

**Univerzita Karlova**

**2. lékařská fakulta**

Studijní program: Neurovědy



**MUDr. Martin Elišák**

**Epileptogeneze u encefalitid sdružených s autoprotiilátkami**

Epileptogenesis in encephalitis associated with neural antibodies

Disertační práce

Školitel: prof. MUDr. Petr Marusič, Ph.D.

Praha 2020

**Prohlášení:** Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu. Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze své práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 30. 3. 2020

Martin Elišák

Identifikační záznam: ELIŠÁK Martin. Epileptogeneze u encefalitid sdružených s autoantikémii. [*Epileptogenesis in encephalitis associated with neural antibodies*]. Praha, 2020. Počet stran 69. Přílohy – práce publikované v časopisech s IF. disertační práce (Ph.D.). Univerzita Karlova, 2. lékařská fakulta, Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, 2020, prof. MUDr. Petr Marusič, Ph.D.

# Obsah

Seznam použitých zkratk	6
Abstrakt	8
1. Úvod	10
1.1 Epileptické záchvaty u autoimunitních onemocnění	10
1.2 Autoimunitní encefalitidy	12
1.2.1 Protilátky sdružené s autoimunitními encefalitidami	16
1.2.2 Typy antineurálních protilátek	16
1.2.2.1 Protilátky proti intracelulárním antigenům	17
1.2.2.2 Protilátky proti povrchovým antigenům	22
1.2.3 Metody detekce	27
1.2.4 Klinická variabilita syndromů	31
1.2.5 Epileptické záchvaty u autoimunitních encefalitid	32
1.3 Antineurální protilátky u epilepsie	35
1.4 Autoimunitní epilepsie	37
1.5 Léčba	38
2. Cíle a hypotézy	41
3. Metodika	43
3.1 Klinické projevy pacientů s pozitivitou antineurálních protilátek	43
3.2 Antineurální protilátky u pacientů s epilepsií temporálního laloku	44
3.3 Antineurální protilátky u fokální epilepsie neznámé etiologie	46

4. Výsledky	47
4.1 Klinické projevy pacientů s pozitivitou antineurálních protilátek	47
4.2 Antineurální protilátky u pacientů s epilepsií temporálního laloku	50
4.2.1 Rozdíly mezi seropozitivní a seronegativní skupinou	50
4.2.2 Seropozitivní pacienti	52
4.3 Antineurální protilátky u fokální epilepsie neznámé etiologie	55
5. Diskuze	56
5.1 Epileptogenze u autoimunitních encefalitid	56
5.2 Autoimunitní epilepsie	58
5.2.1 Antineurální protilátky jako biomarkery autoimunitní epilepsie	58
5.2.1.1 Reziduální protilátky po prodělané encefalitidě	59
5.2.2.2 Antineurální protilátky u epilepsie bez anamnézy autoimunitní encefalidity	61
5.2.2.3 Typy antineurálních protilátek	62
5.2.2.4 Seronegativní autoimunitní epilepsie	63
5.3 Léčba	65
5.3.1 Imunoterapie	65
5.3.2 Epileptochirurgie	66
6. Závěr	68
Literatura	70
Publikace k tématu disertační práce	84

## Seznam použitých zkratek

<b>anti-AMPAR</b>	protilátky proti $\alpha$ - amino- 3-hydroxy- 5- metyl- 4-izoxazolpropionátovému receptoru
<b>anti-CASPR2</b>	protilátky proti contactin- associated proteinu- 2
<b>anti-DPPX</b>	protilátky proti dipeptidyl- peptidasa-like proteinu- 6
<b>anti-GAD</b>	protilátky proti dekarboxyláze kyseliny glutamové
<b>anti-GABAaR</b>	protilátky proti A- receptoru kyseliny $\gamma$ - aminomáselné
<b>anti-GABAbR</b>	protilátky proti B- receptoru kyseliny $\gamma$ - aminomáselné
<b>anti-GlyR</b>	protilátky proti glycinovému receptoru
<b>anti-LGI1</b>	protilátky proti leucine-rich glioma inactivated 1 proteinu
<b>anti-IgLON5</b>	protilátky proti immunoglobulin-like cell adhesion molecule 5
<b>anti-NMDAR</b>	protilátky proti N-methyl D-aspartatovému receptoru
<b>anti-VGKC</b>	protilátky proti komplexu napětově řízeného draslíkového kanálu (anti-VGKC - voltage gated potassium channels)
<b>CBA</b>	cell-based assay
<b>CNS</b>	centrální nervový systém
<b>EEG</b>	elektroencefalografie
<b>ELISA</b>	enzyme linked immunosorbent assay
<b>LE</b>	limbická encefalitida
<b>MR</b>	magnetická rezonance
<b>MHC I</b>	major histocompatibility complex

<b>NORSE</b>	new onset refractory status epilepticus
<b>NSAbs</b>	protilátky proti povrchovým antigenům (neural surface antibodies)
<b>OCB</b>	oligoklonální pásy
<b>RIA</b>	radioimmunoassay
<b>SLE</b>	systémový lupus erythematoses
<b>TBA</b>	tissue-based assay (tkáňový řez)

## Abstrakt

Předkládaná disertační práce se zabývá úlohou antineurálních protilátek v rozvoji epilepsie. Vlastní výzkum byl v první době zaměřen na charakteristiky epileptických záchvatů, zavedení dosud nepoužívané metodiky detekce těchto protilátek na tkáňových řezech, profil chemokinů a genetických rizikových faktorů rozvoje autoimunitní encefalitidy, u které byly tyto protilátky původně popsány. Po zvládnutí metodiky jsme se zaměřili na kohortu pacientů s epilepsií temporálního laloku, ve které jsme antineurální protilátky detekovali v 5 % případů. Jednalo se o protilátky anti-GAD, anti-LGI1 a anti-CASPR2. Pozitivita protilátek není u většiny pacientů s neznámou etiologií epilepsie náhodným nálezem nebo epifenomenem probíhajících záchvatů a následně i odpověď na imunoterapii svědčí v takových případech pro kauzální souvislost.

Ve sledované kohortě jsme prokázali významný rozdíl ve výskytu pouze dvou z 14 sledovaných klinických parametrů (autoimunitní komorbidita a vyšší věk v době počátku epilepsie). Antineurální protilátky jsou z tohoto pohledu vhodným biomarkerem autoimunitní etiologie epilepsie. Při vyšetření všech pacientů s neznámou etiologií epilepsie jsou ale při nízkém záchytu náklady příliš vysoké. Další práce ve spolupráci se zahraničními centry sledující výskyt antineurálních protilátek u pacientů s fokální epilepsií neznámé příčiny prokázala jejich výskyt ve 3,4 % případů. Tato práce již umožnila určení kombinace rizikových faktorů autoimunitní epilepsie, jejichž přítomnost by měla vést k indikaci vyšetření těchto protilátek.

Včasná identifikace pacientů s pozitivitou antineurálních protilátek nevede pouze k určení příčiny epilepsie, ale může vést ke změně léčby. Autoimunitní epilepsie jsou často rezistentní na antiepileptika, ale mohou v řadě případů příznivě odpovědět na imunoterapii.

**Klíčová slova:** antineurální protilátky, autoimunitní epilepsie, epilepsie temporálního laloku, autoimunitní encefalitida



## Abstract

The aim of this thesis is the role of neuronal antibodies in epileptogenesis. In the first phase of research we focused on 1) characteristics of epileptic seizures in patients with autoimmune encephalitis, 2) implementation of tissue brain assay as novel antibodies detection method in the Czech Republic, 3) profile of chemo- and cytokines in different autoimmune encephalitis stages, 4) genetic risk factors of autoimmune encephalitis development.

After mastering the detection methods, we found neural antibodies in 5 % of temporal lobe epilepsy patients. Immunotherapy response in some cases and lack of antibodies positivity in subgroup of temporal lobe epilepsy patients of known aetiology suggests their pathogenic role. Because seropositive and seronegative patients are difficult to distinguish by clinical characteristics in temporal lobe epilepsy patients (statistical significant differences were only in two of 14 characteristics), neural antibodies could be potential biomarker of autoimmune epilepsy. However, the investigation as a screening tool in all temporal epilepsy patient are too high, we focused on determination of clinical risk factors leading to identify the indication of antineural antibodies investigation. In the cohort of patients with focal epilepsy of unknown aetiology antineural antibodies seropositivity was detected in 3.4 % and we were able to identify clinical risk factors of autoimmune epilepsy. The spectrum of antineural antibodies was similar – anti-GAD, anti-LGI 1 and anti-CASPR2.

The identification of patients with positivity of neural antibodies could clarify epilepsy aetiology, even more can lead to change of therapy in these usually drug resistant epilepsy patients.

**Keywords:** neural antibodies, autoimmune epilepsy, temporal lobe epilepsy, autoimmune encephalitis

# 1. Úvod

## 1.1 Epileptické záchvaty u autoimunitních onemocnění

Epilepsie je chronické onemocnění charakterizované přetrvávající dispozicí mozku generovat epileptické záchvaty. Pro určení diagnózy epilepsie jsou nutné dva neprovokované záchvaty s odstupem více než 24 hodin, nebo jeden neprovokovaný záchvat s rizikovým faktorem opakování záchvatů v příštích 10 letech s více než 60 % pravděpodobností, nebo v některých případech určení epileptického syndromu (Fisher et al. 2014). Od neprovokovaných epileptických záchvatů je nutné odlišit záchvaty akutní symptomatické, které se objevují v bezprostřední časové souvislosti s akutním onemocněním mozku nebo s primárně extracerebrální poruchou (Beghi et al. 2010). Pokud se odstraní příčina, nemusí se tyto záchvaty již nikdy opakovat (Hesdorffer et al. 2009). Proto akutní symptomatické záchvaty neznamenaají epilepsii a ve většině těchto případů není nezbytná dlouhodobá antiepileptická terapie. V současné době je důraz kladen nejen na stanovení diagnózy epilepsie, ale i na určení její etiologie.

Celá řada imunitně podmíněných onemocnění postihujících centrální nervový systém (CNS) se projevuje epileptickými záchvaty, ať už akutními symptomatickými nebo v rámci epilepsie jako projevu či následku autoimunity. Obecně jakékoliv autoimunitní onemocnění (včetně systémové choroby či onemocnění primárně postihujícího jiné orgány než CNS) zvyšuje riziko epilepsie oproti běžné populaci (Ong et al. 2014).

Typickým příkladem takového onemocnění je systémový lupus erythematoses. Ve skupině 518 pacientů se epileptický záchvat vyskytl v 17 % případů, z čehož v 11,6 % se jednalo o přímé postižení v důsledku postižení CNS (neurolupusu), metabolická příčina záchvatu v důsledku extracerebrálního postižení při systémovém lupus erythematoses byla prokázána u 4,4 % a diagnózu epilepsie před počátkem onemocnění mělo 1 % pacientů. U pacientů se systémovým lupus erythematoses, kteří prodělali epileptický záchvat, byl častější výskyt cévní mozkové příhody, nefritis a pozitivita antifosfolipidových protilátek (Appenzeller et al. 2004). I přesto, že u většiny pacientů nebyla nasazena antiepileptika, se další neprovokovaný epileptický záchvat objevil pouze u 1,3 % (Appenzeller et al. 2004). Aktivita onemocnění tedy může u

pacientů se systémovým lupus erythematoses vyvolat akutní symptomatický epileptický záchvat, ale samotný zánětlivý proces v rámci tohoto onemocnění se nezdá být dostačující k rozvoji epilepsie. Ta dle klinických sledování vzniká spíše na podkladě strukturálních, typicky vaskulárních, změn mozku.

Epileptické záchvaty mají častější výskyt také u roztroušené sklerózy, reprezentující autoimunitní onemocnění zaměřené výhradně proti CNS. Epileptické záchvaty se u roztroušené sklerózy vyskytují přibližně ve 2-5 % (rozmezí dle různých studií 0,5-7,8 %) (Koch et al. 2008). Ve většině případů se jedná o akutní symptomatické záchvaty v důsledku vzniku akutní plaky – předpokládá se podíl edému v okolí nově rozvinuté, zejména kortikální léze, společně s úlohou prozánětlivých cytokinů. U většiny pacientů není nezbytná dlouhodobá antiepileptická terapie (Langenbruch et al. 2019). Tedy ani samotný zánětlivý proces postihující výlučně CNS nemusí vést k rozvoji epilepsie.

Další skupinu představují autoimunitní onemocnění CNS, u kterých je epilepsie jediným či dominujícím příznakem – patří mezi ně zejména Rasmussenova encefalitida, NORSE (new onset refractory status epilepticus) a FIRES (febrile infection-related epilepsy syndrome), ale i některé případy febrilních křečí. U těchto nemocí mnohá pozorování potvrzují roli zánětlivých procesů v patofyziologii rozvoje epileptických záchvatů, resp. epilepsie. Patří mezi ně přítomnost T lymfocytů a zvýšení hladin zánětlivých chemo- a cytokinů v mozkové tkáni pacientů s Rasmussenovou encefalitidou (Rasmussen et al. 2011) i určitých forem epilepsie spánkového laloku (Crespel et al. 2002); příznivý efekt kortikosteroidů či adrenokortikotropního hormonu u některých epileptických syndromů – např. Westova (Baram et al. 1996), nebo detekce vyšších hodnot prozánětlivých cytokinů u febrilních křečí (Gatti et al. 2002). U těchto syndromů není patofyziologický mechanismus dosud jasný. Jedná se o heterogenní skupinu onemocnění, u kterých se dosud nepodařilo identifikovat specifický antigen, proti kterému je autoagresivní imunitní odpověď namířena.

Před necelými dvaceti lety byl popsán syndrom autoimunitní encefalitidy, manifestující se ve většině případů epileptickými záchvaty, jako skupinou imunitně podmíněných onemocnění namířených proti specifickému antigenu exprimovanému v CNS, s možnou pozitivitou přímo patogenních autoprotilátek. V některých případech se autoimunitní encefalitidy mohou

manifestovat pouze akutními symptomatickými epileptickými záchvaty bez dalších známek encefalitidy (Irani et al. 2013; Hoftberger et al. 2013).

## 1.2 Autoimunitní encefalitidy

Autoimunitní encefalitida je definována jako zánětlivé onemocnění CNS s dominujícím postižením kortexu a možnou, ale nikoliv nezbytnou, pozitivitou specifických antineurálních protilátek (Graus et al. 2016). Mezi nejčastější příznaky patří kognitivní deficit, psychiatrické příznaky, epileptické záchvaty, ale klinický průběh bývá často variabilní.

Na základě klinických charakteristik se v rámci autoimunitní encefalitidy v současné době rozlišuje sedm syndromů: limbická encefalitida, encefalitida sdružená s protilátkami proti N-methyl D-aspartátovému receptoru (NMDAR encefalitida), akutní diseminovaná encefalomyelitida (ADEM), Hashimotova encefalopatie, Bickerstaffova kmenová encefalitida, možná autoimunitní encefalitida a séronegativní pravděpodobná autoimunitní encefalitida (Graus et al. 2016).

*NMDAR encefalitida* je onemocnění s poměrně charakteristickým klinickým obrazem, v kterém dominuje akutní psychóza, kognitivní porucha, epileptické záchvaty nebo status epilepticus, extrapyramidová symptomatika (zejména cirkumorální dyskineze), s následným rozvojem autonomní instability, progredující porucha vědomí až koma. Je způsobena přímo patogenními *protilátkami třídy IgG proti N-methyl-D-aspartátovému receptoru (anti-NMDAR), respektive jeho NR1 podjednotce*. Tyto protilátky jsou detekovány v likvoru a/nebo séru u 100 % pacientů s tímto syndromem (Gresa-Arribas et al. 2014). Až v 7 % může být onemocnění letální (Titulaer et al. 2013). Jedná se o autoimunitní panencefalitis, s obvykle normálním nebo nespecifickým nálezem na MR, v EEG pacientů byl u ní popsán unikátní vzorec extreme delta brushes (Steriade et al. 2018). Paraneoplastická příčina (zejména teratom) se vyskytuje dle etnika a pohlaví až ve 40 % případů (Dalmau et al. 2019).

Dalším syndromem je *limbická encefalitida*. Ta se od NMDAR encefalitidy odlišuje, jak již název napovídá, dominujícím postižením limbického systému. Akutně či subakutně (dny až týdny) se objevují poruchy paměti, epileptické záchvaty a psychiatrické příznaky. Na MR bývá

obvyklý nález hyperintezit meziotemporálně (uni- či bilaterálně). Postižení dalších struktur CNS je variabilní, stejně jako možnost asociovaných autoprotilátek (proti intracelulárním i povrchovým antigenům), respektive paraneoplastické příčiny (Krýsl a Elišák 2015). Sedm procent případů limbické encefalitidy je seronegativních (Graus et al. 2018).

Kromě syndromů s dominujícím postižením kortexu je mezi autoimunitní encefalitidy řazena i *akutní diseminovaná encefalomyelitida (ADEM)*, kde je krom kortikálního postižení dominující obraz demyelinizace. Jedná se o monofazické multifokální onemocnění CNS postihující většinou pacienty do 40 let věku. Charakteristický je MR nález vícečetných demyelinizačních ložisek na MR, neostře ohraničených, kde je alespoň jedno větší než 1 až 2 centimetry. Přítomný mohou být protilátky proti myelin oligodendrocytárnímu glykoproteinu (Graus et al. 2016), ale byla popsána i pozitivita anti-NMDAR u klinicky obdobně probíhající akutní demyelinizace (Titulaer et al. 2014).

*Hashimotova encefalopatie* (některými autory označována jako Hashimotova encefalitida) se může manifestovat celou řadou neurologických příznaků (encefalopatie, epileptické záchvaty, myoklonus, halucinace, stroke-like), s normálním nebo nespecifickým nálezem na MR a likvoru, normální nebo sníženou funkcí štítné žlázy, vysokými hodnotami protilátek proti tkáňové peroxidáze (anti-TPO) a negativitou dosud známých antineurálních protilátek (Graus et al. 2016). Popisována je dobrá odpověď na kortikoterapii, proto bývá některými označována jako *SREAT – steroid-responzivní encefalopatie asociovaná s autoimunitní tyreoiditidou* (Laurent et al. 2016). Problémem diagnostiky Hashimotovy encefalopatie je zejména nízká specifita anti-TPO (Hollowell et al. 2002) i skutečnost, že ve většině publikovaných prací nebyly současně vyšetřované antineurální protilátky (Laurent et al. 2016) a diagnóza Hashimotovy encefalitidy, vzhledem k častému výskytu vysokých hodnot anti-TPO u jiných autoimunitních onemocnění CNS (Mattozzi et al. 2020), je zřejmě používaná i v jiných případech.

I u pacientů, kteří neodpovídají kritériím některého z předešlých syndromů a mají i negativní protilátky, se může jednat o autoimunitní encefalitidu. Konsenzus publikovaný v roce 2016 zavádí termíny *možná autoimunitní encefalitida* a *pravděpodobná autoimunitní encefalitida*. Pro stanovení diagnózy pravděpodobné autoimunitní encefalitidy není pozitivita

žádného typu protilátek nezbytná (Graus et al. 2016). Je charakterizována na základě klinického obrazu a výsledků paraklinických vyšetření suspektních z autoimunity (Tabulka 1).

V posledních letech přibývá popis dalších možných projevů autoimunitních encefalitid. Zároveň je popisován výskyt antineurálních protilátek u dalších neuropsychiatrických nemocí, jako je epilepsie (Spatola a Dalmau 2017), psychiatrické (Pollak et al. 2020) nebo demyelinizační onemocnění (Titulaer et al. 2014). Identifikace pacientů s autoimunitním onemocněním je vzhledem k možnosti ovlivnění prognózy imunoterapií zásadní.

**Tabulka 1 Diagnostická kritéria seronegativní pravděpodobné autoimunitní encefalitidy (Graus et al. 2016)**

Je nutné splnit **všech pět kritérií**

1. Subakutní rozvoj (progrese za <3 měsíce) poruchy krátkodobé paměti *NEBO* poruchy vědomí *NEBO* psychiatrických symptomů
2. Vyloučení jiných dobře definovaných syndromů AIE - typické LE, ADEM, NMDAR encefalitidy, Bickerstaffovy encefalitidy
3. Nepřítomnost dobře charakterizovaných protilátek v séru *A* v likvoru
4. Alespoň dvě z následujících:
  - Známky na MR podporující diagnózu autoimunitní encefalitidy
    - Hypersignální změny ve FLAIR sekvenci mediálně temporálně (uni- nebo bilaterálně) *NEBO*
    - Multifokální hypersignální změny ve FLAIR sekvenci v šedé a/nebo bílé hmotě kompatibilní s obrazem demyelinizace nebo zánětu
  - Pleocytóza v likvoru *NEBO* syntéza oligoklonálních pásů v likvoru *NEBO* intratékální syntéza výpočtem
  - Mozková biopsie se zánětlivými infiltráty a vylučující jinou etiologii (tumor ai.)
5. Jsou vyloučeny jiné příčiny

### 1.2.1 Protilátky sdružené s autoimunitními encefalitidami

Protilátky postihující CNS lze dělit na několik typů. První kategorií jsou *protilátky vyskytující se v rámci systémové autoimunity* – typicky antinukleární či proti dvoušroubovici DNA u systémového lupus erythematosus. Dále jsou to *protilátky vyskytující se primárně v rámci orgánově specifické autoimunity*, kdy dochází sekundárně i k poškození CNS – *protilátky proti gliadinu, tkáňové peroxidáze (anti-TPO)*, či *protilátky proti dekarboxyláze kyseliny glutamové (anti-GAD)*, které byly původně popsány u pacientů s inzulín-dependentním diabetem. Tyto protilátky (výjimkou jsou anti-GAD) však ve většině případů nereagují přímo nebo specificky s epitopy v CNS. V posledních desetiletích byly identifikovány protilátky namířené proti cílům lokalizovaným v CNS – takzvané *antineurální protilátky*.

### 1.2.2 Typy antineurálních protilátek

Antineurální protilátky byly původně objeveny jako biomarker autoimunitní encefalitidy, což reprezentuje skupina *dobře charakterizovaných onkoneurálních protilátek*. Jedná se o paraneoplastické protilátky namířené proti intracelulárním epitopům exprimovaným nejen v nádorové, ale i neurální tkáni. Jejich epitopy se nacházejí intracelulárně. Tyto protilátky nejsou přímo patogenní a jsou považovány za epifenomén zánětu. Dalšími zástupci protilátek proti intracelulárním antigenům jsou zejména *anti-GAD*, u kterých není jejich přímá patogenita jednoznačná. Souhrn nejčastěji se vyskytujících protilátek proti intracelulárním antigenům viz Tabulka 2.

Druhou velkou skupinou jsou *protilátky proti povrchovým antigenům (NSAbs – neural surface antibodies)*. Epitopy těchto protilátek jsou, jak již název napovídá, antigeny na povrchu nervové tkáně – zejména *receptory* či *iontové kanály*. Na rozdíl od protilátek proti intracelulárním antigenům, kde se imunopatologicky uplatňuje dominantně T buněčně zprostředkovaná neuronální smrt s následkem atrofie mozkové tkáně, jsou NSAbs přímo patogenní, v některých případech s potenciálně plně reverzibilním funkčním ovlivněním svých epitopů (Bien et al. 2012). Souhrn nejčastěji se vyskytujících protilátek proti intracelulárním antigenům viz Tabulka 3.



### 1.2.2.1 Protilátky proti intracelulárním antigenům

Nejčastějším zástupcem této skupiny jsou *onkoneurální protilátky*, které se dělí na *dobře charakterizované*, u kterých byla prokázána vyšší než 95 % asociace s paraneoplastickými syndromy, a na protilátky *částečně charakterizované*. Ty byly prozatím popsány pouze u malého počtu pacientů, nebo nebyly potvrzeny více metodami detekce, jak uvádíme níže (Graus et al. 2004).

Dosavadní práce neprokázaly přímou patogenitu onkoneurálních protilátek. Celá řada nádorové tkáně exprimuje antigeny, které se normálně vyskytují pouze v CNS (Rosenfeld a Dalmau 1999) a mohou tedy napomáhat obranné reakci imunitního systému proti nádorovému procesu. Typickým zástupcem těchto epitopů jsou *Cdr2* normálně exprimované v Purkyňových buňkách mozečku, kde se intracelulárně váží na onkogen *myc*, který je v nezbytný při neurogenezi pro dělení progenitorových buněk i při inhibici dělení umožňující neuronální diferenciaci (Knoepfler et al. 2002). Aberantně se ale *Cdr2* vyskytuje v tkáni ovariálních nádorů i karcinomu prsu (Darnell et al. 2000). Protilátky proti *Cdr2* nazývané *anti-Yo* způsobují syndrom získané mozečkové atrofie. V histopatologických nálezech byla prokázána degenerace Purkyňových buněk s dominujícím *CD8+* *T-buněčným* infiltrátem s menším podílem B-lymfocytů a *CD4+* *T-lymfocytů* (Giometto et al. 1997). Dalším příkladem je *Hu*, který je součástí intranukleárního RNA vázícího proteinu regulujícího její expresi a stabilitu. Fyziologicky je v široce exprimován v hipokampu, amygdale, míše i v periferních nervech. Syndromy sdružené s protilátkami proti *Hu* (*anti-Hu*) jsou oproti syndromům sdruženým s *anti-Yo* rozmanitější – periferní neuropatie, limbická encefalitida, získaná mozečková atrofie, difuzní encefalomyelitida a další (Honnorat a Antoine 2007). V histopatologických nálezech pacientů s paraneoplastickým syndromem s pozitivitou *anti-Hu* byly nalezeny také *T-buněčně* zprostředkovaná destrukce neuronů s mírnějším nálezem *B-lymfocytů*, komplementu a imunoglobulinů (Bien et al. 2012). Pozitivita *anti-Hu* ale byla prokázána i u pacientů s tumorem plic bez neurologických příznaků (Dalmau et al. 1990).

