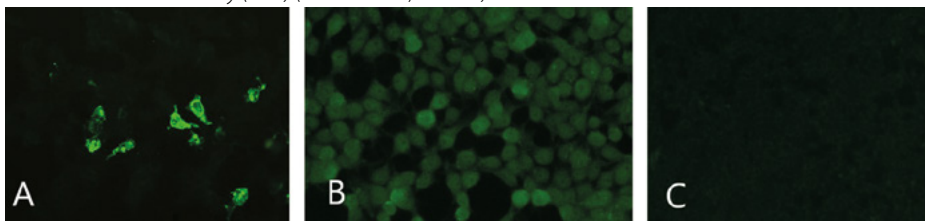


**Obr. 4.** Cell-based assay (CBA) (Euroimmun, Lübeck)



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 200x

**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 specificitu)
✓ potvrdit pozitivitu protilátek pomocí dvou samostatných testovacích technik (zvláště důležité, pokud je k dispozici pouze sérum, titer 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 postižení nervového systému
× sériové 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 specificita 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 postižení CNS klinicky významný až jejich vyšší titer. Za klinicky signifikantní se považuje titer > 10 000 IU/ml v séru či > 100 IU/ml v likvoru metodou ELISA a metodou RIA > 20 nmol/l v séru (Muñoz-Lopetegui 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 (Nytrová 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 encefalidity 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 specificity (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 titer protilátek proti NMDA v likvoru metodou CBA, vyšetření likvoru pomocí TBA však bylo negativní. Kombinace positivity jedné a negativity 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 zkrřížená (částečnou reaktivitou anti-GFAP protilátek na CBA pro NMDAR), nebo byly sice přítom-