

The background of the slide is a microscopic image of a nerve biopsy. It shows a cross-section of a nerve with a prominent, dark-stained myelin sheath. The myelin appears fragmented and irregular, which is characteristic of demyelination in autoimmune neuropathies. The surrounding tissue is stained in shades of brown and orange.

Autoprotilátky u autoimunitních neuropatií



V posledních letech došlo ke značnému pokroku v objasnění klinické patofyziologie autoimunitních neuropatií.

Za potenciální patogenetické agens mnoha periferních neuropatií byly označeny protilátky proti epitopům na **karbohydrátových úsecích glykokonjugátů buněčných membrán.**



K nejdůležitějším **glykokonjugátům** buněčných membrán, proti kterým jsou autoagresivní pochody namířeny, patří

1/ glykolipidy (např. gangliosidy, sulfatidy a sulfát-3-glukuronylparaglobosid)

2/ glykoproteiny (např. myelin-asociovaný glykoprotein, MAG).

1. Protilátky proti gangliosidům

Gangliosidy

= glykosfingolipidy

hydrofobní **ceramid**

+

hydrofilní **oligosacharidový** řetězec obsahující jeden až čtyři monosacharidy (některou z hexóz, např. glukózu, galaktózu)

+

N-acetylneuraminová kyselina (NANA neboli sialová kyselina).

1. Protilátky proti gangliosidům

Gangliosidy

jsou velmi heterogenní molekuly

Svennerholm (*Nature* 1956, 177, 524)

Svennerholm (*Comprehensive Biochemistry, Vol 18, Elsevier, 1970*)

Svennerholm (*Prog Brain Res, 1994, 101:11-14*)

G - gangliosid

M - monosialo-

D - disialo-

T - trisialo-

Q - quadrusialo-gangliosid

1,2,3 - třídění dle rychlosti migrace při chromatografické analýze (např. pro monosialogangliosidy platí $G_{M3} > G_{M2} > G_{M1}$)

a,b - umístění kyseliny sialové na hexózovém zbytku, kde a = sialová kyselina na vnitřní galaktóze a b= sialová kyselina na vnější galaktóze.

1. Protilátky proti gangliosidům

Gangliosid	Chemická struktura
GM1	$\text{Gal}\beta 1-3\text{GalNAc}\beta 1-4\text{Gal}\beta 1-4\text{Glc}\beta 1-1'\text{ceramid}$ $\begin{array}{c} 3 \\ \\ \text{Neu5Ac}\alpha 2 \end{array}$
GM1b	$\text{Gal}\beta 1-3\text{GalNAc}\beta 1-4\text{Gal}\beta 1-4\text{Glc}\beta 1-1'\text{ceramid}$ $\begin{array}{c} 3 \\ \\ \text{Neu5Ac}\alpha 2 \end{array}$
asialo-GM1	$\text{Gal}\beta 1-3\text{GalNAc}\beta 1-4\text{Gal}\beta 1-4\text{Glc}\beta 1-1'\text{ceramid}$
GM2	$\text{GalNAc}\beta 1-4\text{Gal}\beta 1-4\text{Glc}\beta 1-1'\text{ceramid}$ $\begin{array}{c} 3 \\ \\ \text{Neu5Ac}\alpha 2 \end{array}$
GD1a	$\text{Gal}\beta 1-3\text{GalNAc}\beta 1-4\text{Gal}\beta 1-4\text{Glc}\beta 1-1'\text{ceramid}$ $\begin{array}{cc} 3 & 3 \\ & \\ \text{Neu5Ac}\alpha 2 & \text{Neu5Ac}\alpha 2 \end{array}$