Pasivní podání cílového antigenu onkoneurálních protilátek ani podání samotných *anti-Yo* protilátek pokusným zvířatům nevede k rozvoji onemocnění (Sakai et al. 1995) a u syndromů sdružených s onkoneurálními protilátkami je terapie zaměřená na eliminaci protilátek neúčinná (Graus et al. 1992), což svědčí pro dominující roli *T-buněčné* imunity. Ta byla prokázána detekcí

cirkulujících *antigen specifických CD8+ T lymfocytů* u pacientů se získanou mozečkovou atrofií (Albert et al. 1998) a aktivované *T buňky* byly prokázány i v mozkomíšním moku pacientů (Albert et al. 2000). Po zpracování antigenu z apoptických nádorových buněk fagocytujícími nezralými dendritickými buňkami dochází v lymfatických uzlinách k prezentaci tohoto antigenu cytotoxickým *CD8+ T-lymfocytům*. Oproti předchozím předpokladům byla prokázána možnost prezentace antigenního fragmentu nádorové tkáně cestou *Major Histocompatibility Complex-I* (MHC I), která byla dříve považována za prezentaci výlučně intracelulárního obsahu, jako je obsah cytosolu buňce vlastního či virová genetická informace (Kurts et al. 2007). K další proliferaci těchto antigen specifických *CD8+ T-lymfocytů* dochází za pomoci antigen specifických “helperů”, *CD4+ T-lymfocytů* mechanismem CD40 signalizační vazby těchto buněk (Schoenberger et al. 1998). Bez této vazby *antigen specifické CD8+ lymfocyty* umírají, což napomáhá mechanismu vytváření antigenní tolerance (Ridge et al. 1998). Zatímco v periférii je autoimunitní odpověď namířená proti nádoru potenciálně prospěšná, v některých pozorováních u pacientů s onkologickým onemocněním bez neurologických příznaků byly jejich nízké titry dokonce popsány jako příznivý prognostický faktor (Graus et al. 1997).

Mechanismus, kterým se protinádorová imunitní reakce v periférii (před hematoencefalickou bariérou) zvrhne v autoimunitní reakci proti tkáni CNS exprimující obdobný antigen, není dosud známý. Kromě výše popsaného vzniku *antigen-specifických T-lymfocytů* je nutný jejich přechod přes hematoencefalickou bariéru, což je možné pouze při rozpoznání jejich cílového *MHC* peptidu. Další podmínkou pro udržení populace *antigen-specifických cytotoxických CD8+ T-lymfocytů* za hematoencefalickou bariérou je kontinuální prezentace cílového antigenu antigen prezentujícími buňkami – mikroglíí, ale po stimulaci chemokiny mohou *MHC I* exprimovat dokonce i neurony (Neumann et al. 1997). Možná úloha onkoneurálních protilátek je v jejich schopnosti vázat se na neurony a způsobovat v omezeném množství jejich apoptózu (Greenlee et al. 1993), která je sice sama o sobě nedostatečná k destrukci tkáně rezultující v rozvoj klinických příznaků, ale umožňuje uvolnění fragmentů antigenů exprimovaných zejména mikroglíí a udržujících autoimunitní T-buněčný zánět probíhající za hematoencefalickou bariérou.

Specifickou podskupinu protilátek proti intracelulárním antigenům představují *anti-GAD*. Byť jde o protilátky proti intracelulárním antigenům, je oproti onkoneurálním protilátkám paraneoplastická příčina vzácná (Ariño et al. 2015). Jak název napovídá, jedná se o *protilátky*

*proti dekarboxyláze glutamové kyseliny*, která je důležitým enzymem v tvorbě *kyseliny  $\gamma$ -aminomáselné* (GABA). Předpokládá se, že bloádou GAD tyto autoprotilátky interferují se syntézou GABA a způsobují dysregulaci v GABAergních okruzích, rezultující v hyperexcitační stav. Tomu odpovídají nejčastěji sdružené syndromy s pozitivitou těchto protilátek, což je stiff person/limb syndrom a jeho varianty, epilepsie a mozečková ataxie. I přes lokalizaci GAD intracelulárně by mohlo k antigenní stimulaci docházet během přechodně exocytózy v synaptické štěrbině v průběhu transmise (Dalakas 2013). Tento předpoklad podporuje průkaz elektrofyziologických změn na povrchu myelinizovaných vláken na animálních modelech po aplikaci protilátek pacientů s pozitivitou GAD (Manto et al. 2007) a studie srovnávající kortikální koncentraci GABA pomocí MR spektroskopie, která prokázala její nižší koncentraci u pacientů s vysokými hodnotami anti-GAD oproti kontrolám (Stagg et al. 2010). Na druhou stranu, k vyvolání onemocnění v animálních modelech je dostačující pro neuronální destrukci aplikace  $CD4+$  T-lymfocytů (Burton et al. 2010). Dominující T-buněčně zprostředkovaná imunita může být vysvětlením i pro chronický, často na imunoterapii refrakterní průběh onemocnění (Malter et al. 2010), protože většina terapeutických modalit ovlivňuje lépe B-buněčnou imunitu.

**Tabulka 2 Nejčastější protilátky proti intracelulárním antigenům - volně dle (Krýsl and Elišák 2015)**

Antigen	Hu (ANNA1)	CV2/CRMP5	Ma2/Ta <sup>†</sup>	Yo (PCA-1)	Amphiphysin	Ri	GAD
Výskyt <sup>¶</sup>	↑ (39%)	↓ (6%)	↓ (6%)	↑ (13%)	↓ (3%)	↓ (5%)	↑
Pohlaví	50:50	50:50	častěji muži	častěji ženy	častěji ženy	častěji ženy	častěji ženy
Věk*	LE: 61 (23-72)	–	M30, Ž64 (22-82)	(24-85)	–	–	LE: 23 (17-66) 40 % LE <18 let
Syndromy	SN (58%), PCD (22%), LE (15%), KE (16%), IP (14%), PN, PEM; event. EPC, CPSE	MA, chorea (Huntington-like), uveitis, myelitis, ON (Devic-like), myastenické sy, PN, LE	LE, EDS, N/K, RBD, endokrinní poruchy, KE, hypokineze, rigidita	PCD LE vzácná	SPS (Ž s Ca prsu), PEM, myelitida, MA, LE, PN, plexopatie	opsoklonus-myoklonus, ataxie, LE	LE, TLE, SPS, MA, sdružené autoimunity, DM1, neurol. sy vyšší titry (>2000 U/ml)
MR nálezy <sup>§</sup>	54% mf ↑T2 (LE: 70%)	–	79% mf ↑T2, 38% Gd+ (LE: 70%)	postupná atrofie cerebella	–	–	(LE: 25%)
Abnormní CSF <sup>‡</sup>	80%	–	78 %	64% pleocytóza	–	–	i.t. syntéza, OCB
Nádor (%)	85-90%	většina	89%	95%	70% (100% LE)	90% (100% LE)	50% LE
Typ nádoru	SCLC (kuřáci), neuroblastom (děti), prostata	SCLC, thymom	seminom (muži); plíce, prs, ovariální Ca (ženy)	prs, gyn. nSCLC	prs, SCLC, nSCLC, melanom	prs, gyn. (LE: SCLC, seminom, karcinoid)	SCLC, pankreas, colon, nSCLC, Ca thymu
Sdružené protilátky	CRMP5, amphiphysin, Zic	Hu (SCLC)	Hu	–	Hu, VGCC, VGKC, CRMP5	–	GABA <sub>B</sub> R (jen LE)

¶ Šipky naznačují četnost výskytu, v závorce procento výskytu v multicentrické databázi PNS Euronetwork Database (n=976) (Giometto et al., 2010)

§ MRI nálezy u pacientů s AIE sdruženou s danou protilátkou; v závorce je uvedeno (pokud byl údaj dostupný) procento pacientů s MRI nálezem charakteristickým pro LE (ze souboru pacientů s PLE).

‡ Procento pacientů s abnormním nálezem v likvoru (zahrnuje pleocytózu, zvýšenou bílkovinu, intrathekální produkci IgG, oligoklonální pásy).

† Anti-Ma2 encefalitida má dva vrcholy věkové distribuce, mezi mladými pacienty převažují muži, u starších ženy

\* věk je udáván jako medián a v závorce rozmezí, případně pouze rozmezí (není-li medián dostupný)

**Zkratky:** CPSE – parciální komplexní status epilepticus, CRMP5 – colapsin response mediator protein 5, DM1 – diabetes mellitus 1. typu, EDS – excessive daytime sleepiness, EPC – epilepsia partialis continua, IP – intestinální pseudoobstrukce, KE – kmenová encefalitida, LE – limbická encefalitida, MA – mozečková ataxie, mf – multifokální, MR – magnetická rezonance, MuSK – muscle specific kinase, N/K – narkolepsie/kataplexie, ON – optická neuritida, PCA-1 – Purkinje cell cytoplasmic antibody type 1 (synonymum anti-Yo), PCD – paraneoplastická cerebellární degenerace, PEM – paraneoplastická encefalomyelitida, PN – periferní neuropatie, SCLC – malobuněčný karcinom plic, SN – senzorická neuronopatie, SOX1 – sex determining region Y-box 1, SPS – stiff-person syndrom, TLE – epilepsie temporálního laloku, TPO – thyroideální peroxidáza (anti-TPO = protilátky proti mikrosomům)

### 1.2.2.2 Protilátky proti povrchovým antigenům

Jde o protilátky namířené proti cílům na povrchu nervové tkáně – receptorů či komplexů iontových kanálů. U většiny z nich bylo popsáno přímé patogenní působení, byť se patofyziologické působení liší dle typu protilátek. V patofyziologii je pochopitelně nezbytná úloha T-buněk pro formování zralých antigen specifických plazmatických buněk, ale T-buňky nejsou přímo patogenní a stěžejní úlohu hraje B-buněčná imunita, na níž bývají i zaměřené terapeutické postupy.

První byly popsány protilátky *proti komplexu napěťově řízeného draslíkového kanálu (voltage-gated potassium channel-complex, anti-VGKC)*. Iniciálně byly detekovány metodou radioimmunoassay (RIA) u Morvanova syndromu, který se projevuje neuromyotonií s autonomní instabilitou a příznaky encefalopatie (Liguori 2001). Následně byly tyto protilátky objeveny i u pacientů se syndromem limbické encefalitidy (Buckley et al. 2001). Jako vazebný cíl detekovaných protilátek je používán radiodinový dendrotoxin, který se specificky váže na Kv1 podjednotku VGKC komplexu (Shillito et al. 1995). Práce na transfekovaných buňkách nepotvrdily jejich vazbu na Kv1 podjednotku, ale na součásti VGKC komplexu – *leucine-rich glioma inactivated protein 1 (LGII)*, *contactin-associated protein 2 (CASPR2)* (Irani et al. 2010a) a dále *dipeptidyl-peptidasa-like protein-6 (DPPX)*, což je podjednotka Kv4.2 draslíkového kanálu (Boronat et al. 2013). Charakteristiky syndromů sdružených s těmito protilátkami se často liší – například u anti-LGII jsou patognomické faciobrachiální dystonické záchvaty (faciobrachial dystonic seizures – FBDS), hyponatremie (van Sonderen et al. 2016c), u anti-CASPR2 postižení periferního nervového systému (Ellwardt et al. 2020), u anti-DPPX průjmy a multifokální encefalitis (Hara et al. 2017). Antineurální protilátky mohou přímo či nepřímo ovlivňovat funkci iontového kanálu ale i jiného receptoru. Anti-LGI mohou interferovat spojení presynaptického a postsynaptického komplexu (ADAM 22 a 23), což vede ke kompenzační down-regulaci AMPA receptorů (Ohkawa et al. 2013). V histopatologických nálezech pacientů s anti-LGII limbickou encefalitidou byly také nalezeny známky neuronální destrukce, podmíněné aktivací komplementu protilátkami podskupiny IgG1 (Bien et al. 2012). CASPR2 je veliký membránový protein nacházející se v okolí Ranvierova zářezu, kde interaguje s kanálem Kv1 VGKC. Ovlivněním funkce receptoru dochází k hyperexcitabilitě, ale přesné působení v CNS zatím nebylo vysvětleno. Sporný klinický význam mají *anti-VGKC* detekované

RIA, které jsou anti-LGI1 nebo anti-CASPR2 negativní při použití cell-based assay (CBA) (van Sonderen et al. 2016b).

Mezi další zástupce NSAbs namířených *proti iontovým kanálům patří protilátky proti P/Q a N-typu napěťově řízeného vápníkového kanálu (anti-VGCC)*, které jsou častěji paraneoplastické a kromě příznaků postižení periferních nervů jako například Lambert-Eatonův myastenický syndrom (Kitanosono et al. 2018) způsobují difuzní encefalomyelitidy (Kornitzer et al. 2019).

Další skupinu představují NSAbs namířené proti receptorům. Antigeny mohou být *ionotropní (anti-NMDAR, anti-AMPA, anti-GABA<sub>A</sub>R)* i *metabotropní (anti-GABA<sub>B</sub>R)*. Nejčastěji se vyskytující a nejlépe prostudované jsou protilátky proti ionotropní glutamátovým receptorům *anti-NMDAR* a *anti-AMPA*. Jedná se o protilátky proti nejvýznamnějším excitačním receptorům – AMPAR zprostředkovává nejrychlejší excitační transmissi v mozku, zatímco NMDAR je má význam ve vytváření nových synaptických spojů a uplatňují se tedy v plasticitě. Pro její aktivaci je třeba jak vazba mediátoru tak i depolarizace presynaptické štěrbin. *Anti-NMDAR* jsou namířeny proti *GluN1* podjednotce, která je difuzně exprimována v celém mozku (Waxman a Lynch 2005), zatímco *anti-AMPA* zejména proti *GluA1/2* a *GluA2/3* jsou nejvíce exprimovány v limbickém systému (Lai et al. 2009), což vysvětluje odlišný klinický fenotyp NMDAR encefalitidy a AMPAR limbické encefalitidy. Vazba *anti-NMDAR* působí internalizaci NMDAR, což bylo prokázáno snížením clusterů NMDAR po aplikaci séra pacientů na živé neurony potkanů i na animálních modelech *in vivo* (Hughes et al. 2010). Hypofunkce NMDAR je jedním z modelů schizofrenie a internalizace NMDAR způsobená protilátkami by mohla vysvětlovat psychiatrické projevy NMDAR encefalitidy (Masdeu et al. 2016). Blokáda dlouhodobé potenciace (anglicky *long-term potentiation*), ve které hrají NMDAR zásadní úlohu, by mohla vysvětlovat časté postižení kognitivních funkcí. Přímé iktogenní působení *anti-NMDAR* diskutujeme níže. V histopatologických nálezech pacientů s NMDAR encefalitidou jsou pouze minoritně přítomny známky destrukce nervové tkáně zprostředkované protilátkami či T-buněčnou imunitou, což koreluje s obvykle normálním MR nálezem (Dalmau et al. 2019). U *anti-NMDAR* je tedy dominující postižení funkční, které je při včasné zahájení adekvátní léčby reverzibilní (Titulaer et al. 2013). Obdobný mechanismus internalizace cílového receptoru byl pozorován u *anti-AMPA* (Gleichman et al. 2014). U protilátek proti metabotropnímu GABA<sub>B</sub>

receptoru nedochází k jeho internalizaci, ale byl prokázán antagonistický efekt na vazebném místě pro baklofen (Dalmau et al. 2017), což může zvyšovat excitabilitu.

Ostatním antineurálním protilátkám, respektive autoimunitním encefalitidám, se vymyká onemocnění sdružené s *anti-IgLON5* (immunoglobulin-like cell adhesion molecule 5). Jde o onemocnění, které ovlivňuje vztah mezi autoimunitou a neurodegenerací. Původně byly *anti-IgLON5* detekovány u pacientů s poruchou spánku připomínající agrypnia excitata, spolu s poruchou chůze a dysautonomií (Sabater et al. 2014). Klinicky předchází rozvoji spánkové poruchy bulbární symptomatika, porucha stability, dysautonomie, extrapyramidové poruchy, kognitivní deteriorace a supranukleární obrna pohledu – příznaky tedy napodobují progresivní supranukleární obrnu. Výsledky pomocných vyšetření (zobrazení, likvor apod.) jsou nespecifické, efekt imunoterapie je malý (Sabater et al. 2014). Pro autoimunitní složku svědčí vyšší výskyt variant *HLA-DQB1\*0501* and *HLA-DRB1\*1001* a detekce *anti-IgLON5* IgG1 a méně IgG4 v séru či mozkomíšním moku. *Anti-IgLON5* na neuronálních kulturách vedly k omezeně reverzibilní internalizaci LON5 (Sabater et al. 2014). Překvapivý byl pitevní nález, jenž odhalil depozita *fosforylovaného tau zahrnujícího izoformy 3R a 4R* s maximem v neuronech hypotalamu a kmene (Gelpi et al. 2016). Není jasné, jestli jsou protilátky sekundární při primárně degenerativním procesu, nebo autoimunita neznámým mechanismem vede k abnormální tau-fosforylaci a hromadění tau-proteinu v neuronech, které následně způsobuje neurodegeneraci (Dalmau et al. 2017).



**Tabulka 3 Nejčastější protilátky proti povrchovým antigenům - volně dle (Krysl and Elišák 2015)**

Protilátka	Anti-LGI1†	Anti-CASPR2†	Anti-AMPA	Anti-GABA <sub>B</sub> R	Anti-NMDAR
Výskyt¶	↑ (7%)	↓	↓ (4%)	↓ (4%)	↑↑ (67%)
Pohlaví	65% muži	85% muži	90% ženy	50:50	91% ženy
Věk*	60 (30-80)	60	60 (38-87)	62 (42-75)	23 (5-76)
Syndromy	LE ( <i>cave</i> hyponatrémie 60% a FBDS 40%), Morvanův syndrom, epilepsie	Morvanův syndrom, neuromyotonie, LE, ataxie	LE	LE	charakteristický průběh difúzní encefalidity (viz text)
MRI nálezy§	86%	40%	90%	66%	obvykle normální
Abnormní CSF‡	40%	25%	90% (i.t. syntéza)	90%	95% (i.t. syntéza!)
Výskyt nádoru	11% (z n=53)	31% (z n=19)	70% (z n=10)	60% (z n=15)	26-58% (dle věku, pohlaví a etnika)
Typ nádoru	nSCLC, štítná žláza, ledviny, thymom, ovariální teratom	thymom	plíce, prs, thymom	SCLC, neuroendokrinní	ovariální teratom, u mužů teratom varlat a SCLC
Sdružené protilátky	TPO, GAD, ANA <10%	MuSK, AChR, GAD65	ANA, GAD, ACLA, VGCC, SOX1, CRMP5, TPO	VGCC, SOX1, GAD	TPO, ANA
Prognóza	↑ (ale 18% relabuje)	↑	↓ (dle tumoru)	↓ (dle tumoru)	↑ (až 28% relabuje, zvl. nedostatečně léčení)

¶ Šipky naznačují četnost výskytu, v závorce procento výskytu dle (Lancaster et al., 2010) (n=410)

§ MRI nálezy u pacientů s AIE sdruženou s danou protilátkou; v závorce je uvedeno (pokud byl údaj dostupný) procento pacientů s MRI nálezem charakteristickým pro LE

‡ Procento pacientů s abnormním nálezem v likvoru (zahrnuje pleocytózu, zvýšenou bílkovinu, intrathekální produkci IgG, oligoklonální pásy).

\* věk je udáván jako medián a v závorce rozmezí, případně pouze rozmezí (není-li medián dostupný)

† anti-LGI1 a anti-caspr2 patří do skupiny protilátek původně označovaných jako anti-VGKC, ty se nadále vyšetřují pomocí RIA (nikoli v ČR) a ve značném procentu nevykazují reaktivitu proti LGI1 ani CASPR2 – namířeny proti dosud neznámým antigenům.

**Zkratky:** AchR – acetylcholinový receptor, AMPA1,2 – podjednotky glutamátových AMPA receptorů, ANA – antinukleární protilátky, caspr-2 – contactin associated protein 2, CPSE – parciální komplexní status epilepticus, CRMP5 – colapsin response mediator protein 5, DM1 – diabetes mellitus 1. typu, DPPX (DPP6) – dipeptidyl-peptidase like protein 6, EDS – excessive daytime sleepiness, EPC – epilepsy partialis continua, FBDS – faciobrachiální dystonické záchvaty, GABA<sub>B</sub>R – receptor pro kyselinu  $\gamma$ -aminomáselnou typu B, GAD – glutamát dekarboxyláza, GluR<sub>2</sub> – epsilon-2 podjednotka glutamátových NMDA receptorů, IP – intestinální pseudoobstrukce, KE – kmenová encefalitida, LE – limbická encefalitida, LGI1 – leucine rich glioma-inactivated protein 1, MA – mozečková ataxie, mf – multifokální, mGluR1 – podjednotka metabotropních glutamátových receptorů, MRI – magnetická rezonance, MuSK – muscle specific kinase, N/K – narkolepsie/kataplexie, NMDAR – glutamátový NMDA receptor, ON – optická neuritida, PCA-1 – Purkinje cell cytoplasmic antibody type 1 (synonymum anti-Yo), PCD – paraneoplastická cerebellární degenerace, PEM – paraneoplastická encefalomyelitida, PERM – progresivní encefalomyelitida s rigiditou a myoklonem, PN – periferní neuropatie, SCLC – malobuněčný karcinom plic, SN – senzorická neuronopatie, SOX1 – sex determining region Y-box 1, SPS – stiff-person syndrom, TLE – epilepsie temporálního laloku, TPO – thyroidální pero6xidáza (anti- TPO = protilátky proti mikrosomům), VGCC – protilátky proti napěťově řízeným vápníkovým kanálům, VGKC – protilátky proti komplexu proteinů sdružených s napěťově řízenými draslíkovými kanály

### 1.2.3 Metody detekce antineurálních protilátek

Pro správnou interpretaci pozitivitu antineurálních protilátek je nutná znalost metod jejich detekce s možnou falešnou pozitivitou či negativitou dle použitého typu jejich vyšetření.

Většina protilátek proti intracelulárním antigenům je namířena proti lineárním epitopům. To znamená, že jejich antigeny nemusí být v jejich nativní konformaci (tedy trojrozměrné struktuře), aby vazba protilátka-antigen proběhla. Metodika testování je tedy širší než u protilátek proti povrchovým antigenům, kde epitopy v jejich nativní konformaci být musí (Ricken et al. 2018; Tampoia et al. 2010).

Protilátky namířené vůči intracelulárním antigenům lze v závislosti na antigenu detekovat různými skupinami metod (*Western blot*, *ELISA – enzyme linked immunosorbent assay*, *RIA – radioimmunoassay*, *fixované TBA – tissue-based assay nebo-li tkáňové řezy*, *CBA – cell-based assay*). Jako screeningová metoda k detekci intracelulárních protilátek se ve specializovaných neuroimunologických laboratořích používá TBA fixovaná na mozkové tkáni laboratorních zvířat pomocí paraformaldehydu. Specifická prefixace tkáně je nutná právě pro odhalení intracelulárních antigenů. Vazba autoprotilátek na mozkovou tkáň se určuje nepřímými metodami – imunohistochemicky nebo imunofluorescenčně značenými sekundárními protilátkami vážícími se na detekované autoprotilátky již navázané na intracelulární epitopy. Lokalizace vazby protilátek v určitých částech mozku se liší dle exprese antigenu, jako například silná vazba *anti-Yo* na Purkyňovy buňky mozečku. TBA je screeningová metoda s vysokou senzitivitou, která zachytí vazbu téměř jakýchkoliv protilátek – tedy i vzácné nebo dosud neurčené onkoneurální protilátky, které v komerčních kitech testovány nejsou (Tampoia et al. 2010). Ve vzorku séra ale mohou být přítomny různé konkomitantní systémové protilátky (například antinukleární protilátky), které mohou nespecificky obarvit celý řez a maskovat tak vzor tkáňového barvení typický pro antineurální protilátky (Ricken et al. 2018; Tampoia et al. 2010). Konfirmační metodou (pro konkrétní typ intracelulárních antineurálních protilátek) jsou imunoblotové metody, které jsou aktuálně jedinou používanou diagnostickou metodou v České republice, ale samotné mají nedostatečnou senzitivitu (Tampoia et al. 2010). Při této metodě detekce se používají komerčně dostupné assaye ve formě diagnostických proužků obsahující purifikované rekombinantní proteiny (typicky Yo, Hu, Ri, CV2/CRMP5 ale i další dle výrobce),

kteře jsou inkubovány se vzorkem séra nebo likvoru. Při této metodě je ale také možnost falešné pozitivivity – u zdravých kontrol nebo pacientů nespĺňujících diagnostická kritéria klasických paraneoplastických syndromů. Jako dobře definované onkoneurální protilátky jsou označovány pouze ty, které jsou pozitivní na tkáňových řezech a zároveň je daná protilátka detekována imunoblotovými metodami u pacientů se již definovaným paraneoplastickým syndromem. Pro potvrzení diagnózy klasického paraneoplastického syndromu je nutná korelace této pozitivivity s klinickým obrazem dle diagnostických klinických kritérií (Graus et al. 2004).

