

Klinické využití protilátek u roztroušené sklerózy

Clinical use of antibodies in multiple sclerosis

Souhrn

V poslední době přibývá dokladů o úloze B-lymfocytů a protilátkové imunity v patogenezi roztroušené sklerózy (RS). Klinicky se využívá přítomnosti oligoklonálních páسů IgG v mozkomíšním moku bez sérového korelátu jako významné podpory pro diagnózu RS, protože se vyskytuje až u 95 % pacientů s RS. Hledání protilátkové specifity bylo neúspěšné. Přesto se v séru nebo mozkomíšním moku pacientů zkouší nalézt protilátka nebo kombinace protilátek, které by zlepšily diagnostiku nebo klasifikaci klinických forem nebo které by předpovídaly další průběh onemocnění. V současnosti jsou předmětem zájmu antimyelinové protilátky proti myelinovému oligodendrocytárnímu glykoproteinu a myelinovému bazickému proteinu. Jejich prognostická hodnota se posledními poznatky nepotvrzuje. Průkaz axonálního poškození se také odrazil v zájmu o antiaxonální protilátky u pacientů s RS, avšak výsledky nejsou zatím konzistentní. Nové metodické postupy a analýzy dalších faktorů protilátkové imunity jsou nadějí pro použití protilátek jako biologických ukazatelů RS.

Abstract

There is much evidence to implicate B cells and antibody immunity in the pathogenesis of multiple sclerosis (MS) in the last decade. The presence of cerebrospinal fluid oligoclonal bands of IgG class not detectable in serum provides powerful evidence for the diagnosis of MS, since it occurs in 95 % of patients with MS. The determination of antibody specificity has been unsuccessful so far. The search for an antibody or a combination of antibodies continues in order to improve the diagnosis, the classification and the prediction of the further course. Antimyelin antibodies to myelin oligodendrocyte glycoprotein and myelin basic protein are the most popular in the recent years. Their prognostic value originally accepted with a great expectation is not confirmed with the latest data. Evidence of axonal pathology was reflected in the interest in anti-axonal antibodies. The results are not consistent, however. New methods and analysis of other factors of humoral immunity may result in identifying antibodies as biological markers of MS.

A. Bartoš

Neurologická klinika
Univerzita Karlova, 3. lékařská
fakulta a FNKV
Neurologická klinika, Praha



MUDr. Aleš Bartoš, Ph.D.
Neurologická klinika

3. LF UK, FNKV
Šrobárova 50, 100 34 Praha 10
e-mail: abartos@fnkv.cz

Klíčová slova

roztroušená skleróza – mozkomíšní
mok – protilátky – intratekální sytnéza
– oligoklonální páсы – imunoglobuliny

Key words

multiple sclerosis – cerebrospinal fluid
– antibody – intrathecal synthesis –
oligoclonal bands – immunoglobulins

Přehledný referát vznikl jako výsledek soustavného zájmu a výzkumu podpořeného výzkumným záměrem MŠMT ČR 0021620816.

Úvod

Autoimunitní charakter roztroušené sklerózy (RS) je podmíněn nejen buněčnými mechanismy, ale také změnami v humorální imunitě. B-buňky, plazmatické buňky, složky komplementu a různé protilátky byly nalezeny v mozkových lézích, v séru nebo mozkomíšním moku pacientů s RS (obr. 1) [1–4]. Protilátky u RS mohou být ukazatelem choroby jako její sekundární epifenomén, mohou být primárně patogenní nebo naopak protektivní [5]. Jedním z možných patogenetických mechanismů RS je protilátkově vázaná demyelinizace [6]. S tím může souviset příznivý efekt intravenózních imunoglobulinů a plazmaferézy při léčbě RS [7,8]. Nově se zkouší léčba RS pomocí monoklonální protilátky proti CD20 (rituximab) vedoucí ke snížení B-lymfocytů a T-lymfocytů [9].

Protilátky u RS mohou být součástí obecné „nonsense“ protilátkové odpovědi, autoimunitní reakcí na nějaký antigen nebo se může při jejich tvorbě uplatňovat fenomén zvaný molekulární mimikry (viz dále). U pacientů s RS jsou protilátky namířené proti různým antigenům:

1. **cizorodé antigeny** – např. viry (viry spalniček, zarděnek, varicella-zoster a herpes simplex) [10–12], lidský herpesvirus typ 6 [13] a jiná infekční agens – *Pseudomonas aeruginosa*, *Acineto-*

bacter spp [14,15], *Chlamydomydia pneumoniae* [16]

2. **vlastní autoantigeny neuronů nebo oligodendrocytů** [1,2,4,17]:

- proteiny a komplexní molekuly myelinu – myelinový bazický protein (MBP), myelinový oligodendrocytární glykoprotein (MOG), glykoprotein asociovaný s myelinem (MAG), proteolipidový protein (PLP), sulfatidy, gangliosidy, Nogo-A a jeho receptor, galaktocerebrosid [18–25]

- axonální proteiny – tubulin, neurofilamenta [14,26–30]

3. **vlastní ostatní autoantigeny** [17] – např. antikardiolipinové protilátky, protilátky proti nukleárním a tyreoidálním mikrozomálním antigenům, protilátky proti bílkovinám tepelného šoku tzv. heat shock proteins, protilátky proti proteazomu, jadernému ribonukleoproteinu, dvojšroubovici DNA, synapsinu [23,31–36]

4. **antigeny „nonsense“ specifity**

Není jasné, zda B-buněčná odpověď je výsledkem určité charakteristické reakce v rámci RS vyvolávané přítomností antigenu nebo zda se jedná o nespecifickou polyklonální B-buněčnou aktivaci bez vazby na antigen. Zdá se, že alespoň část imunitní reakce je vyvolávána antigenem

