that also reacts with the tumor. *Am J Medicine*. 1986;80(1):45-52. doi:10.1016/0002-9343(86)90047-1.
- Graus F, Titulaer MJ, Balu R, et al. A clinical approach to diagnosis of autoimmune encephalitis. *Lancet Neurology*. 2016;15(4):391-404. doi:10.1016/s1474-4422(15)00401-9.
- Graus F, Vogrig A, Muñoz-Castrillo S, et al. Updated Diagnostic Criteria for Paraneoplastic Neurologic Syndromes. *Neurology – Neuroimmunol Neuroinflammation*. 2021;8(4):e1014. doi:10.1212/nxi.0000000000001014.
- Gresa-Arribas N, Titulaer MJ, Torrents A, et al. Antibody titres at diagnosis and during follow-up of anti-NMDA receptor encephalitis: a retrospective study. *Lancet Neurology*. 2014;13(2):167-177. doi:10.1016/s1474-4422(13)70282-5.
- Hara M, Martinez-Hernandez E, Ariño H, et al. Clinical and pathogenic significance of IgG, IgA, and IgM antibodies against the NMDA receptor. *Neurology*. 2018;90(16):e1386-e1394. doi:10.1212/wnl.0000000000005329.
- Höftberger R, Dalmu J, Graus F. Clinical neuropathology practice guide 5-2012: Updated guideline for the diagnosis of anti-neuronal antibodies. *Clin Neuropathol*. 2012;31(5):337-341. doi:10.5414/np300545.
- Lennon VA, Wingerchuk DM, Kryzer TJ, et al. A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. *Lancet*. 2004;364(9451):2106-2112. doi:10.1016/s0140-6736(04)17551-x.
- Mackay G, Ahmad K, Stone J, et al. NMDA receptor autoantibodies in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neurol*. 2012;259(9):1979-1981. doi:10.1007/s00415-012-6489-3.
- McCracken L, Zhang J, Greene M, et al. Improving the antibody-based evaluation of autoimmune encephalitis. *Neurology Neuroimmunol Neuroinflammation*. 2017;4(6):e404. doi:10.1212/nxi.0000000000000404.
- Michael S, Waters P, Irani SR. Stop testing for autoantibodies to the VGKC-complex: only request LGI1 and CASPR2. *Pract Neurology*. 2020;20(5):377-384. doi:10.1136/practneurol-2019-002494.
- Muñoz-Lopez A, Bruijn MAAM de, Boukhrissi S, et al. Neurologic syndromes related to anti-GAD65: Clinical and serologic response to treatment. *Neurology – Neuroimmunol Neuroinflammation*. 2020;7(3):e696. doi:10.1212/nxi.0000000000000696.
- Nytrová P, Král V. Neuromyelitis optica spectrum disorders – laboratory examination. *Česká Slovenská Neurologie Neurochir*. 2020;83/116(Suppl1):S31-S36. doi:10.14735/amc-snn2020s31.
- O'Connor KC, McLaughlin KA, Jager PLD, et al. Self-antigen tetramers discriminate between myelin autoantibodies to native or denatured protein. *Nat Med*. 2007;13(2):211-217. doi:10.1038/nm1488.
- Pittock SJ, Yoshikawa H, Ahlskog JE, et al. Glutamic Acid Decarboxylase Autoimmunity With Brainstem, Extrapyramidal, and Spinal Cord Dysfunction. *Mayo Clin Proc*. 2006;81(9):1207-1214. doi:10.4065/81.9.1207.
- Ricken G, Schwaiger C, Simoni DD, et al. Detection Methods for Autoantibodies in Suspected Autoimmune Encephalitis. *Front Neurol*. 2018;9:841. doi:10.3389/fneur.2018.00841.
- Saiz A, Blanco Y, Sabater L, et al. Spectrum of neurological syndromes associated with glutamic acid decarboxylase antibodies: diagnostic clues for this association. *Brain*. 2008;131(Pt 10):2553-2563. doi:10.1093/brain/awn183.
- Sonderen A van, Thijs RD, Coenders EC, et al. Anti-LGI1 encephalitis. *Neurology*. 2016;87(14):1449-1456. doi:10.1212/wnl.00000000000003173.
- Storstein A, Monstad SE, Haugen M, et al. Onconeural antibodies: Improved detection and clinical correlations. *J Neuroimmunol*. 2011;232(1-2):166-170. doi:10.1016/j.jneuroim.2010.10.009.