NSAbs jsou vzhledem k nutnosti zachování nativní trojrozměrné konfirmace k navázání na epitop na metody detekce náročnější. Jako screeningovou metodu lze, podobně jako u protilátek proti intracelulárním cílům, užit TBA, kdy se ale tkáň nefixuje. Nejčastěji používanou metodou je CBA na buňkách transfekovaných komplementární DNA (kdy je do nich pomocí vektoru zavedena genetická informace) kódující protein zájmu (například NMDA receptor), který pak tyto buňky exprimují na svém buněčném povrchu, a to v jeho nativní formě. Po vazbě protilátky ze vzorku pacienta je tato vazba nepřímo detekována sekundární protilátkou, která je označena v případě komerčně dostupných kitů fluorescenčně. Další způsoby detekce protilátek, které jsou ale používané výhradně ve výzkumných specializovaných neuroimunologických laboratořích, jsou testování na in-house (v dané laboratoři vyvinutých) CBA a dále na živých neurálních kulturách. Na živé neurální kultury se protilátka naváže jen v případě, že reaguje se specifickým epitopem přímo na povrchu neuronu (detekuje tedy jen protilátky proti povrchovým antigenům). Cílový epitop lze v případě neznámého antigenu dále identifikovat pomocí dalších metod, imunoprecipitace a hmotnostní spektrometrie.

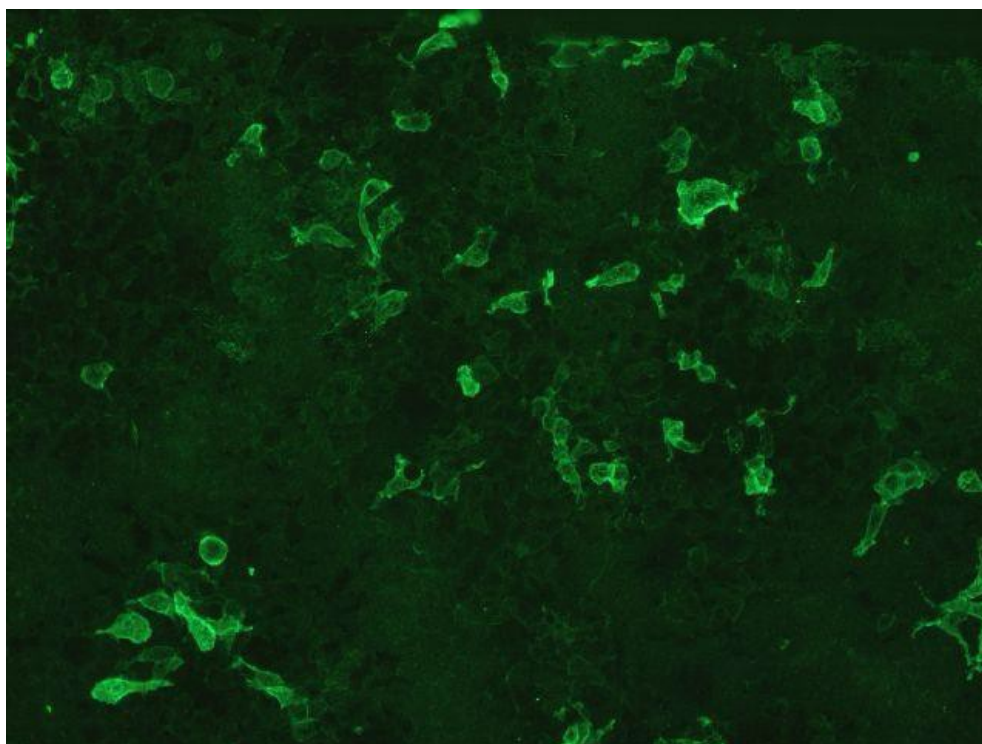
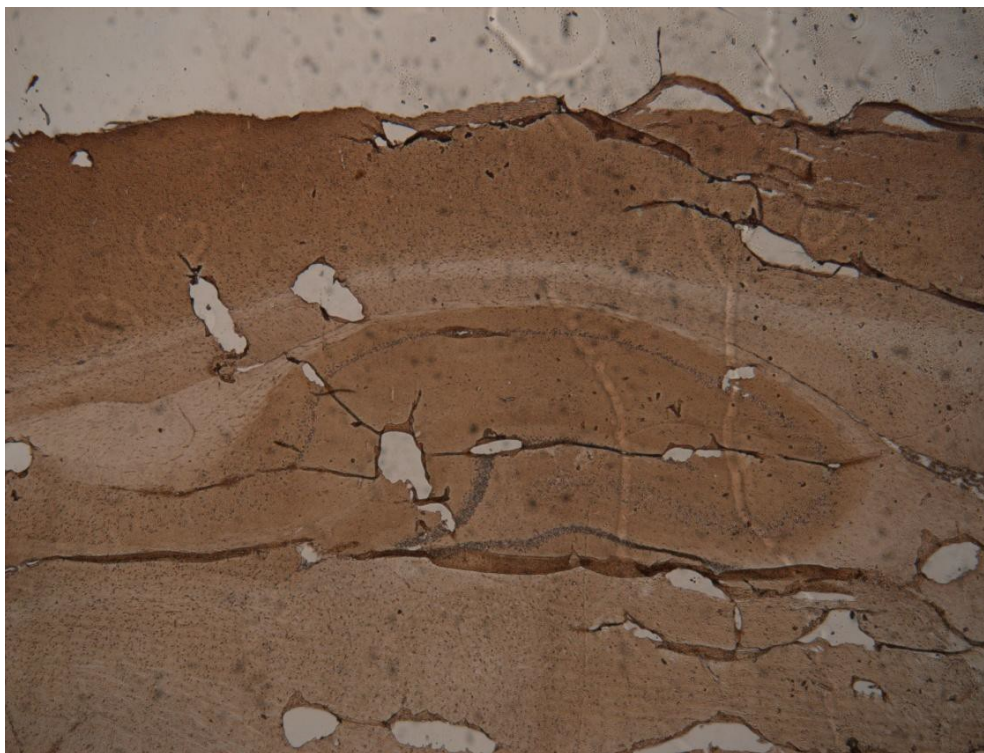
U nejčastěji užívaných metod – TBA i CBA je hodnocení semikvantitativní. Určení titrů je možné dle naředení séra do poslední hodnoty, kdy je ještě vzorek pozitivní. Vzhledem k faktu, že se jedná o vizuální hodnocení, doporučuje se nezávislé určení pozitivivity více hodnotitely. U TBA navíc můžeme vidět specifické barvení dle typu protilátek. U RIA je možné hodnocení kvantitativní v mezinárodních jednotkách, ale většina komerčních kitů je homologována na nízké hodnoty, které nejsou u neurologických syndromů specifické a chybí validace pro vyšetřování a hodnoty anti-GAD v mozkomíšním moku.

Vzhledem k možné falešné pozitivitě při užití pouze jedné metody je doporučováno potvrzení pozitivivity antineurálních protilátek alespoň dvěma metodami.

Další otázkou je i nutnost paralelního vyšetření séra a mozkomíšního moku. U dobře charakterizovaných onkoneurálních protilátek je, i vzhledem k primární imunitní odpovědi proti epitopu lokalizovanému mimo CNS, dostačující vyšetření séra. Detekční metody u onkoneurálních protilátek obvykle detekují vyšší titry, které u paraneoplastických syndromů bývají obvykle přítomny (Rasputnig et al. 2011). V některých případech byly nízké titry v séru detekovány u pacientů s onkologickým onemocněním bez neurologických příznaků (Drlicek et al. 1997), a zejména při užití pouze jedné diagnostické metody existuje riziko falešné positivity, jak jsme zmínili výše. Vyšetření likvoru se tedy užívá pouze k případné confirmaci výsledků v klinicky nejasných situacích, protože u paraneoplastických syndromů byla prokázána migrace plazmocytů do CNS a tedy i pozitivita protilátek (Corsini et al. 2016). U NSAbs a *anti-GAD* je situace složitější. Jednoznačná je nutnost detekce anti-NMDAR i v likvoru – v séru je senzitivita CBA 86,8 % oproti 100 % senzitivitě v mozkomíšním moku (Gresa-Arribas et al. 2014). U ostatních NSAbs není možnost izolované positivity v likvoru doposud jednoznačně známá. Vzhledem ke prokázané schopnosti plazmatických buněk schopných produkovat *anti-NMDAR* migrovat a perzistovat za hematoencefalickou bariérou (Martinez-Hernandez et al. 2011) je v klinicky suspektních případech vhodné u NSAbs párové vyšetření séra i likvoru. K odhadu intratekální produkce *anti-GAD* lze využít výpočet *indexu protilátek QGAD*:

$$QGAD = (\textit{titr GAD likvor} / \textit{titr GAD sérum}) / (\textit{albumin likvor} / \textit{albumin sérum})$$

Hodnoty QGAD vyšší než IgG index, zejména hodnoty současně > 1, indikují intratekální syntézu specifických protilátek (Saiz et al. 2008). Výpočet QGAD je však spolehlivý (a smysluplný) pouze u vysokých titrů anti-GAD. Další z možných doplňujících vyšetření je stanovení anti-GAD specifických oligoklonálních pásů (Krýsl a Elišák 2015).



*Obrázek 1. Pozitivita anti-LGII v séru metodou imunohistochemie na řezu mozku potkana (nahore) a metodou CBA (dole)*

#### 1.2.4 Klinická variabilita syndromů sdružených s antineurálními protilátkami

Klinický obraz onemocnění sdružených s antineurálními protilátkami může být variabilní dokonce i u pacientů se stejným typem protilátek. Naopak rozdílné typy protilátek mohou způsobovat klinicky neodlišitelný průběh, jako například u limbické encefalitidy. Kromě typu protilátek může být klinický obraz ovlivněn titrem protilátek, jejich třídou, respektive podtypem, nebo vícečetnou pozitivitou různých antineurálních protilátek.

*Vztah titru protilátek na fenotypu* byl prokázán u *anti-CASPR2*, kde nízké hodnoty způsobují postižení periferního nervového systému a vysoké titry způsobují oproti tomu dominantně postižení mozku (Bien et al. 2017). Titr *anti-NMDAR* koreluje s tíží klinických příznaků, respektive jejich pokles koreluje se zlepšováním u NMDAR encefalitidy (Gresa-Arribas et al. 2014).

Ne všechny *třídy protilátek* jsou patogenní – u *anti-NMDAR* byla prokázána přímá patogenita pouze protilátek IgG, ale nikoliv IgA nebo IgM (Hara et al. 2018). *Anti-CASPR2* byly popsány v podtřídě IgG1 i IgG4 (van Sonderen et al. 2016a). Narozdíl od IgG1, které byly popsány jako patogenní u *anti-NMDAR*, nemohou IgG4 způsobit internalizaci svého epitopu a mají nízkou afinitu k *Fcγ* receptoru a nízkou schopnost aktivace buněčné odpovědi i komplementu. U *anti-CASPR2* mohou ale IgG4 ovlivňovat mezibuněčnou interakci (van Sonderen et al. 2016a). Důležitá je i přesná lokalizace cílového epitopu – u NMDAR encefalitidy byla prokázána přímá patogenita IgG protilátek proti podjednotce GluN1. U neurolypsu byly detekovány protilátky proti GluN2 (Lapteva et al. 2006), nicméně jejich klinický význam je nejednoznačný, protože byly detekovány i u pacientů s lupusem bez projevů postižení CNS a dokonce i u zdravých rodinných příslušníků pacientů s neurolypusem (Steup-Beekman et al. 2007). *Anti-NMDAR* jiné třídy (IgA nebo IgM) byly detekovány i u dalších neurologických onemocnění – ischemické cévní mozkové příhody (Zerche et al. 2015), Parkinsonovy nemoci a jiných neurodegenerativních onemocnění (Finke et al. 2017). Předpokládá se, že přechodná porucha hematoencefalické bariéry umožní přestup sérových protilátek do CNS a tyto protilátky ovlivňují příznaky primárního onemocnění (Hammer et al. 2014). Na druhou stranu dosud chybí potvrzení patogenity dle Koch-Witebskyho postulátu, tedy rozvoj onemocnění v animálním modelu po aplikaci protilátek pacientů (Rose a Bona 1993). Budou tedy nutné další studie objasňující specifitu v těchto případech.

*Vícečetná pozitivita protilátek ovlivňující fenotyp* onemocnění byla popsána u pacientů s encefalitou a pozitivitou *anti-GAD*, kde u pacientů s farmakorezistentní epilepsií či de novo rozvinutým epileptickým statem byla popsána i současná pozitivita *anti-GABA<sub>A</sub>R* (Petit-Pedrol et al. 2014).

### 1.2.5 Epileptické záchvaty u autoimunitních encefalitid

Možnost imunitně podmíněné iktogeneze byla prokázána v animálních modelech. Aplikace likvoru pacientů s autoimunitní encefalitou (i bez známých antineurálních protilátek) vyvolává u potkaních modelů epileptické záchvaty (Romoli et al. 2019). U autoimunitních encefalitid sdružených s antineurálními protilátkami (zejména NSAbs) se ale nejedná pouze o nespecifickou odpověď na zánětlivou reakci podmíněnou hlavně interleukiny a dalšími složkami humorální imunity, ale tyto specifické autoprotiátky mají přímé iktogenní působení. Toto tvrzení podporuje: 1) výskyt epileptických záchvatů s unikátním klinickým projevem u jednotlivých protilátek, například faciobrachiální dystonické záchvaty u encefalitidy sdružené s *anti-LGII*, 2) působení protilátek v *in vitro* i *in vivo* modelech, 3) modely geneticky podmíněných epilepsií způsobených mutací genů kódujících proteiny které jsou cílem protilátek u autoimunitní encefalitidy, jako je např. *anti-LGII* u autozomálně dominantně dědičné laterální epilepsie temporálního laloku (Zhou et al. 2009) a 4) terapeutická odpověď na eliminaci protilátek nebo na depleci plazmatických buněk vytvářejících tyto autoprotiátky. Souhrn prokázaných iktogenních mechanismů NSAbs a genetických modelů jejich cílového epitopu viz Tabulka 4.

Způsob iktogenního působení NSAbs je ve větší míře podmíněn strukturální nebo funkční změnou jejich epitopu vedoucí mimo jiné ke změně excitability neuronů. Patofyziologické působení a tedy i mechanismus iktogeneze se liší dle typu protilátek - například u *anti-LGII* byla v animálních modelech prokázána hyperexcitabilita granulózní vrstvy gyrus dentatus a pyramidových buněk CA1 hipokampu asociovaná se zvýšením glutamatergní transmise vedoucí ke snížení excitačního prahu (Petit-Pedrol et al. 2018), u *anti-NMDAR* dochází po navázání protilátky k internalizaci cílového receptoru a zvýšení obsahu extracelulárního glutamátu vedoucímu k následnému zvýšení excitability v excitačních okruzích (Manto et al. 2010), u *anti-GABA<sub>B</sub>R* dochází k snížení excitability v inhibičních sítích v temporálním laloku bez ovlivnění clusterů cílových receptorů (Nibber et al. 2017).



**Tabulka 4 Iktogenní mechanismus NSAbs a genetický model dysfunkce cílového antigenu protilátek (volně dle Geis et al. 2019)**

<b>Cílový antigen protilátek</b>	<b>Iktogenní efekt autoprotilátek</b>	<b>Genetický model</b>
NMDAR	Internalizace NMDAR vedoucí k dysregulaci glutamátového okruhu vedoucí v kompenzační hyperexcitabilitu	Umrtní zvířat po delecí NR1 podjednotky, desynchronizace hipokampálních okruhů delecí parvalbumin pozitivních neuronů
AMPA	Internalizace AMPAR, nahrazení GluA2 za GluA1 AMPAR vedoucí v hyperexcitabilitu	Zvýšení synaptické excitability u potkanů se knockoutovaným genem pro GluA2 podjednotku
LGI1	Inhibice transsynaptické interakce AMDAM 22 a 23 zprostředkované LGI1, snížení denzity AMPAR	Mutace genu LGI1 u geneticky podmíněné laterální epilepsie temporálního laloku
CASPR2	In vitro snížení klastrů gephyrinu v inhibičních synapsích	Snížení počtu Kv1.1 VGKC juxtapanodálně u potkanů knockoutovaných pro CASPR2
DPPX	In vitro: snížení denzity povrchových DPPX a Kv4.2 VGKC	Defektní dendritické KGC se zvýšenou excitabilitou u potkanů knockoutovaných pro DPPX
GABA <sub>b</sub> R	In vitro antagonistický efekt pro baklofen na GABA <sub>b</sub> R	Epileptické záchvaty u potkanů knockoutovaných pro GABA <sub>b</sub> R
GABA <sub>a</sub> R	In vitro selektivní redukce GABA <sub>a</sub> R na synapsích	Difuzní zvýšení excitability u myši s delecí GABA <sub>a</sub> R

*Tabulka 5 Výskyt epileptických záchvatů a riziko rozvoje epilepsie u autoimunitních encefalitidy v závislosti na typu protilátek – volně dle Geis et al. 2019, Muñoz-Lopetegi et al. 2020 a Malter et al. 2010*

<b>Cílový antigen autoprotilátek</b>	<b>Výskyt epileptických záchvatů</b>	<b>Riziko epilepsie jako následku autoimunitní encefalitidy</b>	<b>Celková prognóza autoimunitní encefalitidy</b>
NMDAR	75 %	pod 5 %	80-85 % vyléčení či částečné zlepšeno riziko relapsu 15-20 %
AMPA	30-40 %	pod 5 %	dle onkologické morbidity
GABA <sub>b</sub> R	95 %	pod 5 %	dle onkologické morbidity
LGI 1	50 %	15 %	80 % částečně zlepšeno
CASPR2	54 %	neznámé	48 % vyléčení 44 % částečně zlepšeno
GABA <sub>a</sub> R	88 %	neznámé	23 % vyléčení 64 % částečně zlepšeno
DPPX	22 %	neznámé	60 % vyléčení či částečně zlepšeno
GAD	44 %	neznámé	30% částečně zlepšeno

### 1.3 Antineurální protilátky u epilepsie

Antineurální protilátky slouží jako biomarker u autoimunitních encefalitid, u většiny NSAbs předpokládáme navíc jejich kauzální působení. Zatímco přímé iktogenní působení NSAbs a výskyt akutních symptomatických epileptických záchvatů u autoimunitní encefalitidy byly již popsány, jak uvádíme výše, epileptogenní působení a celková úloha antineurálních protilátek u epilepsie je dosud nejasná.

Výskyt antineurálních je popisován u 9-34 % pacientů s izolovanou epilepsií v závislosti na jejím typu, rozsahu vyšetřovaných protilátek a designu studií (Brenner et al. 2013; Iorio et al. 2015; Vanli-Yavuz et al. 2016). Možných je více modelů autoimunitní epilepsie sdružené s antineurálními protilátkami – epilepsie jako následek prodělané autoimunitní encefalitidy, zejména v důsledku strukturálních změn mozku, nebo jako projev “chronického” průběhu autoimunitní encefalitidy s epileptickými záchvaty jako jediným či dominujícím příznak s přímým iktogenním působením autoprottilátek. Speciální, dosud nezodpovězenou otázkou je význam přetrvávající positivity antineurálních protilátek u pacientů po prodělané autoimunitní encefalitidy a možnost positivity a jejich role u pacientů s epilepsií bez anamnézy prodělané autoimunitní encefalitidy.

Epilepsie jako následek prodělané autoimunitní encefalitidy již byla prokázána – v patofyziologii se uplatňují zejména strukturální změny mozku po prodělaném zánětu, což ilustruje rozvoj hipokampální sklerózy po prodělané limbické encefalitidě u některých pacientů (Bien et al. 2007). Tyto změny se rozvíjejí na podkladě rozličných imunopatologických mechanismů. U onemocnění sdružených s onkoneurálními protilátkami dochází k zejména buněčné smrti s následnou atrofií v důsledku působení cytotoxických T buněk (Bien et al. 2012). Zatímco v těchto případech nacházíme strukturální změny na mozku v průběhu choroby prakticky u všech pacientů, při pozitivitě NSAbs je rozvoj ireverzibilních strukturálních změn variabilní i u pacientů se stejným typem protilátek. Například u *anti-LGII* byla, kromě výše diskutovaných funkčních změn, histopatologicky prokázána výrazná lymfocytární infiltrace mozkové tkáně bez průkazu T buněčné cytotoxicity. Další práce ale prokázaly depozita imunoglobulinů a antigenu C9neo na povrchu neuronů vedoucí k aktivaci komplementové kaskády s následnou smrtí buněk zprostředkovanou protilátkami (Bien et al. 2012). Strukturální změny způsobené imunitně zprostředkovanou degenerací buněk mozku ale nenacházíme u všech

pacientů s pozitivitou *anti-LGII*. Důkazem iktogenního působení *anti-LGII* je práce prokazující zvýšenou spontánní depolarizaci i zvýšení výskytu následných výbojů po elektrické stimulaci buněk v stratum lucidum v sektoru CA3 hipokampu v in vitro modelu po aplikaci séra pacientů s *anti-LGII* oproti kontrolám, a to při prokázání vazby *anti-LGII* na neurofila hipokampu (Lalic et al. 2011).

U NMDAR encefalidity jako zástupce autoimunitní encefalidity, u které se strukturální změny na MRI vyskytují v menšině případů (Irani et al. 2010b) a histopatologicky se nalézá pouze nevýrazný úbytek nervových buněk (Miya et al. 2014), se epileptické záchvaty vyskytují u 81 % pacientů (Liu et al. 2017). *Anti-NMDAR* způsobují převážně funkční změny – po jejich vazbě dochází k internalizaci cílového receptoru, což vede v důsledku narušené regulace glutamátu nepřímo ke zvýšení koncentrace glutamátu v extracelulárním prostoru (Manto et al. 2010). Při adekvátním a včasném zahájení léčby vedoucí k odstranění *anti-NMDAR* nedochází k rozvoji epilepsie jako následku prodělané NMDAR encefalidity (Liu et al. 2017). Epilepsie u *anti-NMDAR* vzniká spíše jako následek komplikací onemocnění, jako je například hypoxické postižení mozku při v důsledku epileptického statu vedoucího k trvalému neuronálnímu postižení nebo při autonomní instabilitě, která je častým příznakem NMDAR encefalidity.

Na druhou stranu, výskyt *anti-NMDAR* byl prokázán u pacientů s rozvojem progresivní hipokampální atrofie po prodělané virové encefalitidě (Popkirov et al. 2017) u pacientů bez anamnézy NMDAR encefalidity. V současné době je diskutována úloha NSAbs jako jednoho rizikových faktorů pro rozvoj epilepsie po prodělané virové encefalitidě (Armangue et al. 2015).

## 1.4 Autoimunitní epilepsie

V roce 2017 zahrnula ILAE (The International League Against Epilepsy) poprvé autoimunitní epilepsie jako samostatnou etiologickou skupinu. Defínuje je jako onemocnění, která vznikají v přímé souvislosti s imunitně zprostředkovaným onemocněním, u kterého jsou záchvaty hlavním příznakem. Zařazeny jsou zde i autoimunitní encefalitidy, jako např. NMDAR encefalitida nebo LGII limbická encefalitida (Scheffer et al. 2017). Epileptické záchvaty se vyskytují u 13-93 % pacientů s autoimunitní encefalitidou v závislosti na typu sdružených protilátek (Spatola a Dalmau 2017). V těchto případech se často jedná o akutní symptomatické epileptické záchvaty manifestující se současně s dalšími příznaky autoimunitní encefalitidy, nejčastěji v akutní fázi zánětu. Přesné určení hranice mezi akutním symptomatickým záchvatem a již rozvinutou epilepsií jako chronickým onemocněním je ale obtížné a u jednotlivých autorů se můžeme setkat s různými definicemi těchto dvou skupin nebo překryvem těchto termínů. V těchto případech je tedy řazení mezi epilepsie jako chronické onemocnění, vzhledem k přechodné povaze záchvatů (a tedy dle dosavadního chápání toho typu záchvatů jako akutních symptomatických) při imunoterapii, kontroverzní. Jako důvod vytvoření této podskupiny autoři uvádí nutnost časného zahájení imunoterapie jako léčby kauzální a odlišné od ostatních etiologií (Scheffer et al. 2017). K určení pacientů, kteří by mohli z léčby profitovat, bylo navrženo *RITE skóre – Response to Immunotherapy in Epilepsy*. Jako prediktivní faktory jsou označovány (sub)akutní (jeden až šest týdnů) projevy encefalopatie, afektivní porucha, autonomní dysfunkce, prodromy virózy, faciální dyskineze či faciobrachiální dystonické záchvaty, farmakorezistence, zánětlivý likvor, MR změny odpovídající limbické encefalitidě, malignita, zahájení imunoterapie do šesti měsíců od počátku příznaků a pozitivita NSAbs (Dubey et al. 2017). Limitem těchto prací je fakt, že zařazují pacienty s akutními symptomatickými záchvaty jako projevem autoimunitní encefalitidy i pacienty se záchvaty u dlouhotrvající epilepsie.