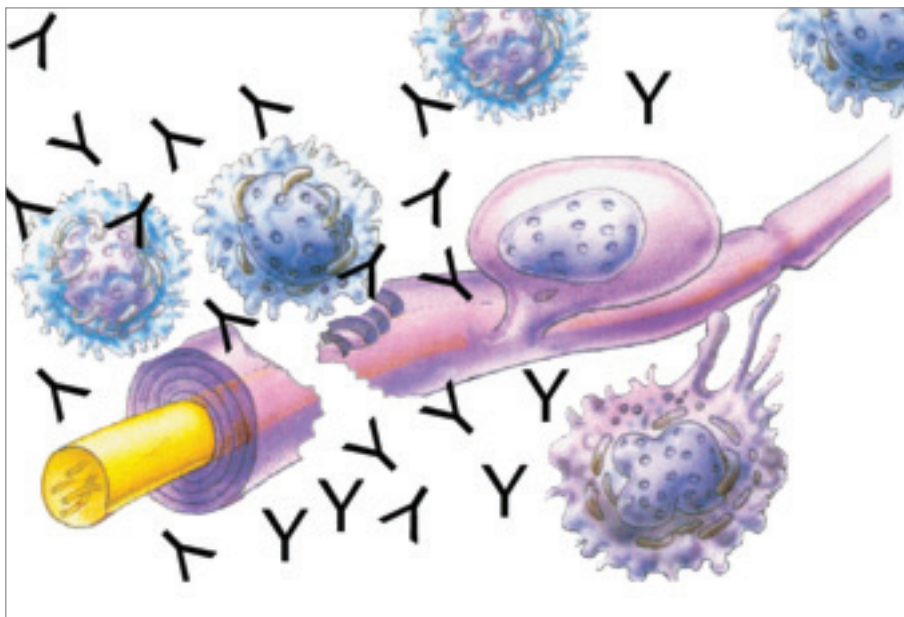
[37]. Na hledání specifity sérových nebo mozkomíšních imunoglobulinů bylo vynaloženo velké úsilí, ale antigenní cíl převažující části intratekálních protilátek není dosud jasný [17,38]. Z četných studií vyplývá velká heterogenita protilátek, pravděpodobně jako součást polyspecifické humorální odpovědi u RS. Jedním z vysvětlení je fenomén tzv. rozšiřování epitopů. Po úvodní zánětlivé příhodě se uvolněním nových antigenů může aktivovat autoreaktivní buněčná a humorální imunitní odpověď, která zahrnuje další myelinové a nemyelinové antigeny nebo epitopy [39]. Protilátky mohou vznikat jako autoimunitní duální reakce na různé antigeny se strukturální podobností fenoménem tzv. molekulárních mimikry. Exogenní struktury (např. peptidy odvozených od virových partikulí nebo bakterií) mohou vytvářet protilátky, které zkříženě reagují s neuronálními antigeny [40–42].

Cílem klinického využití protilátek je zpřesnění diagnózy, identifikace rizikovějších pacientů, prognózování dalšího osudu nemocného a vhodná volba léčebné strategie. Lze přitom sledovat dva hlavní směry využívající jednak celkové a jednak specifické protilátky.

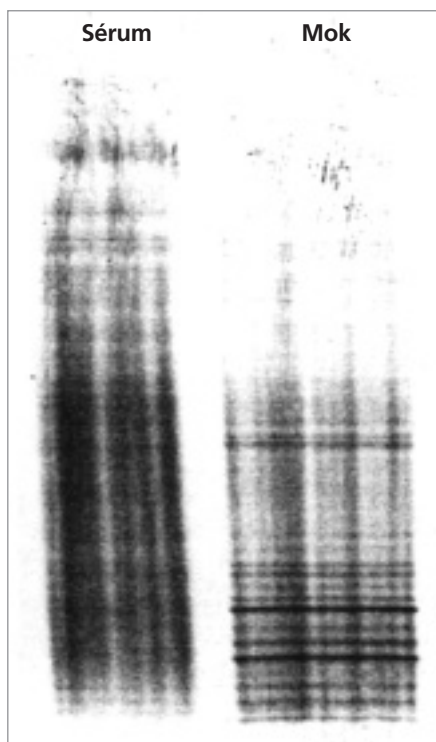
Klinické využití celkových protilátek u roztroušené sklerózy

Konstantním rysem pacientů s RS je intratekální syntéza imunoglobulinů IgG v mozkomíšním moku (MMM). Proto nález autochtónní produkce IgG významně podporuje diagnózu RS. Intratekální syntéza se prokazuje kvalitativně přítomností oligoklonálních IgG pásů v mozkomíšním moku nebo kvantitativně zvýšenou produkcí IgG v CNS [43–45].

Dva nebo více oligoklonálních pásů IgG v MMM bez odpovídajících sérových pásů odráží lokální reakci B-buněk v CNS. IgG pásy znamenají izoelektrickou fukusací rozdělené IgG vyskytující se v MMM nebo séru. Každý pás je tvořen homogenní skupinou imunoglobulinů – protilátek, které jsou produkovány jednou populací identických B-lymfocytů (tzv. klonem). Imunoglobuliny mohou do MMM přestoupit také z krve. Několik klonů B lymfocytů (tzv. oligo) produkuje lokálně



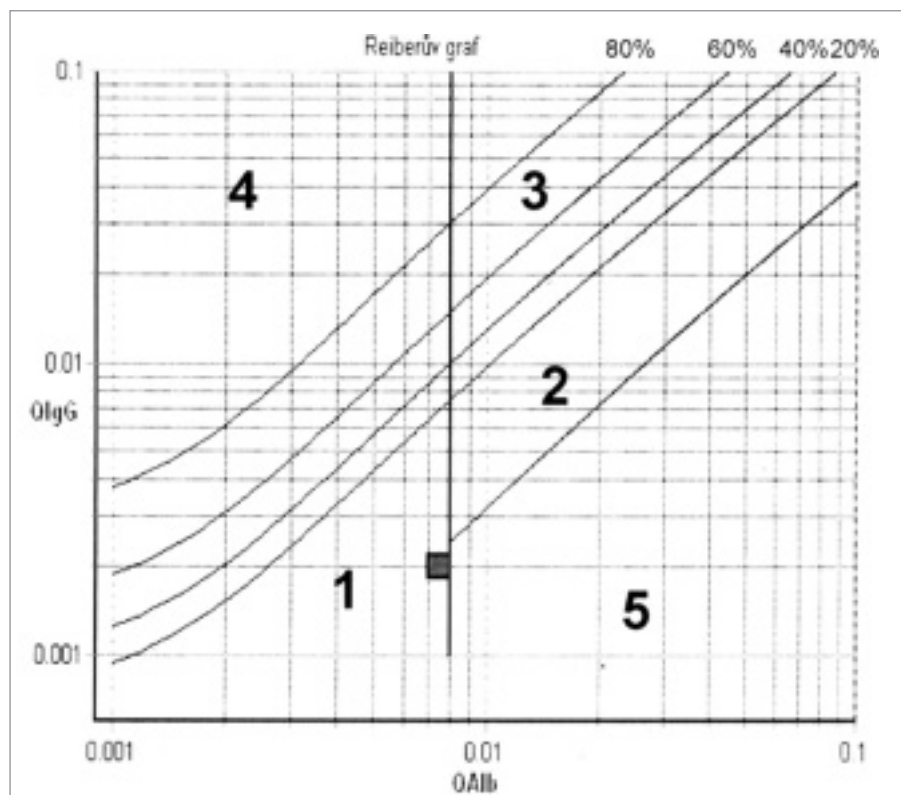
Obr. 1. Schematické znázornění axonálního přerušování a demyelinizace interakce plazmocytů s nervovým vláknem a produkce protilátek.