1. Protilátky proti gangliosidům

GD1b	$\begin{array}{c} \text{Gal}\beta 1\text{-3GalNAc}\beta 1\text{-4Gal}\beta 1\text{-4Glc}\beta 1\text{-1'ceramid} \\ \\ 3 \\ \\ \text{Neu5Ac}\alpha 2\text{-8Neu5Ac}\alpha 2 \end{array}$
GT1a	$\begin{array}{c} \text{Gal}\beta 1\text{-3GalNAc}\beta 1\text{-4Gal}\beta 1\text{-4Glc}\beta 1\text{-1'ceramid} \\ \qquad \qquad \qquad \\ 3 \qquad \qquad \qquad 3 \\ \qquad \qquad \qquad \\ \text{Neu5Ac}\alpha 2\text{-8Neu5Ac}\alpha 2 \qquad \qquad \qquad \text{Neu5Ac}\alpha 2 \end{array}$
GT1b	$\begin{array}{c} \text{Gal}\beta 1\text{-3GalNAc}\beta 1\text{-4Gal}\beta 1\text{-4Glc}\beta 1\text{-1'ceramid} \\ \qquad \qquad \qquad \\ 3 \qquad \qquad \qquad 3 \\ \qquad \qquad \qquad \\ \text{Neu5Ac}\alpha 2 \qquad \qquad \qquad \text{Neu5Ac}\alpha 2 \\ \text{Neu5Ac}\alpha 2\text{-8Neu5Ac}\alpha 2 \end{array}$
GQ1b	$\begin{array}{c} \text{Gal}\beta 1\text{-3GalNAc}\beta 1\text{-4Gal}\beta 1\text{-4Glc}\beta 1\text{-1'ceramid} \\ \qquad \qquad \qquad \\ 3 \qquad \qquad \qquad 3 \\ \qquad \qquad \qquad \\ \text{Neu5Ac}\alpha 2\text{-8Neu5Ac}\alpha 2 \qquad \qquad \qquad \text{Neu5Ac}\alpha 2\text{-8Neu5Ac}\alpha 2 \end{array}$

1. Protilátky proti gangliosidům

Mimo nervovou tkáň je nejčastějším gangliosidem **GM3**.

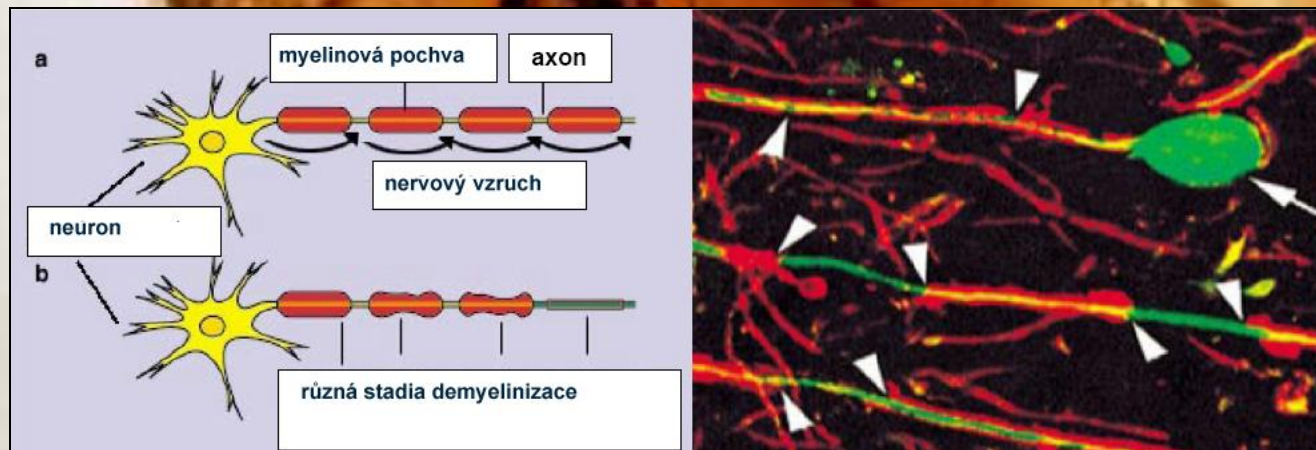
V nervových buňkách centrálního a periferního nervového systému jsou nejvíce zastoupeny **GM1**, **GD1a**, **GD1b** a **GT1**, kde plní úlohu funkcí ligandů stability myelinu a prostřednictvím vazby na myelin-asociovaný glykoprotein se účastní řízení regenerace nervů.

V axolemmě jsou na gangliosidy nejbohatší oblasti Ranvierových zářezů a presynaptická nervová zakončení.

V motorických nervech převládají **GM1** a **GD1**.

V senzoryckých nervech převažují obecně **disialogangliosidy** (zejména GD1, GD2 a GD3).

GQ1 jsou hojně zastoupeny v kraniálních motorických nervech inervujících extraokulární svaly.



1. Protilátky proti gangliosidům

Antigenním epitopem gangliosidů je nejčastěji extracelulární hydrofilní karbohydrátová struktura, vzácně ceramid v lipidové membráně.