V některých případech je obtížné určení intervalu od počátku onemocnění, kdy ještě označovat záchvaty za akutní symptomatické a kdy za se již jedná o epilepsii. Epileptogeneze je dynamický proces s nutností komplexních změn v mozkové tkáni – jak strukturálních, tak i funkčních. U pacientů s rozvojem strukturálních změn, jako je tomu například u pacientů s rozvojem hipokampální sklerózy jako následku LGII limbické encefalitis, je zařazení mezi epilepsie jednoznačné. Problematičtější je situace u pacientů s epilepsií, u kterých se epilepsie rozvinula jako následek autoimunitní encefalitidy. V těchto případech není přetrvávající

pozitivita antineurálních protilátek jednoznačným markerem probíhajícího onemocnění, protože byly popsány případy přetrvávající positivity těchto protilátek i u pacientů kteří sice autoimunitní encefalitidu prodělali, ale v době positivity NSAbs již bez jakýchkoliv příznaků (Gresa-Arribas et al. 2014).

## 1.5 Léčba

Úloha antineurálních protilátek u epilepsie tedy zatím nebyla jednoznačně určena. Existují případy, kdy zejména časné zahájení imunoterapie u pacientů s předpokládanou autoimunitní epilepsií může vést k plné kompenzaci záchvatů, a to i po vysazení antiepileptik, což je u epilepsií jiných příčin vzácné. Faciobrachiální dystonické záchvaty asociované s *anti-LGII* mohou dokonce předcházet rozvoj encefalopatie a časné zahájená léčba může předcházet rozvoji trvalé kognitivní poruchy jako následku této autoimunitní encefalitidy (Irani et al. 2013). Efekt imunoterapie k ovlivnění epileptických záchvatů u onemocnění s předpokládanou autoimunitní etiologií (definovanou na základě positivity antineurálních protilátek a/nebo přítomnosti zánětlivých změn v likvoru a/nebo MR nálezu suspektního z autoimunity) popsal Quek s kolegy na kohortě 32 pacientů – ke zlepšení po podání imunoterapie došlo v 81 % případů (Quek et al. 2012). Toto sledování potvrdila další práce, kde byl pozorován lepší efekt imunoterapie při časném zahájení léčby (Toledano et al. 2014). Postup a přesné schéma imunologické léčby u pacientů s epilepsií je doposud nejednoznačný, zejména pro malý počet a heterogenitu zatím publikovaných prací.

Imunoterapie je doporučováno volit dle míry jistoty autoimunitní etiologie obtíží (zejména specificita antineurálních protilátek, jejich titr) tíže klinických obtíží a komorbidit pacienta. V případě agresivního klinického průběhu či přítomnosti vysoce specifických antineurálních protilátek (či jejich vysokého titru) – Bienem označovaných jako *“high-rank”*, je doporučována léčba první linie dvojkombinací kortikosteroidů, plazmaferézy či intravenózních imunoglobulinů (popis případů hodnocených jako *„high rank“* viz Tabulka 6). V případě že nedojde ke zlepšení stavu, je indikována eskalace imunoterapie. V případech nejistého klinického významu (ať již nevýrazné či nespecifické klinické obtíže a/nebo positivity méně specifických protilátek) - označované jako *“gray cases”* popis případů hodnocených jako *„high rank“* viz Tabulka 7) je doporučován terapeutický test s kortikoidy s následným klinickým

vyhodnocením v řádu třech měsíců a dle toho 1) eskalaci, 2) pokračování či 3) přerušení kortikoterapie.

**Tabulka 6** Definice “high-rank” případů - případy s pozitivitou protilátek s vysokou senzitivitou a/nebo jasně popsány klinickými příznaky a/nebo popsanou dobrou odpovědí na imunoterapii - volně dle Bien a Holtkamp 2017

Typ protilátek	Sérum/likvor	Hladiny či titry	Klinický syndrom
NMDAR	sérum likvor	1:10 1:10	NMDAR encefalitida
LGI1	sérum	1:10	Limbecká encefalitida Faciobrachiální dystonické záchvaty
CASPR2	sérum	1:128	Limbecká encefalitida Neuromyotonie Ataxie
AMAPAR	sérum	1:40	Limbecká encefalitida
GABA <sub>b</sub> R	sérum likvor	1:40 1:10	Limbecká encefalitida
DPPX	sérum	1:10	Multifokální progredující encefalitida

*Tabulka 7 Definice “gray cases” případů - případy s pozitivitou protilátek nejasného klinického významu a/nebo menší odpovědí na imunoterapii a nebo klinické příznaky či výsledky vyšetření bez pozitivitu antineurálních protilátek se suspekci na autoimunitní příčinu - volně dle Bien a Holtkamp 2017*

<b>Typ protilátek</b>	<b>Sérum/likvor</b>	<b>Hladiny či titry</b>	<b>Klinický syndrom</b>
Onkoneurální	sérum	1:10	Klasické/možné paraneoplastické syndromy <ul style="list-style-type: none"> <li>- Limbická encefalitida</li> <li>- Encephalomyelitis, rhombencefalitis</li> <li>- Opsoklonus-myoklonus</li> <li>- Získaná mozečková degenerace</li> <li>- Retinopatie</li> <li>- Stiff person</li> <li>- Nekrotizující myelopatie</li> </ul>
GAD	sérum	500-1000 IU/ml	Limbická encefalitida Temporální epilepsie Stiff person syndrom Získaná mozečková degenerace
GlyR	sérum likvor	1:50 1:10	Limbická encefalitida Progresivní encefalomyelitida s rigiditou
Neuraxin-3 $\alpha$	sérum	nejasné	Multifokální encefalitis
Negativní protilátky <ul style="list-style-type: none"> <li>+ záněť v likvoru bez průkazu infekčního agens</li> <li>+ známky encefalitis na MR</li> <li>+ zánětlivý histopatologický nálezn bez průkazu infekčního agens</li> </ul>			Nově rozvinutá epilepsie nejasné příčiny s příznaky encefalopatie



## 2. Cíle a hypotézy

Naším hlavním cílem bylo charakterizovat výskyt epileptických záchvatů u autoimunitní encefalitidy a úlohu antineurálních protilátek sdružených s autoimunitní encefalitidou u pacientů s epilepsií. Vzhledem k předpokládané přímé patogenitě NSAbs a časté lokalizaci jejich epitopů ve spánkovém laloku jsme se primárně zaměřili na pacienty s epilepsií temporálního laloku.

Při předpokládaném nízkém výskytu antineurálních protilátek u pacientů s epilepsií by bylo screeningové vyšetření všech typů protilátek u všech pacientů s epilepsií nákladné. Na základě výsledků práce jsme ve spolupráci se zahraničním epileptologickými a neuroimunologickými centry podíleli na vytvoření škálovacího systému umožňujícího na základě klinických parametrů identifikovat pacienty s fokální epilepsií suspektní z autoimunitní příčiny, indikované k vyšetření antineurálních protilátek.

Dalšími cíli bylo zavedení nových metod detekce antineurálních protilátek (zejména TBA) a určení možných terapeutických možností u pacientů s autoimunitní epilepsií.

Hypotézy:

- 1) U části pacientů s autoimunitní epilepsií se onemocnění rozvine na podkladě autoimunitní encefalitidy podmíněné protilátkami (proti povrchovým nebo intracelulárním antigenům).
- 2) Výskyt antineurálních protilátek je vyšší u pacientů nelezionálních než u pacientů se strukturální lézí na MR mozku.
- 3) Antineurální protilátky budou pozitivní u pacientů s epilepsií neznámé příčiny
- 4) U pacientů s pozitivitou antineurálních protilátek se ve srovnání s ostatními pacienty častěji vyskytují následující klinické charakteristiky:
  - vyšší věk v době začátku epilepsie
  - bitemporální epilepsie na základě elektrofyziologických a/nebo zobrazovacích vyšetření

- psychiatrická komorbidita
- farmakorezistence
- u pacientů, kteří podstoupí epileptochirurgický výkon budou histopatologicky přítomné zánětlivé změny v mozkové tkáni

## 3. Metodika

### 3.1 Klinické projevy pacientů s pozitivitou antineurálních protilátek

V období dvou let jsme zjišťovali přítomnost protilátek NSAbs v séru u 224 pacientů vyšetřených pro klinické podezření na autoimunitní encefalitidu. U všech pacientů bylo iniciálně vyšetřeno sérum, likvor byl vyšetřován u pacientů s pozitivitou protilátek v séru a/nebo u pacientů s klinickým podezřením na autoimunitní encefalitidu (n=37). Metodou CBA byly vyšetřeny protilátky proti *anti-NMDAR*, *anti-AMPA*, *anti-GABA<sub>B</sub>R*, *anti-LGII* a *anti-CASPR2*. Použit byl komerčně dostupný kit společnosti Euroimmun – Autoimmune Encephalitis Mosaic 1, ředění séra pacientů bylo 1:10, likvor byl vyšetřován neředěný. Pacienti s pozitivitou *anti-NMDAR* nebyli do hodnocení zahrnuti, vzhledem k faktu, že u všech klinický obraz odpovídal typickým projevům NMDAR encefalitidy, které již byly detailně popsány a definovány. Limitací této studie je absence konfirmace positivity protilátek metodou TBA, která v době zpracování studie nebyla v ČR dostupná. U pozitivních pacientů byly retrospektivně zhodnoceny klinické projevy (v textu se dále zaměřujeme na semiologii a typ epileptických záchvatů, nálezy pomocných metod a vývoj onemocnění, farmakorezistenci a efekt imunoterapie).

### 3.2 Antineurální protilátky u pacientů s epilepsií temporálního laloku

V období čtyř let (2013 až 2017) jsme prospektivně vyšetřovali pacienty s epilepsií temporálního laloku v Centru pro epilepsie Motol. Zařazeni byli pacienti s elektro-klinicky charakterizovaným syndromem epilepsie temporálního laloku s trváním epilepsie déle než jeden rok (tedy byli vyloučení pacienti s akutními symptomatickými záchvaty v důsledku autoimunitní encefalitidy). Zařazeni byli pacienti se všemi příčinami epilepsie temporálního laloku, s výjimkou pacientů se strukturální epilepsií na podkladě nádoru mozku, u nichž existuje riziko sekundární positivity antineurálních protilátek v důsledku přítomnosti onkoneurálních epitopů na povrchu tumoru. U všech pacientů bylo vyšetřeno sérum, likvor byl vyšetřen u pacientů s pozitivitou protilátek v séru.

Přítomnost NSAbs byla detekována komerčními kity metodou nepřímé imunofluorescence na buňkách transfekovaných pro daný antigen, identickými jako v předchozí práci. Vzorky likvoru byly vyšetřovány neředěné, séra byla iniciálně vyšetřována v ředění 1:10 a následně za účelem určení end-point titru NSAbs ředěna do negativity vzorku. Na základě předchozích pozorování byly jako klinicky potenciálně významné určeny hodnoty 1:10 u *anti-LGII*, 1:128 u *anti-CASPR2* a 1:40 u *anti-AMPA* a *anti-GABA<sub>B</sub>R* (Bien a Holtkamp 2017). Nižší titry jsme označili jako titry nejasného významu a pacienti s těmito hodnotami nebyli zařazeni do statistické analýzy.

Protilátky proti *anti-GAD* byly v první době vyšetřovány imunoblotem (Ravo, PNS 11 Line Assay). Pozitivita byla následně confirmována na tkáňových řezech mozku potkana (Euroimmun, rat hippocampus and cerebellum). U takto confirmovaných případů byly měřeny koncentrace anti-GAD radioimunoesejí (CentAKanti-anti-GAD65M, Medipan). Jako klinicky významné byly určeny hodnoty vyšší než 1000 kU/I (Saiz et al. 2008).

Vyšetřovány byly také dobře charakterizované onkoneurální protilátky (*anti-Hu*, *anti-Yo*, *anti-Ri*, *anti-CV2/CRMP5*, *anti-amphiphysin*, *anti-Ma1/2*, *anti-SOX1*, *anti-Tr-DNER* a *anti-Zic4*), které jsou součástí kitu Ravo PNS11 Line Assay použitého k detekci *anti-GAD*. Vzorky pozitivní na imunoblotovém vyšetření jsme confirmovali na tkáňových řezech. Pacienti s pozitivitou dobře charakterizovaných onkoneurálních protilátek ale nebyli zařazeni do statistické analýzy.

Do statistické analýzy byli zařazeni pouze pacienti s klinicky významnými titry NSAbs a *anti-GAD*. Analyzovány byly následující proměnné: věk v době počátku epilepsie, trvání epilepsie do doby vyšetření protilátek, rizikové faktory pro rozvoj epilepsie (zánět mozku, febrilní křeče, kraniotrauma, perinatální komplikace), frekvence záchvatů, semiologie záchvatů, výskyt epileptického statu, významná psychiatrická (těžká deprese, psychotické projevy, obsesivně-kompulzivní porucha, psychogenní neepileptické záchvaty) a onkologická komorbidita. Dále jsme analyzovali event. přítomnost potenciálně epileptogenní léze na magnetické rezonanci (unilaterální nebo bilaterální) a elektroencefalografický nález (unilaterální či bilaterální). K porovnání charakteristik seropozitivní a seronegativní skupiny byl použit Mann-Whitney U test nebo Fisherův test. Statistická významnosti  $p=0.05$  byla korigována Bonferroniho korekcí pro vícečetné testy.

### 3.3 Antineurální protilátky u fokální epilepsie neznámé etiologie

V rámci prospektivní multicentrické studie byli v letech 2014 až 2017 v terciárních epileptologických centrech vyšetřováni pacienti s fokální epilepsií neznámé příčiny na přítomnost antineurálních protilátek. Zařazení byli pouze pacienti s epilepsií neznámé příčiny, bez klinického podezření na autoimunitní encefalitidu. Pacienti se strukturální lézí nebyli zařazeni, kromě pacientů s T2 hyperintenzními změnami meziotemporálně na MR, které mohou být následkem autoimunitní encefalitidy.

Séra všech pacientů byla iniciálně vyšetřena imunohistochemicky na tkáňových řezech (TBA) mozku potkana, pozitivní byli nadále detailněji vyšetřováni na základě typu imunohistochemického barvení: 1) metodou CBA na fixovaných buňkách (komerční kity Euroimmun) pro detekci *anti-NMDAR*, *anti-GABAbR*, *anti-LGII*, *anti-CASPR2*, 2) in house CBA na živých buňkách pro detekci *anti-GABAaR*, *anti-AMPAR*, *anti-DPPX*, 3) metodou RIA pro *anti-VGKC*, 4) ELISA pro *anti-GAD*. Jako klinicky významné byly hodnoceny vzorky *anti-GAD* s koncentrací vyšší než 10 000 IU/ml. Dále byla všechna séra vyšetřena metodou vyšetřena metodou *in house* CBA na přítomnost *anti-GlyR*, které nemohou být vizualizovány pomocí TBA. U vzorků pozitivních metodou TBA bez průkazu známých antigenů byla neuronální vazba verifikována na živých buňkách hipokampu embryí potkana.

Pacienti byli rozděleni na 3 skupiny: 1) pacienti s pozitivitou NSAbs, 2) pacienti s pozitivitou vysokých titrů *anti-GAD*, 3) séronegativní pacienti. Rozdíly v klinických charakteristikách (pohlaví, rasa, věk v době počátku epilepsie, trvání epilepsie, frekvence záchvatů, míra funkčního postižení dle modifikované Rankinovy škály, semiologie záchvatů, farmakorezistence, autoimunitní komorbidita, rodinná anamnéza epilepsie, psychiatrické komorbidity, poruchy spánku, kognitivní porucha, extrapyramidové příznaky, porucha řeči, autonomní nestabilita, onkologická komorbidita, EEG nález, MR nález) těchto skupin pacientů byly statisticky analyzovány s užitím Fisher-Freeman-Haltonova testu, Pearson Chi-Square testu nebo Kruskal-Wallisova testu. Statistická významnosti  $p=0.05$  byla korigována Bonferroniho korekcí pro vícečetné testy.

## 4. Výsledky

### 4.1 Klinické projevy pacientů s pozitivitou antineurálních protilátek

Z celkem 224 vyšetřených jsme identifikovali celkem 11 pacientů s pozitivitou sledovaných protilátek (po vyloučení anti-NMDAR pozitivních). Sedm pacientů byli muži, čtyři ženy. Medián věku v době diagnózy byl 58 let (rozmezí 40-73 let), medián věku při prvních příznacích dle anamnézy 51 let (20-72 let). Od výskytu prvních příznaků do vyšetření protilátek uplynulo 375 dnů (medián; rozmezí 19 dnů až 28 let). Šest pacientů bylo anti-LGII pozitivních (čtyři muži a dvě ženy), u čtyř pacientů (mužů) byla zjištěna pozitivita anti-CASPR2 (u jednoho z těchto pacientů byly zároveň přítomny protilátky *anti-AMPA* a *anti-Hu*, u dalšího protilátky *anti-Ma2*). U jedné pacientky byla zjištěna izolovaná přítomnost *anti-AMPA*. U osmi pacientů byly vyšetřeny protilátky též z likvoru, přičemž pozitivních nálezů bylo pět (*anti-LGII* n=4 a *anti-CASPR2* n=1). Negativní protilátky v likvoru při pozitivitě v séru byly přítomny u třech pacientů (*anti-LGII* n=1 a *anti-CASPR2* n=2). Izolovaná pozitivita protilátek v likvoru nebyla zaznamenána.

U osmi pacientů byl na MR pozorován nález charakteristický pro limbickou encefalitidu, tíže těchto nálezů však byla rozdílná. U jednoho pacienta byl nález nespecifické difuzní gliózy, u jedné pacientky nález atrofie fronto-temporoparietálně oboustranně. U pacienta s rozvojem mozečkového syndromu a mírného kognitivního deficitu s pozitivitou *anti-CASPR2* byly přítomny difuzní T2 hyperintenzní změny supratentoriálně s maximem v oblasti mozečkových pedunklů. U jednoho pacienta MR prokázala akutní ischemii v oblasti thalamu. Vyšetření mozkomíšního moku bylo provedeno u všech pacientů. Pouze u jediné pacientky s pozitivitou anti-LGII byla přítomna pleocytóza (28/3 mm<sup>3</sup>). Znamky porušené hematoencefalické bariéry (dle Reibera) jsme našli u dvou pacientů (*anti-LGII* n=1, *anti-CASPR2* n=1). OCB byly přítomny u tří pacientů (všichni s pozitivitou *anti-LGII*) – vzorec měl vždy charakter „*mirror-pattern*“. Normální likvorový nález byl přítomen u dvou pacientů s pozitivitou *anti-LGII*, u jednoho pacienta s pozitivitou *anti-CASPR2* a u pacientky s pozitivitou *anti-AMPA*. EEG bylo

abnormní u všech pacientů – v nálezech dominovala pomalá základní aktivita a/nebo intermitentní pomalá aktivita v pásmu theta-delta (většinou s maximem frontotemporálně bilaterálně), ve třech případech se současným nálezem specifických epileptiformních grafoelementů. V jednom případě odpovídal EEG obraz nekonvulzivnímu statu. U žádného z pacientů nedošlo k úplné normalizaci EEG nálezu, a to ani po úspěšné imunopresivní léčbě.

Epileptické záchvaty se vyskytly celkem u 10 z 11 pacientů (91 %), z čehož u pěti pacientů se jednalo o akutní symptomatické záchvaty či epileptický status při současném obrazu subakutně rozvinuté encefalopatie. U pěti pacientů byla ale hlavním projevem fokální epilepsie (anamnéza záchvatů delší než jeden rok) – klinické charakteristiky viz Tabulka 8. Všichni z těchto měli současně přítomný kognitivní deficit nebo rezonanční nález signálových změn mediotemporálně. U těchto pacientů byly ve třech případech zjištěny protilátky *anti-CASPR2*, u jedné pacientky *anti-LGII* a u jedné pacientky *anti-AMPA*. Jeden z *anti-CASPR2* pozitivních pacientů s epilepsií byl několik let psychiatricky léčen pro těžkou poruchu osobnosti a byl u něj přítomen též těžký kognitivní deficit s dominující senzoryckou fatickou poruchou.

Tři z pěti pacientů s fokální epilepsií měli před podáním imunoterapie (intravenózní pulz kortikoidů s následným perorálním taperem) farmakorezistentní epilepsii. U jednoho z nich došlo po podání imunoterapie k vymizení záchvatů, u dalšího ke snížení frekvence o více než 50 %, u třetího nedošlo ke změně frekvence záchvatů.



**Tabulka 8 Charakteristiky pacientů s pozitivitou antineurálních protilátek s dominujícím projevem epilepsie**

Pohlaví, věk	Abs	MR	EEG	Likvor	Latence terapie <sup>‡</sup>	Terapie	Outcome	Komorbidity
No. 1 Ž, 65	LGI1	↑T2 + atrofie MT dx	IMP FT bil	norm	318 dnů	KS	response	žádné
No. 2 Ž, 58	AMPAR	↑T2 + atrofie MT bil	IED FT sin	norm	-	-	-	SCLC, AT
No. 3 M, 39	CASPR2	↑T2 + atrofie MT bil	IED FT sin IMP FT bil	norm	21 let	KS	no response	psychóza
No. 4 M, 54	CASPR2	↑T2 + atrofie MT bil	IED FT bil	HEB	28 let	KS	no response	žádné
No. 5 M, 65	CASPR2	↑T2 + atrofie MT bil	IMP FT bil	OCB, HEB	4 roky	KS	response	žádné

‡ Časový interval od počátku klinických příznaků k zahájení imunoterapie. Abs – protilátky v séru při prvním vyšetření, AT – autoimunitní tyreoiditida, bil – bilaterálně, FT – frontotemporálně, HEB – porucha hematoencefalické bariéry, IED – interiktální epileptiformní výboje, IgM – intratékální syntéza IgM, IMP – intermitentní pomalá aktivita, KS – kortikosteroidy (i.v. metylprednizolon s následným převedením na p.o. prednizon), MR – magnetická rezonance, MT – mediotemporálně, norm – normální nález, OCB – oligoklonální pásy, SCLC – malobuněčný karcinom plic, T2↑ – zvýšený signál na T2 vážených obrazech.

## 4.2 Antineurální protilátky u pacientů s epilepsií temporálního laloku

Výskyt klinicky potenciálně významných protilátek jsem detekovali u osmi (5 %) z 163 vyšetřených pacientů: *anti-CASPR2* > 1:128 n=2, *anti-GAD* n=3, *anti-LGII* n=2 a *anti-GABA<sub>B</sub>R* n=1. Nízké titry NSAbs nejasného klinického významu, jsme našli v dalších třech případech (*anti-CASPR2* <1:128 n=2, *anti-AMPA* <1:40 n=1), u jednoho pacienta jsme detekovali dobře charakterizované onkoneurální protilátky. Tyto čtyři pacienty jsme nezařadili do statistické analýzy. Seronegativních bylo 151 pacientů.

### 4.2.1 Rozdíly mezi seropozitivní a seronegativní skupinou

Statisticky signifikantní rozdíl jsme identifikovali pouze ve dvou parametrech (viz. Tabulka 9) – vyšší věk v době počátku epilepsie (u seropozitivních medián 54, rozpětí 19–64; versus u seronegativních medián 25, rozpětí 1-64 let,  $p=0.0028$ ) a autoimunitní komorbiditu (v seropozitivní skupině výskyt u 4 z 8; versus v seronegativní u 16 z 151 pacientů,  $p=0.001$ ). V dalších sledovaných parametrech jsme neidentifikovali žádné statisticky signifikantní rozdíly.

**Tabulka 9 Porovnání seropozitivních a seronegativních pacientů**

	Seropositivní pacienti (n = 8)	Seronegativní pacienti (n = 151)	Statistický rozdíl**
Pohlaví (M/Ž)	2M/6Ž	71M/80Ž	p = 0.2274
<b>Věk v době počátku epilepsie</b> (median, rozmezí)	55 (19-68)	25 (1-64)	<b>p = 0.0028</b>
Přítomnost rizika rozvoje epilepsie*	3	37	p = 0.3505
Frekvence záchvatů (počet měsíčně)	0.5	2	p = 0.7449
FBTCS	7	111	p = 0.6810
Status epilepticus	2	11	p = 0.0731
Farmakorezistence	6	91	p = 0.5299
Bitemporální EEG	3	27	p = 0.7026
MRI nelezionální	3	35	p = 0.7193
MRI bitemporální léze	2	18	p = 0.6270
<b>Autoimunitní komorbidity</b>	4	16	<b>p = 0.0031</b>
Psychiatrické komorbidity	2	43	p = 0.7292
Onkologické komorbidity &	0	4	p = 0.6411

\* perinatální hypoxie, febrilní křeče, meningo/encephalitis, mozkové poranění

\*\* s užitím Bonferroniho korekce pro vícečetné proměnné p <0.0033 byl považován za statisticky signifikantní

& 5 let před počátkem nebo po počátku epilepsie

FBTCS - fokální záchvat přecházející do bilaterálního tonicko-klonického

### 4.2.2 Seropozitivní pacienti

Charakteristiky seropozitivních pacientů uvádíme v Tabulce 3. Sedm pacientů mělo epilepsii neurčené příčiny, u jednoho pacienta (No.1, *anti-CASPR2*) byla histopatologicky potvrzena fokální kortikální dysplazie. U žádného z dalších 38 pacientů, u nichž jsme mohli na základě MR nebo histopatologického nálezu autoimunitní etiologii epilepsie vyloučit (malformace kortikálního vývoje n=29, posttraumatická n=4, hamartom n=2, cévní malformace n=2, meningeom n=1), jsme pozitivitu protilátek nezaznamenali.