Obr. 2. Přítomnost oligoklonálních IgG pásů v mozkomíšním moku, které nejsou v séru (z archivu vyšetření provedených autorem při stážích v neuroimmunologické laboratoři v Innsbrucku, Rakousko, 2002 a 2003).

protilátky, které se při vyšetření projeví jako oligoklonální pásy IgG. Autoimunitní produkce protilátek v CNS se potvrdí tím, že některé oligoklonální pásy se detekují výhradně v MMM, a nikoli v séru od těžce osoby (obr. 2). Při použití standardizované metodiky (nejlépe separace bílkovin izoelektrickou fokusací následované imunoblottingem) má asi 95 % pacientů s RS detekovatelné mozkomíšní pásy IgG, aniž by byly podobné pásy zjistitelné v séru [46]. Specifita bývá kolem 85–90 % [44]. Pro detekci oligoklonálních pásů IgG byl nedávno vyvinut nový test, který je více senzitivní (až 96 %), specifický (až 99,5 %) a snadnější k interpretaci než dříve popsané metodiky [47]. Jakmile jsou oligoklonální pásy v mozkomíšním moku vytvořeny, přetrvávají u jednotlivého pacienta bez ohledu na průběh RS nebo léčbu [46].

K určení množství IgG produkováných lokálně v CNS existují různé výpočty. Mezi nejznámější a nejpoužívanější patří Linkův IgG index a Reiberova formule a dia-



Interpretace grafu (pro věk 40–60 let):

1. Oblast normálních hodnot
2. Porucha hemato-likvorové bariéry bez lokální syntézy IgG
3. Porucha hemato-likvorové bariéry spojená intrathekální (autochtonní) syntézou IgG
4. Intrathekální syntéza IgG při normální funkci hemato-likvorové bariéry
5. V této oblasti se nemohou vyskytovat žádné hodnoty (odběrová nebo analytická chyba)

Obr. 3. Reiberův diagram vyjadřující souvislost mezi imunoglobulinovým kvocientem Q IgG (poměr koncentrací IgG v moku a séru) a albuminovým kvocientem Q alb (poměr koncentrací albuminu v moku a séru). Čtyřlístek ukazuje příklad průsečíku obou hodnot osoby bez poruchy hematoliquorové bariéry a bez autochtonní tvorby protilátek (z likvorové laboratoře Neurologické kliniky FNKV, 3. LF UK).

gram [48]. Výhodou tohoto přístupu je kvantitativní zhodnocení a rychlejší a snadnější provedení než analýza oligoklonálních pásů. IgG index (bezrozměrné číslo) je roven poměru koncentrací IgG v MMM/séru (tzv. IgG kvocient) vztahený k poměru koncentrací albuminu v MMM/séru (tzv. albuminový kvocient). IgG index je zvýšen asi u 70 % pacientů s RS a vzácně u pacientů s chybějícími oligoklonálními pásy v MMM [46]. Výpočet podle Reiberovy formule zohledňuje hyperbolický vztah mezi albuminovým a IgG kvocientem a zavádí limitní IgG kvocient na základě měření obrovského množství vzorků pa-

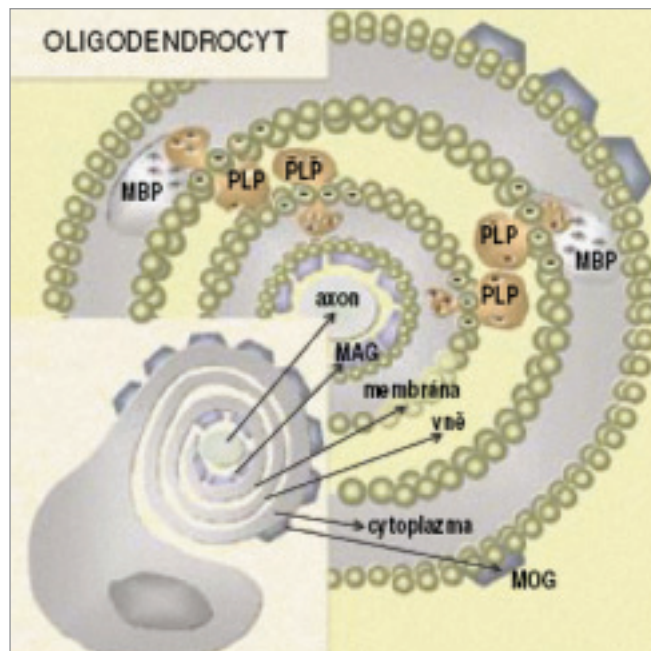
cientů. Výsledek v mg/l nebo % lze vypočítat podle složitějšího vzorce nebo najít v tzv. Reiberově diagramu vyjadřující vztah mezi IgG a albuminovým kvocientem (obr. 3) [48]. Intratekální syntéza celkových IgG je podle této formule zvýšena u 72 % pacientů s roztroušenou sklerózou [49]. Oba typy výpočtů se považují za stejně citlivé u RS jako stavu většinou bez poruchy hematoliquorové bariéry, tj. s normálním albuminovým kvocientem [50]. Vzhledem k nižší senzitivě nemohou být ani IgG index ani Reiberova formule doporučeny jako náhrada oligoklonálních pásů IgG v diagnostice RS [46]. Zlatým

standardem je tedy v současnosti stanovení oligoklonálních páسů IgG v MMM metodou izoelektrické fokuse [43–45].

V poslední době se pozornost upíná na předpovědní hodnotu celkové protilátkové reakce. Pacienti s RS se zvýšeným IgG indexem (zvýšenou intratekální syntézou celkových IgG protilátek) mohou mít vyšší riziko progresu choroby [51]. Pacienti s intratekální syntézou protilátek ve třídě IgM mají větší pravděpodobnost konverze do roztroušené sklerózy, častější ataky a horší průběh s větší invalidizací než pacienti bez intratekální IgM syntézy [52,53]. Pacienti po klinicky izolovaném syndromu s prokázanou intratekální syntézou oligoklonálními IgG páسů mají větší riziko zvratu do RS. Přítomnost oligoklonálních páسů IgG v MMM je vysoce specifická (94 %) a senzitivní (91 %) pro konverzi pacientů s první atakou RS do klinicky jisté RS určené druhou atakou. To je užitečná informace na počátku onemocnění, zvl. s normálním nálezem při zobrazování magnetickou rezonancí (MRI) mozku [54,55]. Naopak pacienti s chyběním oligoklonálních IgG páسů v MMM mají delší fázi relaps-remitujícího období a pozdější nástup progresu invalidizace [16].