Tyto epitopy slouží *in vivo* jako receptory pro cytokiny (interferony, EGF, NGF) a účastní se adhezních procesů (představují vazebná místa pro toxiny, viry a bakterie).



1. Protilátky proti gangliosidům

Nejzávažnějším patofyziologickým mechanismem vzniku postinfekčních autoimunitních neuropatií jsou **molekulární mimikry**: gangliosidům jsou velmi podobné lipo-oligosacharidy (LOS) mnoha mikrobů.

mikroorganismus	molekulární mimikry
Campylobacter jejuni	GM1, GM1b, GD1a, GQ1b, GT1a
Haemophilus influenzae	GM1, GT1a
Mycoplasma pneumoniae	galaktocerebrosid
Cytomegalovirus	GM2

1. Protilátky proti gangliosidům

vazba protilátek na gangliosidy

lokální aktivace komplementové kaskády, vznik MAC (membrane-attack complex)

neřízený infux Ca^{2+} iontů do buněk

strukturální degradace cytoskeletu neuronů, mitochondriální poškození

paréza - plegie

Cílem autoimunitní reakce mohou být gangliosidy axonů, Schwannových buněk nebo periferního myelinu (který je jejich produktem).

Nejefektivněji spouštějí komplementovou kaskádu protilátky izotypu IgM, v izotypu IgG jsou to především IgG3.

2. Protilátky proti myelin-asociovanému glykoproteinu (anti-MAG)

MAG - ahezivní molekula pro Schwannovy buňky při myelinizaci.

100 kDa glykoprotein s jednou transmembránovou, jednou cytoplazmatickou a pěti extracelulárními “imunoglobulin-like” doménami

Hlavním antigenním epitopem MAG je trisacharid se sulfoskupinou HNK-1 ($\text{HSO}_3\text{-3GlcAb1-3Gal1-4GlcNAc}$),

2. Protilátky proti myelin-asociovanému glykoproteinu (anti-MAG)

Asociace anti-MAG s klinickými projevy chronické demyelinizační neuropatie poprvé popsána teprve v roce 1980 (NEJM, 1980,303:618-621).

MAG je prokázaným autoantigenem některých monoklonálních IgM u neuropatií.

Asi 50% pacientů s monoklonální gamapatií IgM a s klinickými projevy neuropatie vykazuje pozitivitu anti-MAG.

Přítomnost anti-MAG v izotypu IgM je spjata s **chronickou senzomotorickou demyelinizující periferní neuropatií**, při které zpočátku dominují příznaky poškození sensorických a až později motorických nervů.

2. Protilátky proti myelin-asociovanému glykoproteinu (anti-MAG)

Indikace vyšetření anti-MAG: distální symetická neuropatie vzniklá ve věku >50 let, s tremorem a poruchami chůze, bolestmi DK, u 85% pozitivit je zároveň přítomna monoklonální gamapatie IgM.

Terapie: cyklofosfamid v kombinaci s plazmaferézou. Efekt nemají kortikoidy ani IVIG. Nejlepší prognózu mají pacienti s poklesem titru anti-MAG o >60%.

3. Protilátky proti SGPG

SGPG =sulfát-3-glukuronylparaglobosid

= SO_4 -3GlcA β 1-3Gal β 1-4GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc β 1-1'ceramid

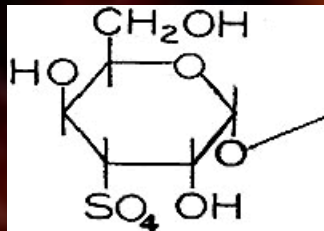
hlavním antigenním epitopem je stejně jako u MAG trisacharid HNK-1



pro anti-MAG a anti-SGPG je proto typická značná zkřížená reaktivita

- Velmi vzácné případy anti-MAG negativních a anti-SGPG pozitivních pacientů patří do klinické skupiny **multifokálních motorických (axonálních) neuropatií bez demyelinizace.**
- Polyklonální IgM protilátky proti SGPG nereagující s MAG byly ojediněle nalezeny i u nemocných s ALS.

4. Protilátky proti sulfatidům



ceramid

galaktocerebrosidey (ceramid + jedna galaktóza) se sulfoskupinou na třetím uhlíku galaktózy

GALOP sy (gait disorder, autoantibody, late-age onset, polyneuropathy)

pravděpodobný pomalu progredující (mnohaletý) průběh onemocnění

- Indikace vyšetření: distální symetrická převážně senzorická neuropatie, věk >50 let.
- Terapie: při vysokých titrech anti-sulfatidových protilátek byla zkoušena imunosupresivní terapie IVIG, cyklofosfamidem a rituximabem (anti-CD20). S kortikoidy nebylo obvykle dosaženo úspěchu.