MR odhalila možnou epileptogenní lézi ve spánkovém laloku u pěti pacientů. Rizikový faktor pro rozvoj epilepsie byl přítomen ve dvou případech – oba pacienti splňovali diagnostická kritéria limbické encefalitidy anamnesticky prodělané před 19, resp. 26 lety. Znamky zánětu v likvoru byly přítomny u třech pacientů, ve všech případech šlo o intratekální syntézu IgG oligoklonálních páسů. Antineurální protilátky v likvoru byly pozitivní ve čtyřech z devíti vyšetřovaných seropozitivních pacientů (*anti-GAD* n=3, *anti-CASPR2* n=1). Imunoterapie byla podána šesti pacientům – pěti s farmakorezistentní epilepsií, u jednoho pacienta (No. 7) s farmakodependentní epilepsií byla důvodem aplikace imunologické léčby porucha paměti verifikovaná neuropsychologickým vyšetřením. Dva pacienti (No. 6 a 8) imunoterapii odmítli, jedna pacientka v době zjištění pozitivivity *anti-AMPA*R podstupovala onkologickou léčbu s vysokým rizikem interakce (No. 11), jeden pacient (No. 10) byl v době testování stran záchvatů plně kompenzován. Rozsah imunoterapie závisel na tíži onemocnění, možné interakci s další (zejména antiepileptickou) léčbou a riziku jejího podání při event. komorbiditách. Podávány byly intravenózní methyl-prednisolon, dle tíže onemocnění v některých případech s následným taperem perorálním prednisonem, dále intravenózní imunoglobuliny (podávány v kombinaci s kortikoidy nebo samostatně). Všichni pacienti byli v době imunoterapie léčeni antiepileptiky. Medián počátku onemocnění k podání imunoterapie byl 5.8 let (rozmezí 1-21,5). Dva ze sedmi léčených byli po podání imunoterapie plně kompenzováni (No. 2; No. 9), u jednoho pacienta (No.7) došlo k snížení frekvence záchvatů o více než 50 %.

**Tabulka 10 Charakteristiky pacientů s epilepsií temporálního laloku a pozitivitou antineurálních protilátek**

**Pacienti s pozitivitou protilátek**

Pohlaví, věk	Protilátky (serum/likvor)	Věk při počátku epilepsie (roky)	Rizikové faktory rozvoje epilepsie	Trvání epilepsie do doby vyšetření protilátek (roky)	Frekvence záchvatů (měsíčně)	Semiologie	MR	EEG	OCB CSF/serum	Komorbidity (autoimunitní, onkologické)	Psychiatrické komorbidity	Imunoterapie (druh, dávka/odpověď)
1 (M, 68)	CASPR2 1:49600/ CASPR2	64	ne	4	0	FIAS (záraz v chování), FBTC	↑T2 MT	bilat	0/0	ne	ne	MP 4g + taper/ responder
2 (M, 58)	CASPR2 1:320/ negativní	19	LE (před 39 lety)	39	5	FIAS, FBTC	HS bilat + ↑T2	L	0/0	no	porucha nálady	MP 4g + taper/ non-responder
3 (Ž, 29)	GAD 120 kU/l	29	ne	1	5	FIAS (emoční), FBTC	↑T2 MT L	L	0/0	thyroiditis	ne	IvIg 175g/ non-responder
4 (Ž, 73)	GAD 187 kU/l	68	ne	5	10	FIAS (emoční), FBTC	↑T2 MT + lat L	L	20/3	DM 1	úzkostná porucha	MP 4g + taper/ non-responder
5 (Ž, 28)	GAD 360 kU/l	26	LE (před 2 lety)	2	1	FIAS (kognitivní)	normální	L	7/0	DM 1	ne	MP 3g / responder
6 (Ž, 71)	GABAbR 1:80	55	ne	16	0	FIAS (senzitivní), FBTC, NCSE	↑T2 MT + lat L	L	4/4	ne	ne	ne
7 (Ž, 66)	LGI1 1:320/ negativní	64	ne	2	0	FIAS (záraz v chování), FBTC	normální	bilat	0/0	IgG a IgA deficiencie	ne	MP 3g + taper / responder
8 (Ž, 71)	LGI 1:10/ negativní	52	ne	19	0	FIAS (kognitivní), FBTC, NCSE	normální	bilat	0/0	ne	ne	ne

### Pacienti s pozitivitou protilátek klinicky nejasného významu

Pohlaví, věk	Protilátky (serum/likvor)	Věk při počátku epilepsie (roky)	Rizikové faktory rozvoje epilepsie	Trvání epilepsie do doby vyšetření protilátek (roky)	Frekvence záchvatů (měsíčně)	Semiologie	MR	EEG	OCB CSF/serum	Komorbidity (autoimunitní, onkologické)	Psychiatrické komorbidity	Imunoterapie (druh, dávka/odpověď)
9 (M, 54)	CASPR2 1:80/negativní	20	ne	34	3	FIAS, FBTC	↑T2 MT + lat R	bilat	0/0	ne	ne	MR 3g/ non-responder
10 (Ž, 68)	CASRP2 1:80/ND	56	ME (před 65 lety)	12	3	FIAS (emoční), FBTC	HS R	bilat	ND	retinoblastom (před 67 lety)	ne	ne
11 (Ž, 70)	AMPAR 1:10	58	ne	12	8	FIAS (autonomní), FBTC	↑T2 MT R	L	0/0	SCLC	ne	ne (chemoterapie)

### Pacient s pozitivitou onkoneurálních protilátek

12 (M, 71)	Ma2/ND	67	LE	6	1	FIAS (autonomní), FBTC	atofie MT bilat	bilat	9/1	thyroiditis	ne	MP 5g + taper/responder
------------	--------	----	----	---	---	------------------------	-----------------	-------	-----	-------------	----	-------------------------

bilat- bilateral, CBZ - karbamazepin, CLB – clobazam, CSF – cerebrospinal fluid, DM 1 - diabetes mellitus 1. typu, FBTC - focal evolving to bilateral tonic-clonic seizure , FIAS - focal impaired awareness seizure, HS – hipokampální skleróza, IvIg - intravenózní imunoglobuliny, LE – limbická encefalitida, LEV - levetiracetam, LTG - lamotrigin, ME – meningoencefalitida, MP - metylprednisolon, NCSE - non-convulsive status epilepticus, ND - nevyšetřováno, OCB – oligoklonální pásy, PGB – pregabalin, T - temporálně, SCLC - small cell lung cancer, VPA - valproát, ZNS – zonisamid, \* taper - prednison 1 mg/kg, 6-12 týdnů

### 4.3 Antineurální protilátky u fokální epilepsie neznámé etiologie

Z 582 pacientů byly antineurální protilátky jasného klinického významu detekovány v séru u 20 z nich (3,4 %) – v sedmi případech NSAbs (*anti-LGII* n=3, *anti-CASPR2* n=3, *anti-NMDAR* n=1), vysoké titry *anti-GAD* u zbylých 13.

V porovnání pacientů s pozitivitou protilátek jasného klinického významu se u seropozitivních pacientů vyskytovala častěji T2/FLAIR hyperintenzita meziotemporálně, ( $p < 0.0001$ ), vyšší stupeň funkčního postižení dle modifikované Rankinovy škály v době zařazení do studie ( $p < 0.0001$ ), kognitivní deficit ( $p < 0.0001$ ). Pacienti s pozitivitou NSAbs byli častěji mužského pohlaví a měli vyšší věk v době diagnózy v porovnání jak s pacienty s vysokými *anti-GAD* titry tak i se seronegativními pacienty. Naopak *anti-GAD* pozitivní pacienti byli častěji ženského pohlaví, měli častěji autoimunitní komorbiditu a častěji si ve srovnání s ostatními skupinami stěžovali na pocit svalové ztuhlosti.

## 5. Diskuze

### 5.1 Epileptogeneze u autoimunitních encefalitid

Naše sledování jsou v souladu s pracemi, které potvrzují vysoký výskyt epileptických záchvatů u pacientů s autoimunitní encefalitidou, zejména sdružených s NSAbs. Epileptické záchvaty se typicky objevují již v časně fázi onemocnění (Irani et al. 2010b), ve kterých jsme prokázali změny cyto- a chemokinového profilu v mozkomíšním moku odpovídající akutnímu zánětu (Liba et al. 2016). Ne u všech pacientů ale dochází k manifestaci onemocnění epileptickými záchvaty, a to dokonce ani u pacientů s pozitivitou identického typu protilátek ve stejném titru, jak jsme pozorovali při pozitivitě *anti-CASPR2* ve vysokých titrech v kohortě českých pacientů s pozitivitou NSAbs (Elišák et al. 2015). Kromě samotného zánětlivého procesu, vedoucího mimo jiné k tvorbě autoprotilátek, jsou tedy nutné další faktory.

Etiopatogeneze autoimunitní encefalitidy je multifaktoriální. U paraneoplastických případů (které mohou být vzácněji sdružené i s NSAbs) dochází k reakci na epitop umístěný v nádorové tkáni, tvorbě autoprotilátek, které poté zkříženě reagují s podobnými epitopy v CNS – tento model byl dosud nejlépe popsán u ovariálního teratomu (s častou neurální složkou) a anti-NMDAR. Fakt, že autoprotilátky reagují v těchto případech primárně proti nádorové tkáni prokazuje schopnost plazmocytů zachycených v teratomu *in vitro* produkovat anti-NMDAR (Makuch et al. 2018). Prokázaným spouštěčem jsou i neuroinfekce – výskyt NSAbs byl prokázán jako následek prodělané virové encefalitidy – ve studii 55 pacientů sledovaných po herpetické encefalitidě, 14 pacientů prodělalo postinfekční autoimunitní encefalitidou s odstupem dvou až 16 týdnů. Detekce NSAbs (64 % anti-NMDAR, 36 % odlišných) v prvních 3 týdnech od počátku herpetické encefalitidy byla rizikovým faktorem rozvoje následné autoimunitní encefalitidy. Na druhou stranu, tři pacienti měli přechodnou pozitivitu anti-NMDAR bez klinických příznaků (Armangue et al. 2018). Kromě zevních vlivů se zdají být důležité genetické faktory – v naší práci jsme prokázali společné polymorfismy v HLA-II regionu u anti-LGI1 a HLA-I regionu u anti-NMDAR (Mueller et al. 2018). Vzhledem k relativně malému počtu dosud popsaných pacientů ale zatím chybí práce popisující rizikové genetické faktory rozvoje epilepsie po autoimunitní encefalitidě.



Stejně jako není dosud zodpovězena otázka rozvoje autoimunitní encefalitidy, není také doposud určený mechanismus rozvoje většiny autoimunitních epilepsií. Jedním z problémů je i nejednotnost používaných termínů. Epilepsie je dle aktuálních kritérií definována a) dvěma neprovokovanými záchvaty s větším než 24hodinovým odstupem mezi nimi, nebo b) jedním záchvatem s větším než 60 % rizikem opakování v dalších 10 letech (Fisher et al. 2014). Etiologická klasifikace epilepsií navíc řadí onemocnění sdružená s *anti-NMDAR* i *anti-LGII* mezi “autoimunitní epilepsie” (Scheffer et al. 2017). Důvodem je opodstatnění možnosti nasadit antiepileptickou terapii již po prvním záchvatu u pacientů s vysokým rizikem opakování záchvatu. Vzhledem k faktu, že epileptické záchvaty s u autoimunitní encefalitidou sdružených s NSAbs vyskytují velmi často a mohou se vyskytovat i několik měsíců v akutní fázi, splňují pacienti s těmito onemocněními kritéria autoimunitní epilepsie. Riziko epilepsie jako chronického onemocnění, se ale dle typu protilátek pohybuje pod 15 % (Spatola a Dalmau 2017). Zejména u zmiňovaných *anti-NMDAR* a *anti-LGII* sdružených encefalitid je při adekvátním a časném podání imunoterapie riziko rozvoje epilepsie nízké a pacienti většinou již po jednom roce nevyžadují dlouhodobou antiepileptickou terapii (Titulaer et al. 2013; van Sonderen et al. 2016c). Označení jejich onemocnění jako epilepsie však implikuje nutnost dlouhodobé antiepileptické terapie a je navíc chápáno jako onemocnění s možným potlačením jeho projevů, ale nikoliv vyléčitelné. Autoimunitní epilepsie, vzhledem k unikátní možnosti ovlivnění samotného rozvoje epilepsie tedy narušuje dosud chápané paradigma. Přechod akutních symptomatických záchvatů v epilepsii je kontinuální proces s více proměnnými, kdy nelze ostře ohraničit, kdy se jedná o akutní projev encefalitidy a kdy již o její důsledek. Vzhledem k již známým charakteristikám encefalitid, které dle typu sdružených protilátek mohou probíhat jak akutní monofazické onemocnění s rozličným rizikem relapsu nebo jako chronický proces, bude nutná úprava dosud užívané terminologie. Výrazný rozdílný výskytu protilátek u pacientů s “epilepsií” je zapříčiněn zařazením různých skupin pacientů. Některými autory je proto místo termínu autoimunitní epilepsie používán termín autoimunitně podmíněné epileptické záchvaty (de Bruijn et al. 2020).

V našich pracích byl outcome ovlivněn zejména co nejčasnějším zahájením imunologické léčby (Elišák et al. 2015; Elisak et al. 2018), což je v souladu s dosavadními pozorováními. V klinické praxi, zejména u pacientů, kteří nesplňují diagnostická kritéria autoimunitní encefalitidy (Graus et al. 2016), nebo s chronicky probíhajícím onemocněním, se často setkáváme se

situacemi, kdy chybí biomarker probíhajícího zánětu, a tedy opodstatnění odpovědi na imunologickou léčbu. U autoimunitní encefalitidy mohou být tímto biomarkerem právě antineurální protilátky. Vzhledem k výše diskutovanému iktogennímu působení NSAbs, je tato úloha možná i u pacientů po prvním neprovokovaném záchvatu nebo u pacientů s již několik let probíhající, zejména farmakorezistentní, epilepsií.

## **5.2 Autoimunitní epilepsie**

Asi u třetiny pacientů nejsme schopni určitou příčinu epilepsie a obdobná část epilepsií je refrakterních na léčbu. Právě detailnější znalost a pochopení příčin epilepsií rozšiřuje možnosti léčby.

### **5.2.1 Antineurální protilátky jako biomarkery autoimunitní epilepsie**

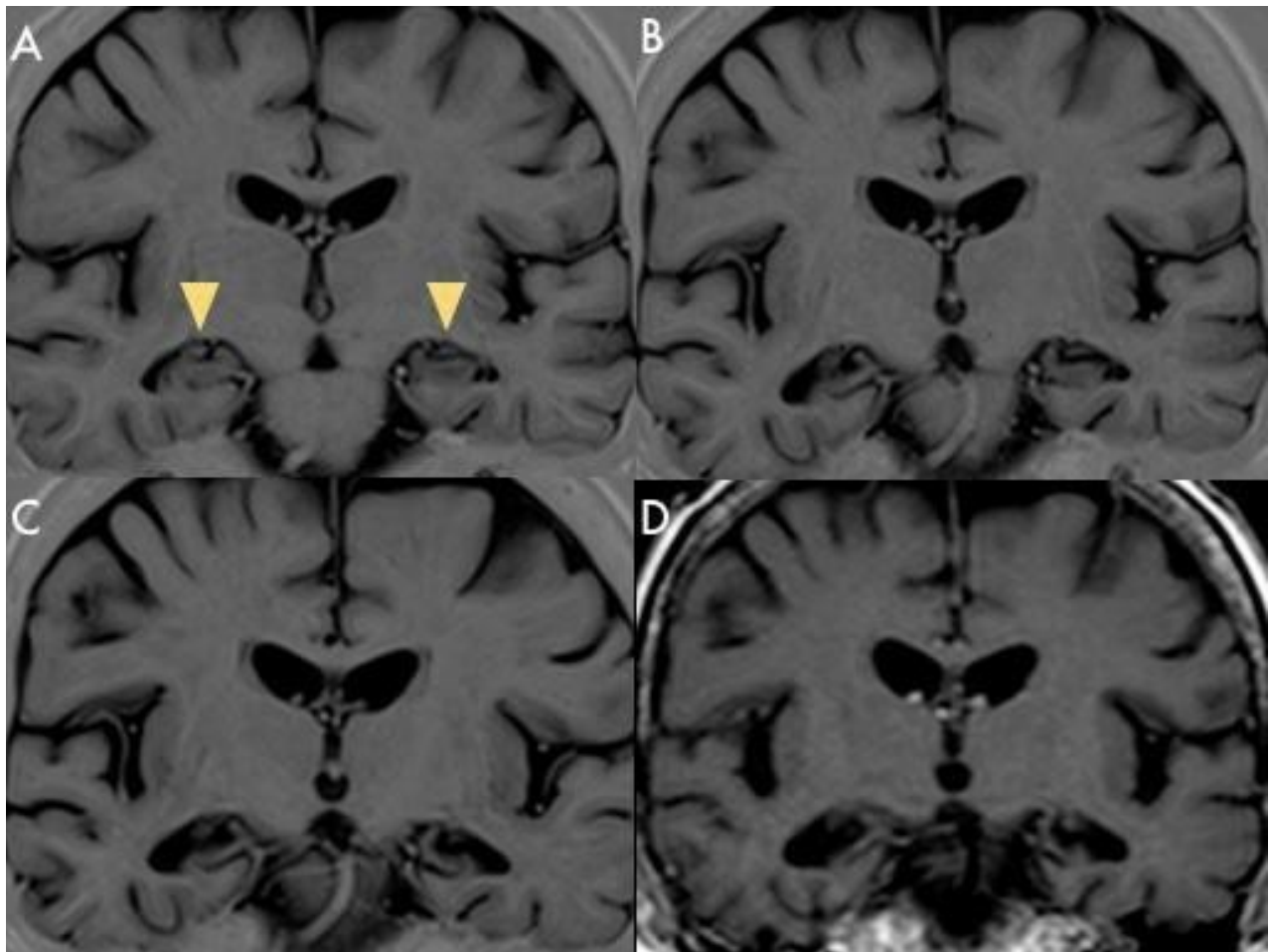
Naše práce potvrzuje, že u části pacientů s epilepsií lze detekovat antineurální protilátky a u části pacientů záchvaty odpovídají na imunoterapii. Existuje více hypotéz a zřejmě i více vysvětlení seropozitivity u těchto pacientů.

#### **5.2.1.1 Reziduální protilátky po prodělané encefalitidě**

Antineurální protilátky mohou zůstat jako reziduum po prodělané autoimunitní encefalitidě. Jako model slouží hipokampální skleróza, u které bylo prokázáno, že se může rozvinout jako následek prodělané limbické encefalitidy (Bien et al. 2007). Ve skupině 111 pacientů s nálezem hipokampální sklerózy dle MR byla seropozitivita NSAbs nalezena ve 22.5 % (*anti-CASPR2* n=11, *necharakterizované anti-VGKC* n=4, *anti-GlyR* n=5, *anti-NMDAR* n=4, *anti-GABAaR* n=1) (Vanli-Yavuz et al. 2016). Na druhou stranu ve skupině 11 pacientů s histopatologicky potvrzenou hipokampální sklerózou nebyly antineurální protilátky nalezeny, byť při menším spektru vyšetřovaných protilátek (nebyly vyšetřovány *anti-GlyR* ani *anti-GABAaR*). V imunohistochemickém barvení ale byla přítomna *CD3+* a *CD8+* T buněčná infiltrace v hipokampu u pacientů s “klasickou” (ILAE hipokampální sklerózou) a rozsah této infiltrace

negativně koreloval s dobou trvání epilepsie (Tezer et al. 2018). V naší skupině pacientů jsme identifikovali prodělanou limbickou encefalitidu u dvou pacientů s naprosto odlišným průběhem – prvním byla žena s pozitivitou anti-GAD, MR nelezionální a pozitivitou OCB v likvoru, jejíž epilepsie pozitivně odpověděla na imunoterapii. Druhým pacientem byl muž s pozitivitou anti-CASPR2, akutním začátkem epilepsie v kombinaci s akutní psychózou a nálezem bilaterální atrofie a signálových změn bitemporálně a normálním likvorologickým nálezem. Epilepsie v tomto případě byla refrakterní i po stereotaktické ablaci.

Dle histopatologických nálezů v kohortě pacientů s epilepsií temporálního laloku, kteří podstoupili epileptochirurgický výkon, byla zánětlivá infiltrace svědčící o prodělané autoimunitní encefalitidě u sedmi z 12 pacientů (*anti-Ma2* n= 2, *anti-GAD* n=4, *anti-LGII* n=1). Histopatologický nález byl rozmanitý – lymfocytární infiltrát s buňkami fagocytujícími neurony aktivovanou mikroglií, ale i hipokampální sklerózou, a abnormální kortikální laminací. U některých pacientů, byť s pozitivitou stejného typu protilátek nebyl ale zánětlivý infiltrát přítomný (*anti GAD* n= 4, *anti-Hu* n=1) (Carreño et al. 2017).



*Obrázek 2 Vývoj obrazu limbické encefalitidy s pozitivitou anti-AMAPR při malobuněčném plicním karcinomu v čase (koronární T1 sekvence v ročním intervalu) ilustrující progresivní atrofii hipokampu*

*(snímky reprodukovány se souhlasem Kliniky zobrazovacích metod 2. LF UK a FN v Motole, Praha).*

### 5.2.2.2 Antineurálních protilátek u epilepsie bez anamnézy autoimunitní encefalitidy

Epileptické záchvaty jsou častým projevem autoimunitní encefalitidy, jak diskutujeme výše. Průběh autoimunitní encefalitidy může být natolik variabilní, že zejména v situaci po prvním neprovokovaném epileptickém záchvatu nelze vyloučit, že epileptický záchvat je manifestací nově rozvinuté, akutně probíhající autoimunitní choroby. Některými autory je označována jako oligosymptomatická autoimunitní encefalitida. Přítomnost zánětlivých změn v likvoru nebo MR nález ale sám o sobě není dostatečně specifický ani senzitivní. Například u většiny pacientů s pozitivitou antineurálních protilátek chybí další markery zánětu CNS (Elisak et al. 2018). V práci hodnotící výskyt antineurálních protilátek u pacientů s déletrvající epilepsií a pacientů s nově diagnostikovanou epilepsií nebyl prokázán rozdíl výskytu protilátek v těchto skupinách. U žádného z pozitivních pacientů nebyly současné známky klinické známky autoimunitní encefalitidy (Brenner et al., 2013). Právě v těchto případech by mohla být seropozitivita, zejména NSAbs, vhodným biomarkerem autoimunity.

Samotná pozitivita protilátek ale dle současného poznání není opodstatněním k zahájení léčby. Limitací je fakt, že s pozitivitou NSAbs se setkáváme i u pacientů po zaléčené autoimunitní encefalitidě bez známek klinické aktivity nemoci (Gresa-Arribas et al. 2014). NSAbs byly také detekovány u pacientů v časně fázi rekonvalescence po infekční encefalitidě, a ne všichni tito pacienti rozvinuli klinické příznaky (Joubert a Dalmau 2019). Anti-NMDAR byly detekovány v mozkomíšním moku pacientů po herpetické encefalitis, u kterých došlo ke vzniku hipokampální sklerózy se záchvaty, které ale byly refrakterní na podanou imunoterapii (Popkirov et al. 2017).

### 5.2.2.3 Typy antineurálních protilátek

U onemocnění sdružených s antineurálními protilátkami se klinický průběh liší dle typu protilátek – např. limbická encefalitida sdružená s *anti-LGII* je akutně či subakutně probíhající encefalitida s obvykle dobrou odpovědí na léčbu, oproti tomu limbická encefalitida sdružená s *anti-GAD* je spíše refrakterním chronicky probíhajícím onemocněním (Malter et al. 2010). Také imunopatologické působení se liší dle typu protilátek, jak diskutujeme výše. Obdobný průběh lze předpokládat i u autoimunitních epilepsií sdružených s antineurálními protilátkami, což je v souladu s naším pozorováním.

V naší práci jsme u pacientů s epilepsií temporálního laloku jako protilátky s klinickým významem hodnotili následující (uvedeno i ředění): *anti-LGII* 1:10 (nebo vyšší); *anti-CASPR2* > 1:128; *anti-AMPA* a *anti-GABA<sub>B</sub>R* >1:40; a *anti-GAD* s titry nad 100 kU/l, u všech vzorků byla navíc nutná konfirmace dvěma detekčními metodami.

U pacientů s epilepsií temporálního laloku jsme identifikovali nejčastěji *anti-GAD*, dále *anti-LGII* a *anti-CASPR2* ve vyšších titrech (Elisak et al. 2018). Stejný výsledek byl zaznamenán v multicentrické studii pacientů s fokální epilepsií neznámé příčiny (de Bruijn et al., 2020).