Klinické využití protilátek proti specifickým strukturám u roztroušené sklerózy

Současný výskyt protilátek proti virům spalniček, zarděnek a varicella-zoster (MRZ) u jedné osoby s jiným onemocněním než RS je nepravděpodobný, což se může uplatňovat v diferenciální diagnostice autoimunitních onemocnění. Tato tzv. MRZ reakce doplňuje výsledek oligoklonálních páسů o větší specifitu pro onemocnění RS [10–12]. Novinkou zasluhující ověření jsou protilátky proti galaktocerebrosidu, které jsou specifické pro RS a nebyly nalezeny u zdravých osob na rozdíl od anti-myelinových protilátek [24]. Novou nadějnou protilátkou, která by mohla být použita k diagnostice a monitoraci RS za pomoci jednoduchého krevního testu, je protilátka proti jednomu typu z glykanů, které se vyskytují na povrchu buněk. Hladiny IgM protilátek proti $\alpha 4G\alpha$ byly významně vyšší v séru pacientů s RS bez ohledu na stadium či léčbu oproti pacien-



Obr. 4. Schematické znázornění rozmístění hlavních proteinů v myelinové pochvě (MOG – myelinový oligodendrocytární glykoprotein, MBP – myelinový bazický protein, PLP – proteolipidový peptid, převzato z Krejssek et al. *Neurol pro praxi* 2002; se souhlasem autora).

tům s jinými neurologickými nemocemi nebo dalšími autoimunitními chorobami (senzitivita 57 %, specifita 85 %) [56].

Sérová autoprotilátka IgG specifická pro neuromyelitis optica (anti-NMO) se váže selektivně k akvaporinu 4. Akvaporin 4 je membránový proteinový kanál pro průchod vody [57]. Optická neuromyelitida je zánětlivé demyelinizační onemocnění, které selektivně postihuje zrakové nervy a míchu. Často bývá zaměňována za RS nebo bývá považována za těžkou variantu RS. Doposud nebyl k dispozici rozlišující ukazatel. Anti-NMO IgG protilátka je novým druhem imunoglobulinu u autoimunitně podmíněných poruch membránových kanálů podporující diagnózu optické neuromyelitidy [58].

Jiným typem imunoglobulinů jsou protilátky proti neuronálním autoantigenům – antimyelinové a antiaxonální protilátky.

Antimyelinové protilátky u roztroušené sklerózy

Možnými terči pro protilátky u RS jsou myelinové nebo oligodendrocytární proteiny, které jsou na povrchu dobře přístupné imunitnímu systému. Mezi takové potenciální kandidáty patří: myelinový bazický protein, proteolipidový protein, glykoprotein sdružený s myelinem, 2',3'-cyklická nukleotid 3'-fosfodiesteráza a myelinový

oligodendrocytární glykoprotein (obr. 4) [59].

Myelinový bazický protein (MBP) tvoří největší, asi 30% podíl mezi myelinovými proteiny a je tradičně považován za hlavní cíl imunitní odpovědi u RS. Výsledky detekce sérových a mozkomíšních protilátek proti MBP u pacientů s RS jsou rozporuplné, i když se protilátky převážně našly ve zvýšené míře u pacientů s RS oproti kontrolním jedincům. Je to dáno jednak různými imunochemickými metodami detekce protilátek a zřejmě i různými populacemi pacientů s RS. Četnost anti-MBP protilátek vzrůstá u pacientů s RS po první atace (12 %) do období relaps-remitujícího (32 %) a dále v chronické progresi (40 %). Jsou považovány za ukazatel neurologického poškození spíše než za primární příčinu [60–62].

Myelinový oligodendrocytární glykoprotein (MOG) může být důležitým imunitním terčem u RS, přestože zaujímá pouze malou část myelinových proteinů (nejvíce 0,05 %). MOG je specifickým proteinem CNS, je lokalizován výlučně na zevní části oligodendrogliaální membrány a myelinu a je silně imunogenní [17].

U pacientů s RS byla zjištěna zvýšená frekvence buněk produkujících protilátky proti MBP nebo PLP [63]. U řady pacientů s RS se našly protilátky proti extracelulární části MOG s převahou IgM třídy. Pro-

tilátky proti MOG se vyskytují v séru a mozkomíšním moku u třetiny pacientů již v době první ataky RS. Prottilátky jsou přítomny ve stabilním titru a ve stejné četnosti u všech stadií RS. Reakce proti MOG se objevuje i u meningitid. U nich však prottilátky časem vymizí, zatímco u RS přetrvávají [61]. Imunomodulační léčba interferonem beta nebo glatiramer acetatem nemá větší vliv na anti-MOG imunoreaktivitu po jednom roce léčby [64].

Jedním z významných pokusů předpovídat další osud pacientů po první atace roztroušené sklerózy bylo ověření vztahu mezi přítomností sérových antimyelinových prottilátek a dalším průběhem onemocnění. Pacienti se sérovými anti-MOG a anti-MBP prottilátkami měli relapsy častěji a dříve než pacienti bez těchto prottilátek. Séropozitivní pacienti pro obě prottilátky vyvinuli druhou ataku klinicky jistou RS častěji (95 % vs 23 %) a dříve (7 měsíců vs 45 měsíců) oproti séronegativním pacientům [20]. V jiné studii pacienti s oběma typy prottilátek proti MOG a MBP měli druhou ataku významně dříve než seronegativní pacienti (5 měsíců vs 25 měsíců) [65].