	Anti-MAG Anti-SGPG	Anti-GM1	Anti-GM2	Anti-GD1a	Anti-GD1b	Anti-GD2	Anti-GD3	Anti-GT1a	Anti-GT1b	Anti-GQ1b
Akutní neuropatie										
Guillain-Barré sy (GBS)		+++ IgG IgG>IgM	+	+	+			+	+	+/-
Varianty GBS: AMAN, AMSAN		+++ IgG		+++ IgG	+					
GBS s oftalmoplegií										++ IgG
GBS s ataxií					++ IgG		+	+		+
GBS po CMV infekci			+							
Miller-Fischer sy (MFS)								+		+++ IgG >90%
Akutní neuropatie s bulbární dysfunkcí (faryngo-cerviko- brachiální varianta)				++ IgG				+++ IgG	+	
Chronické neuropatie										
Multifokální motorická neuropatie (MMN)		++ IgM 20-80%			+					
Distal Lower Motor Neuron sy		+								
Neuropatie s anti-MAG/anti- SGPG IgM monoklonální gamapatií	+++ mono- IgM 50%									
Motorická neuropatie s monoklonální gamapatií IgM		+++ mono- IgM			+++					
Chronická senzorycká ataktická neuropatie					+++ mono/po ly IgM	+	+			+++ mono/po ly IgM
Chronická zánětlivá demyelinizující neuropatie (CIDP)	++ mono- IgM	+	+	+	+					