Ve všech našich pracích jsme jako nejčastější antineurální protilátky detekovali *anti-GAD* – 37.5 % ze seropozitivních pacientů s epilepsií temporálního laloku (Elisak et al. 2018), 65 % seropozitivních pacientů s epilepsií neznámé příčiny (de Bruijn et al., 2020) a 61.5 % seropozitivních pacientů s epilepsií kteří podstoupili epileptochirurgickou operaci (Carreño et al. 2017). Stejně jako se liší klinický průběh limbických encefalitid, pozorovali jsme také klinické odlišnosti u pacientů s epilepsií – častější byl výskyt u žen s autoimunitní komorbiditou, odpověď na imunoterapii byla horší (de Bruijn et al., 2020). U pacientů s *anti-GAD* jsme také pozorovali rozdílné imunopatologické nálezy i u pacientů s jinak obdobným klinický průběhem epilepsie (Carreño et al. 2017). Poměrně četný výskyt dalších typických příznaků sdružených s *anti-GAD* autoimunitní encefalitou, jako je svalová ztuhlost, inzulin-dependentní diabetes mellitus a to i po rozvoji epilepsie naznačují, že epilepsie může být v tomto případě jedním z projevů chronicky probíhající multifokální encefalidity.

Dalšími detekovanými protilátkami byly *anti-CASPR2*. Signifikantní jsou až vysoké titry v séru a ani ty nemusí být spolehlivé – vysoké titry v séru jsme detekovali u pacienta s histopatologicky potvrzenou fokální kortikální dysplazií (Elisak et al. 2018). To by mělo vést k opatrné interpretaci séropozitivity s nutností verifikace nálezu paralelním vyšetření likvoru na přítomnost *anti-CASPR2* (van Sonderen et al. 2016a).

Protilátky nejasného významu (ve všech případech z důvodu nižších titrů) jsme identifikovali u třech pacientů s epilepsií temporálního laloku, u žádného z nich ale nebyla přítomná další známka autoimunity.

Někteří autoři doporučují dělit protilátky dle jejich klinické significance. Bien dělí protilátky u pacientů s epileptickými záchvaty jako dominujícím projevem na “*high rank*” (protilátky s vysokou senzitivitou a prokázanou dobrou odpovědí na terapii) a “*grey cases*”, kde chybí jedno ze dvou předchozích kritérií. Na základě významu positivity protilátek tak doporučuje úpravu terapeutického schématu, které diskutujeme níže (Bien a Holtkamp 2017).

#### 5.2.2.4 Seronegativní autoimunitní epilepsie

Seronegativita antineurálních protilátek autoimunitní příčinu epilepsie nevyklučuje. Může se jednat o onemocnění, kde hraje dominující úlohu vrozená imunita, jak je například předpokládáno u Rasmussenovy encefalopatie nebo je imunopatologie doposud nejasná jako u syndromu NORSE, či nebyl identifikován cílový antigen, např. u Hashimotovy encefalopatie.

Další možností je, že patogenní protilátky nebyly doposud popsány, nebo ve studiích nebyly použity metody umožňující jejich detekci. Toto jsou zásadní limity naší práce – v České republice nejsou v současné době k dispozici metody k detekci např. *anti-GlyR*, které nelze detekovat ani pomocí TBA – tyto protilátky přitom byly detekovány u pacientů s epilepsií (Brenner et al. 2013). Na druhou stranu v mezinárodní multicentrické skupině u pacientů s fokální epilepsií neznámé příčiny byly sice *anti-GlyR* zachyceny, ale nebyly vyhodnoceny jako klinicky významné (de Bruijn et al. 2020). Chybí také práce detekující NSAbs párově v séru i mozkomíšním moku u pacientů s epilepsií a nelze tedy vyloučit falešnou “seronegativitu” u části těchto pacientů. U určitých NSAbs (zejména anti-NMDAR) byla izolovaná pozitivita v likvoru při negativitě v séru zaznamenána.

Bez biomarkerů získané imunity, kterým jsou právě antineurální protilátky v klinicky významných hodnotách, je problematické určit, že se opravdu jedná a autoimunitní příčinu. Pouze zánětlivý nález v likvor, případně průkaz intratekální syntézy oligoklonálních protilátek nemusí být vždy dostatečným indikátorem autoimunitní etiologie onemocnění. Tento nález se může vyskytovat vzácně u onemocnění, u kterých není autoimunita kauzální, jako jsou například genetické interferonopatie (Wells et al. 2018), nebo je úloha autoimunity nejasná, jako je například u syndromu NORSE.



## 5.3 Léčba

### 5.3.1 Imunoterapie

Nejdůležitějším cílem identifikace pacientů s autoimunitní epilepsií je určení předpokládaných responderů k imunoterapii. Kromě identifikace pacientů indikovaných k imunoterapii je otázkou i zvolení správného typu a doba jejího trvání. V léčbě jsou v současné době používány zejména imunosupresivní léky – kortikosteroidy, plazmaferéza, depletory B-buněčné linie (zejména rituximab, méně bortezomib), azathioprin, cyklofosfamid, mykofenolát mofetil a cyklosporin A. Z imunomodulačních léků jsou v klinické praxi používány intravenózní imunoglobuliny. Schémata léčby vycházejí z doporučení expertů v léčbě autoimunitních encefalitid (Titulaer et al. 2013; Bien a Holtkamp 2017), která se ale v určitých případech liší. Doposud chybí práce porovnávací efekt jednotlivých druhů imunoterapie.

V dosavadních pracích u pacientů s autoimunitní epilepsií byla odpověď na imunoterapii asociovaná s trváním epilepsie a pozitivitou NSAbs (Iorio et al. 2015; Quek et al. 2012). V naší práci se tyto předpoklady vzhledem k malému počtu pacientů statisticky nepotvrdily, ale trendy byly obdobné. Odpověď na léčbu jsme zaznamenali u pacientů s pozitivitou *anti-CASPR2*, *anti-GAD* a *anti-LGII*. Zároveň jsme nepozorovali odpověď na imunoterapii u žádného z pacientů s trváním epilepsie déle než čtyři roky (Elisak et al. 2018). Vzhledem k faktu, že z této práce byly vyřazeni pacienti s jinými než dominantními projevy epilepsie, nebyla u žádného z těchto pacientů indikována eskalace imunoterapie na terapii druhé volby. Nemůžeme tedy vyloučit, že některý z non-responderů by nemohl příznivě odpovědět na eskalaci imunoterapie. Byť jsme pozorovali u pacientky s pozitivitou *anti-NMDAR* při demyelinizačním onemocnění manifestujícím se opakovanými epileptickými stavy pozorovali efekt rituximabu i po aplikaci několik let od počátku příznaků, a to bez známek dynamiky lézí na MR (Elišák et al. 2017), je podle současného stavu poznání eskalace imunoterapie vzhledem k jejímu risk/benefitu u pacientů s izolovanými projevy epilepsie sporná.

### 5.3.2 Epileptochirurgie

Podíl pacientů s autoimunitní etiologií epilepsie v epileptochirurgických centrech není známý. Z celkem 80 oslovených epileptochirurgických center (USA, Evropa, Kanada a Japonsko) referovalo 13 z nich celkem 16 pacientů, kteří podstoupili operaci pro epilepsii temporálního laloku a mělo pozitivní antineurální protilátky v séru (*anti-GAD* n=8, *anti-Ma2* n=2, *anti-LGII* n=1, *anti-CASPR2* n=2) (Carreño et al. 2017). Limitací takových studií je ale rozsah vyšetřovaných protilátek v těchto centrech a nejednoznačná metodika použitých detekčních metod.

V případě potvrzené autoimunitní epilepsie je indikace operačního řešení nejasná. V naší kohortě pacientů s farmakorezistentní epilepsií temporálního laloku byla úspěšnost výkonu, hodnocena jako I a II dle Engelovy škály jeden rok po operaci, 38 % (pět z 13 pacientů). Rozsah operace byl u většiny pacientů obdobný – anteromeziální temporální resekcí podstoupilo deset pacientů, jeden podstoupil selektivní amygdalohipokampektomii (*anti-LGII*), jeden resekcí pólu šetřící hipokampus (*anti-GAD*), jeden stereotaktickou radiofrekvenční ablací (*anti-CASPR2*). V podskupině pacientů s farmakorezistentní epilepsií temporálního laloku na podkladě unilaterální hipokampální sklerózy s pozitivitou antineurálních protilátek jsme zaznamenali vymizení záchvatů pouze v 16 % (Carreño et al. 2017) oproti 70 % obvyklým u pacientů s unilaterální hipokampální sklerózou (Mathon et al. 2015). Nižší úspěšnost výkonu lze vysvětlit stále probíhajícím zánětlivým procesem s přetrvávající pozitivitou přímo patogenních protilátek u NSAbs nebo bilaterálním meziotemporálním postižením jako následkem autoimunitní encefalidy, které bývá zejména u syndromu limbické encefalidy obvyklé. Neprokázali jsme korelaci mezi typem protilátek, anamnézou encefalitis ani přítomnosti jedno- nebo oboustranné hipokampální sklerózy na MR. (Carreño et al. 2017).

Dalším problémem epileptochirurgického řešení autoimunitní epilepsie temporálního laloku je riziko progresivního zhoršování paměťových funkcí v důsledku postižení reziduálních meziotemporálních struktur stále probíhajícím autoimunitním zánětem, jak bylo popsáno u pacientů s pozitivitou *anti-GAD* po selektivní amygdalohipokampektomii (Hansen et al. 2018).

Na druhou stranu by samotná pozitivita antineurálních protilátek neměla být kontraindikací operačního řešení epilepsie. U pacienta s epilepsií temporálního laloku a pozitivitou *anti-CASPR2*, u kterého nedošlo ke zlepšení při imunoterapii, došlo k vymizení

záchvatů po resekčním výkonu a histopatologicky byla prokázána fokální kortikální dysplazie (Elisak et al. 2018). Význam této positivity zůstává nejasný a budou třeba detailnější studie výskytu antineurálních protilátek u pacientů kteří podstoupí epileptochirurgickou operaci.

## 6. Závěr

Iniciálně jsme se zaměřili na popis klinických projevů pacientů s autoimunitní encefalitou a pozitivitou NSAbs. Vzhledem k tomu, že detekce antineurálních protilátek je poměrně novou metodou, jsme v první době charakterizovali skupinu seropozitivních pacientů vyšetřených komerčně dostupnými kity metodou nepřímé imunofluorescence na buňkách transfekovaných pro daný antigen (Elišák et al. 2015). Dále jsme popsali možnost positivity antineurálních protilátek u pacientů s odlišným klinickým syndromem – u akutní diseminované demyelinizace manifestujícím se epileptickým statem (Elišák et al. 2017). U pacientů s pozitivitou NSAbs jsme se zaměřili na klinický průběh a profil chemokinů v různých stádiích autoimunitního zánětu (Liba et al. 2016) a na genetické predispozice rozvoje autoimunitní encefalitidy s epileptickými záchvaty sdružené s nejčastěji se vyskytujícími NSAbs (Mueller et al. 2018).

Po zvládnutí metodiky a získání zkušeností s interpretací CBA i TBA jsme se zaměřili na přítomnost antineurálních protilátek u předem definované skupiny pacientů s epilepsií - pacientů s epilepsií temporálního laloku (projekt řešený v rámci grantu Grantové agentury Univerzity Karlovy číslo 189215) (Elisak et al. 2018). U těchto pacientů jsme i díky navázání spolupráce s Neuroimunologickou laboratoří Univerzitní nemocnice Schleswig-Holstein v Kielu doplnili spektrum metod užívaných k detekci antineurálních protilátek v ČR o metodu detekce TBA (imunohistochemickým barvením či nepřímou imunofluorescencí). Ve spolupráci se zahraničními epileptologickými centry jsme dále analyzovali skupinu pacientů s farmakorezistentní epilepsií spánkového laloku, kteří podstoupili epileptochirurgickou operaci (Carreño et al. 2017). V rámci další multicentrické mezinárodní studie jsme se podíleli na určení výskytu antineurálních protilátek u pacientů s epilepsií neznámé etiologie a na určení klinických rizikových faktorů vedoucích k identifikaci pacientů indikovaných k vyšetření antineurálních protilátek (de Bruijn et al. 2020).

Naše sledování potvrzuje četný výskyt epileptických záchvatů u pacientů s pozitivitou NSAbs – v kohortě českých pacientů s jejich pozitivitou byla se vyskytly v 91 % případů (Elišák et al. 2015). Ve většině případů se jednalo o pacienty s akutně rozvinutým záchvaty spolu s obrazem encefalopatie. Pozorovali jsme ale i pozitivitu antineurálních protilátek v případech kde

byly záchvaty trvající několik let a/nebo kde byly záchvaty dominující symptomatikou. Výskyt těchto protilátek v klinicky definované jednotce epilepsie temporálního laloku jsme zaznamenali v 5 %. Detekovány (v klinicky signifikantních titrech či hladinách) byly následující protilátky: *anti-GAD*, *anti-CASPR2*, *anti LGII*. Anamnézou prodělané autoimunitní encefalitiidy jsme byli schopni odhalit u čtvrtiny případů. Statisticky signifikantní rozdíl mezi seropozitivními a seronegativními pacienty jsme identifikovali pouze ve dvou analyzovaných parametrech – vyšší věk v době počátku epilepsie a přítomnosti autoimunitní komorbidity (v seropozitivní skupině výskyt u 4 z 8; versus v seronegativní u 16 z 151 pacientů,  $p=0.001$ ). V dalších předpokládaných parametrech (pohlaví, trvání epilepsie, farmakorezistence, strukturální léze na MR, bitemporální EEG nález) jsme ve skupině pacientů s epilepsií temporálního laloku neidentifikovali statisticky signifikantní rozdíly. U části seropozitivních pacientů jsme ale pozorovali snížení frekvence záchvatů, byť nebylo statisticky signifikantní (Elisak et al. 2018).

V metodicky odlišné práci u pacientů s fokální epilepsií neznámé etiologie byly antineurální protilátky detekovány v 4.3 % případů. Detekován byl stejný typ protilátek - *anti-GAD*, *anti-LGII* a *anti-CASPR2*. Seropozitivní pacienti se oproti seronegativní skupině statisticky signifikantně odlišovali v následujících parametrech: T2/FLAIR hyperintenzita meziotemporálně, vyšší imobilita dle modifikované rankinovy škály v době zařazení do studie ( $p<0.0001$ ), kognitivní deficit (de Bruijn et al. 2020).

.. Vyšetření antineurálních protilátek by se proto mělo stát součástí epileptologického vyšetřovacího algoritmu, zejména u pacientů s epilepsií neznámé etiologie. Detekovány byly *anti-GAD*, *anti-CASPR2* a *anti-LGII*. Fakt, že antineurální protilátky jsme detekovali v naprosté většině u pacientů s většinou neznámou etiologií epilepsie implikuje, že se nejedná o epifenomén probíhajících záchvatů. Identifikace pacientů s pozitivitou antineurálních protilátek nevede pouze k určení příčiny epilepsie, ale může vést ke změně léčby, protože autoimunitní epilepsie jsou obvykle rezistentní na antiepileptika, ale syndromy sdružené s NSAbs, zejména při časném zahájení, dle našich pozorování na imunoterapii odpovídají příznivě. Určení klinických rizikových faktorů autoimunity pacientů s epilepsií by mělo vést k vyšetření na přítomnost antineurálních protilátek. Být mohou být antineurální protilátky, zejména NSAbs, vhodným biomarkerem autoimunitní epilepsie, jejich pozitivita musí být hodnocena v klinickém kontextu a výsledky by měly být potvrzeny více metodami detekce, které vedou k snížení počtu klinicky nerelevantních nebo falešně pozitivních výsledků.

## Literatura

ALBERT, M. L., L. M. AUSTIN a R. B. DARNELL, 2000. Detection and treatment of activated T cells in the cerebrospinal fluid of patients with paraneoplastic cerebellar degeneration. *Annals of neurology*. **47**(1), 9–17. ISSN 0364-5134.

ALBERT, M. L., J. C. DARNELL, A. BENDER, L. M. FRANCISCO, N. BHARDWAJ a R. B. DARNELL, 1998. Tumor-specific killer cells in paraneoplastic cerebellar degeneration. *Nature medicine*. **4**(11), 1321–1324. ISSN 1078-8956.

APPENZELLER, Simone, Fernando CENDES a Lilian T. L. COSTALLAT, 2004. Epileptic seizures in systemic lupus erythematosus. *Neurology*. **63**(10), 1808–1812. ISSN 0028-3878.

ARIÑO, Helena, Romana HÖFTBERGER, Nuria GRESA-ARRIBAS, Eugenia MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, Thaís ARMANGUE, Michael C. KRUER, Javier ARPA, Julio DOMINGO, Bojan ROJC, Luis BATALLER, Albert SAIZ, Josep DALMAU a Francesc GRAUS, 2015. Paraneoplastic Neurological Syndromes and Glutamic Acid Decarboxylase Antibodies. *JAMA neurology*. **72**(8), 874–881. ISSN 2168-6149.

ARMANGUE, Thaís, Germán MORIS, Verónica CANTARÍN-EXTREMERA, Carlos Enrique CONDE, Kevin ROSTASY, Maria Elena ERRO, Juan Carlos PORTILLA-CUENCA, Eulàlia TURÓN-VIÑAS, Ignacio MÁLAGA, Beatriz MUÑOZ-CABELLO, Carmen TORRES-TORRES, Sara LLUFRIU, Luis GONZÁLEZ-GUTIÉRREZ-SOLANA, Guillermo GONZÁLEZ, Ignacio CASADO-NARANJO, Myrna ROSENFELD, Francesc GRAUS, Josep DALMAU a SPANISH PROSPECTIVE MULTICENTRIC STUDY OF AUTOIMMUNITY IN HERPES SIMPLEX ENCEPHALITIS, 2015. Autoimmune post-herpes simplex encephalitis of adults and teenagers. *Neurology*. **85**(20), 1736–1743. ISSN 0028-3878.

ARMANGUE, Thaís, Marianna SPATOLA, Alexandru VLAGEA, Simone MATTOZZI, Marc CÀRCELES-CORDON, Eloy MARTINEZ-HERAS, Sara LLUFRIU, Jordi MUCHART, María Elena ERRO, Laura ABRAIRA, German MORIS, Luis MONROS-GIMÉNEZ, Íñigo CORRAL-CORRAL, Carmen MONTEJO, Manuel TOLEDO, Luis BATALLER, Gabriela SECONDI, Helena ARIÑO, Eugenia MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, Manel JUAN, Maria Angeles MARCOS, Laia ALSINA, Albert SAIZ, Myrna R. ROSENFELD, Francesc GRAUS, Josep DALMAU a SPANISH HERPES SIMPLEX ENCEPHALITIS STUDY GROUP, 2018. Frequency, symptoms, risk factors, and outcomes of autoimmune encephalitis after herpes simplex encephalitis: a prospective observational study and retrospective analysis. *Lancet neurology*. **17**(9), 760–772. ISSN 1474-4422.

BARAM, T. Z., W. G. MITCHELL, A. TOURNAY, O. C. SNEAD, R. A. HANSON a E. J. HORTON, 1996. High-dose corticotropin (ACTH) versus prednisone for infantile spasms: a prospective, randomized, blinded study. *Pediatrics*. **97**(3), 375–379. ISSN 0031-4005.

BEGHI, Ettore, Arturo CARPIO, Lars FORSGREN, Dale C. HESDORFFER, Kristina MALMGREN, Josemir W. SANDER, Torbjorn TOMSON a W. ALLEN HAUSER, 2010. *Recommendation for a definition of acute symptomatic seizure*. *Epilepsia*. 2010;51(4):671- 675.

BIEN, C. G., Z. MIRZADJANOVA, C. BAUMGARTNER, M. D. ONUGOREN, T. GRUNWALD, M. HOLTKAMP, S. ISENMANN, P. KERMER, N. MELZER, M. NAUMANN, M. RIEPE, W. R. SCHÄBITZ, T. J. VON OERTZEN, F. VON PODEWILS, H. RAUSCHKA a T. W. MAY, 2017. Anti-contactin-associated protein-2 encephalitis: relevance of antibody titres, presentation and outcome. *European journal of neurology: the official journal of the European Federation of Neurological Societies*. **24**(1), 175–186. ISSN 1351-5101.

BIEN, C. G., H. URBACH, J. SCHRAMM, B. M. SOEDER, A. J. BECKER, R. VOLTZ, A. VINCENT a C. E. ELGER, 2007. Limbic encephalitis as a precipitating event in adult-onset temporal lobe epilepsy. *Neurology*. **69**(12), 1236–1244. ISSN 0028-3878.

BIEN, Christian G. a Martin HOLTKAMP, 2017. „Autoimmune Epilepsy“: Encephalitis With Autoantibodies for Epileptologists. *Epilepsy currents / American Epilepsy Society*. **17**(3), 134–141. ISSN 1535-7597.

BIEN, Christian G., Angela VINCENT, Michael H. BARNETT, Albert J. BECKER, Ingmar BLÜMCKE, Francesc GRAUS, Kurt A. JELLINGER, David E. REUSS, Teresa RIBALTA, Jürgen SCHLEGEL, Ian SUTTON, Hans LASSMANN a Jan BAUER, 2012. Immunopathology of autoantibody-associated encephalitides: clues for pathogenesis. *Brain: a journal of neurology*. **135**(Pt 5), 1622–1638. ISSN 0006-8950.

BORONAT, Anna, Jeffrey M. GELFAND, Nuria GRESA-ARRIBAS, Hyo-Young JEONG, Michael WALSH, Kirk ROBERTS, Eugenia MARTINEZ-HERNANDEZ, Myrna R. ROSENFELD, Rita BALICE-GORDON, Francesc GRAUS, Bernardo RUDY a Josep DALMAU, 2013. Encephalitis and antibodies to dipeptidyl-peptidase-like protein-6, a subunit of Kv4.2 potassium channels. *Annals of neurology*. **73**(1), 120–128. ISSN 0364-5134.

BRENNER, Tanja, Graeme J. SILLS, Yvonne HART, Stephen HOWELL, Patrick WATERS, Martin J. BRODIE, Angela VINCENT a Bethan LANG, 2013. Prevalence of neurologic autoantibodies in cohorts of patients with new and established epilepsy. *Epilepsia*. **54**(6), 1028–1035. ISSN 0013-9580.

DE BRUJIN, M.A.A.M, A.E.M. BASTIAANSEN , H. MOJZISOVA, A. VAN SONDEREN, R.D. THIJIS, H.J.M. MAJOIUE, R.P.W. ROUHL, J.T.H. VAN ASSELDONK, C.A. VAN DONSELAR, P.W. WIRTZ, A.M. VINKE, M.H. VAN COEVORDEN-HAMEETE, J.M. DE VRIES, A. MUNOZ LLOPETEGI, B. ROOZENBEKK, M. ELISAK, P. MARUSIC, F. LEYPOLDT, M.M.P. NAGTZAAM, E.S.P. HULSENBOOM, E. DE GRAAFF, M.W.J. SCHREUERS, P.A.E. SILLEVIS SMITT, M.J. TITULAER. Antibodies Contributing to focal Epilepsy Signs and symptoms (ACES) score: A prospective, multicenter, observational cohort study, 2020, *Lancet Neurology*, v recenzním řízení

BUCKLEY, C., J. OGER, L. CLOVER, E. TÜZÜN, K. CARPENTER, M. JACKSON a A. VINCENT, 2001. Potassium channel antibodies in two patients with reversible limbic encephalitis. *Annals of neurology*. **50**(1), 73–78. ISSN 0364-5134.

BURTON, Amanda R., Zachary BAQUET, George S. EISENBARTH, Roland TISCH, Richard SMEYNE, Creg J. WORKMAN a Dario A. A. VIGNALI, 2010. Central nervous system destruction mediated by glutamic acid decarboxylase-specific CD4+ T cells. *Journal of*

*immunology* . **184**(9), 4863–4870. ISSN 0022-1767.

CARREÑO, Mar, Christian G. BIEN, Ali A. ASADI-POOYA, Michael SPERLING, Petr MARUSIC, Martin ELISAK, Jose PIMENTEL, Tim WEHNER, Rajiv MOHANRAJ, Juan URANGA, Asier GÓMEZ-IBÁÑEZ, Vicente VILLANUEVA, Francisco GIL, Antonio DONAIRE, Nuria BARGALLÓ, Jordi RUMIÀ, Pedro ROLDÁN, Xavier SETOAIN, Luis PINTOR, Teresa BOGET, Eva BAILLES, Mercè FALIP, Javier APARICIO, Josep DALMAU a Francesc GRAUS, 2017. Epilepsy surgery in drug resistant temporal lobe epilepsy associated with neuronal antibodies. *Epilepsy research*. **129**, 101–105. ISSN 0920-1211.

CORSINI, Elena, Paola GAVIANI, Luisa CHIAPPARINI, Monica LAZZARONI, Emilio CIUSANI, Raffaele BISOGNO, Antonio SILVANI, Andrea SALMAGGI a Gaetano BERNARDI, 2016. Intrathecal synthesis of onconeural antibodies in patients with paraneoplastic syndromes. *Journal of neuroimmunology*. **290**, 119–122. ISSN 0165-5728.