Následné průřezové studie zabývající se porovnáním pacientů s RS a kontrol z hlediska anti-MOG prottilátek přinesly rozporuplné výsledky. Prottilátky proti MOG jsou v mozkomíšním moku pacientů s RS zvýšeny (30 %) ve srovnání s kontrolními jedinci (8 %) [22]. Sérové prottilátky proti nativnímu glykosylovanému MOG byly měřeny ELISA metodou u pacientů s RS a kontrolních jedinců. Anti-MOG prottilátky byly zvýšené u pacientů s první atakou RS. Vyšší anti-MOG IgG prottilátky byly nalezeny u pacientů s atakou a u sekundárně progresivních pacientů s RS při srovnání s pacienty v remisi nebo zdravými kontrolami [66]. Hladina prottilátek IgG, ale ne IgM, proti nativnímu proteinu MOG měřená vysoce citlivým testem byla u pacientů s RS (a zejména s primárně progresivní formou) zvýšená oproti různým kontrolním skupinám [67]. Naproti tomu sérové anti-MOG prottilátky IgM a IgG měřené radioimunotestem (RIA) v kapalně fázi byly nalezeny se stejnou četností u pacientů s RS a i u zdravých jedinců [68]. V dalších studiích se ukazuje,

že přítomnost anti-MOG prottilátek u pacientů s RS je podobná jako u pacientů s různými neurologickými diagnózami [25,69,70]. Tyto diskrepance lze vysvětlit rozdílnými populacemi pacientů, použitím různých antigenů – rekombinantních [21,25,68,69] nebo nativních [66,67,70] proteinů MOG a stanovování různými technikami – westernblot [20,25], ELISA [66,69,70] a RIA v kapalně fázi [68]. Rekombinantní proteiny neobsahují posttranslační modifikace (jako např. fosforylace či glykosylace), které mohou měnit významně terciární strukturu bílkoviny nezbytnou pro vazbu prottilátek. Proto použití nativního a rekombinantního proteinu může dávat různé výsledky. Dalším vysvětlením je, že anti-MOG prottilátky nejsou zřejmě specifické pro RS a vyskytují se i u kontrolních jedinců [25,69,70].

Změněná struktura proteinu MOG v ELISA uspořádání překonává nová metodika. Ta je založena na vazbě IgG k lidskému proteinu MOG s jeho přirozenou konformací vyskytující se v membráně savčích buněk. Při srovnání se zdravými jedinci byly prottilátky IgG proti MOG nalezeny ve zvýšené míře u pacientů s první atakou RS a pacientů v relabující-remituující fázi, hraničně u sekundárně progresivních forem RS, a vůbec ne u primární progresi RS. Z toho plyne, že epitopy na přirozeném glykosylovaném proteinu MOG in vivo jsou časným cílem patogenních prottilátek a nemusí být detekovány klasickou ELISA metodou [71].

Poslední pozorování vyvrátila naděje vkládané do antimyelinových prottilátek k prognózování pacientů s první atakou RS. Velká studie s více než 400 pacienty neprokázala předpovědní hodnotu sérových prottilátek proti MOG a MBP pro progresi do klinicky jisté roztroušené sklerózy [72]. Nedávno bylo zveřejněno několik studií, ve kterých se nepotvrdila souvislost mezi přítomností antimyelinových prottilátek a časnějším přechodem nebo vyšším rizikem konverze do klinicky jisté RS [65,72–75].

Antiaxonální prottilátky u roztroušené sklerózy

V posledních letech došlo s novými poznatky k přehodnocení některých názorů na roztroušenou sklerózu (RS). Původně

se tradovalo, že se jedná o autoimunitní demyelinizační onemocnění postihující roztroušeně bílou hmotu centrálního nervového systému (CNS). Vlnu velkého zájmu o axonální problematiku spustily doklady o přerušení axonů jak imunohistochemickými metodikami, tak nález na MR mozku a míchy. Ukázalo se, že k axonálnímu poškození dochází u RS nejen v zánětlivých ložiscích, ale i ve zdánlivě normální tkáni bílé i šedé hmoty CNS od časných stadií RS [76–78].

Dnes se choroba považuje za vytrvale probíhající autoimunitní a neurodegenerativní proces bílé i šedé hmoty CNS zahrnující demyelinizační i axonální poškození již od časných fází. Axonální poškození u roztroušené sklerózy může být zodpovědné za trvalý nebo narůstající neurologický deficit a být cílem neuroprotektivní léčby. Proto má význam hledat ukazatele tohoto pochodu také v mozkomíšním moku nebo séru.

V rámci autoimunitní povahy onemocnění se mohou vytvářet prottilátky proti strukturám specifických pro axon. Typickou cytoskeletální bílkovinou pro neuron jsou neurofilamenta, která se skládají ze tří podjednotek: lehké (light – NFL), střední (medium – NFM) a těžké (heavy – NFH). Prottilátky proti neurofilamentům se mohou podílet na poranění axonu, což zatím experimentálně nebylo prokázáno. Axonální přerušení a následná Wallerova degenerace distální části vede k uvolnění neurofilament. Autoimunitní odpověď namířená proti těmto jinak skrytým antigenům může být provázena tvorbou prottilátek jako sekundární epifenoménu autodestrukčních procesů (obr. 1). Anti-neurofilamentové (anti-NF) prottilátky v séru a mozkomíšním moku u pacientů s RS, bez ohledu na jejich primární nebo sekundární roli, tak obecně mohou odrážet axonální patologii. Přestože axonální proteiny jsou skryté uvnitř nervového vlákna, tvorbu prottilátek proti cytoskeletu to nevylučuje. Po poškození nervové tkáně se mohou cytoskeletální proteiny dostat do interakce s dysregulovaným imunitním systémem (fenomén tzv. rozšiřování epitopů). Jsou také známy paraneoplastické syndromy, při kterých se prottilátky mohou vázat na cytoplazmatické nebo jaderné struktury

neuronů [79,80]. Navíc se může uplatňovat fenomén molekulárních mimikry [40]. Literatura na detekci antiaxonálních protilátek u roztroušené sklerózy je nepoměrně chudší než problematika antimyelinových protilátek.

Protilátky ve třídě IgA, IgM a IgG proti směsi lehkých, středních a těžkých neurofilament byly zvýšené u pacientů s RS oproti pacientům s ikty nebo zdravým osobám [14]. Intratekální produkce anti-NFL protilátek byla významně zvýšená u pacientů s RS s primárně nebo sekundárně progresivním průběhem. Hladina protilátek proti NFH byla u pacientů s RS podobná jako u kontrolních jedinců. Protilátky proti NFL a NFH souvisely s trváním choroby a mírou invalidity [26]. Intratekální produkce protilátek proti NFL pacientů s RS korelovala s atrofickými změnami na MR mozku [27]. Sérové IgG protilátky proti NFL byly významně zvýšené u pacientů s primárně progresivním průběhem RS [28]. Intratekální produkce protilátek IgM a IgG proti střední podjednotce NFM u pacientů s RS byla vyšší než u kontrolních osob [30]. Hladina intratekálních protilátek IgG proti lehké podjednotce NFL nebyla jednoznačně zvýšená u pacientů s RS a v případě IgM typu protilátek byla stejná jako u věkově vázaných kontrolních osob [29]. Nepodařilo se najít nějakou podskupinu pacientů se společnými rysy RS, u kterých byla intratekální syntéza anti-neurofilamentových protilátek zvýšená. Na rozdíl od intratekálních protilátek se absolutní hladiny protilátek proti NFL či NFM v séru nebo mozkomíšním moku zásadně neodlišovaly mezi pacienty RS a kontrolními jedinci [29,30].

