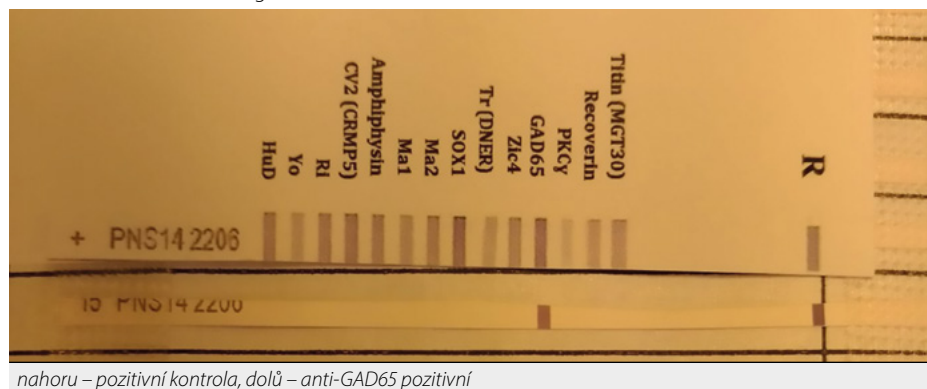
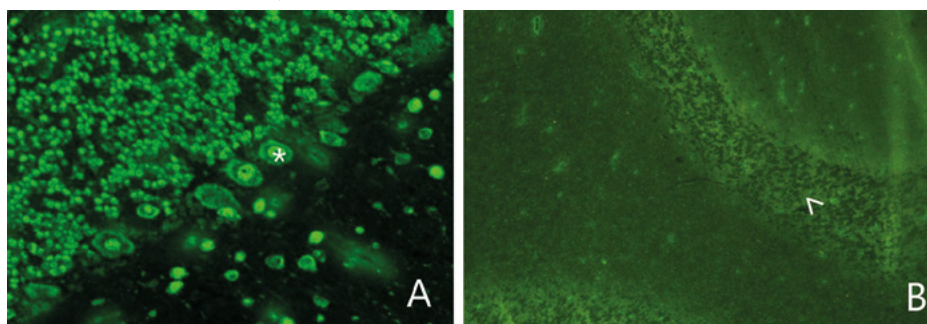
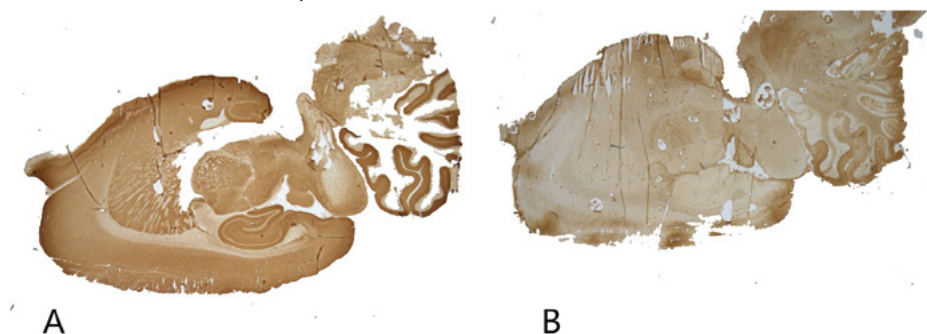


Obr. 1. Line-blot (ravo diagnostika, PNS14), sérum**Obr. 2.** Fixované tkáňové řezy (FTBA) (Euroimmun, Lübeck)

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

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) (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-