CRESPER, Arielle, Philippe COUBES, Marie-Claude ROUSSET, Corinne BRANA, Alain ROUGIER, Gérard RONDOUIN, Joël BOCKAERT, Michel BALDY-MOULINIER a Mireille LERNER-NATOLI, 2002. Inflammatory reactions in human medial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. *Brain research*. **952**(2), 159–169. ISSN 0006-8993.

DALAKAS, Marinos C., 2013. *Progress and stiff challenges in understanding the role of GAD-antibodies in stiff-person syndrome*. *Exp Neurol*. 2013;247:303- 307.. ISSN 0014-4886.

DALMAU, J., H. M. FURNEAUX, R. J. GRALLA, M. G. KRIS a J. B. POSNER, 1990. Detection of the anti-Hu antibody in the serum of patients with small cell lung cancer--a quantitative western blot analysis. *Annals of neurology*. **27**(5), 544–552. ISSN 0364-5134.

DALMAU, Josep, Thais ARMANGUÉ, Jesús PLANAGUMÀ, Marija RADOSEVIC, Francesco MANNARA, Frank LEYPOLDT, Christian GEIS, Eric LANCASTER, Maarten J. TITULAER, Myrna R. ROSENFELD a Francesc GRAUS, 2019. An update on anti-NMDA receptor encephalitis for neurologists and psychiatrists: mechanisms and models. *Lancet neurology*. **18**(11), 1045–1057. ISSN 1474-4422.

DALMAU, Josep, Christian GEIS a Francesc GRAUS, 2017. Autoantibodies to Synaptic Receptors and Neuronal Cell Surface Proteins in Autoimmune Diseases of the Central Nervous System. *Physiological reviews*. **97**(2), 839–887. ISSN 0031-9333.

DARNELL, J. C., M. L. ALBERT a R. B. DARNELL, 2000. Cdr2, a target antigen of naturally occurring human tumor immunity, is widely expressed in gynecological tumors. *Cancer research*. **60**(8), 2136–2139. ISSN 0008-5472.

DRLICEK, M., G. BIANCHI, G. BOGLIUN, B. CASATI, W. GRISOLD, C. KOLIG, U. LISZKA-SETINEK, L. MARZORATI, E. WONDRUSCH a G. CVALETTI, 1997. Antibodies of the anti-Yo and anti-Ri type in the absence of paraneoplastic neurological syndromes: a long-term survey of ovarian cancer patients. *Journal of neurology*. **244**(2), 85–89. ISSN 0340-5354.

DUBEY, Divyanshu, Jaysingh SINGH, Jeffrey W. BRITTON, Sean J. PITTOCK, Eoin P. FLANAGAN, Vanda A. LENNON, Jan-Mendelt TILLEMA, Elaine WIRRELL, Cheolsu SHIN, Elson SO, Gregory D. CASCINO, Dean M. WINGERCHUK, Matthew T. HOERTH, Jerry J.



- SHIH, Katherine C. NICKELS a Andrew MCKEON, 2017. *Predictive models in the diagnosis and treatment of autoimmune epilepsy Epilepsia*. 2017;58(7):1181- 1189. 2017.
- ELIŠÁK, Martin, David KRÝSL, Jitka HANZALOVÁ, Ivana GAŽOVÁ, Irena DOLEŽALOVÁ, Petr MARUSIČ a Jana SLONKOVÁ, 2015. *Neurological Syndromes Associated with Antibodies against Neuronal Surface Antigens*. 2015. *Cesk Slov Neurol N* 2015; 78/111(4): 453-458
- ELISAK, Martin, David KRYSL, Jitka HANZALOVA, Kamila VOLNA, Christian G. BIEN, Frank LEYPOLDT a Petr MARUSIC, 2018. The prevalence of neural antibodies in temporal lobe epilepsy and the clinical characteristics of seropositive patients. *Seizure: the journal of the British Epilepsy Association*. **63**, 1–6. ISSN 1059-1311.
- ELIŠÁK, Martin, Eva MELUZÍNOVÁ, J. HANZALOVÁ, Petra LIŠKOVÁ, David KRÝSL, I. DOLEŽALOVÁ, Ivana ŠTĚTKÁŘOVÁ a Petr MARUSIČ, 2017. *Anti-NMDAR Antibodies in Demyelinating Diseases*. 2017. *Cesk Slov Neurol N* 2017; 80/113(3): 332-335
- ELLWARDT, Erik, Christian GEBER, Johannes LOTZ a Frank BIRKLEIN, 2020. Heterogeneous presentation of caspr2 antibody-associated peripheral neuropathy - A case series. *European journal of pain* [online]. ISSN 1090-3801.
- FINKE, Carsten, Frederik BARTELS, Alva LÜTT, Harald PRÜSS a Lutz HARMS, 2017. High prevalence of neuronal surface autoantibodies associated with cognitive deficits in cancer patients. *Journal of neurology*. **264**(9), 1968–1977. ISSN 0340-5354.
- FISHER, Robert S., Carlos ACEVEDO, Alexis ARZIMANOGLU, Alicia BOGACZ, J. HELEN CROSS, Christian E. ELGER, Jerome ENGEL, Lars FORSGREN, Jacqueline A. FRENCH, Mike GLYNN, Dale C. HESDORFFER, B. I. LEE, Gary W. MATHERN, Solomon L. MOSHÉ, Emilio PERUCCA, Ingrid E. SCHEFFER, Torbjörn TOMSON, Masako WATANABE a Samuel WIEBE, 2014. *ILAE Official Report: A practical clinical definition of epilepsy*. 2014. *Epilepsia*. 2014;55(4):475- 482.
- GATTI, S., A. VEZZANI a T. BARTFAI, 2002. *Mechanisms of Fever and Febrile Seizures* [online]. 2002. Dostupné z: doi:10.1016/b978-012078141-6/50014-7
- GEIS, Christian, Jesus PLANAGUMÀ, Mar CARREÑO, Francesc GRAUS a Josep DALMAU, 2019. Autoimmune seizures and epilepsy. *The Journal of clinical investigation*. **129**(3), 926–940. ISSN 0021-9738.
- GELPI, Ellen, Romana HÖFTBERGER, Francesc GRAUS, Helen LING, Janice L. HOLTON, Timothy DAWSON, Mara POPOVIC, Janja PRETNAR-OBLAK, Birgit HÖGL, Erich SCHMUTZHARD, Werner POEWE, Gerda RICKEN, Joan SANTAMARIA, Josep DALMAU, Herbert BUDKA, Tamas REVESZ a Gabor G. KOVACS, 2016. Neuropathological criteria of anti-IgLON5-related tauopathy. *Acta neuropathologica*. **132**(4), 531–543. ISSN 0001-6322.
- GIOMETTO, B., G. C. MARCHIORI, P. NICOLAO, T. SCARAVILLI, A. LION, P. G. BARDIN a B. TAVOLATO, 1997. Sub-acute cerebellar degeneration with anti-Yo autoantibodies: immunohistochemical analysis of the immune reaction in the central nervous system. *Neuropathology and applied neurobiology*. **23**(6), 468–474. ISSN 0305-1846.

GLEICHMAN, Amy J., Jessica A. PANZER, Bailey H. BAUMANN, Josep DALMAU a David R. LYNCH, 2014. Antigenic and mechanistic characterization of anti-AMPA receptor encephalitis. *Annals of clinical and translational neurology*. **1**(3), 180–189. ISSN 2328-9503.

GRAUS, F., J. DALMOU, R. REÑÉ, M. TORA, N. MALATS, J. J. VERSCHUUREN, F. CARDENAL, N. VIÑOLAS, J. GARCIA DEL MURO, C. VADELL, W. P. MASON, R. ROSELL, J. B. POSNER a F. X. REAL, 1997. Anti-Hu antibodies in patients with small-cell lung cancer: association with complete response to therapy and improved survival. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*. **15**(8), 2866–2872. ISSN 0732-183X.

GRAUS, F., J. Y. DELATTRE, J. C. ANTOINE, J. DALMAU, B. GIOMETTO, W. GRISOLD, J. HONNORAT, P. Sillevs SMITT, Ch VEDELER, J. J. G. M. VERSCHUUREN, A. VINCENT a R. VOLTZ, 2004. Recommended diagnostic criteria for paraneoplastic neurological syndromes. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*. **75**(8), 1135–1140. ISSN 0022-3050.

GRAUS, F., D. ESCUDERO, L. OLEAGA, J. BRUNA, A. VILLAREJO-GALENDE, J. BALLABRIGA, M. I. BARCELÓ, F. GILO, S. POPKIROV, P. STOURAC a J. DALMAU, 2018. Syndrome and outcome of antibody-negative limbic encephalitis. *European journal of neurology: the official journal of the European Federation of Neurological Societies*. **25**(8), 1011–1016. ISSN 1351-5101.

GRAUS, Francesc, Maarten J. TITULAER, Ramani BALU, Susanne BENSELER, Christian G. BIEN, Tania CELLUCCI, Irene CORTESE, Russell C. DALE, Jeffrey M. GELFAND, Michael GESCHWIND, Carol A. GLASER, Jerome HONNORAT, Romana HÖFTBERGER, Takahiro IIZUKA, Sarosh R. IRANI, Eric LANCASTER, Frank LEYPOLDT, Harald PRÜSS, Alexander RAE-GRANT, Markus REINDL, Myrna R. ROSENFELD, Kevin ROSTÁSY, Albert SAIZ, Arun VENKATESAN, Angela VINCENT, Klaus-Peter WANDINGER, Patrick WATERS a Josep DALMAU, 2016. A clinical approach to diagnosis of autoimmune encephalitis. *Lancet neurology*. **15**(4), 391–404. ISSN 1474-4422.

GRAUS, F., F. VEGA, J. Y. DELATTRE, I. BONAVENTURA, R. RENE, D. ARBAIZA a E. TOLOSA, 1992. *Plasmapheresis and antineoplastic treatment in CNS paraneoplastic syndromes with antineuronal autoantibodies*. 1992. *Neurology*. 1992;42(3 Pt 1):536- 540.

GREENLEE, J. E., T. N. PARKS a K. A. JAECKLE, 1993. *Type IIa ('anti-Hu') antineuronal antibodies produce destruction of rat cerebellar granule neurons in vitro* [online]. 1993. Dostupné z: doi:10.1212/wnl.43.10.2049

GRESA-ARRIBAS, Nuria, Maarten J. TITULAER, Abiguel TORRENTS, Esther AGUILAR, Lindsey MCCRACKEN, Frank LEYPOLDT, Amy J. GLEICHMAN, Rita BALICE-GORDON, Myrna R. ROSENFELD, David LYNCH, Francesc GRAUS a Josep DALMAU, 2014. Antibody titres at diagnosis and during follow-up of anti-NMDA receptor encephalitis: a retrospective study. *Lancet neurology*. **13**(2), 167–177. ISSN 1474-4422.

HAMMER, C., B. STEPNIAK, A. SCHNEIDER, S. PAPIOL, M. TANTRA, M. BEGEMANN, A-L SIRÉN, L. A. PARDO, S. SPERLING, S. MOHD JOFRY, A. GURVICH, N. JENSEN,

K. OSTMEIER, F. LÜHDER, C. PROBST, H. MARTENS, M. GILLIS, G. SAHER, F. ASSOIGNA, G. SPALLETTA, W. STÖCKER, T. F. SCHULZ, K-A NAVE a H. EHRENREICH, 2014. Neuropsychiatric disease relevance of circulating anti-NMDA receptor autoantibodies depends on blood-brain barrier integrity. *Molecular psychiatry*. **19**(10), 1143–1149. ISSN 1359-4184.

HANSEN, Niels, Leon ERNST, Theodor RÜBER, Guido WIDMAN, Albert J. BECKER, Christian E. ELGER a Christoph HELMSTAEDTER, 2018. Pre- and long-term postoperative courses of hippocampus-associated memory impairment in epilepsy patients with antibody-associated limbic encephalitis and selective amygdalohippocampectomy. *Epilepsy & behavior: E&B*. **79**, 93–99. ISSN 1525-5050.

HARA, Makoto, Helena ARIÑO, Mar PETIT-PEDROL, Lidia SABATER, Maarten J. TITULAER, Eugenia MARTINEZ-HERNANDEZ, Marco W. J. SCHREURS, Myrna R. ROSENFELD, Francesc GRAUS a Josep DALMAU, 2017. DPPX antibody-associated encephalitis: Main syndrome and antibody effects. *Neurology*. **88**(14), 1340–1348. ISSN 0028-3878.

HARA, Makoto, Eugenia MARTINEZ-HERNANDEZ, Helena ARIÑO, Thais ARMANGUÉ, Marianna SPATOLA, Mar PETIT-PEDROL, Albert SAIZ, Myrna R. ROSENFELD, Francesc GRAUS a Josep DALMAU, 2018. Clinical and pathogenic significance of IgG, IgA, and IgM antibodies against the NMDA receptor. *Neurology*. **90**(16), e1386–e1394. ISSN 0028-3878.

HESDORFFER, Dale C., Emma K. T. BENN, Gregory D. CASCINO a W. ALLEN HAUSER, 2009. *Is a first acute symptomatic seizure epilepsy? Mortality and risk for recurrent seizure* [online]. 2009. *Epilepsia*. **50**(5):1102- 1108.

HOFTBERGER, R., M. J. TITULAER, L. SABATER, B. DOME, A. ROZSAS, B. HEGEDUS, M. A. HODA, V. LASZLO, H. J. ANKERSMIT, L. HARMS, S. BOYERO, A. DE FELIPE, A. SAIZ, J. DALMAU a F. GRAUS, 2013. *Encephalitis and GABAB receptor antibodies: novel findings in a new case series of 20 patients*. *Neurology*. 2013;**81**(17):1500- 1506.

HOLLOWELL, Joseph G., Norman W. STAEHLING, W. DANA FLANDERS, W. HARRY HANNON, Elaine W. GUNTER, Carole A. SPENCER a Lewis E. BRAVERMAN, 2002. *Serum TSH, T4, and Thyroid Antibodies in the United States Population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III)* [online]. 2002. Dostupné z: doi:10.1210/jcem.87.2.8182

HONNORAT, Jérôme a Jean-Christophe ANTOINE, 2007. *Paraneoplastic neurological syndromes* [online]. 2007. Dostupné z: doi:10.1186/1750-1172-2-22

HUGHES, Ethan G., Xiaoyu PENG, Amy J. GLEICHMAN, Meizan LAI, Lei ZHOU, Ryan TSOU, Thomas D. PARSONS, David R. LYNCH, Josep DALMAU a Rita J. BALICE-GORDON, 2010. Cellular and synaptic mechanisms of anti-NMDA receptor encephalitis. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*. **30**(17), 5866–5875. ISSN 0270-6474.

IORIO, R., G. ASSENZA, M. TOMBINI, G. COLICCHIO, G. DELLA MARCA, A. BENVENGA, V. DAMATO, P. M. ROSSINI, C. VOLLONO, D. PLANTONE, A. MARTI, A.

P. BATOCCHI a A. EVOLI, 2015. The detection of neural autoantibodies in patients with antiepileptic-drug-resistant epilepsy predicts response to immunotherapy. *European journal of neurology: the official journal of the European Federation of Neurological Societies*. **22**(1), 70–78. ISSN 1351-5101.

IRANI, Sarosh R., Sian ALEXANDER, Patrick WATERS, Kleopas A. KLEOPA, Philippa PETTINGILL, Luigi ZULIANI, Elior PELES, Camilla BUCKLEY, Bethan LANG a Angela VINCENT, 2010a. *Antibodies to Kv1 potassium channel-complex proteins leucine-rich, glioma inactivated 1 protein and contactin-associated protein-2 in limbic encephalitis, Morvan's syndrome and acquired neuromyotonia*. *Brain*. 2010;**133**(9):2734- 2748.

IRANI, Sarosh R., Katarzyna BERA, Patrick WATERS, Luigi ZULIANI, Susan MAXWELL, Michael S. ZANDI, Manuel A. FRIESE, Ian GALEA, Dimitri M. KULLMANN, David BEESON, Bethan LANG, Christian G. BIEN a Angela VINCENT, 2010b. *N-methyl-d-aspartate antibody encephalitis: temporal progression of clinical and paraclinical observations in a predominantly non-paraneoplastic disorder of both sexes*. *Brain*. 2010;**133**(Pt 6):1655- 1667.

IRANI, Sarosh R., Charlotte J. STAGG, Jonathan M. SCHOTT, Clive R. ROSENTHAL, Susanne A. SCHNEIDER, Philippa PETTINGILL, Rosemary PETTINGILL, Patrick WATERS, Adam THOMAS, Natalie L. VOETS, Manuel J. CARDOSO, David M. CASH, Emily N. MANNING, Bethan LANG, Shelagh J. M. SMITH, Angela VINCENT a Michael R. JOHNSON, 2013. *Faciobrachial dystonic seizures: the influence of immunotherapy on seizure control and prevention of cognitive impairment in a broadening phenotype*. *Brain*. 2013;**136**(Pt 10):3151- 3162.

JOUBERT, B. a J. DALMAU, 2019. The role of infections in autoimmune encephalitides. *Revue neurologique*. **175**(7-8), 420–426. ISSN 0035-3787.

KITANOSONO Hiroko, SHIRAISHI Hirokazu a MOTOMURA Masakatsu, 2018. [P/Q-type Calcium Channel Antibodies in Lambert-Eaton Myasthenic Syndrome]. *Brain and nerve = Shinkei kenkyu no shinpo*. **70**(4), 341–355. ISSN 1881-6096.

KNOEPFLER, Paul S., Pei Feng CHENG a Robert N. EISENMAN, 2002. N-myc is essential during neurogenesis for the rapid expansion of progenitor cell populations and the inhibition of neuronal differentiation. *Genes & development*. **16**(20), 2699–2712. ISSN 0890-9369.

KOCH, Marcus, Maarten UYTENBOOGAART, Susan POLMAN a Jacques DE KEYSER, 2008. *Seizures in multiple sclerosis*. *Epilepsia*. 2008;**49**(6):948- 953.

KORNITZER, Jeffrey, Firas TAHA a Eric SEGAL, 2019. *Clinical Presentation and Outcome in Autoimmune Encephalitis Associated With N-Type Voltage-Gated Calcium Channels in Children*. *J Child Neurol.*; **34**(9):499- 505.

KRÝSL, David a Martin ELIŠÁK, 2015. *Autoimmune Encephalitis*. *Cesk Slov Neurol N*; **78**/111(1): 7-23

KURTS, Christian, William R. HEATH, Francis R. CARBONE, Hiroshi KOSAKA a JACQUES F A, 2007. *Cross-Presentation of Self Antigens to CD8 T Cells: The Balance Between Tolerance and Autoimmunity*. *Novartis Found Symp*; **215**:172- 190.

LAI, Meizan, Ethan G. HUGHES, Xiaoyu PENG, Lei ZHOU, Amy J. GLEICHMAN, Huidy SHU, Sabrina MATÀ, Daniel KREMENS, Roberta VITALIANI, Michael D. GESCHWIND, Luis BATALLER, Robert G. KALB, Rebecca DAVIS, Francesc GRAUS, David R. LYNCH, Rita BALICE-GORDON a Josep DALMAU, 2009. AMPA receptor antibodies in limbic encephalitis alter synaptic receptor location. *Annals of neurology*. **65**(4), 424–434. ISSN 0364-5134.

LALIC, Tatjana, Philippa PETTINGILL, Angela VINCENT a Marco CAPOGNA, 2011. Human limbic encephalitis serum enhances hippocampal mossy fiber-CA3 pyramidal cell synaptic transmission. *Epilepsia*. **52**(1), 121–131. ISSN 0013-9580.

LANGENBRUCH, Lisa, Julia KRÄMER, Sati GÜLER, Gabriel MÖDDEL, Sophia GESSNE, Nico MELZER, Christian E. ELGER, Heinz WIENDL, Thomas BUDDE, Sven G. MEUTH a Stjepana KOVAC, 2019. *Seizures and epilepsy in multiple sclerosis: epidemiology and prognosis in a large tertiary referral center*. *J Neurol*. **266**(7):1789- 1795.

LAPTEVA, Larissa, Mirosława NOWAK, Cheryl H. YARBORO, Kazuki TAKADA, Tresa ROEBUCK-SPENCER, Thomas WEICKERT, Joseph BLEIBERG, Donald ROSENSTEIN, Maryland PAO, Nicholas PATRONAS, Sonya STEELE, Melissa MANZANO, Jan Willem C. VAN DER VEEN, Peter E. LIPSKY, Stefano MARENCO, Robert WESLEY, Bruce VOLPE, Betty DIAMOND a Gabor G. ILLEI, 2006. *Anti-N-methyl-D-aspartate receptor antibodies, cognitive dysfunction, and depression in systemic lupus erythematosus*. *Arthritis Rheum.*; **54**(8):2505- 2514.

LAURENT, Charlotte, Jean CAPRON, Bluenn QUILLEROU, Guy THOMAS, Sonia ALAMOWITCH, Olivier FAIN a Arsène MEKINIAN, 2016. Steroid-responsive encephalopathy associated with autoimmune thyroiditis (SREAT): Characteristics, treatment and outcome in 251 cases from the literature. *Autoimmunity reviews*. **15**(12), 1129–1133. ISSN 1568-9972.

LIBA, Zuzana, Jana KAYSEROVA, Martin ELISAK, Petr MARUSIC, Hana NOHEJLOVA, Jitka HANZALOVA, Vladimír KOMAREK a Anna SEDIVA, 2016. Anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis: the clinical course in light of the chemokine and cytokine levels in cerebrospinal fluid. *Journal of neuroinflammation*. **13**(1), 55. ISSN 1742-2094.

LIGUORI, R., 2001. *Morvan's syndrome: peripheral and central nervous system and cardiac involvement with antibodies to voltage-gated potassium channels*. *Brain*. 2001; **124**(Pt 12):2417- 2426.

LIU, Xu, Bo YAN, Rui WANG, Chen LI, Chu CHEN, Dong ZHOU a Zhen HONG, 2017. *Seizure outcomes in patients with anti-NMDAR encephalitis: A follow-up study*. *Epilepsia*. 2017; **58**(12):2104- 2111.

MAKUCH, Mateusz, Robert WILSON, Adam AL-DIWANI, James VARLEY, Anne-Kathrin KIENZLER, Jennifer TAYLOR, Antonio BERRETTA, Darren FOWLER, Belinda LENNOX, M. Isabel LEITE, Patrick WATERS a Sarosh R. IRANI, 2018. N-methyl-D-aspartate receptor antibody production from germinal center reactions: Therapeutic implications. *Annals of neurology*. **83**(3), 553–561. ISSN 0364-5134.

MALTER, Michael P., Christoph HELMSTAEDTER, Horst URBACH, Angela VINCENT a Christian G. BIEN, 2010. *Antibodies to glutamic acid decarboxylase define a form of limbic encephalitis. Ann Neurol.* 2010;**67**(4):470- 478.

MANTO, Mario, Josep DALMAU, Adrien DIDELOT, Véronique ROGEMOND a Jérôme HONNORAT, 2010. In vivo effects of antibodies from patients with anti-NMDA receptor encephalitis: further evidence of synaptic glutamatergic dysfunction. *Orphanet journal of rare diseases.* **5**, 31. ISSN 1750-1172.

MANTO, Mario-Ubaldo, Marie-Aline LAUTE, Michèle AGUERA, Véronique ROGEMOND, Massimo PANDOLFO a Jérôme HONNORAT, 2007. Effects of anti-glutamic acid decarboxylase antibodies associated with neurological diseases. *Annals of neurology.* **61**(6), 544–551. ISSN 0364-5134.

MARTINEZ-HERNANDEZ, E., J. HORVATH, Y. SHILOH-MALAWSKY, N. SANGHA, M. MARTINEZ-LAGE a J. DALMAU, 2011. Analysis of complement and plasma cells in the brain of patients with anti-NMDAR encephalitis. *Neurology.* **77**(6), 589–593. ISSN 0028-3878.

MASDEU, Joseph C., Josep DALMAU a Karen F. BERMAN, 2016. NMDA Receptor Internalization by Autoantibodies: A Reversible Mechanism Underlying Psychosis? *Trends in neurosciences.* **39**(5), 300–310. ISSN 0166-2236.

MATHON, B., L. BÉDOS ULVIN, C. ADAM, M. BAULAC, S. DUPONT, V. NAVARRO, P. CORNU a S. CLEMENCEAU, 2015. *Surgical treatment for mesial temporal lobe epilepsy associated with hippocampal sclerosis. Rev Neurol (Paris).* 2015;**171**(3):315- 325.

MATTOZZI, Simone, Lidia SABATER, Domingo ESCUDERO, Helena ARIÑO, Thais ARMANGUE, Mateus SIMABUKURO, Takahiro IIZUKA, Makoto HARA, Albert SAIZ, Stefano SOTGIU, Josep DALMAU a Francesc GRAUS, 2020. Hashimoto encephalopathy in the 21st century. *Neurology.* **94**(2), e217–e224. ISSN 0028-3878.

MIYA, Kazushi, Yukitoshi TAKAHASHI a Hisashi MORI, 2014. Anti-NMDAR autoimmune encephalitis. *Brain & development.* **36**(8), 645–652. ISSN 0387-7604.