Závěr

Průkaz oligoklonálních IgG pásů v mozkomíšním moku má již své stabilní místo podporující diagnózu RS. Zatím se nepodařilo najít spolehlivou protilátku pro prognózu nebo progresi onemocnění nebo monitorování nemoci či léčby. Doposud nebyla prokázána protilátková reakce specifická pro RS a namířená proti určitému cílovému antigenu CNS. Většina protilátek detekovaných u RS je také nalezena u pacientů s jinými chorobami a v menší míře i u zdravých osob. Neúspěch lze vy-

světlit několika faktory. Ještě se nepodařilo určit patogenní protilátky u RS. Protilátky u RS mohou mít různý charakter: patogenní, regulační, sekundární jako epifenomén či dokonce reparativní. Rozpurné nálezy autoprottilátek u RS mohou být výsledkem technických otázek týkajících se testů s odlišnými detekčními systémy nebo různých forem antigenů použitých pro imunochemické stanovení. Ačkoli protilátky nejsou biologickým ukazatelem specifickým pro RS, mohou být v budoucnu použity k určování a odlišování různých imunopatologických podtypů RS. Pokud se potvrdí užitečnost anti-NMO protilátek pro diagnózu a prognózu optické neuromyelitidy v jiných laboratořích, anti-NMO-IgG protilátky by mohly být prvním biologickým ukazatelem rozlišující pacienty s NMO od pacientů s klasickou RS. Je pravděpodobné, že teprve kombinací několika protilátek u jednotlivých pacientů bude možné lépe klasifikovat pacienty k optimální léčbě.

Literatura

1. Archelos JJ, Storch MK, Hartung HP. The role of B cells and autoantibodies in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2000; 47: 694–706.
2. Cross AH, Trotter JL, Lyons J. B cells and antibodies in CNS demyelinating disease. *J Neuroimmunol* 2001; 112: 1–14.
3. Cross AH, Stark JL. Humoral immunity in multiple sclerosis and its animal model, experimental autoimmune encephalomyelitis. *Immunol Res* 2005; 32: 85–98.
4. Teunissen CE, Dijkstra C, Polman C. Biological markers in CSF and blood for axonal degeneration in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2005; 4: 32–41.
5. Martino G, Adorini L, Rieckmann P, Hillert J, Kallmann B, Comi G et al. Inflammation in multiple sclerosis: the good, the bad, and the complex. *Lancet Neurol* 2002; 1: 499–509.
6. Lucchinetti C, Bruck W, Parisi J, Scheithauer B, Rodriguez M, Lassmann H. Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol* 2000; 47: 707–717.
7. Sorensen PS. Treatment of multiple sclerosis with intravenous immunoglobulin: review of clinical trials. *Neurol Sci* 2003; 24 Suppl 4: S227–230.

8. Keegan M, Konig F, McClelland R, Bruck W, Morales Y, Bitsch A et al. Relation between humoral pathological changes in multiple sclerosis and response to therapeutic plasma exchange. *Lancet* 2005; 366: 579–582.

9. Cross AH, Stark JL, Lauber J, Ramsbottom MJ, Lyons JA. Rituximab reduces B cells and T cells in cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients. *J Neuroimmunol* 2006; 180: 63–70.

10. Reiber H, Lange P. Quantification of virus-specific antibodies in cerebrospinal fluid and serum: sensitive and specific detection of antibody synthesis in brain. *Clin Chem* 1991; 37: 1153–1160.

11. Štourač P, Bednářová J. Intratekální, antivirová a oligoklonální IgG syntéza u sclerosis multiplex a její význam v diferenciální diagnostice neurologických onemocnění. *Klin Biochem Metabol* 2000; 8 (4): 204–208.

12. Bednarova J, Stourac P, Adam P. Relevance of immunological variables in neuroborreliosis and multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 2005; 112: 97–102.

13. Derfuss T, Hohlfeld R, Meinl E. Intrathecal antibody (IgG) production against human herpesvirus type 6 occurs in about 20% of multiple sclerosis patients and might be linked to a polyspecific B-cell response. *J Neurol* 2005; 252: 968–971.

14. Hughes LE, Bonell S, Natt RS, Wilson C, Tiwana H, Ebringer A et al. Antibody responses to *Acinetobacter* spp. and *Pseudomonas aeruginosa* in multiple sclerosis: prospects for diagnosis using the myelin-acinetobacter-neurofilament antibody index. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001; 8: 1181–1188.

15. Ebringer A, Hughes L, Rashid T, Wilson C. *Acinetobacter* immune responses in multiple sclerosis: etiopathogenetic role and its possible use as a diagnostic marker. *Arch Neurol* 2005; 62: 33–36.

16. Annunziata P, Giorgio A, De Santi L, Zi-poli V, Portaccio E, Amato MP et al. Absence of cerebrospinal fluid oligoclonal bands is associated with delayed disability progression in relapsing-remitting MS patients treated with interferon-beta. *J Neurol Sci* 2006; 244: 97–102.

17. Reindl M, Khalil M, Berger T. Antibodies as biological markers for pathophysiological processes in MS. *J Neuroimmunol* 2006; 180: 50–62.