Tabulka 3

Výskyt protilátek proti gangliosidům u akutních a chronických neuropatií

Laboratorní diagnostika protilátek proti glykokonjugátům

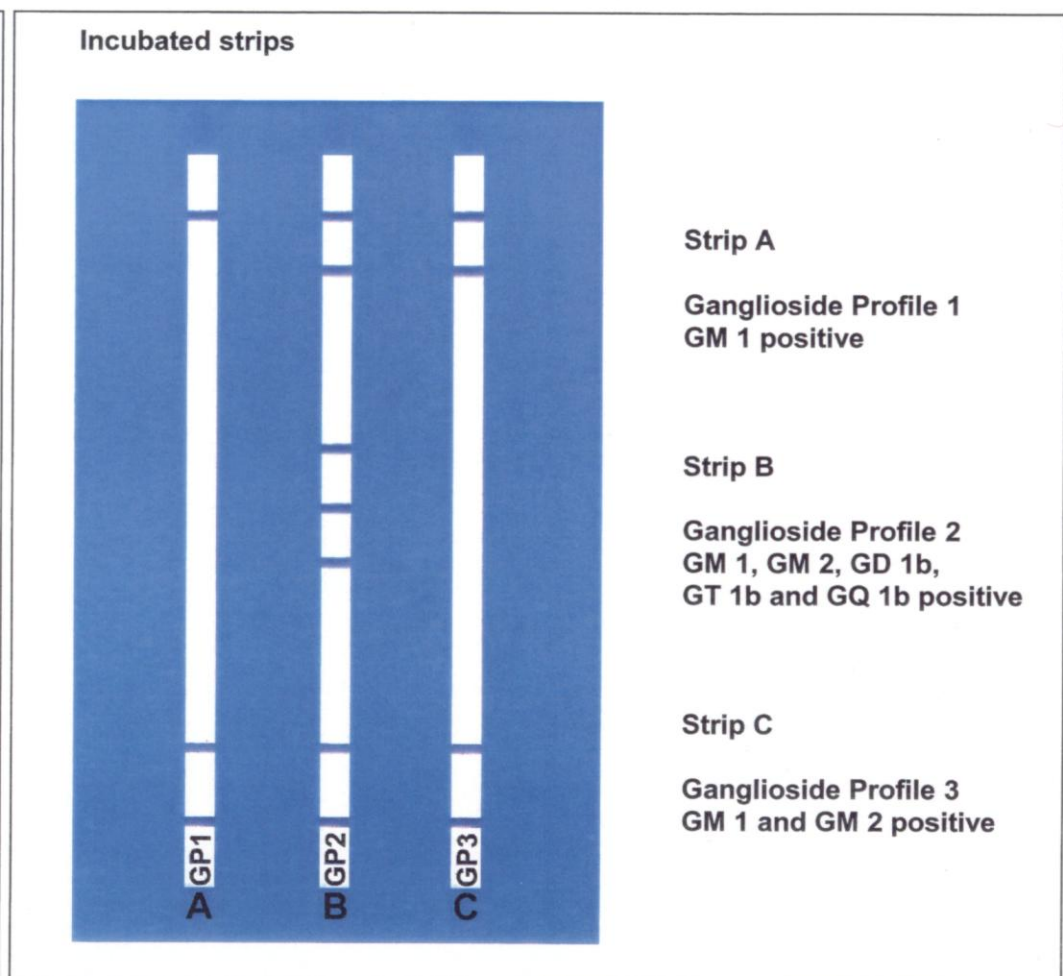
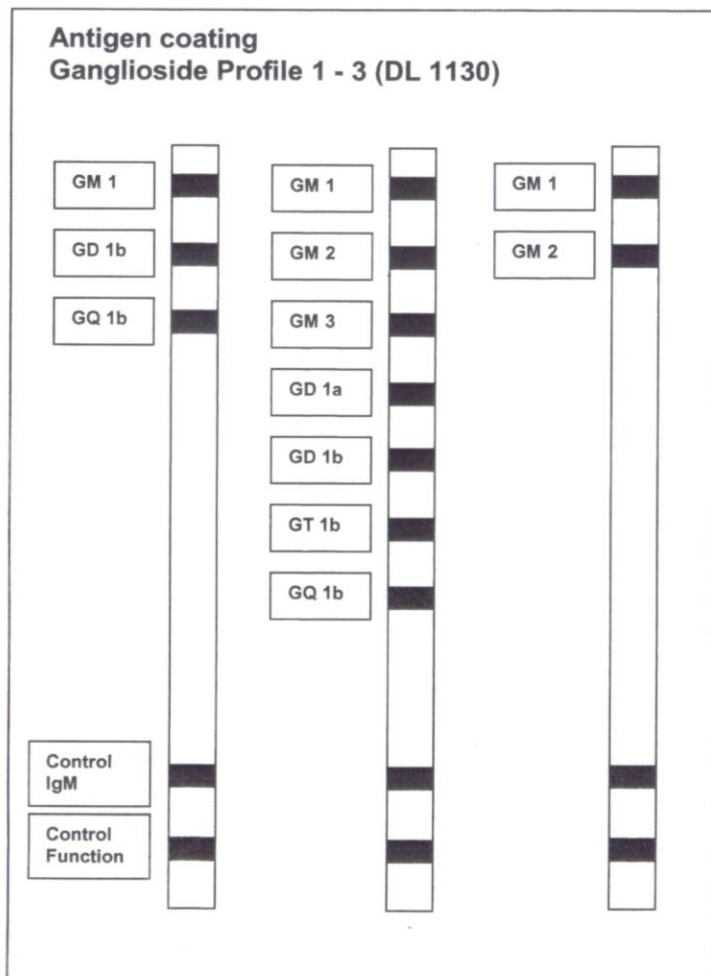
1/ existují různé metody stanovení, soupravy různých výrobců se liší použitými glykokonjugáty (zdroj, čistota), vysoká mezilaboratorní variabilita výsledků

2/ výskyt protilátek proti gangliosidům (typů) se v různých zeměpisných oblastech liší, je závislý na epidemiologické situaci a rozšíření některých mikrobiálních patogenů, nelze proto zevšeobecňovat údaje z literatury

3/ přirozené protilátky proti gangliosidům?

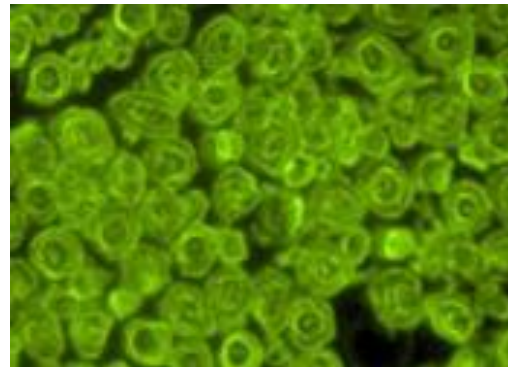
Laboratorní diagnostika protilátek proti glykokonjugátům

EUROLINE for the detection of autoantibodies against Gangliosides



Laboratorní diagnostika protilátek proti glykokonjugátům

nepřímá imunofluorescence



anti-MAG