MUELLER, Stefanie H., Anna FÄRBER, Harald PRÜSS, Nico MELZER, Kristin S. GOLOMBECK, Tania KÜMPFEL, Franziska THALER, Martin ELISAK, Jan LEWERENZ, Max KAUFMANN, Kurt-Wolfram SÜHS, Marius RINGELSTEIN, Christoph KELLINGHAUS, Christian G. BIEN, Andrea KRAFT, Uwe K. ZETTL, Sven EHRlich, Robert HANDREKA, Kevin ROSTÁSY, Florian THEN BERGH, Jürgen H. FAISS, Wolfgang LIEB, Andre FRANKE, Gregor KUHLENBÄUMER, Klaus-Peter WANDINGER, Frank LEYPOLDT a GERMAN NETWORK FOR RESEARCH ON AUTOIMMUNE ENCEPHALITIS (GENERATE), 2018. Genetic predisposition in anti-LGI1 and anti-NMDA receptor encephalitis. *Annals of neurology.* **83**(4), 863–869. ISSN 0364-5134.

MUÑOZ-LOPETEGI, Amaia, Marienke A. A. M. DE BRUIJN, Sanae BOUKHRISSE, Anna E. M. BASTIAANSEN, Mariska M. P. NAGTZAAM, Esther S. P. HULSENBOOM, Agnita J. W. BOON, Rinze F. NEUTEBOOM, Juna M. DE VRIES, Peter A. SILLEVIS, Marco W. J. SCHREURS a Maarten J. TITULAER, 2020. *Neurologic syndromes related to anti-GAD65.* [published correction appears in *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm.* 2020 Apr

15;7(4):]. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm.* 2020;7(3):e696. Published 2020 Mar 2.

NEUMANN, H., H. SCHMIDT, A. CAVALIÉ, D. JENNE a H. WEKERLE, 1997. Major histocompatibility complex (MHC) class I gene expression in single neurons of the central nervous system: differential regulation by interferon (IFN)-gamma and tumor necrosis factor (TNF)-alpha. *The Journal of experimental medicine.* **185**(2), 305–316. ISSN 0022-1007.

NIBBER, Anjan, Edward O. MANN, Philippa PETTINGILL, Patrick WATERS, Sarosh R. IRANI, Dimitri M. KULLMANN, Angela VINCENT a Bethan LANG, 2017. *Pathogenic potential of antibodies to the GABAB receptor.* *Epilepsia Open.* 2017;2(3):355- 359. Published 2017 Jul 19.

OHKAWA, Toshika, Yuko FUKATA, Miwako YAMASAKI, Taisuke MIYAZAKI, Norihiko YOKOI, Hiroshi TAKASHIMA, Masahiko WATANABE, Osamu WATANABE a Masaki FUKATA, 2013. Autoantibodies to epilepsy-related LGII in limbic encephalitis neutralize LGII-ADAM22 interaction and reduce synaptic AMPA receptors. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience.* **33**(46), 18161–18174. ISSN 0270-6474.

ONG, Mei-Sing, Isaac S. KOHANE, Tianxi CAI, Mark P. GORMAN a Kenneth D. MANDL, 2014. Population-level evidence for an autoimmune etiology of epilepsy. *JAMA neurology.* **71**(5), 569–574. ISSN 2168-6149.

PETIT-PEDROL, Mar, Thaís ARMANGUE, Xiaoyu PENG, Luis BATALLER, Tania CELLUCCI, Rebecca DAVIS, Lindsey MCCracken, Eugenia MARTINEZ-HERNANDEZ, Warren P. MASON, Michael C. KRUER, David G. RITACCO, Wolfgang GRISOLD, Brandon F. MEANEY, Carmen ALCALÁ, Peter SILLEVIS-SMITT, Maarten J. TITULAER, Rita BALICE-GORDON, Francesc GRAUS a Josep DALMAU, 2014. Encephalitis with refractory seizures, status epilepticus, and antibodies to the GABAA receptor: a case series, characterisation of the antigen, and analysis of the effects of antibodies. *Lancet neurology.* **13**(3), 276–286. ISSN 1474-4422.

PETIT-PEDROL, Mar, Josefina SELL, Jesús PLANAGUMÀ, Francesco MANNARA, Marija RADOSEVIC, Holger HASELMANN, Mihai CEANGA, Lidia SABATER, Marianna SPATOLA, David SOTO, Xavier GASULL, Josep DALMAU a Christian GEIS, 2018. LGII antibodies alter Kv1.1 and AMPA receptors changing synaptic excitability, plasticity and memory. *Brain: a journal of neurology.* **141**(11), 3144–3159. ISSN 0006-8950.

POLLAK, Thomas A., Belinda R. LENNOX, Sabine MÜLLER, Michael E. BENROS, Harald PRÜSS, Ludger TEBARTZ VAN ELST, Hans KLEIN, Johann STEINER, Thomas FRODL, Bernhard BOGERTS, Li TIAN, Laurent GROG, Alkomiet HASAN, Bernhard T. BAUNE, Dominique ENDRES, Ebrahim HAROON, Robert YOLKEN, Francesco BENEDETTI, Angelos HALARIS, Jeffrey H. MEYER, Hans STASSEN, Marion LEBOYER, Dietmar FUCHS, Markus OTTO, David A. BROWN, Angela VINCENT, Souhel NAJJAR a Karl BECHTER, 2020. Autoimmune psychosis: an international consensus on an approach to the diagnosis and management of psychosis of suspected autoimmune origin. *The lancet. Psychiatry.* **7**(1), 93–108. ISSN 2215-0374.

POPKIROV, Stoyan, Fatme Seval ISMAIL, Wenke GRÖNHEIT, Monika KAPAUER, Jörg WELLMER a Christian G. BIEN, 2017. Progressive hippocampal sclerosis after viral encephalitis: Potential role of NMDA receptor antibodies. *Seizure: the journal of the British Epilepsy Association*. **51**, 6–8. ISSN 1059-1311.

QUEK, Amy M. L., Jeffrey W. BRITTON, Andrew MCKEON, Elson SO, Vanda A. LENNON, Cheolsu SHIN, Christopher KLEIN, Robert E. WATSON Jr, Amy L. KOTSENAS, Terrence D. LAGERLUND, Gregory D. CASCINO, Gregory A. WORRELL, Elaine C. WIRRELL, Katherine C. NICKELS, Allen J. AKSAMIT, Katherine H. NOE a Sean J. PITTOCK, 2012. Autoimmune epilepsy: clinical characteristics and response to immunotherapy. *Archives of neurology*. **69**(5), 582–593. ISSN 0003-9942.

RASMUSSEN, T., J. OLSZEWSKI a D. LLOYD-SMITH, 2011. *Focal seizures due to chronic localized encephalitis* [online]. 2011. Dostupné z: doi:10.1212/01.wnl.0000398013.26242.03

RASPOTNIG, M., C. A. VEDELER a A. STORSTEIN, 2011. *Onconeural antibodies in patients with neurological symptoms: detection and clinical significance*. *Acta Neurol Scand Suppl*. 2011;(191):83- 88.

RICKEN, Gerda, Carmen SCHWAIGER, Desiree DE SIMONI, Valerie PICHLER, Julia LANG, Sarah GLATTER, Stefan MACHER, Paulus S. ROMMER, Petra SCHOLZE, Helmut KUBISTA, Inga KONECZNY a Romana HÖFTBERGER, 2018. Detection Methods for Autoantibodies in Suspected Autoimmune Encephalitis. *Frontiers in neurology*. **9**, 841. ISSN 1664-2295.

RIDGE, J. P., F. DI ROSA a P. MATZINGER, 1998. A conditioned dendritic cell can be a temporal bridge between a CD4+ T-helper and a T-killer cell. *Nature*. **393**(6684), 474–478. ISSN 0028-0836.

ROMOLI, Michele, Paraskevi KRASHIA, Arjune SEN, Diego FRANCIOTTA, Matteo GASTALDI, Annalisa NOBILI, Andrea MANCINI, Elena NARDI CESARINI, Pasquale NIGRO, Nicola TAMBASCO, Nicola B. MERCURI, Lucilla PARNETTI, Massimiliano DI FILIPPO, Marcello D'AMELIO, Sarosh R. IRANI, Cinzia COSTA a Paolo CALABRESI, 2019. Hippocampal epileptogenesis in autoimmune encephalitis. *Annals of clinical and translational neurology*. **6**(11), 2261–2269. ISSN 2328-9503.

ROSENFELD, Myrna a Josep DALMAU, 1999. *Paraneoplastic Neurologic Disorders and Onconeural Antigens* [online]. 1999. Dostupné z: doi:10.1201/9781420048223.ch11

ROSE, Noel R. a Constantin BONA, 1993. *Defining criteria for autoimmune diseases (Witebsky's postulates revisited)* [online]. 1993. Dostupné z: doi:10.1016/0167-5699(93)90244-f

SABATER, Lidia, Carles GAIG, Ellen GELPI, Luis BATALLER, Jan LEWERENZ, Estefanía TORRES-VEGA, Angeles CONTRERAS, Bruno GIOMETTO, Yaroslau COMPTA, Cristina EMBID, Isabel VILASECA, Alex IRANZO, Joan SANTAMARÍA, Josep DALMAU a Francesc GRAUS, 2014. A novel non-rapid-eye movement and rapid-eye-movement parasomnia with sleep breathing disorder associated with antibodies to IgLON5: a case series, characterisation of the antigen, and post-mortem study. *Lancet neurology*. **13**(6), 575–586. ISSN 1474-4422.



SAIZ, Albert, Yolanda BLANCO, Lidia SABATER, Félix GONZÁLEZ, Luis BATALLER, Roser CASAMITJANA, Lluís RAMIÓ-TORRENTÀ a Francesc GRAUS, 2008. Spectrum of neurological syndromes associated with glutamic acid decarboxylase antibodies: diagnostic clues for this association. *Brain: a journal of neurology*. **131**(Pt 10), 2553–2563. ISSN 0006-8950.

SAKAI, K., M. GOFUKU, Y. KITAGAWA, T. OGASAWARA a G. HIROSE, 1995. Induction of anti-Purkinje cell antibodies in vivo by immunizing with a recombinant 52-kDa paraneoplastic cerebellar degeneration-associated protein. *Journal of neuroimmunology*. **60**(1-2), 135–141. ISSN 0165-5728.

SCHEFFER, Ingrid E., Samuel BERKOVIC, Giuseppe CAPOVILLA, Mary B. CONNOLLY, Jacqueline FRENCH, Laura GUILHOTO, Edouard HIRSCH, Satish JAIN, Gary W. MATHERN, Solomon L. MOSHÉ, Douglas R. NORDLI, Emilio PERUCCA, Torbjörn TOMSON, Samuel WIEBE, Yue-Hua ZHANG a Sameer M. ZUBERI, 2017. ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*. **58**(4), 512–521. ISSN 0013-9580.

SCHOENBERGER, S. P., R. E. TOES, E. I. VAN DER VOORT, R. OFFRINGA a C. J. MELIEF, 1998. T-cell help for cytotoxic T lymphocytes is mediated by CD40-CD40L interactions. *Nature*. **393**(6684), 480–483. ISSN 0028-0836.

SHILLITO, Paul, Peter C. MOLENAAR, Angela VINCENT, Katherine LEYS, Wang ZHENG, Rutgeris J. VAN DEN BERG, Jaap J. PLOMP, Gertrudis Th H. VAN KEMPEN, Guy CHAUPLANNAZ, Axel R. WINTZEN, J. Gert VAN DIJK a John NEWSOM-DAVIS, 1995. *Acquired neuromyotonia: Evidence for autoantibodies directed against K channels of peripheral nerves*. *Ann Neurol*. 1995;**38**(5):714- 722.

SPATOLA, Marianna a Josep DALMAU, 2017. Seizures and risk of epilepsy in autoimmune and other inflammatory encephalitis. *Current opinion in neurology*. **30**(3), 345–353. ISSN 1350-7540.

STAGG, Charlotte J., Bethan LANG, Jonathan G. BEST, Karen MCKNIGHT, Ana CAVEY, Heidi JOHANSEN-BERG, Angela VINCENT a Jacqueline PALACE, 2010. *Autoantibodies to glutamic acid decarboxylase in patients with epilepsy are associated with low cortical GABA levels*. *Epilepsia*. 2010;**51**(9):1898- 1901.

STERIADE, Claude, Stephen HANTUS, Ahsan N. V. MOOSA a Alexander D. RAE-GRANT, 2018. Extreme delta - With or without brushes: A potential surrogate marker of disease activity in anti-NMDA-receptor encephalitis. *Clinical neurophysiology: official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*. **129**(10), 2197–2204. ISSN 1388-2457.

STEUP-BEEKMAN, Gm, Sca STEENS, Ma VAN BUCHEM a Twj HUIZINGA, 2007. Anti-NMDA receptor autoantibodies in patients with systemic lupus erythematosus and their first-degree relatives. *Lupus*. **16**(5), 329–334. ISSN 0961-2033.

TAMPOIA, M., A. ZUCANO, A. ANTICO, B. GIOMETTO, C. BONAGURI, M. G. ALESSIO, A. RADICE, S. PLATZGUMMER a N. BIZZARO, 2010. Diagnostic accuracy of different immunological methods for the detection of antineuronal antibodies in paraneoplastic neurological syndromes. *Immunological investigations*. **39**(2), 186–195. ISSN 0882-0139.

TEZER, F. Irsel, Aysegul FIRAT, Erdem TUZUN, Isik UNAL, Figen SOYLEMEZOGLU, Burcak BILGINER, Figen KAYMAZ, Kader K. OGUZ a Serap SAYGI, 2018. Immunopathology in drug resistant mesial temporal lobe epilepsy with different types of hippocampal sclerosis. *The International journal of neuroscience*. **128**(5), 421–428. ISSN 0020-7454.

TITULAER, Maarten J., Romana HÖFTBERGER, Takahiro IIZUKA, Frank LEYPOLDT, Lindsey MCCRACKEN, Tania CELLUCCI, Leslie A. BENSON, Huidy SHU, Takashi IRIOKA, Makito HIRANO, Gagandeep SINGH, Alvaro COBO CALVO, Kenichi KAIDA, Pamela S. MORALES, Paul W. WIRTZ, Tomotaka YAMAMOTO, Markus REINDL, Myrna R. ROSENFELD, Francesc GRAUS, Albert SAIZ a Josep DALMAU, 2014. Overlapping demyelinating syndromes and anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis. *Annals of neurology*. **75**(3), 411–428. ISSN 0364-5134.

TITULAER, Maarten J., Lindsey MCCRACKEN, Iñigo GABILONDO, Thaís ARMANGUÉ, Carol GLASER, Takahiro IIZUKA, Lawrence S. HONIG, Susanne M. BENSELER, Izumi KAWACHI, Eugenia MARTINEZ-HERNANDEZ, Esther AGUILAR, Núria GRESA-ARRIBAS, Nicole RYAN-FLORANCE, Abiguel TORRENTS, Albert SAIZ, Myrna R. ROSENFELD, Rita BALICE-GORDON, Francesc GRAUS a Josep DALMAU, 2013. *Treatment and prognostic factors for long-term outcome in patients with anti-NMDA receptor encephalitis: an observational cohort study*. *Lancet Neurol*. 2013;**12**(2):157- 165.

TOLEDANO, M., J. W. BRITTON, A. MCKEON, C. SHIN, V. A. LENNON, A. M. L. QUEK, E. SO, G. A. WORRELL, G. D. CASCINO, C. J. KLEIN, T. D. LAGERLUND, E. C. WIRRELL, K. C. NICKELS a S. J. PITTOCK, 2014. Utility of an immunotherapy trial in evaluating patients with presumed autoimmune epilepsy. *Neurology*. **82**(18), 1578–1586. ISSN 0028-3878.

VANLI-YAVUZ, Ebru Nur, Ece ERDAG, Erdem TUZUN, Esme EKIZOGLU, Leyla BAYSAL-KIRAC, Canan ULUSOY, Sian PEACH, Gokcen GUNDOGDU, Serra SENCER, Altay SENCER, Cem Ismail KUCUKALI, Nerses BEBEK, Candan GURSES, Aysen GOKYIGIT a Betul BAYKAN, 2016. Neuronal autoantibodies in mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*. **87**(7), 684–692. ISSN 0022-3050.

VAN SONDEREN, Agnes, Helena ARIÑO, Mar PETIT-PEDROL, Frank LEYPOLDT, Peter KÖRTVÉLYESSY, Klaus-Peter WANDINGER, Eric LANCASTER, Paul W. WIRTZ, Marco W. J. SCHREURS, Peter A. SILLEVIS, Francesc GRAUS, Josep DALMAU a Maarten J. TITULAER, 2016a. *The clinical spectrum of Caspr2 antibody-associated disease*. *Neurology*.;**87**(5):521- 528.

VAN SONDEREN, Agnes, Marco W. J. SCHREURS, Marienke A. A. M. DE BRUIJN, Sanae BOUKHRISSE, Mariska M. P. NAGTZAAM, Esther S. P. HULSENBOOM, Roelien H. ENTING, Roland D. THIJS, Paul W. WIRTZ, Peter A. E. SILLEVIS SMITT a Maarten J. TITULAER, 2016b. The relevance of VGKC positivity in the absence of LGI1 and Caspr2 antibodies. *Neurology*. **86**(18), 1692–1699. ISSN 0028-3878.

VAN SONDEREN, Agnes, Roland D. THIJS, Elias C. COENDERS, Lize C. JISKOOT, Esther

SANCHEZ, Marienke A. A. M. DE BRUIJN, Marleen H. VAN COEVORDEN-HAMEETE, Paul W. WIRTZ, Marco W. J. SCHREURS, Peter A. E. SILLEVIS SMITT a Maarten J. TITULAER, 2016c. Anti-LGI1 encephalitis: Clinical syndrome and long-term follow-up. *Neurology*. **87**(14), 1449–1456. ISSN 0028-3878.

WAXMAN, Elisa A. a David R. LYNCH, 2005. *N-methyl-D-aspartate Receptor Subtypes: Multiple Roles in Excitotoxicity and Neurological Disease* [online]. 2005. Dostupné z: doi:10.1177/1073858404269012

WELLS, Elizabeth, Yael HACHOEN, Amy WALDMAN, Jan M. TILLEMA, Ariane SOLDATOS, Beau ANCES, Susanne BENSELER, Bibi BIELEKOVA, Russel C. DALE, Josep DALMAU, William GAILLARD, Mark GORMAN, Benjamin GREENBERG, Ann HYSLOP, Carlos A. PARDO, Robert C. TASKER, E. Ann YEH, Amit BAR-OR, Sean PITTOCK, Adeline VANDERVER, Brenda BANWELL a ATTENDEES OF THE INTERNATIONAL NEUROIMMUNE MEETING, 2018. Neuroimmune disorders of the central nervous system in children in the molecular era. *Nature reviews. Neurology*. **14**(7), 433–445. ISSN 1759-4758.

ZERCHE, Maria, Karin WEISSENBORN, Christoph OTT, Ekrem DERE, Abdul R. ASIF, Hans WORTHMANN, Imam HASSOUNA, Kristin RENTZSCH, Anita B. TRYC, Liane DAHM, Johann STEINER, Lutz BINDER, Jens WILTFANG, Anna-Leena SIRÉN, Winfried STÖCKER a Hannelore EHRENREICH, 2015. Preexisting Serum Autoantibodies Against the NMDAR Subunit NR1 Modulate Evolution of Lesion Size in Acute Ischemic Stroke. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. **46**(5), 1180–1186. ISSN 0039-2499.

ZHOU, Yu-Dong, Sanghoon LEE, Zhe JIN, Moriah WRIGHT, Stephen E. P. SMITH a Matthew P. ANDERSON, 2009. Arrested maturation of excitatory synapses in autosomal dominant lateral temporal lobe epilepsy. *Nature medicine*. **15**(10), 1208–1214. ISSN 1078-8956.

## Publikace k tématu disertační práce

### 1. v časopisech s impakt faktorem:

**Elisak M**, Krysl D, Hanzalova J, Volna K, Bien CG, Leypoldt F, Marusic P. The prevalence of neural antibodies in temporal lobe epilepsy and the clinical characteristics of seropositive patients. *Seizure* 2018 Dec;63:1-6.

**Impakt faktor 2.765**

Mueller SH, Färber A, Prüss H, Melzer N, Golombeck KS, Kümpfel T, Thaler F, **Elisak M**, Lewerenz J, Kaufmann M, Sühs KW, Ringelstein M, Kellinghaus C, Bien CG, Kraft A, Zettl UK, Ehrlich S, Handreka R, Rostásy K, Then Bergh F, Faiss JH, Lieb W, Franke A, Kuhlenbäumer G, Wandinger KP, Leypoldt F; German Network for Research on Autoimmune Encephalitis (GENERATE). Genetic predisposition in anti-LGI1 and anti-NMDA receptor encephalitis. *Ann Neurol*. 2018 Apr;83(4):863-869.

**Impakt faktor 9.496**

Liba Z, Kayserova J, **Elisak M**, Marusic P, Nohejlova H, Hanzalova J, Komarek V, Sediva A. Anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis: the clinical course in light of the chemokine and cytokine levels in cerebrospinal fluid. *J Neuroinflammation*. 2016 Mar 3;13(1):

**Impakt faktor 5.700**

Carreño M, Bien CG, Asadi-Pooya AA, Sperling M, Marusic P, **Elisak M**, Pimentel J, Wehner T, Mohanraj R, Uranga J, Gómez-Ibáñez A, Villanueva V, Gil F, Donaire A, Bargalló N, Rumià J, Roldán P, Setoain X, Pintor L, Boget T, Bailles E, Falip M, Aparicio J, Dalmau J, Graus F. Epilepsy surgery in drug resistant temporal lobe epilepsy associated with neuronal antibodies. *Epilepsy Res*. 2017 Jan;129:101-105.

**Impakt faktor 2.178**

**Elišák M**, Meluzínová E, Hanzalová J, Lišková P, Krýsl D, Doležalová I, Štětkařová I, Marusič P. Anti-NMDAR protilátky u demyelinizačních onemocnění. *Cesk Slov Neurol N* 2017; 80/113(3): 332-335

**Impakt faktor 0.355**

*Elišák M*, Krýsl D, Hanzalová J, Gažová I, Doležalová I, Slonková J, Marusič P. Neurologické syndromy sdružené s protilátkami proti membránovým a synaptickým antigenům. *Cesk Slov Neurol N* 2015; 78/111(4): 453-458

***Impakt faktor 0.355***

Krýsl D, *Elišák M*. Autoimunitní encefalitidy. *Cesk Slov Neurol N* 2015; 78/111(1): 7-23. Review

***Impakt faktor 0.355***

## **2. v časopisech bez impakt faktoru:**

*Elišák M*, Marusič P. Kdy v klinické praxi myslet na vzácná autoimunitní onemocnění CNS. *Neurol. praxi*, 2015; 16(6): 340-344. Review.

Hanzalová J, *Elišák M*. Protilátky proti povrchovým (membránovým a synaptickým) neuronálním antigenům - klinické a laboratorní zkušenosti. *Alergie*, 2018; (1): 34-41. Review

## **3. kapitoly v monografii:**

Akutní encefalopatie. *Elišák M*, Tomek A. In: Tomek A. Neurointenzivní péče. 3. vydání. Mladá Fronta, 2018. ISBN: 978-80-2045-119-4

Autoimunitní encefalitidy. *Elišák M*, Marusič P. In Štětkářová I. Moderní farmakoterapie v neurologii. 2. vydání. Maxdorf, 2017. ISBN: 978-80-7345-529-3

## **Publikace bez vztahu k tématu disertační práce**

### **1. v časopisech s impakt faktorem:**

Libertinova J, Meluzinova E, Nema E, Rockova P, **Elisak M**, Petrzalka M, Mojzisova H, Hammer J, Tomek A, Marusic P. Elevated D-dimer as an immediate response to alemtuzumab treatment. Mult Scler. 2020 Feb 20:1352458520904277

***Impakt faktor 5.649***

Petržalka M, Meluzínová E, Mojžišová H, Libertinová J, Ročková P, Němá E, **Elišák M**, Marusič P. Efektivita prodlouženého dávkovacího intervalu natalizumabu u pacientů s roztroušenou sklerózou. Cesk Slov Neurol N 2020; 83(1): 79-83

***Impakt faktor 0.355***

### **2. v časopisech bez impakt factoru:**

Nejsou

## Seznam příloh:

**Příloha č.1:** *Elisak M*, Krysl D, Hanzalova J, Volna K, Bien CG, Leypoldt F, Marusic P. The prevalence of neural antibodies in temporal lobe epilepsy and the clinical characteristics of seropositive patients. *Seizure* 2018 Dec;63:1-6.

**Příloha č.2:** *Elišák M*, Krýsl D, Hanzalová J, Gažová I, Doležalová I, Slonková J, Marusič P. Neurologické syndromy sdružené s protilátkami proti membránovým a synaptickým antigenům. *Cesk Slov Neurol N* 2015; 78/111(4): 453-458.

**Příloha č.3:** Carreño M, Bien CG, Asadi-Pooya AA, Sperling M, Marusic P, *Elisak M*, Pimentel J, Wehner T, Mohanraj R, Uranga J, Gómez-Ibáñez A, Villanueva V, Gil F, Donaire A, Bargalló N, Rumià J, Roldán P, Setoain X, Pintor L, Boget T, Bailles E, Falip M, Aparicio J, Dalmau J, Graus F. Epilepsy surgery in drug resistant temporal lobe epilepsy associated with neuronal antibodies. *Epilepsy Res.* 2017 Jan;129:101-105.