18. Acarin N, Rio J, Fernandez AL, Tintore M, Duran I, Galan I et al. Different anti-ganglioside antibody pattern between relapsing-remitting and progressive multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 1996; 93: 99–103.
19. Genain CP, Cannella B, Hauser SL, Raine CS. Identification of autoantibodies associated with myelin damage in multiple sclerosis. *Nat Med* 1999; 5: 170–175.
20. Berger T, Rubner P, Schautzer F, Egg R, Ulmer H, Mayringer I et al. Antimyelin antibodies as a predictor of clinically definite multiple sclerosis after a first demyelinating event. *N Engl J Med* 2003; 349: 139–145.
21. Reindl M, Khantane S, Ehling R, Schanda K, Lutterotti A, Brinkhoff C et al. Serum and cerebrospinal fluid antibodies to Nogo-A in patients with multiple sclerosis and acute neurological disorders. *J Neuroimmunol* 2003; 145: 139–147.
22. Markovic M, Trajkovic V, Drulovic J, Mesaros S, Stojisavljevic N, Dujmovic I et al. Antibodies against myelin oligodendrocyte glycoprotein in the cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients. *J Neurol Sci* 2003; 211: 67–73.
23. Lily O, Palace J, Vincent A. Serum autoantibodies to cell surface determinants in multiple sclerosis: a flow cytometric study. *Brain* 2004; 127: 269–279.
24. Menge T, Lalive PH, von Budingen HC, Cree B, Hauser SL, Genain CP. Antibody responses against galactocerebroside are potential stage-specific biomarkers in multiple sclerosis. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116: 453–459.
25. Onoue H, Satoh JI, Ogawa M, Tabunoki H, Yamamura T. Detection of anti-Nogo receptor autoantibody in the serum of multiple sclerosis and controls. *Acta Neurol Scand* 2007; 115: 153–160.
26. Silber E, Semra YK, Gregson NA, Sharief MK. Patients with progressive multiple sclerosis have elevated antibodies to neurofilament subunit. *Neurology* 2002; 58: 1372–1381.
27. Eikelenboom MJ, Petzold A, Lazeron RH, Silber E, Sharief M, Thompson EJ et al. Multiple sclerosis: Neurofilament light chain antibodies are correlated to cerebral atrophy. *Neurology* 2003; 60: 219–223.
28. Ehling R, Lutterotti A, Wanschitz J, Khalil M, Gneiss C, Deisenhammer F et al. Increased frequencies of serum antibodies to neurofilament light in patients with primary chronic progressive multiple sclerosis. *Mult Scler* 2004; 10: 601–606.
29. Bartoš A, Fialová L, Soukupová J, Kukul J, Malbohan I, Piřha J. Antibodies against light neurofilaments in multiple sclerosis patients. *Acta Neurol Scand* 2007; 116: 100–107.
30. Bartoš A, Fialová L, Soukupová J, Kukul J, Malbohan I, Piřha J. Elevated intrathecal antibodies against the medium neurofilament subunit in multiple sclerosis. *J Neurol* 2007; 254: 20–25.
31. Heinzlef O, Weill B, Johanet C, Sazdovitch V, Caillat-Zucman S, Tournier-Lasserre E et al. Anticardiolipin antibodies in patients with multiple sclerosis do not represent a subgroup of patients according to clinical, familial, and biological characteristics. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002; 72: 647–649.
32. Mayo I, Arribas J, Villoslada P, Alvarez DoForno R, Rodriguez-Vilarino S, Montalban X et al. The proteasome is a major autoantigen in multiple sclerosis. *Brain* 2002; 125: 2658–2667.
33. Almeras L, Lefranc D, Drobecq H, de Seze J, Dubucquoi S, Vermersch P et al. New antigenic candidates in multiple sclerosis: identification by serological proteome analysis. *Proteomics* 2004; 4: 2184–2194.
34. Bitsch A, Dressel A, Meier K, Bogumil T, Deisenhammer F, Tumani H et al. Autoantibody synthesis in primary progressive multiple sclerosis patients treated with interferon beta-1b. *J Neurol* 2004; 251: 1498–1501.
35. Chiba S, Yokota S, Yonekura K, Tanaka S, Furuyama H, Kubota H et al. Autoantibodies against HSP70 family proteins were detected in the cerebrospinal fluid from patients with multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2006; 241: 39–43.
36. Cid C, Regidor I, Alcazar A. Anti-heat shock protein 90beta antibodies are detected in patients with multiple sclerosis during remission. *J Neuroimmunol* 2007; 184: 223–226.
37. Qin Y, Duquette P. B-cell immunity in MS. *Int MS J* 2003; 10: 110–120.
38. Correale J, de los Milagros Bassani Molinas M. Oligoclonal bands and antibody responses in multiple sclerosis. *J Neurol* 2002; 249: 375–389.
39. Havrdová E. *Neuroimmunologie*. Praha: Maxdorf Jessenius 2001.
40. Wekerle H, Hohlfeld R. Molecular mimicry in multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2003; 349: 185–186.
41. Hughes LE, Smith PA, Bonell S, Natt RS, Wilson C, Rashid T et al. Cross-reactivity between related sequences found in *Acinetobacter* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, myelin basic protein and myelin oligodendrocyte glycoprotein in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2003; 144: 105–115.
42. Prat A, Antel J. Pathogenesis of multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol* 2005; 18: 225–230.
43. Andersson M, Alvarez-Cermeno J, Bernardi G, Cogato I, Fredman P, Frederiksen J et al. Cerebrospinal fluid in the diagnosis of multiple sclerosis: a consensus report. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1994; 57: 897–902.
44. Freedman MS, Thompson EJ, Deisenhammer F, Giovannoni G, Grimsley G, Keir G et al. Recommended standard of cerebrospinal fluid analysis in the diagnosis of multiple sclerosis: a consensus statement. *Arch Neurol* 2005; 62: 865–870.
45. Deisenhammer F, Bartos A, Egg R, Gilhus NE, Giovannoni G, Rauer S et al. Guidelines on routine cerebrospinal fluid analysis. Report from an EFNS task force. *Eur J Neurol* 2006; 13: 913–922.
46. Link H, Huang YM. Oligoclonal bands in multiple sclerosis cerebrospinal fluid: an update on methodology and clinical usefulness. *J Neuroimmunol* 2006; 180: 17–28.
47. Villar LM, Masjuan J, Sadaba MC, Gonzalez-Porque P, Plaza J, Bootello A et al. Early differential diagnosis of multiple sclerosis using a new oligoclonal band test. *Arch Neurol* 2005; 62: 574–577.
48. Reiber H, Peter JB. Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs. *J Neurol Sci* 2001; 184: 101–122.
49. Reiber H, Ungefehr S, Jacobi C. The intrathecal, polyspecific and oligoclonal immune response in multiple sclerosis. *Mult Scler* 1998; 4: 111–117.
50. Sellebjerg F, Christiansen M, Rasmussen LS, Jaliachvili I, Nielsen PM, Frederiksen JL. The cerebrospinal fluid in multiple sclerosis. Quantitative assessment of intrathecal IgG synthesis by empirical formulae. *Eur J Neurol* 1996; 3: 548–559.

51. Izquierdo G, Angulo S, Garcia-Moreno JM, Gamero MA, Navarro G, Gata JM et al. Intrathecal IgG synthesis: marker of progression in multiple sclerosis patients. *Acta Neurol Scand* 2002; 105: 158–163.
52. Villar LM, Masjuan J, Gonzalez-Porque P, Plaza J, Sadaba MC, Roldan E et al. Intrathecal IgM synthesis is a prognostic factor in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2003; 53: 222–226.
53. Perini P, Ranzato F, Calabrese M, Battistini L, Gallo P. Intrathecal IgM production at clinical onset correlates with a more severe disease course in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2006; 77: 953–955.
54. Sastre-Garriga J, Tintore M, Rovira A, Grive E, Pericot I, Comabella M et al. Conversion to multiple sclerosis after a clinically isolated syndrome of the brainstem: cranial magnetic resonance imaging, cerebrospinal fluid and neurophysiological findings. *Mult Scler* 2003; 9: 39–43.
55. Masjuan J, Alvarez-Cermeno JC, Garcia-Barragan N, Diaz-Sanchez M, Espino M, Sadaba MC et al. Clinically isolated syndromes: a new oligoclonal band test accurately predicts conversion to MS. *Neurology* 2006; 66: 576–578.
56. Schwarz M, Spector L, Gortler M, Weiss-haus O, Glass-Marmor L, Karni A et al. Serum anti-Glc(alpha1,4)Glc(alpha) antibodies as a biomarker for relapsing-remitting multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2006; 244: 59–68.
57. Lennon VA, Kryzer TJ, Pittock SJ, Verkman AS, Hinson SR. IgG marker of optic-spinal multiple sclerosis binds to the aquaporin-4 water channel. *J Exp Med* 2005; 202: 473–477.
58. Lennon VA, Wingerchuk DM, Kryzer TJ, Pittock SJ, Lucchinetti CF, Fujihara K et al. A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. *Lancet* 2004; 364: 2106–2112.
59. Krejsek J, Kopecký O, Taláb R. Imunopatogeneze roztroušené sklerózy. *Neurol pro Praxi* 2002; 3 (5): 236–243.
60. Vincent A, Lily O, Palace J. Pathogenic autoantibodies to neuronal proteins in neurological disorders. *J Neuroimmunol* 1999; 100: 169–180.
61. Reindl M, Lington C, Brehm U, Egg R, Dilitz E, Deisenhammer F et al. Antibodies against the myelin oligodendrocyte glycoprotein and the myelin basic protein in multiple sclerosis and other neurological diseases: a comparative study. *Brain* 1999; 122 (Pt 11): 2047–2056.
62. O'Connor KC, Chitnis T, Griffin DE, Piyasirisilp S, Bar-Or A, Khoury S et al. Myelin basic protein-reactive autoantibodies in the serum and cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients are characterized by low-affinity interactions. *J Neuroimmunol* 2003; 136: 140–148.
63. Sellebjerg F, Jensen CV, Christiansen M. Intrathecal IgG synthesis and autoantibody-secreting cells in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2000; 108: 207–215.
64. Khalil M, Reindl M, Lutterotti A, Kuenz B, Ehling R, Gneiss C et al. Epitope specificity of serum antibodies directed against the extracellular domain of myelin oligodendrocyte glycoprotein: Influence of relapses and immunomodulatory treatments. *J Neuroimmunol* 2006; 174: 147–156.
65. Rauer S, Euler B, Reindl M, Berger T. Antimyelin antibodies and the risk of relapse in patients with a primary demyelinating event. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2006; 77: 739–742.
66. Gaertner S, de Graaf KL, Greve B, Weissert R. Antibodies against glycosylated native MOG are elevated in patients with multiple sclerosis. *Neurology* 2004; 63: 2381–2383.
67. Zhou D, Srivastava R, Nessler S, Grummel V, Sommer N, Bruck W et al. Identification of a pathogenic antibody response to native myelin oligodendrocyte glycoprotein in multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 19057–19062.
68. Lampasona V, Franciotta D, Furlan R, Zanaboni S, Fazio R, Bonifacio E et al. Similar low frequency of anti-MOG IgG and IgM in MS patients and healthy subjects. *Neurology* 2004; 62: 2092–2094.
69. Mantegazza R, Cristaldini P, Bernasconi P, Baggi F, Pedotti R, Piccini I et al. Anti-MOG autoantibodies in Italian multiple sclerosis patients: specificity, sensitivity and clinical association. *Int Immunol* 2004; 16: 559–565.
70. Zadro I, Brinar VV, Horvat G, Brinar M. Clinical relevance of antibodies against myelin oligodendrocyte glycoprotein in different clinical types of multiple sclerosis. *Clin Neurol Neurosurg* 2007; 109: 23–26.
71. Lalive PH, Menge T, Delarasse C, Della Gaspera B, Pham-Dinh D, Villoslada P et al. Antibodies to native myelin oligodendrocyte glycoprotein are serologic markers of early inflammation in multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 2280–2285.
72. Kuhle J, Pohl C, Mehling M, Edan G, Freedman MS, Hartung HP et al. Lack of association between antimyelin antibodies and progression to multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2007; 356: 371–378.
73. Lim ET, Berger T, Reindl M, Dalton CM, Fernando K, Keir G et al. Anti-myelin antibodies do not allow earlier diagnosis of multiple sclerosis. *Mult Scler* 2005; 11: 492–494.
74. Pelayo R, Tintore M, Montalban X, Rovira A, Espejo C, Reindl M et al. Antimyelin antibodies with no progression to multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2007; 356: 426–428.
75. Pittock SJ, Reindl M, Achenbach S, Berger T, Bruck W, Konig F et al. Myelin oligodendrocyte glycoprotein antibodies in pathologically proven multiple sclerosis: frequency, stability and clinicopathologic correlations. *Mult Scler* 2007; 13: 7–16.
76. Bjartmar C, Wujek JR, Trapp BD. Axonal loss in the pathology of MS: consequences for understanding the progressive phase of the disease. *J Neurol Sci* 2003; 206: 165–171.
77. Bartoš A, Piřha J. Axonální patologie v časných stádiích roztroušené sklerózy. *Cesk Slov Neurol N* 2004; 67/100 (5): 381.
78. Piřha J, Havrdová E. Axonální patologie u roztroušené sklerózy. *Cesk Slov Neurol N* 2005; 68/101 (3): 154–158.
79. Štourač P. Paraneoplastické autoimunitní neurologické syndromy. *Cesk Slov Neurol N* 2005; 68/101 (2): 80–89.
80. Bartos A, Stourac P, Rusina R, Sejdova M, Velenska Z. Paraneoplastische Degeneration des Kleinhirns bei einem Ovarialkarzinom: anti-Yo positive Immunreaktivität der Kleinhirn- und Tumorzellen. *Nervenarzt* 2002; 73: 995–998.